

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

FACULDADE DE MEDICINA

MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança

ALESSANDRA PULIER DA SILVA

**ANÁLISE DOS ASPECTOS IMUNO-
HEMATOLÓGICOS NA CONDUÇÃO DA
DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL NO
HOSPITAL NAVAL MARCÍLIO DIAS.**



ALESSANDRA PULIER DA SILVA

**ANÁLISE DOS ASPECTOS IMUNO-HEMATOLÓGICOS NA CONDUÇÃO
DA DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL NO HOSPITAL NAVAL
MARCÍLIO DIAS.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Saúde Materno-Infantil. Área de Concentração: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Adauto Dutra Moraes Barbosa
Coorientadora: Prof. Dra. Glaucia Macedo de Lima

Niterói, 2022

Ficha catalográfica automática - SDC/BFM
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S586a Silva, Alessandra Pulier da
Análise dos aspectos imuno-hematológicos na condução da
doença hemolítica perinatal no Hospital Naval Marcílio Dias
/ Alessandra Pulier da Silva. - 2022.
113 f.: il.

Orientador: Adauto Dutra Moraes Barbosa.
Coorientador: Gláucia Macedo de Lima.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense,
Faculdade de Medicina, Niterói, 2022.

1. Anemia Neonatal. 2. Anemia Hemolítica. 3. Anticorpo. 4.
Imunoglobulina. 5. Produção intelectual. I. Barbosa, Adauto
Dutra Moraes, orientador. II. Lima, Gláucia Macedo de,
coorientadora. III. Universidade Federal Fluminense. Faculdade
de Medicina. IV. Título.

CDD - XXX

ALESSANDRA PULIER DA SILVA

**ANÁLISE DOS ASPECTOS IMUNO-HEMATOLÓGICOS NA CONDUÇÃO
DA DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL NO HOSPITAL NAVAL
MARCÍLIO DIAS.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Saúde Materno-Infantil. Área de Concentração: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança

Aprovado por:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Marcella Martins de Vasconcelos Vaena
Fundação Oswaldo Cruz / Instituto Fernandes Figueira (Fiocruz/IFF)

Prof. Dr. Marcelo Gerardin Poirot Land
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Prof. Dr. Renato Augusto Moreira de Sá
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Dedicatória

Dedico esse estudo a Deus, aos meus pais, irmãos, filho, marido e em especial ao Théo (*in memoriam*).

Agradecimentos

Aos meus pais, Rita Helena e Sebastião Genésio (*in memoriam*), por terem me ensinado a nunca desistir dos meus sonhos.

Aos meus irmãos, Soraya e Bruno, por terem contribuído com o meu crescimento pessoal e senso de responsabilidade.

Ao meu marido Daniel e ao meu filho Matheus pelo companheirismo, amor e compreensão.

Aos meus mestres, Dra. Shirley Castilho, Ana Lúcia Girello e Sandro Fierz, por terem despertado em mim o amor pela imuno-hematologia.

Aos meus orientadores, Dr. Adauto Dutra Moraes Barbosa e Dra. Glaucia Macedo de Lima pela disponibilidade, atenção e oportunidade de aprendizado.

Aos amigos do Serviço de Hemoterapia do Hospital Naval Marcílio Dias, em especial aos meus eternos mentores Comandante Silveira e Comandante Rosana; meus atuais chefes Comandante Adalgisa e Comandante Wajnberg; meus amigos farmacêuticos Comandante Fontes e Tenente Glauce e aos meus anjos da guarda Suboficial Sílvio, Sargento Edney, Sargento Wanessa Veloso, Sargento Valéria, Sargento Lenine e Cabo Bruna, pelo incentivo, colaboração e apoio ao longo dessa trajetória.

Aos Prof. Doutores membros da banca que dispuseram do seu tempo e atenção para participar da minha defesa.

Por fim, agradeço à Marinha do Brasil e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da UFF pela oportunidade de realização do curso de mestrado profissional e por toda experiência adquirida nessa jornada.

“Impossível é apenas uma palavra usada pelos fracos que acham mais fácil viver no mundo que lhes foi determinado do que explorar o poder que possuem para mudá-lo. O impossível não é um fato consumado. É uma opinião. Impossível não é uma afirmação. É um desafio. O impossível é algo potencial. O impossível é algo temporário. Nada é impossível.”

Aimee Lehto e Boyd Coyner

Resumo

Introdução: Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) é uma patologia que se inicia intraútero, podendo se estender ao período neonatal, desencadeada pela ação hemolítica de anticorpos maternos sobre antígenos eritrocitários fetais. Exames sorológicos, clínicos e moleculares realizados durante o pré-natal representam ferramentas essenciais no acompanhamento da gestação, permitindo a monitorização da evolução da anemia fetal e garantindo a adoção de terapêutica adequada para melhorar o prognóstico do recém-nascido.

Objetivo: Analisar os testes imuno-hematológicos pré-natais e pós-parto solicitados no Hospital Naval Marcílio Dias para auxiliar no diagnóstico laboratorial da DHPN.

Métodos: Estudo transversal descritivo e retrospectivo, baseado em registros manuais e informatizados de exames realizados em gestantes e seus respectivos recém-nascidos acometidos por DHPN, atendidos no HNMD no período de janeiro 2011 a dezembro de 2019.

Resultados: Das 27 gestações analisadas, 17 (63%) aloimunizações ocorreram após a primeira gestação e, embora as gestantes RhD positivo tenham sido as mais acometidas (n=17 / 63%), o anticorpo eritrocitário materno mais frequente foi o anti-D (n= 10 / 37,0%). Houve solicitação de pesquisa de anticorpos irregulares durante o pré-natal de 17 gestantes (63%), das quais 10 (58,8%) apresentaram pelo menos uma solicitação de repetição do teste durante a gestação e oito (29,6%) possuíam título crítico ≥ 16 . Exames complementares não invasivos foram realizados em seis gestantes (22,2%) e oito recém-nascidos (29,6%) receberam tratamento para DHPN.

Conclusão: As análises realizadas reforçaram a importância da correta e abrangente utilização dos testes imuno-hematológicos na investigação de aloimunização materna e no acompanhamento dos conceitos acometidos pela DHPN. O estudo propõe recomendações protocolares à assistência perinatal.

Palavras-Chave: Aloanticorpos. Anemia. Doença Hemolítica. Feto. Recém-Nascido. Imunoglobulina.

Abstract

Introduction: Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) is a pathology that begins in utero and may extend to the neonatal period, triggered by the hemolytic action of maternal antibodies on fetal erythrocyte antigens. Serological, clinical and molecular tests performed during prenatal care represent essential tools in pregnancy follow-up, allowing the monitoring of fetal anemia progression and ensuring the adoption of appropriate therapy to improve the newborn's prognosis.

Objective: To analyze the prenatal and postpartum immunohematological tests requested at Hospital Naval Marcílio Dias to assist in the laboratory diagnosis of HDFN.

Methods: Cross-sectional descriptive and retrospective study, based on manual and computerized records of exams performed in pregnant women and their respective newborns affected by HDFN, attended at the HNMD in the period from January 2011 to December 2019.

Results: Of the 27 pregnancies analyzed, 17 (63%) alloimmunizations occurred after the first pregnancy and, although RhD positive pregnant women were the most affected (n=17 / 63%), the most frequent maternal erythrocyte antibody was anti-D (n=10 / 37.0%). Irregular antibody testing was requested during prenatal care for 17 pregnant women (63%), of whom 10 (58.8%) had at least one request request for repeat testing during pregnancy and eight (29.6%) had critical titer ≥ 16 . Noninvasive complementary exams were performed in six pregnant women (22.2%) and eight newborns (29.6%) received treatment for HDFN.

Conclusion: The analyses performed reinforced the importance of the correct and comprehensive use of immunohematological tests in the investigation of maternal alloimmunization and in the follow-up of newborns affected by HDFN. The study proposes protocol recommendations for perinatal care.

Keywords: Alloantibodies. Anemia. Hemolytic Disease. Fetus. Newborn. Immunoglobulin.

Lista de Figuras

Figura 1 – Distribuição dos erros humanos relacionados à imunoglobulina anti-D.....	35
Figura 2 – Prevalência de recém-nascidos CD positivo entre os anos de 2011 e 2019 no HNMD.....	49
Figura 3 – Classificação dos anticorpos maternos identificados no HNMD de 2011 à 2019...	49
Figura 4 – Classificação dos anticorpos maternos pertencentes aos 27 casos estudados.....	50
Figura 5 – Especificidade dos anticorpos imunes maternos exclusivos.....	51
Figura 6 – Especificidade dos anticorpos imunes maternos associados à anticorpos naturais...	52
Figura 7 – Especificidade dos anticorpos naturais irregulares maternos.....	52
Figura 8 – Especificidade dos anticorpos naturais regulares maternos com evolução para transfusão do recém-nascido.....	53
Figura 9 – Frequências absolutas e relativas dos anticorpos maternos.....	53
Figura 10 – Número de gestações distribuídas por faixa etária (em anos) das gestantes aloimunizadas.....	55
Figura 11 – Tipagem sanguínea das gestantes aloimunizadas.....	57
Figura 12 – Fase gestacional de realização da 1ª pesquisa de anticorpos irregulares nas gestantes aloimunizadas.....	57
Figura 13 – Realização da PAI no pré-natal de acordo com o fenótipo RhD das gestantes aloimunizadas.....	58
Figura 14 – Repetição da PAI nas gestantes aloimunizadas.....	59
Figura 15 – Idade gestacional no momento do parto das gestantes aloimunizadas.....	62
Figura 16 – Solicitação de imunoprofilaxia anti-D para puérperas RhD negativo aloimunizadas.....	62
Figura 17 – Frequência e grau de anemia em recém-nascidos de mães aloimunizadas.....	66
Figura 18 – Porcentagem de recém-nascidos ictericos e procedimentos realizados.....	66
Figura 19 – Fluxograma laboratorial para triagem de gestações aloimunizadas	84
Figura 20 – Fluxograma laboratorial para acompanhamento de gestantes com pesquisa de anticorpos irregulares (Coombs indireto) positiva.....	87
Figura 21 – Fluxograma para acompanhamento de gestantes com risco de DHPN moderada a grave.....	89
Figura 22 – Fluxograma laboratorial para acompanhamento de recém-nascidos.....	91

Lista de Quadros e Tabelas

Quadro 1 – Correlação entre a especificidade do anticorpo e o risco de desenvolvimento de DHPN.....	21
Quadro 2 – Classificação ABO.....	24
Quadro 3 – Classificação RhD.....	26
Quadro 4 – Formas de exposição materna ao sangue fetal.....	81
Quadro 5 – Exames laboratoriais para rotina pré-natal.....	82
Quadro 6 – Importância clínica dos anticorpos irregulares.....	85
Quadro 7 – Exames realizados nas amostras pós-parto.....	90
Quadro 8 – Medidas profiláticas adotadas mundialmente para DHPN.....	95
Tabela 1 – Casos de aloimunizações maternas estudadas no HNMD entre 2011 e 2019.....	54
Tabela 2 – História obstétrica das gestantes aloimunizadas.....	56
Tabela 3 – Titulação dos aloanticorpos maternos identificados no pré-natal.....	60
Tabela 4 – Exames complementares realizados no pré-natal das gestantes aloimunizadas.....	61
Tabela 5 – Procedimentos realizados nos recém-nascidos com teste de CD positivo, baseado nos resultados dos exames laboratoriais e clínicos.....	64

Lista de Abreviaturas e Siglas

AABB	Associação Americana de Bancos de Sangue
ADCC	Citotoxicidade Celular Dependente de Anticorpos
BI	Bilirrubina Indireta
CD	Coombs Direto
CH	Concentrado de Hemácias
CI	Coombs Indireto
CID-10	Classificação Internacional de Doenças
DECH-AT	Doença do Enxerto Contra Hospedeiro Associada à Transfusão
DHPN	Doença Hemolítica Perinatal
Di	Diego
EXT	Exsanguíneotransfusão
FcRn	Receptor Fc fetal/neonatal
FcγR	Receptor Fc de Imunoglobulina G
Fy	Duffy
Hb	Hemoglobina
HFM	Hemorragia Feto-Materna
HNMD	Hospital Naval Marcílio Dias
HTC	Hematócrito
I.A.I.	Identificação de Anticorpos Irregulares
IG	Idade Gestacional
Ig	Imunoglobulina
IgG	Imunoglobulina G
IGIV	Imunoglobulina Intravenosa
Jk	Kidd
K	Kell
LDH	Lactato Desidrogenase
MMA	Ensaio de Monocamada de Monócitos
MoM	Múltiplos da mediana
MS	Ministério da Saúde
PAI	Pesquisa de Anticorpos Irregulares
PIN	Prontuário Informatizado Naval
VSP-ACM	Velocidade Sistólica Máxima na Artéria Cerebral Média Fetal
RAADP	Profilaxia pré-natal de rotina com Imunoglobulina anti-D
Rh	Rhesus
RhIG	Imunoglobulina RhD
RN	Recém-nascido

SIH/SUS	Sistema de Informações Hospitalares do Serviço Único de Saúde
SISNAC	Sistema de Informações de Nascidos Vivos
TAD	Teste da Antiglobulina Humana Direto
TIU	Transfusão Intrauterina
TX	Transfusão

Sumário

1. Introdução.....	15
2. Fundamentação teórica.....	17
2.1. Histórico	17
2.2. Conceito de DHPN.....	18
2.3. Anticorpos naturais correlacionados com a DHPN.....	19
2.4. Anticorpos imunes correlacionados com a DHPN.....	20
2.5. Patogênese da DHPN.....	21
2.6. Exames imuno-hematológicos.....	23
2.6.1 Exames imuno-hematológicos de pré-natal em gestantes.....	23
2.6.1.1. Tipagem sanguínea ABO.....	24
2.6.1.2. Tipagem sanguínea RhD.....	25
2.6.1.3. Pesquisa de anticorpos irregulares.....	27
2.6.1.4. Identificação de anticorpos irregulares.....	27
2.6.1.5. Titulação do anticorpo.....	28
2.6.2 Exames imuno-hematológicos em recém-nascidos.....	29
2.6.2.1. Tipagem sanguínea ABO.....	29
2.6.2.2. Tipagem sanguínea RhD.....	30
2.6.2.3. Teste de antiglobulina humana direto.....	30
2.6.2.4. Teste de eluição.....	30
2.7. Exames complementares (pré-natais)	31
2.7.1. Exames não invasivos.....	31
2.7.1.1. DNA fetal livre no plasma materno.....	31
2.7.1.2. Velocidade sistólica de pico na artéria cerebral média fetal.....	32
2.7.2. Exame invasivo.....	32
2.7.2.1. Cordocentese.....	33
2.8. Alternativas de profilaxia materna.....	33
2.8.1. Imunoglobulina RhD.....	33
2.8.2. Procedimentos especiais adotados para transfusão de hemocomponentes em gestantes.....	35
2.9. Tratamento pré-natal da DHPN.....	36
2.9.1. Transfusão intrauterina.....	37
2.9.2. Plasmaférese terapêutica.....	38
2.9.3. Imunoglobulin intravenosa	39
2.9.4. Outros.....	40
2.10. Tratamento de recém-nascidos com DHPN.....	40
2.10.1. Transfusão de concentrado de hemácias em recém-nascidos.....	40
2.10.2. Exsanguineotransfusão.....	41
2.10.3. Fototerapia.....	42
2.10.4. Imunoglobulina intravenosa.....	43
3. Justificativa	44
4. Objetivos.....	45
Objetivo geral.....	45
Objetivos específicos.....	45

5. Metodos.....	46
5.1. Delineamento do estudo.....	46
5.2. Variáveis.....	46
5.3. Casuística.....	46
5.3.1. Critérios de inclusão.....	47
5.3.2. Critérios de exclusão.....	47
5.4. Coleta de dados.....	47
5.5. Análise dos dados.....	47
6. Resultados	49
7. Discussão	68
8. Conclusão	76
9. Considerações Finais.....	78
10. Produto gerado pelo estudo	79
Referências.....	98

1. INTRODUÇÃO

A imuno-hematologia é uma especialidade da imunologia que estuda antígenos eritrocitários e anticorpos a eles correspondentes, visando determinar o significado clínico decorrente desta interação(1).

O princípio da maioria dos testes imuno-hematológicos se baseia na reação antígeno-anticorpo, gerando imunocomplexos, que levam à aglutinação das hemácias ou à hemólise (2). Atualmente existem mais de 349 antígenos descritos presentes na superfície das hemácias, dos quais pelo menos 50 são capazes de induzir uma resposta imune associada à Doença Hemolítica Perinatal (3–7).

Na Doença Hemolítica Perinatal (DHPN), anticorpos maternos imunes ou naturais, ambos da classe IgG, dirigidos contra antígenos eritrocitários herdados do pai e presentes nas hemácias do feto, atravessam a barreira placentária e promovem hemólise prematura dos eritrócitos e/ou supressão da eritropoiese, levando a anemia fetal e eventualmente a morte (5,8,9). Este processo patológico que se inicia intraútero, pode se estender ao período neonatal, justificando a nomenclatura dada a esta patologia (10).

Entre os anos de 2011 e 2019, segundo a base pública brasileira de dados administrativos de saúde composto por: Sistema de Informações de Nascidos Vivos (SISNAC) (11) e Sistema de Informações Hospitalares do Serviço Único de Saúde (SIH/SUS) (12), a morbidade hospitalar por DHPN totalizou 25.090 casos em 26.295.316 nascidos vivos no período. E, apesar do Ministério da Saúde definir a doença hemolítica perinatal como causa de morte evitável em menores de 5 anos (13), a taxa de óbitos notificada nessa faixa etária através da Classificação Internacional de Doenças (CID-10) referente aos códigos: P55 (doença hemolítica do feto e do recém-nascido); P56 (hidropsia fetal devido à doença hemolítica) e P57 (Kernicterus) totalizou 972 casos, sendo 632 óbitos fetais associados aos códigos P55 e P56. Infelizmente, segundo estudos realizados por Lobato (14), Santos (15), Castilho (16), e Pacheco (17), o perfil de morbimortalidade hospitalar divulgado ainda possui subnotificações e óbitos não registrados corretamente, devido a utilização de códigos não específicos. Tal fato dificulta a determinação do perfil epidemiológico da doença no Brasil, impossibilitando, por conseguinte, a elaboração de políticas públicas que garantam a prevenção e atendimentos satisfatórios à população.

Estudos realizados ao longo dos anos (9,18–20) demonstram que, além do emprego da profilaxia materna, a detecção precoce, o monitoramento permanente e o tratamento oportuno da DHPN são essenciais para garantir bons resultados. Desta forma, exames sorológicos,

clínicos e moleculares, realizados em épocas apropriadas durante o pré-natal, representam ferramentas essenciais no acompanhamento da gestação, auxiliando a identificação precoce de gestantes e fetos sensibilizados, permitindo a monitorização da evolução da anemia fetal e garantindo a adoção de terapêutica adequada para melhorar o prognóstico do recém-nascido.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Histórico

A primeira descrição de DHPN que se tem registro data de 1609, quando uma francesa deu a luz a um gemelar natimorto hidrópico e outro com icterícia grave, o qual foi a óbito posteriormente por Kernicterus (21).

Em 1932, Diamond et al. demonstram que anemia congênita, icterícia e hidropsia fetal faziam parte de uma mesma patologia, na qual a hemólise fetal estimulava a eritropoiese levando a um aumento na concentração de eritroblastos na corrente sanguínea (eritroblastose)(22). Esta doença, devido a hematopoiese extracelular e presença anormal de eritroblastos no sangue periférico, ficou conhecida por muitos anos como eritroblastose fetal (23).

A ligação entre eritroblastose fetal e incompatibilidade Rh tem início em 1939 a partir de estudos de Levine e Stetson, que descreveram uma reação pós-transfusional em uma mãe que havia dado a luz a um recém-nascido hidrópico. Devido à hemorragia pós-parto, esta mulher necessitou receber transfusão sanguínea, sendo seu marido o doador. Eis que a mesma apresentou uma grave reação transfusional, ficando assim evidenciada pelos autores a presença de um anticorpo que aglutinava as células transfundidas. Sendo assim, foi levantada a hipótese de que a mãe havia se sensibilizado contra um antígeno fetal herdado pelo pai (24).

Somente em 1941, após a descoberta do soro anti-Rh feita por Landsteiner e Wiener, Levine e colaboradores determinaram que a referida paciente era Rh negativo com anticorpo anti-Rh capaz de aglutinar as células do seu marido e do seu filho, evidenciando finalmente a causa da hemólise fetal que caracteriza a etiologia da doença (25,26).

O passo seguinte foi dado em 1945 por Coombs, Race e Mourant ao descreverem as provas direta e indireta de Coombs, evidenciando que os anticorpos anti-Rh poderiam sensibilizar hemácias, bem como estar livres no soro de gestantes de fetos com DHPN (27).

Até aquele momento havia evidência do motivo pelo qual a hemólise fetal ocorria, embora não se soubesse ainda o mecanismo pelo qual os antígenos Rh positivo fetais sensibilizariam as mães Rh negativo. Porém, em 1954 Chown observou abundantes hemácias fetais no sangue de uma mãe que havia dado a luz a um feto extremamente anêmico e postulou que mulheres eram sensibilizadas por hemorragia feto-maternas (28). A confirmação deste feito veio em 1957 quando Kleihauer, Braun e Betke comprovaram a presença de hemácias fetais na

circulação sanguínea materna durante a gestação e após o parto, a partir de diferenciação entre ambas as hemoglobinas por eluição ácida (29).

A partir daí conclui-se que, o contato materno perinatal ou pós parto com antígenos presentes nos glóbulos vermelhos do feto, devido a hemorragia feto-materna, bem como transfusões sanguíneas prévias, fenótipo incompatíveis, poderiam desencadear uma resposta imune materna culminando com a formação de aloanticorpos capazes de atravessar a barreira placentária e promover destruição dos eritrócitos fetais, finalizando assim a análise das causas do desenvolvimento da DHPN (30).

Até 1960, a DHPN devido ao sistema de grupos sanguíneos Rhesus (Rh) era considerado o principal contribuinte para as taxas de mortalidade perinatal. Em 1961, Finn e colaboradores definiram a administração de Imunoglobulina anti-D na prevenção da sensibilização ao antígeno RhD e mais tarde, em 1967, juntamente com dois cientistas alemães, Schneider e Preisler, provaram que o anti-D não é útil em mães já sensibilizadas (31,32). Este foi um grande avanço na prevenção da sensibilização, com a recomendação da administração profilática de Imunoglobulina anti-D humana dentro de 72 horas após o parto (33,34).

Desde 1971, a Organização Mundial de Saúde recomenda o uso de Ig anti-D após qualquer evento sensibilizante, parto de recém-nascidos Rh-positivo e abortos (34). Essa recomendação foi reforçada posteriormente pela Associação Americana de Bancos de Sangue (AABB) e pelo Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia (ACOG) (35,36).

A partir da década de 1990, o progresso ocorreu com o avanço dos métodos de monitorização de gestações aloimunizadas por genotipagem eritrocitária e uso do doppler da velocidade sistólica de pico na artéria cerebral média para detecção de anemia fetal, além de tratamentos para a doença (37,38).

Atualmente os esforços se concentram na busca do aprimoramento na detecção de anticorpos e/ou na limitação dos riscos associados à aloimunização (5).

2.2. Conceito de DHPN

Durante a gravidez, anticorpos anti-eritrocitários maternos, naturais ou imunes, pré-formados e da classe IgG, se ligam a receptores Fc fetais/neonatais (FcRn) presentes nas células do sinciciotrofoblasto, atravessam a barreira placentária e reagem com antígenos eritrocitários fetais (herdados do pai), causando encurtamento da sobrevivência dos eritrócitos do feto ou recém-nascido podendo resultar em anemia (30). Este processo correlaciona-se com a concentração

materna de IgG; idade gestacional; integridade placentária; características de IgG incluindo a subclasse, grau e tipo de glicosilação e a natureza/densidade do antígeno. (5,39,40).

A DHPN pode ser desencadeada por mecanismos imunológicos distintos: incompatibilidade ABO entre os anticorpos naturais maternos e os antígenos do Sistema ABO do feto e aloimunização materna contra antígenos eritrocitários pertencentes aos principais Sistemas de grupos sanguíneos (Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS, Diego P, Lutheran e Xg) do feto (2,41–45).

No caso da imunização ABO, por apresentarem ocorrência esperada, os anticorpos são classificados como naturais regulares. Mas, em situação de aloimunização, os anticorpos podem aparecer após estímulos transfusionais e/ou gestacionais, recebendo a denominação de anticorpos imunes e irregulares, devido a sua ocorrência inesperada (2).

2.3. Anticorpos naturais correlacionados com a DHPN

A Doença Hemolítica Perinatal causada pela incompatibilidade ABO foi descrita pela primeira vez em 1944 (46).

Os anticorpos do sistema ABO aparecem espontaneamente no soro de indivíduos imunocompetentes entre 3 e 6 meses de idade, com pico de produção dos 5 aos 10 anos e com diminuição progressiva na velhice. A sensibilização ABO é decorrente de estímulos inespecíficos como: pólen, vacinas e bactérias presentes no trato intestinal, na poeira e em alimentos, semelhantes aos açúcares A e/ou B presentes nas hemácias (1,47). Os anticorpos anti-A e anti-B dos indivíduos B e A, respectivamente, são na sua maioria da classe IgM (2). Mas, em indivíduos com fenótipo O, ocorre maior produção de anticorpos contra os antígenos do Sistema ABO pertencentes à classe IgG (48).

Estes anticorpos naturais regulares da classe IgG, presentes principalmente em gestantes com fenótipo O, podem atravessar a barreira placentária, recobrir os eritrócitos fetais A, B ou AB, (49) acelerando sua destruição antes e depois do nascimento e estimulando um aumento da eritropoiese.

Embora a DHPN causada por incompatibilidade feto materna para os antígenos do Sistema ABO seja a mais comum, seu caráter em geral é benigno (50,51), cursando basicamente com hiperbilirrubinemia e icterícia dentro de 12 a 48 horas do nascimento, embora sem anemia significativa (52). Também podem ser observados graus brandos de hepatoesplenomegalia e aumento moderado de reticulócitos (2).

A severidade da patologia depende de alguns fatores, tais como: a expressão dos antígenos A e B fetais e a subclasse da IgG materna. Os antígenos A e B não estão totalmente expressos nos eritrócitos fetais e, em relação à localização, encontram-se distribuídos por várias células, tecidos e fluidos do organismo, deixando assim poucos anticorpos naturais maternos (anti-A, anti-B e/ou anti-AB classe IgG) disponíveis para se ligarem aos sítios antigênicos A e B dos eritócitos fetais e neonatais (2,48,53). Corroborando com este fato, as imunoglobulinas naturais maternas pertencem, mais frequentemente, à subclasse IgG2, que diferentemente das IgG1 e IgG3, é pouco transferida através da placenta, possui baixa ou nenhuma capacidade de ligação aos receptores dos macrófagos e promove fraca ou nenhuma ativação da via clássica do Sistema Complemento (50,54), não conferindo, portanto, lise celular significativa (48).

Cabe ressaltar que, a incompatibilidade ABO materno-fetal fornece alguma proteção contra DHPN por Rh. O mecanismo proposto se baseia na destruição imediata dos eritrócitos fetais A e/ou B, RhD positivo, presentes na circulação materna, promovida por anticorpos naturais regulares ABO maternos, impossibilitando assim o reconhecimento do antígeno D pelo sistema imune (5,35).

2.4. Anticorpos imunes correlacionados com a DHPN

A aloimunização materna pode ser desencadeada por transfusões sanguíneas prévias fenotipicamente incompatíveis ou por hemorragia feto-materna (HFM) em uma gravidez anterior ou na atual (34,48). Estudos demonstraram que apenas 0,1ml de sangue positivo para o antígeno são suficientes para causar sensibilização (55–58). Independente do estímulo, o aloanticorpo materno formado terá como alvo um antígeno eritrocitário fetal, herdado geneticamente do pai, promovendo destruição eritrocitária precoce e podendo resultar em anemia fetal e neonatal (2).

Embora a doença hemolítica decorrente da produção de anticorpos direcionados ao antígeno D do Sistema Rh seja vista como o protótipo da aloimunização materna em decorrência da sua associação com quadros de maior gravidade (5,43,59–61), desde 1960 existem relatos referentes à importância de aloanticorpos contra antígenos pertencentes a outros Sistemas de grupos sanguíneos (19,52,57,62), tais como: Sistema Kell (antígeno K); Sistema Duffy (antígenos Fy^a e Fy^b); Sistema Kidd (antígenos Jk^a e Jk^b); Sistema MNS (antígenos M, N, S, s, U); Sistema Diego (antígeno Di^a); dentre outros que, pelos mesmos motivos apresentados previamente, podem estimular o sistema imune materno e desencadear a produção de aloanticorpos irregulares imunes que poderão resultar em DHPN.

O quadro 1 elenca a relevância clínica das diferentes especificidades de aloanticorpos eritrocitários envolvidos na DHPN.

Quadro 1. Correlação entre a especificidade do anticorpo e o risco de desenvolvimento de DHPN.

Especificidade do Anticorpo	Risco de desenvolver DHPN em crianças com antígeno positivo e curso clínico da doença
ABO	Baixo risco ^b de doença, em geral leve ^a , incidentalmente grave ^a
Rh	
D	Risco de doença, ^b frequentemente muito grave, caso contrário, leve
c	Alto risco de doença, muito grave ou leve
E	Médio risco ^b para a doença, por vezes graves, mas em sua maioria leves
Outros antígenos Rh	Risco médio de doença, incidentalmente grave, mas principalmente leve
Kell	
K	Alto risco de doença, muito grave ou leve
Outros antígenos Kell	Doença leve a grave de risco médio
Duffy	
Fya/Fyb	Risco médio de doença, principalmente leve
Kidd	
Jka/Jkb	Baixo risco ^b para doença, apenas leve
MNS	
M/N/S/s	Baixo risco ^b para doença, principalmente doença leve, muito raramente grave
Outros antígenos MNS	Baixo risco ^b para doença, principalmente doença leve, muito raramente grave
I, Le, P1, Lu, Yt	Sem risco, por causa da expressão muito baixa desses antígenos nas células fetais
Outros sistemas antigênicos	Risco muito baixo, muito raramente doenças graves podem se desenvolver

^a Doença muito grave: Necessidade de tratamento intrauterino e / ou transfusão de troca após o nascimento. Doença grave: Necessidade de tratamento intrauterino e / ou indução pré-termo de parto e / ou transfusões de sangue após o nascimento. Doença leve: Apenas o tratamento com fototerapia é necessário.

^b Risco alto > 50%, risco médio > 10–50%, baixo risco 1 - 10%, muito baixo / incidentalmente <1%.

Fonte. Traduzido de De Haas et al.,2015.

2.5. Patogênese da DHPN

Após transpor a barreira placentária, os anticorpos maternos da classe IgG se ligam aos antígenos eritrocitários fetais (34). As hemácias fetais revestidas de anticorpos podem ser reconhecidas, removidas da circulação e posteriormente destruídas pelo sistema fagocitário mononuclear do próprio feto, especificamente através de processos hemolíticos

extravasculares. (30,40). A velocidade de destruição depende do título e da especificidade do anticorpo, bem como do número de sítios antigênicos presentes nas hemácias fetais/neonatais (35,53).

A anemia resultante desta destruição estimula a medula óssea fetal a produzir hemácias a uma velocidade acelerada, ao ponto de hemácias imaturas (eritroblastos) serem liberadas na circulação. A exceção a essa regra são os anticorpos dos sistemas de grupos sanguíneos: Kell (anti-K e anti-Kpa) (37,63,64); MNS (anti-M, anti-TSEN e anti-Vw) (65–68) e Gerbich (anti-Ge3) (37) que geralmente seguem uma via alternativa da doença anêmica, mediada por destruição das células progenitoras eritróides que expressam precocemente tais antígenos, resultando em anemia prematura, sem eritroblastose ou reticulocitose e raramente acompanhada por hiperbilirrubinemia após o nascimento, em decorrência da supressão da eritropoiese fetal a nível do progenitor (40). Além disso, o título desses anticorpos no soro materno (especialmente o anti-K) se correlaciona muito pouco com o grau de anemia fetal, ou seja, mesmo em baixos títulos pode haver anemia grave, sugerindo que a anemia fetal seja causada mais por supressão medular do que por hemólise (40).

Quando a eritropoiese medular fetal não é suficiente para compensar o grau de destruição eritrocitária, ocorre eritropoiese extramedular (fígado e baço) levando a hepatoesplenomegalia, resultando em hipertensão portal e lesão hepatocelular. Mantida a anemia grave, começa a ocorrer hipoproteïnemia, devido à redução da produção de proteínas plasmáticas pelo fígado, gerando queda da pressão oncótica e acarretando no desenvolvimento de insuficiência cardíaca com edema generalizado, derrames (pleural e pericárdico) e ascite, condição conhecida como hidropisia fetal (30,49,53).

O processo de destruição das hemácias fetais iniciado intraútero persiste por dias ou semanas após o parto, uma vez que os anticorpos maternos continuam na circulação do recém-nascido. A destruição das hemácias neonatais, além de anemia, pode ocasionar o acúmulo de bilirrubina, que é um produto da degradação da hemoglobina. No período fetal, a bilirrubina é transportada pela placenta, conjugada e eliminada pelo fígado materno (30,34). Porém, após o nascimento, o processo hemolítico continua e o fígado imaturo do neonato não está apto a conjugar e eliminar adequadamente o excesso de bilirrubina (30,69). Sendo assim, nos casos de hemólise moderada a grave, a bilirrubina não conjugada ou indireta pode atingir níveis tóxicos (geralmente, mais de 18 a 20mg/dl) (53), atravessando a barreira hematoencefálica e se depositando nos gânglios da base e núcleos do tronco encefálico do neonato, levando a uma encefalopatia irreversível, cuja lesão anatomopatológica é denominada Kernicterus, que se

caracteriza por perda auditiva, alterações oculomotoras, desvantagens intelectuais, distonia e déficits motores (30,49,70).

Existem vários fatores envolvidos na patogênese da doença que justificam diferentes abordagens diagnósticas, bem como protocolos de tratamento de acordo com a gravidade da doença (35).

2.6. Exames Imuno-hematológicos

2.6.1. Exames Imuno-hematológicos de pré-natal em gestantes

Atualmente, não existe um consenso mundial em relação ao monitoramento laboratorial de gestantes (71). A prática obstétrica recomendada em países de primeiro mundo é realizar, em todas as gestantes, a tipagem sanguínea e a pesquisa de anticorpos irregulares na primeira visita pré-natal, preferencialmente durante o primeiro trimestre (72,73). Mas, embora a triagem universal pareça justificada, o custo envolvido e a falta de infraestrutura e instalações para realização dos testes de acompanhamento necessários ainda impedem tal implementação nos países em desenvolvimento ou com poucos recursos (74).

Segundo British Committee for Standards in Haematology (59); American College of Obstetricians and Gynecologists (75); Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada (73) e Transfusion Science Standing Committee Australian & New Zealand Society of Blood Transfusion (76), todas as gestantes deverão ser testadas em relação à tipagem sanguínea (ABO/RhD) e a triagem de anticorpos, na primeira consulta pré-natal, para identificar o grupo sanguíneo e para detectar anticorpos eritrocitários clinicamente significativos, uma vez que, alguns anticorpos (incluindo anti-D, anti-K e anti-c) estão associados com altos riscos fetais e neonatais, tais como: anemia, icterícia e óbito (59,71,76). Embora todas as referências citadas recomendem a repetição da pesquisa de anticorpos irregulares na 28ª semana gestacional, existem questionamentos em relação ao custo-benefício de tal procedimento, em virtude da taxa de soroconversão ser baixa (73,75).

No Brasil, de acordo com a Caderneta da Gestante distribuída pelo Ministério da Saúde (77), a tipagem sanguínea deverá ser realizada para identificar o tipo sanguíneo de todas as gestantes. Em relação à pesquisa de anticorpos irregulares (Coombs indireto), a determinação é a seguinte: “Se a gestante tem Rh negativo e o pai do bebê tem Rh positivo, ela deve fazer um outro exame durante o pré-natal, o Coombs indireto.” Corroborando com a publicação anterior, o roteiro para solicitação de exames no pré-natal de baixo risco publicado no Caderno de Atenção Básica do Ministério da Saúde (78) determina que a tipagem sanguínea e fator Rh

sejam realizados no primeiro trimestre ou primeira consulta e que o Coombs indireto seja realizado nos três trimestres, caso o resultado do fator Rh da gestante seja negativo. E complementa enfatizando que, nas condutas, diante dos resultados dos exames complementares de rotina, quando a gestante for Rh negativo e parceiro Rh positivo ou fator Rh desconhecido, além de solicitar o teste de Coombs indireto, faz-se necessário repeti-lo a cada 4 semanas a partir da 24ª semana gestacional e, quando este exame apresentar resultado positivo, deve-se referir a gestante ao pré-natal de alto risco.

Independentemente da conduta a ser adotada, é primordial que durante a primeira consulta pré-natal sejam pontuadas questões relacionadas a história clínica das gestantes, tais como: gestações, abortos ou transfusões prévias, bem como, intercorrências ou complicações em gestações ou transfusões anteriores (35,79). Mas, é importante ressaltar que, mulheres RhD positivo têm a mesma probabilidade de mulheres RhD negativo de formar anticorpos (exceto anti-D) principalmente no final da gestação (59,80). Além disso, quando a presença ou desenvolvimento de aloanticorpos eritrocitários maternos é detectada através de exames de triagem pré-natais, a gravidez pode ser monitorada por testes laboratoriais, investigações clínicas, tratamento intra-uterino e/ou indução do parto, visando minimizar o risco de desenvolvimento de doença hemolítica grave (30).

2.6.1.1. Tipagem Sanguínea ABO

A classificação do fenótipo ABO eritrocitário corresponde a constatação da presença ou ausência de antígenos A e/ou B na membrana eritrocitária, empregando antisoros anti-A e anti-B comerciais, etapa conhecida como prova direta. Por outro lado, a detecção da presença ou ausência de anticorpos naturais regulares anti-A e/ou anti-B no plasma destes indivíduos, utilizando hemácias A1 e B comerciais, pertence a etapa do teste chamada prova reversa (37).

Pode-se concluir que, para cada antígeno do Sistema ABO ausente nas hemácias do indivíduo, existe um anticorpo no plasma de especificidade contrária ao respectivo antígeno (2), conforme quadro a seguir:

Quadro 2. Classificação ABO.

Grupo ABO	Antígeno ABO (Hemácia)	Anticopros (soro e/ou plasma)	Genótipos Possíveis
O	Nenhum	Anti-A, Anti-B e Anti-AB	OO

A ₁	A ₁	Anti-B	A ¹ A ¹ ; A ¹ A ² ; A ¹ O
B	B	Anti-A	BB; BO
A ₁ B	A ₁ e B	Nenhum	A ¹ B
A ₂	A ₂	Anti-B / eventual anti-A ₁	A ² A ² ; A ² O
A ₂ B	A ₂ e B	Nenhum / eventual anti-A ₁	A ² B

Fonte. GIRELLO; KÜHN, 2016.

O princípio do método da determinação da tipagem sanguínea ABO baseia-se na técnica de hemaglutinação e pode ser realizada por meio de técnicas em tubo, gel e microplaca (51,81), nas quais, a amostra materna depois de colhida e centrifugada, será fracionada em hemácias e plasma. As hemácias serão suspensas e posteriormente colocadas em contato com os antissoros comerciais (anti-A e anti-B) na prova direta. Simultaneamente o plasma será posto à prova contra hemácias comerciais (A1 e B) na prova reversa. Após a centrifugação, o resultado da tipagem ABO materna poderá ser determinado quando os resultados obtidos na prova direta e reversa forem compatíveis com os observados no quadro acima. Caso contrário, o motivo da discrepância deverá ser estudado visando conclusão da tipagem sanguínea (2,37).

2.6.1.2. Tipagem Sanguínea RhD

O Sistema Rh é o segundo sistema de grupo sanguíneo mais importante em termos de transfusão, em função da alta imunogenicidade dos antígenos que o compõem. Ao contrário dos anticorpos ABO, que são naturalmente encontrados em indivíduos que não possuem o antígeno correspondente, os anticorpos contra os antígenos do sistema Rh são imunes, ou seja, produzidos após exposição à eritrócitos contendo antígenos Rh estranhos ao indivíduo (53).

A tipagem sanguínea RhD é baseada na detecção do antígeno D na membrana das hemácias do indivíduo. Ou seja, a presença do antígeno D caracteriza o indivíduo como RhD positivo e a ausência do referido antígeno o classifica como RhD negativo (2,57).

Na década de 1940, Fisher-Race nomearam os antígenos do Sistema Rh como: D, d, C, c, E, e. Posteriormente foi verificado que “d” representava a ausência do antígeno D (82).

Sabe-se atualmente, que dois genes intimamente ligados e localizados no cromossomo 1 controlam a expressão das proteínas Rh, são eles: RHD e RHCE (83). O gene RHD codifica a produção do antígeno proteico RhD e o gene RHCE codifica a produção das proteínas RhCe, RhcE, Rhce ou RhCE. Além deles, o gene RHAG, localizado no cromossoma 6, é extremamente importante para a expressão dos antígenos Rh (53).

É importante ressaltar que, assim como a exposição ao antígeno D de indivíduos RhD negativos estimula a produção de anticorpo imune anti-D, a exposição às demais especificidades antigênicas que compõem o Sistema Rh também estimulam a formação dos anticorpos correspondentes em indivíduos não portadores de tais antígenos (57).

A determinação da tipagem Rh baseia-se na técnica de hemaglutinação, deve ser acompanhada de um soro controle e pode ser realizada através das metodologias em gel, tubo ou microplaca, embora esta última não seja indicada para visualização do fenótipo RhD fraco (2). Após a centrifugação da amostra materna, as hemácias serão suspensas e colocadas em contato com o antissoro comercial (anti-D) que deverá vir acompanhado de fábrica por um soro controle, o qual também será colocado em contato com a mesma suspensão de hemácias maternas em um tubo, micropoço do gel ou poço da microplaca aparte (81). Após a centrifugação, o resultado da tipagem RhD materna poderá ser determinado, caso o resultado obtido seja compatível com os observados no quadro abaixo:

Quadro 3. Classificação RhD

RhD	Soro Anti-D	Soro Controle RhD	Pesquisa D fraco
Positivo	positivo	negativo	não realizada
Negativo	negativo	negativo	negativa
Fraco ou Parcial	negativo	negativo	positiva
Indeterminado	positivo	positivo	Não realizada

Fonte. Adaptado de Brasil, MS, 2014.

Algumas gestantes podem apresentar resultados discrepantes na tipagem RhD (84). Tais discrepâncias ocorrem devido à presença de variantes do antígeno RhD, em especial D fraco e D parcial. O fenótipo D fraco ocorre por alterações de nucleotídeos que levam a substituição de aminoácidos na região transmembranar e intracelular da proteína Rh, enquanto o fenótipo D parcial ocorre por alterações de nucleotídeos ou rearranjos gênicos que levam a substituição de aminoácidos na região extracelular da proteína Rh, resultando em fenótipos sorológicos distintos e maior propensão à aloimunização anti-D (85).

Gestantes com fenótipo D fraco ou D parcial podem apresentar tipagem RhD variável dependendo dos antissoros ou do método de teste usado em laboratório. Em alguns casos, tais

alterações genéticas permitem formação de aloanticorpos para os epítomos dos glóbulos vermelhos RhD positivo que são diferentes dos seus (84).

Diversos reagentes anti-D monoclonais têm sido desenvolvidos para identificar essas variantes, mas a caracterização molecular pode garantir um resultado mais específico com melhor definição do tipo de variante presente. Esta estratégia pode auxiliar na diferenciação entre D fraco e D parcial e caracterizar as variantes suscetíveis à aloimunização anti-D. Sendo assim, tal distinção é importante na seleção de sangue para pacientes, na prevenção da doença hemolítica do feto e recém-nascido e para fins de indicação profilática de imunoglobulina anti-D (85,86).

Caso a genotipagem RHD não possa ser realizada, recomenda-se que mulheres com reatividade sorológica variável sejam consideradas negativas para RhD e elegíveis para profilaxia com RhIG, a fim de impedir o desenvolvimento de anti-D e reduzir o risco de DHPN (2,84).

2.6.1.3. Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI)

A Pesquisa de Anticorpos Irregulares, também conhecida como teste da antiglobulina humana indireto ou Coombs indireto (CI), é o método mais eficaz e confiável para detecção de anticorpos livres no soro ou plasma dos indivíduos (53).

A técnica preconiza reação do plasma da gestante com duas ou três hemácias comerciais do grupo O, de perfil antigênico conhecido, em presença de antiglobulina humana e incubação. A leitura da reação pode ser realizada em diversas fases, dependendo da metodologia adotada (tubo ou gel). Hemaglutinação ou hemólise em qualquer uma das fases indica presença de anticorpo(s) irregular(es) na amostra materna (2,37).

A positividade no referido teste indica sensibilização em transfusões, abortos, gestações prévias ou em hemorragia feto-maternas durante a gravidez, caracterizando a necessidade de realização de testes complementares, tais como: identificação e titulação do anticorpo irregular presente na amostra materna, visando definir o acompanhamento gestacional adequado (2,53,58).

2.6.1.4. Identificação de Anticorpos Irregulares (IAI)

É recomendado, principalmente em se tratando de gestantes, quando a PAI apresentar resultado positivo, a realização da identificação do referido anticorpo (35,57). Para tal, assim como descrito na PAI, o preconizado é reagir o plasma com um painel contendo pelo menos

dez hemácias comerciais o grupo O, previamente fenotipadas, em presença de antiglobulina e incubação. Ao término, o resultado obtido será lançado no diagrama que acompanha o painel e a(s) especificidade(s) do(s) anticorpo(s) identificada(s) (2,37).

Uma vez detectados os anticorpos eritrocitários na gravidez, o processo de identificação deve ser repetido a cada amostra adicional colhida, pois mulheres que possuem um aloanticorpo correm maior risco de desenvolver anticorpos adicionais (59).

A identificação do anticorpo materno abre caminho para a realização da fenotipagem paterna, na tentativa de sugerir a presença ou ausência do respectivo antígeno no feto, bem como para a realização de testagem pré-natal não-invasiva do DNA fetal livre no sangue materno, visando verificação dos respectivos genes que codificam a produção do antígeno em questão (53,59).

2.6.1.5. Titulação do anticorpo

Após a identificação de um anticorpo, a titulação é ocasionalmente útil para definir a sua concentração relativa presente. Tal teste tem por finalidade definir a mais alta titulação na qual um anticorpo específico demonstra reatividade (87).

Embora existam várias técnicas para a execução desse teste, a mais empregada nos laboratórios é a realização de diversas diluições seriadas (na razão 2) do soro do indivíduo contendo o anticorpo, com posterior reação das mesmas contra hemácias contendo o respectivo antígeno. O título é dado como a maior diluição que apresentar aglutinação igual ou superior a 1+ (53,59).

A titulação de anticorpos no início da gravidez permite estabelecer uma linha de base para comparação com os títulos encontrados *a posteriori* na gestação, sendo apropriada para sugerir o potencial da DHPN (88).

Devido a possibilidade de desenvolvimento de DHPN grave, o monitoramento de gestantes portadoras de anticorpos da classe IgG pode ser realizado através da retestagem, em intervalos regulares, da titulação da amostra recente em paralelo com a amostra inicial, visando controle da variabilidade da técnica e a comparação entre os resultados. O momento em que o valor de corte (título crítico) pré-determinado para o anticorpo seja excedido ou ocorra o aumento de dois títulos em relação a amostra inicial, há indicação de risco aumentado para DHPN grave (30,59,89).

Embora não haja consenso na literatura a respeito do valor de corte para cada um dos aloanticorpos envolvidos na doença, os títulos críticos costumam variar entre 8 e 32 dependendo

do laboratório e das técnicas empregadas (71,90,91). Estudos recentes estipulam que títulos ≥ 16 podem ser associados à ensaios biológicos que medem a fagocitose ou a lise citotóxica (quimioluminescência, ensaio de monocamada de monócitos – MMA ou citotoxicidade celular dependente de anticorpos – ADCC) e predizem a atividade do anticorpo, objetivando melhorar a precisão diagnóstica em casos de alto risco, devido à maior especificidade do teste em relação à titulação. De acordo com os referidos estudos, título de aloanticorpo equivalente ou superior a 16 com um resultado do MMA maior ou igual a 30% indicam possíveis casos de alto risco, para os quais a monitorização clínica não invasiva da gestação é indicada (71,80,88). Outra possibilidade estudada em diversos artigos faz menção à avaliação das características dos anticorpos, incluindo padrões de glicosilação na avidéz de ligação ao Fc γ R de células efectoras, como associação mais íntima à ADCC e ao resultado fetal do que o título (6,39,92).

Infelizmente, ensaios biológicos e padrões de glicosilação dos anticorpos são tecnicamente mais complexos e de difícil validação, portanto, não são amplamente adotados (88).

Cabe ressaltar que o título do anticorpo isoladamente não é capaz de prever a gravidade da DHPN (91). Em vez disso, a titulação como teste de triagem, indica o encaminhamento de gestantes para cuidados especializados e necessidade de monitoramento da DHPN por meios não sorológicos (53,88).

Ultrassonografia e Doppler da artéria cerebral média fetal (VSP-ACM) são exemplos de exames clínicos não invasivos de escolha para a monitorização dos casos de gestações com risco de DHPN grave (53,93), previamente detectados através de titulação, associada ou não a ensaios biológicos e/ou avaliação das características dos anticorpos.

2.6.2. Exames Imuno-hematológicos em recém-nascidos

A testagem sorológica do sangue de cordão (ou sangue periférico) utilizada para diagnosticar DHPN deve contemplar minimamente os testes abaixo relacionados.

2.6.2.1. Tipagem Sanguínea ABO

Como os recém-nascidos não possuem anticorpos próprios, para a tipagem sanguínea ABO realiza-se somente a prova direta para detecção dos antígenos ABO presentes nos eritrócitos, embora tal teste possa apresentar reações mais fracas devido ao fato dos referidos antígenos não estarem completamente desenvolvidos ao nascimento (35).

2.6.2.2. Tipagem Sanguínea RhD

Embora o antígeno RhD esteja bem desenvolvido e expresso nas hemácias fetais a partir da sexta semana de gestação (41), caso a determinação da presença do antígeno D nos eritrócitos do recém-nascido gere algum tipo de dúvida devido a presença de anticorpos maternos (RhD bloqueado) (34,35) ou mutações antigênicas eritrocitárias, a utilização de técnica de eluição, métodos contendo a fase de antiglobulina humana ou biologia molecular se fazem necessários.

Na presença de antígeno D normal, D fraco ou na inconclusão da tipagem sanguínea RhD do recém-nascido de mães RhD negativo não sensibilizadas por anti-D, há indicação da administração materna de imunoglobulina anti-D e pressupõe utilização de técnicas adicionais (testes moleculares) para elucidação dos resultados fracos ou inconclusivos (49).

2.6.2.3. Teste de Antiglobulina Humana Direto (Coombs Direto)

O teste da antiglobulina humana direto (TAD) ou Coombs direto (CD), é o teste sorológico mais sugestivo de DHPN e se baseia na pesquisa da presença de hemácias neonatais sensibilizadas por anticorpos e/ou frações do complemento maternos “*in vivo*” (2). Entretanto, a força da reação não se correlaciona com a gravidade da DHPN (53,94).

A técnica se fundamenta na aglutinação de hemácias do recém-nascido revestidas por anticorpos e/ou frações do complemento materno em presença de reagente antiglobulina humana (57).

A análise isolada de resultado de Coombs direto positivo nem sempre indica redução da sobrevivência dos eritrócitos (2,81). Além disso, em algumas situações (baixo título de anticorpos, fraca interação antígeno-anticorpo ou hemólise intravascular), apesar do resultado do teste de Coombs direto ser negativo, não exclui a sensibilização dos eritrócitos neonatais (95). Portanto, exames complementares: clínicos, laboratoriais (Hemoglobina, Hematócrito, Bilirrubinas totais e frações, Lactato Desidrogenase e Reticulócitos) e imuno-hematológicos (Eluato da amostra do recém-nascido CD negativo de mães aloimunizadas) auxiliarão na conclusão do diagnóstico de DHPN (34,96).

2.6.2.4. Teste de Eluição (Eluato)

Nos casos em que o teste de antiglobulina direto apresenta resultado positivo, o teste de eluição de anticorpos maternos pode ser realizado na amostra do recém-nascido, com o intuito de retirar o anticorpo sensibilizante da hemácia, para posterior identificação (51,57).

Existem várias técnicas capazes de remover anticorpos da classe IgG da membrana dos eritrócitos, sendo as mais utilizadas: Técnica de aquecimento (56°C) e Técnica do congelamento (LUI), ambas para investigação de DHPN por anticorpos do Sistema ABO e a Técnica da glicina ácida, que utiliza soluções que alteram o pH, objetivando averiguar DHPN por anticorpos IgG do Sistema ABO e dos demais Sistemas de grupos sanguíneos (72).

Um eluato positivo de eritrócitos neonatais confirma a presença do anticorpo materno contra o antígeno correspondente nas hemácias de cordão (94).

2.7. Exames Complementares (Pré-natais)

Em casos de aloimunização materna detectada, a possibilidade de hemólise fetal deverá ser ponderada. Dessa forma, desde a última década, exames complementares como: fenotipagem paterna para o antígeno alvo e testagem do DNA fetal livre no plasma materno são oferecidos por diversos laboratórios (5,48). A presença do antígeno em homozigose ou heterozigose nas hemácias paternas e a presença do material genético fetal pesquisado no plasma materno, corroborando com o aumento significativo do título do anticorpo materno, exigem solicitação de exames clínicos pré-natais não invasivos e/ou invasivos na tentativa de melhor avaliar a condição do feto (51,53,59,91).

2.7.1. Exames Não Invasivos

2.7.1.1. DNA Fetal Livre no Plasma Materno

A natureza não invasiva da pesquisa de DNA fetal livre em circulação materna representa sua maior vantagem sobre os métodos convencionais de diagnóstico pré-natal e avaliação do prognóstico de diversas doenças (97).

Diferentes técnicas moleculares utilizando o sequenciamento de última geração do DNA fetal livre de células (cff DNA) são capazes de detectar pequenas quantidades de ácido nucleico fetal (3% - 13% após 10 semanas de gestação) circulantes no soro materno (98).

Na DHPN, a aplicação dessa metodologia permite a detecção precoce do grupo sanguíneo fetal, possibilitando, por exemplo, a determinação pré-natal do genótipo RhD fetal, conferindo extrema relevância nas gestações de pacientes RhD negativo aloimunizadas por anticorpo anti-D, no que concerne a definição da necessidade de intervenções com riscos de perda fetal ou mesmo de imunoprofilaxia gestacional com uso de imunoglobulina anti-D (16,99).

Atualmente, o genótipo fetal para os antígenos D, c, C, e, E, e K pode ser determinado utilizando análise de DNA fetal livre presente no plasma materno com um alto grau de sensibilidade e especificidade (9,39).

2.7.1.2. Velocidade Sistólica de Pico na Artéria Cerebral Média Fetal (VSP-ACM)

A artéria média cerebral é selecionada para a realização deste exame devido ao fato de responder rapidamente a hipoxemia, apresentando maior pico de velocidade do fluxo sanguíneo sistólico em fetos com anemia. Além disso, ela é facilmente visualizada com um ângulo próximo a zero graus entre o feixe do ultrassom e a direção do fluxo sanguíneo, apresentando baixa variabilidade intraobservador e interobservador (58,93). Sendo assim, VSP-ACM é considerado o preditor não invasivo mais preciso de anemia fetal (100).

A medição da velocidade sistólica máxima na artéria cerebral média fetal (VSP-ACM) é feita a partir de 16 a 20 semanas de gestação, utilizando equipamento de ultrassonografia color Doppler e se baseia na observação da redução da viscosidade sanguínea em processos anêmicos, ocasionando o aumento do débito cardíaco e da velocidade do fluxo sanguíneo na artéria cerebral média fetal (34,53).

A velocidade sistólica máxima (arterial) é plotada em um gráfico padronizado para determinar o ponto crítico, a partir do qual, exames invasivos tornam-se necessários para melhor avaliação do feto (35).

Em 2000, Mari et al. determinaram que o risco de anemia fetal moderada a grave era elevado em fetos com pico de velocidade sistólica maior ou igual a 1,50 múltiplos da mediana (MoM) para a idade gestacional correspondente, com uma taxa de falso positivo de 12%. Fetos com valores abaixo de 1,50 MoM não apresentam anemia ou apresentam apenas anemia leve (93). Posteriormente, Oepkes *et al.* confirmaram a superioridade do doppler da VSP-ACM sobre a dosagem da densidade óptica no comprimento de onda 450nm do líquido amniótico, tornando a amniocentese obsoleta para triagem de anemia fetal (101).

Atualmente, a VSP-ACM é a técnica não invasiva de referência para anemia fetal em gestantes aloimunizadas, além de poder ser empregada para fornecer uma estimativa do intervalo de transfusões intrauterinas (51,102–104).

2.7.2. Exame Invasivo

Embora os procedimentos invasivos para determinação de anemia fetal sejam necessários em algumas situações, eles oferecem riscos de infecção, abortamento, trabalho de

parto prematuro, agravamento da sensibilização materna e rompimento das membranas corioamnióticas (53). Dessa forma, devem ser solicitados e realizados com muita cautela.

2.7.2.1. Cordocentese

Técnica descrita em 1983 por Daffos et al., que pode ser realizada a partir da 18ª semana de gestação e se baseia na coleta de uma amostra de sangue fetal a partir do cordão umbilical, utilizando ultrassonografia de alta resolução com contraste para visualização da veia umbilical ao nível da inserção do cordão na placenta (105). A amostra de sangue fetal pode ser testada quanto a hemoglobina, hematócrito, bilirrubina, tipo sanguíneo, Coombs direto, fenotipagem do antígeno, além de doenças genéticas e infecciosas (35,53). Este exame deve ser solicitado somente em casos de forte suspeita de anemia fetal e deve preceder à transfusão intrauterina (106,107).

2.8. Alternativas de profilaxia materna

Embora os casos mais graves descritos acerca da DHPN continuem relacionados principalmente à aloimunização de gestantes pelo anticorpo anti-D, a referida doença não está restrita a ele (34,42,57,78). Desta forma, atualmente, os esforços para diminuir o impacto da DHPN envolvem, além da imunoprofilaxia anti-D aplicada de forma oportuna e abrangente, a utilização de outros meios de profilaxia que visam prevenir a sensibilização de gestantes ou mulheres em idade fértil, com o intuito de coibir o desenvolvimento da DHPN, pois o tratamento da patologia além de complexo é financeiramente oneroso (108).

2.8.1. Imunoglobulina RhD (RhIG)

A imunoglobulina RhD é uma preparação de IgG humana, contendo anticorpos contra o antígeno D dos glóbulos vermelhos, que bloqueia a resposta imune primária às células RhD positivas, atuando na prevenção da doença hemolítica RhD do feto e do recém-nascido (44).

Embora o maior risco de imunização RhD ocorra no momento do parto, existem relatos de sensibilização materna durante a gestação, principalmente no terceiro trimestre, indicando que uma quantidade significativa de hemácias fetais podem entrar na circulação materna durante a gravidez (21,75,109). Baseado neste fato e apoiados pelas recomendações do *National Institute for Health and Care Excellence* (109) e do *British Committee for Standards in Haematology* (110), diversos países desenvolvidos preconizam como profilaxia padrão de mulheres RhD negativo não sensibilizadas por anticorpos anti-D, além da administração pós-

parto (em até 72h), a utilização pré-natal da imunoglobulina RhD (na 28ª semana gestacional) (111). Tal procedimento, conhecido como profilaxia pré-natal anti-D de rotina (RAADP), visa reduzir a taxa de risco de aloimunização materna para o antígeno D (30,75,109).

Apesar do amplo uso da profilaxia RhIG, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado (112). Evidências indicam que, além da destruição de hemácias RhD positivas fetais, parte dos antígenos D são mascarados pela ação da medicação e, possivelmente, ocorre uma imunomodulação dos linfócitos B impedindo-os de fabricar anti-D (supressão imune mediada por anticorpos) (112,113).

Conforme protocolos, as vias de administração intramuscular (IM) ou intravenosa (IV) podem ser utilizadas e a dose administrada varia de acordo com o evento, uma vez que é diretamente proporcional a intensidade da hemorragia feto-materna (73). No Brasil, apesar da dose preconizada de imunoglobulina anti-D ser de 300 µg, a apresentação de 250 µg também está disponível (107).

O termo hemorragia feto-materna excessiva é empregado para designar eventos nos quais o volume de hemácias fetais transferidos para a circulação materna supera a capacidade de neutralização conferida pela dose de RhIG utilizada (114). Nesses casos, testes qualitativos e quantitativos de análise de hemorragia feto-materna podem ser empregados para definir o novo cálculo da dose da Imunoglobulina anti-D (53). O teste qualitativo da roseta pode detectar volumes maiores que 2ml de sangue total fetal na circulação materna e deve ser seguido por um método quantitativo que determine a porcentagem de hemácias fetais presentes na circulação materna, como por exemplo o teste de eluição ácida de Kleihauer-Betke ou um teste que apresente maior sensibilidade e precisão, como a citometria de fluxo, capaz de detectar o antígeno RhD na superfície dos eritrócitos fetais/neonatais (75,115).

O tempo de meia-vida da RhIG é cerca de 21 dias, portanto, parte da dose administrada no período pré-natal pode ser observada até o momento do parto em baixos títulos (raramente excedendo o título 8) e não deve ser interpretada erroneamente como imunização ativa ao invés de passiva (73,107).

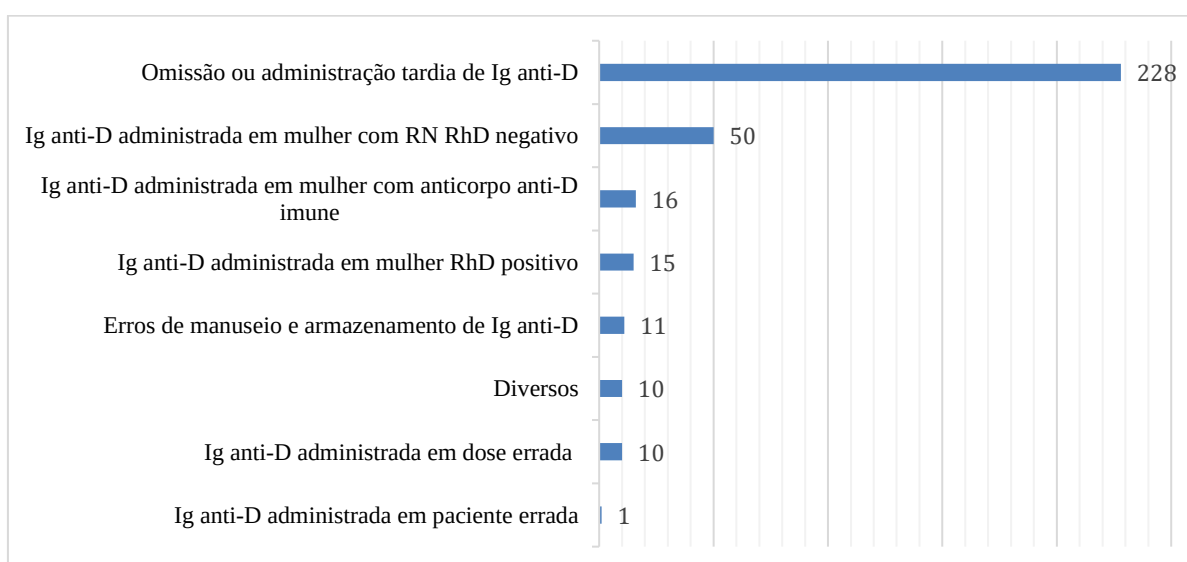
Independentemente da circunstância de utilização, é importante avaliar a necessidade de se obter um consentimento informado, verbal ou por escrito, antes da administração da imunoglobulina RhD, uma vez que a medicação é derivada de plasma de doadores humanos imunizados com anti-D, portanto, a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente descartada (73,110,112).

A erradicação da DHPN por anti-D tornou-se possível desde a introdução da imunoglobulina RhD em 1961 (31). Entretanto, ainda nos dias atuais, a DHPN por anti-D é um

problema devido ao acompanhamento ineficiente das gestantes; inadequada detecção da hemorragia feto-materna; administração tardia ou em volume insuficiente da imunoglobulina; omissão de administração após evento reconhecidamente sensibilizante e raros casos de imunização espontânea, apesar de adesão correta ao protocolo de profilaxia recomendado (55,75).

A figura abaixo, extraída do Relatório Anual de Eventos Graves de Transfusão (SHOT) do Reino Unido (116), demonstra a distribuição dos erros humanos relacionados à imunoglobulina anti-D em 2021. Dos 341 casos revisados, 228 (66,9%) estavam relacionados à omissão ou administração tardia de Ig anti-D. Esta é uma tendência contínua e preocupante que resulta em um grande número de mulheres sendo colocadas em risco de sensibilização pelo antígeno D e podendo resultar em morbidade e mortalidade dos neonatos afetados (117).

Figura 1. Distribuição dos erros humanos relacionados à imunoglobulina anti-D



Fonte: Adaptado do Annual Serious Hazard of Transfusion (SHOT) Report, 2021.

2.8.2. Procedimentos especiais adotados para transfusão de hemocomponentes em gestantes

Koelewijn et al. descreveram que a transfusão de hemácias é o fator de risco mais importante para aloimunização não-RhD durante a gravidez, seguido pela hemorragia feto-materna, uma vez que nem as hemácias transfundidas nem as hemácias fetais correspondem perfeitamente às maternas (118).

Segundo a Organização Mundial da Saúde e o Ministério da Saúde, a anemia na gestação é laboratorialmente diagnosticada quando a hemoglobina se encontra abaixo de 11g/dl (119,120).

Quando, após a avaliação obstétrica, verifica-se que há necessidade de transfusão sanguínea, o Serviço de Hemoterapia deverá ser acionado e lançar mão de protocolos transfusionais pré-definidos para a seleção adequada do hemocomponente a ser transfundido, levando em consideração a inclusão de procedimentos especiais, como por exemplo: desleucocitação e fenotipagem de antígenos eritrocitários (4,121).

A desleucocitação é um procedimento realizado através de filtros específicos para remoção de leucócitos de um componente sanguíneo celular (concentrado de hemácias ou concentrado de plaquetas). Com este procedimento ocorre redução de 99,9% dos leucócitos no componente sanguíneo a ser utilizado e está indicado na prevenção de complicações relacionadas à transfusão de hemocomponentes, tais como: infecção por Citomegalovírus e reação febril não hemolítica (122,123).

A fenotipagem de antígenos eritrocitários tem por princípio identificar os antígenos mais imunogênicos dos diversos sistemas de grupos sanguíneos (como por exemplo: D, K, E, c, Jk^a, Fy^a, S e s), objetivando a busca de transfusões de sangue fenotipicamente compatíveis, além disso, pode ser útil na confirmação de aloanticorpos já existentes e na identificação de anticorpos que podem ser formados no futuro (124). Embora os procedimentos de fenotipagem sejam complexos e onerosos, fatores que dificultam sua utilização rotineira, a implantação de protocolos seguros e eficientes de fenotipagem de grupos sanguíneos pode reduzir drasticamente os riscos de desenvolvimento de aloanticorpos em pacientes que recebem transfusão sanguínea, principalmente quando se trata de mulheres em idade fértil (30,91). A introdução de transfusões sanguíneas fenótipo compatíveis para Rh (D,C,c,E,e) e Kell (K) em mulheres com idade inferior a 45 anos contribuirá, ao longo do tempo, para uma grande redução de imunizações e casos de DHPN grave (5,6,118,125,126).

2.9. Tratamento pré-natal da DHPN

Até a década de 1960, não havia opções de tratamento pré-natal para DHPN grave. A única intervenção possível em caso de suspeita de anemia fetal era a realização do parto prematuro para propiciar o tratamento. A DHPN era, até então, uma das principais causas de mortalidade perinatal (100).

Atualmente, as terapias médicas potenciais para gestações aloimunizadas, operam reduzindo a quantidade de anticorpos IgG maternos circulantes (impedindo sua produção); potencializando sua eliminação das circulações materna e fetal; prevenindo o transporte transplacentário do anticorpo materno anti-eritrocitário para a circulação fetal (bloqueando o FcRn) ou alterando a interação entre o anticorpo e o antígeno fetal alvo (9).

2.9.1. Transfusão intrauterina (TIU)

Com o uso de transfusões intrauterinas, a mortalidade perinatal geral na anemia fetal grave diminuiu para menos de 10% (127). O procedimento de transfusão intrauterina na cavidade abdominal do feto foi descrito pela primeira vez em 1963, como uma medida preventiva da mortalidade causada pela DHPN (128). Mas somente a partir de 1981, quando a TIU intravascular por fetoscopia foi descrita e posteriormente aprimorada, com a substituição gradual do fetoscópio pelo aparelho de ultrassonografia, a técnica passou a ser a pedra angular no tratamento da anemia fetal devido a aloimunização eritrocitária materna (100,129).

A TIU se faz necessária em algumas circunstâncias como: anemia (nível de hemoglobina inferior a 10g/dl ou déficit de concentração de hemoglobina fetal ≥ 5 g/dl) diagnosticada após cordocentese precedida de doppler da VSP-ACM ($\geq 1,5$ MoM) ou ultrassonografia indicando sinais de hidropsia fetal; e níveis de anticorpos > 35 IU/ mL (35,53,100,130,131).

A técnica é realizada em fetos entre 18 e 35 semanas, através da infusão de hemácias, para manter a hemoglobina fetal acima de 10g/dl, podendo gerar necessidade de transfusão pós-parto devido ao fato de suprimir a produção eritrocitária pela medula óssea fetal (53).

Uma vez iniciado, o procedimento é repetido de duas a três semanas até o parto (103), de acordo com o decréscimo médio da Hb/dia, uma vez que, a acuidade da VSP-ACM para prever anemia fetal moderada a grave é menor nos casos já tratados com TIU (131–133).

A seleção dos concentrados de hemácias destinados à TIU deve seguir os seguintes critérios: Tipagem sanguínea O; negativos para o antígeno RhD ou outro antígeno para o qual a gestante seja aloimunizada; prova cruzada compatível com o soro materno; colhido a menos de 5 dias (para garantir os níveis ideais de 2,3-difosfoglicerato e evitar altos níveis de potássio); com elevado hematócrito (em torno de 80%) para redução da sobrecarga volêmica; lavados (para remoção de proteínas plasmáticas); irradiados até 24 horas antes do procedimento a 25 Gy (para prevenir a doença do enxerto contra hospedeiro associada à transfusão (DECH-AT); com provas sorológicas de rotina negativas; leucodepletados (para prevenção de reações febris

não hemolíticas e de risco de transmissão de infecção por citomegalovírus); hemoglobina S negativos (41,103,130,134,135) e a velocidade de infusão deve ser de 5ml / min ou ainda mais lenta (2–3 mL / min) no caso de um feto hidrópico, com o objetivo de atingir HTC 40-45% (135).

Quando a TIU é realizada com hemácias totalmente compatíveis ao fenótipo materno em relação aos antígenos: D, C, E, K, Fy, Jk e S, pode ajudar a prevenir mais aloimunização em casos complexos de DHPN (39,136). Outra estratégia considerada, é o uso de doações seriadas de sangue materno para TIU, com suporte hematínico adequado, ou uso de um único doador pareado (39).

Embora a TIU seja considerada relativamente segura, com taxa de sobrevivência global variando de 90 a 97% em diferentes estudos (104,129,137), as possíveis complicações relacionadas a este procedimento incluem: sangramento no local da punção, oclusão do cordão umbilical, alteração da frequência cardíaca, infecção intra-uterina, indução adicional de aloanticorpos maternos, parto prematuro, cesariana de emergência ou até a morte fetal (9,100,103).

Estudos recentes demonstram que as taxas de complicações relacionadas ao procedimento são baixas (3,3% por feto e 1,2% por procedimento em mãos experientes) (129) e principalmente observadas em TIU realizadas no início do segundo trimestre, antes de 20 a 22 semanas de gestação (100,129,138), devido às dificuldades técnicas encontradas nesta idade gestacional, e ao fato do feto mais imaturo e não ser capaz de tolerar as alterações hemodinâmicas verificadas após uma transfusão (133).

Algumas estratégias são propostas com intuito de reduzir complicações e melhorar o resultado perinatal em caso de anemia fetal no início do segundo trimestre, tais como: TIU utilizando a via transfusional intra-hepática, transfusões intraperitoneais ou opções de tratamento não invasivos (plasmaférese e/ou imunoglobulina intravenosa) para adiar transfusões intravasculares precoces (100,135,136).

2.9.2. Plasmaférese terapêutica

A plasmaférese materna é uma opção de abordagem terapêutica a fim de reduzir o título de aloanticorpos presentes no plasma da mãe (139). Tal procedimento se baseia na troca plasmática com concomitante substituição por um líquido rico em albumina. Desta forma, pode promover redução de até 75% nos títulos de anticorpos maternos direcionados contra antígenos eritrocitários fetais (100,140).

Embora o procedimento de troca plasmática possa ser útil nos casos de DHPN desenvolvidas no início da gestação (por volta da 20ª semana), não deve ser utilizado como tratamento exclusivo se a anemia fetal já estiver estabelecida. Além disso, na intenção de adiar o início das transfusões intrauterinas, o valor benéfico do procedimento se mostrou reduzido quando aplicado isoladamente, devido a um efeito rebote que gera um aumento rápido nos níveis de anticorpos em quantidades iguais ou superiores às observadas previamente (39,138), sem falar nos efeitos colaterais como: variações na pressão sanguínea materna, aumento da citotoxicidade celular dependente de anticorpos, riscos aumentados de hemorragia pós-parto e infecções maternas e neonatais (100,141), perda de eletrólitos e proteínas importantes como fatores de coagulação e outras imunoglobulinas (9).

A decisão da aplicação da técnica objetivando adiar uma TIU precoce deve ser individualizada e pode ser tomada em casos de histórico de DHPN grave. Nesse caso, o procedimento será melhor aproveitado em combinação com imunoglobulina intravenosa (91,141,142).

2.9.3. Imunoglobulina intravenosa (IGIV)

O uso da imunoglobulina intravenosa na mãe, a partir da 12ª semana de gravidez, é uma das estratégias alternativas para prevenir ou reduzir a hemólise fetal em gestações gravemente aloimunizada (100,143,144).

O mecanismo de ação da IGIV envolve: diluição dos aloanticorpos maternos; saturação de receptores Fc fetal/neonatal (FcRn), induzindo inibição competitiva suficiente para bloquear a transferência placentária de anticorpos IgG maternos para o feto; feedback negativo sobre a produção materna de anticorpos e bloqueio do receptor Fc dos macrófagos do sistema retículoendotelial fetal, resultando em diminuição da captação de células fetais opsonizadas (9,100,145).

A dose administrada de 2g/Kg durante 5 dias pode ser transformada em injeções semanais de 500mg – 1g/Kg, associadas ou não a plasmaférese materna ou transfusão intrauterina (146,147).

Um cronograma sugerido de combinação de IGIV e plasmaférese terapêutica composto por três tratamentos seriados de plasmaférese na 12ª semana de gestação seguidos pela administração semanal de IGIV pode ser aplicado em casos mais graves (142).

Segundo Margulies et al., embora a IGIV promova um declínio significativo nos títulos de anticorpos maternos e na taxa de hemólise, a TIU é inevitável em casos de fetos com anemia fetal avançada e hidróticos (148).

2.9.4. Outros

Recentemente, uma terapia experimental utilizando anticorpos monoclonais M281(nipocalimabe), um agente bloqueador do receptor FcRn com afinidade de ligação mil vezes maior do que a IgG, promove inibição significativa da transferência de imunoglobulina G através da placenta, com transferência mínima de M281, e visa atender à necessidade contínua de intervenção não cirúrgica eficaz para grávidas com DHPN, especialmente aquelas que provavelmente exigirão TIU durante o início da gestação (9,149).

2.10. Tratamento de recém-nascidos com DHPN

Dependendo das condições obstétricas o parto prematuro é indicado, principalmente após a 35ª semana gestacional, na intenção de interromper a transferência placentária de anticorpos. Antes deste período, os tratamentos *in utero* são recomendados em casos graves (106).

O manejo pós-natal da doença hemolítica perinatal é centrado principalmente no tratamento da hiperbilirrubinemia com fototerapia e/ou exsanguíneotransfusão para prevenir a encefalopatia bilirrubínica (127). Portanto, a triagem regular da hemoglobina e bilirrubina nos neonatos com DHPN é essencial para a detecção precoce de anemia e hiperbilirrubinemia significativa, visando iniciar o tratamento no intuito de evitar possíveis complicações (96).

2.10.1. Transfusão de concentrado de hemácias em recém-nascidos

Os recém-nascidos afetados pela DHPN podem apresentar, além da anemia hemolítica ocasionada pela aloimunização materna perinatal, uma anemia hiporregenerativa devido a supressão eritropoiética medular (motivada por algumas especificidades de aloanticorpos, bem como por transfusões simples e/ou intrauterinas), a qual pode durar semanas ou meses após o nascimento (49).

Embora as indicações para transfusão de glóbulos vermelhos em neonatos permaneçam um tanto controversas, principalmente devido ao fato da concentração de hemoglobina ou hematócrito não refletirem com precisão a massa de glóbulos vermelhos em recém-nascidos prematuros e/ou doentes e pela dificuldade em determinar quando um neonato pode se

beneficiar de uma transfusão por causa dos níveis variáveis e do tipo de hemoglobina (HbF *versus* HbA), em geral devem ser transfundidos: neonatos que apresentam perda sanguínea aguda maior que 10% do volume sanguíneo; hemoglobina inferior a 8,0 g/dL associada a sintomas de anemia; ou hemoglobina menor que 12,0 g/dl em casos de síndrome do desconforto respiratório ou doença cardíaca congênita (150).

Os gatilhos para a transfusão de concentrado de hemácias para neonatos baseiam-se não somente no valor do hematócrito ou taxa de hemoglobina, mas também na condição clínica (status cardiorrespiratório, insuficiente ganho de peso, necessidade de oxigênio suplementar, letargia e algumas comorbidades), idade gestacional ao nascimento e idade pós-natal (79,103,151). Além disso, o volume a ser infundido em cada transfusão não deve exceder 10 a 15mL/Kg/4 horas (103,122,123).

Na amostra pré-transfusional do neonato será realizada tipagem ABO direta e determinação do antígeno RhD em presença de soro controle do reagente, o concentrado de hemácias escolhido deve ser do grupo sanguíneo O (caso não seja possível, realizar investigação prévia no plasma do neonato de anticorpos anti-A e anti-B que impossibilitem transfusão de hemácias dos demais grupos), também será realizada pesquisa de anticorpos antieritrocitários irregulares utilizando, preferencialmente, soro da mãe ou eluato do recém-nascido e a prova de compatibilização poderá ser dispensada na primeira transfusão, caso o resultado da pesquisa de anticorpos irregulares seja negativa e o concentrado de hemácias a ser transfundido seja do grupo O. Por outro lado, quando a pesquisa de anticorpos irregulares apresenta resultado positivo para anticorpos clinicamente significativos, a transfusão deverá ser realizada utilizando hemocomponentes fenotipados que não possuam o antígeno correspondente e, nestes casos, a prova de compatibilidade deverá ser realizada utilizando o soro da mãe ou do neonato (134).

O concentrado de hemácias para uso em recém-nascidos com peso inferior a 1.200 gramas deve ser irradiado, desleucocitado ou não reagentes para Citomegalovírus, hemoglobina S negativo e, preferencialmente, colhido em CPDA1 (134).

2.10.2. Exsanguíneotransfusão (EXT)

Também conhecida como transfusão de troca, foi induzida pela primeira vez em 1946 (152), para tratamento da hiperbilirrubinemia neonatal e fundamenta-se na utilização de sangue total ou reconstituído (concentrado de hemácias + plasma fresco congelado) para substituir o sangue circulante do recém-nascido (135). A exsanguíneotransfusão remove altos níveis de bilirrubina indireta (não conjugada) do neonato para prevenir o kernicterus, além de retirar parte

dos anticorpos maternos circulantes e de hemácias neonatais sensibilizadas, interrompendo assim a produção de bilirrubina causada por hemólise e colaborando na correção da anemia (53,57).

Para a seleção do componente sanguíneo destinado à exsanguíneotransusão em recém-nascidos, será utilizado sangue total colhido há menos de cinco dias (caso não haja disponibilidade de sangue recente, será necessária uma autorização por escrito do médico assistente e do médico hemoterapeuta). Em caso de reconstituição, é recomendado o uso de plasma compatível com as hemácias do neonato e hemácias compatíveis com plasma da mãe ou simplesmente concentrado de hemácias do grupo O e plasma fresco congelado do grupo AB (134). Nos casos de incompatibilidade pelo sistema Rh ou por outros sistemas, as hemácias serão compatíveis com o plasma da mãe e desprovidas do(s) antígeno(s) contra o(s) qual (is) a mãe está imunizada (135).

O concentrado de hemácias para uso em recém-nascidos com peso inferior a 1.200 gramas deve ser irradiado, desleucocitado ou não reagentes para Citomegalovírus e hemoglobina S negativo (134). A irradiação torna-se essencial se o recém-nascido realizou TIU anterior (153,154).

Os testes pré-transfusionais obrigatórios para a seleção dos hemocomponentes incluem: tipagem ABO e RhD, pesquisa de anticorpos irregulares, prova de compatibilidade, além da inclusão do teste direto da antiglobulina humana com execução do teste de eluição quando ocorrer positividade, visando identificação do(s) anticorpo(s) materno(s) sensibilizante(s) (135,155).

Em virtude dos avanços na fototerapia, a exsanguíneotransusão torna-se cada vez menos necessária (53,106,135), permanecendo sua utilização recomendada nos casos em que os níveis de bilirrubina mantêm-se acima dos limiares aceitáveis apesar da fototerapia intensiva ou quando há sinal de encefalopatia aguda bilirrubínica (156).

2.10.3. Fototerapia

Introduzida em 1956 por Cremer e Perryman, é a modalidade terapêutica mais utilizada mundialmente para o tratamento da hiperbilirrubinemia ou icterícia neonatal (18). Tal procedimento é realizado no recém-nascido para converter a bilirrubina indireta em isômeros solúveis menos lipofílicos e menos tóxicos para o cérebro (53).

A fototerapêutica da hiperbilirrubinemia teve início com a fototerapia convencional com a utilização de lâmpadas fluorescentes (branca, azul, azul especial e verde) que iluminavam

uma grande superfície corporal, uma vez que as faces anterior e posterior eram irradiadas (Octofoto®). Posteriormente houve a introdução de lâmpadas halógenas especiais (Bilispot®) e uma variação em que a luz se propagava por meio de um cabo de fibra ótica, apresentando menores dimensões e permitindo utilização simultânea à amamentação e à fototerapia convencional (Biliblanket® ou colchão luminoso). Na sequência surgiu a fototerapia de alta intensidade, com emissão de alta irradiância abrangendo maior superfície corporal do recém-nascido (Biliberço®), e mais recentemente surgiu o Super-Led que possibilitou a construção de equipamentos menores e mais leves (Bilitron®)(157).

O tratamento oportuno de recém-nascidos ictericos com fototerapia pode prevenir hiperbilirrubinemia grave e suas sequelas neurológicas, bem como a necessidade de tratamento invasivo (transfusão ou troca sanguínea) (158).

2.10.4. Imunoglobulina Intravenosa (IVIG)

Apesar da eficácia do tratamento com imunoglobulina intravenosa ainda não ter sido comprovada, na literatura tem se discutido sua utilização no tratamento de hiperbilirrubinemia do recém-nascido causada por DHPN (30).

Seu mecanismo de ação se baseia na competição com anticorpos maternos pelos receptores Fc nos macrófagos do baço do neonato, reduzindo a degradação dos eritrócitos revestidos com anticorpos e, conseqüentemente, diminuindo os níveis circulantes de bilirrubina não conjugada (bilirrubina indireta) (53).

Na DHPN, quando ocorre aumento da bilirrubina total apesar da utilização de fototerapia intensiva ou quando a bilirrubina total se aproxima de 2 a 3 mg/dL do nível de indicação de exsanguíneotransfusão, pode-se administrar imunoglobulina intravenosa 0,5-1,0g/Kg em 2 horas e repetir após 12 horas, se necessário (42,62,156).

3 . JUSTIFICATIVA

Contribuir para o aprendizado e disseminação do conhecimento entre os profissionais de saúde da área materno-infantil do HNMD em relação à solicitação de exames imuno-hematológicos, visando auxiliar na assistência perinatal prestada às gestantes aloimunizadas e seus conceitos, uma vez que, o diagnóstico precoce e a monitorização permanente da evolução da anemia fetal garantem a adoção da terapêutica adequada para melhorar o prognóstico do recém-nascido.

4 . OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Analisar os testes imuno-hematológicos pré-natais e pós-parto solicitados no HNMD para auxiliar no diagnóstico laboratorial da DHPN.

4.2 Objetivos Específicos

- a) Quantificar o total de recém-nascidos com resultados de Coombs direto positivo por anticorpos maternos naturais ou imunes;
- b) Destacar os anticorpos envolvidos nos casos de DHPN no HNMD;
- c) Analisar a história obstétrica e os exames imuno-hematológicos e complementares de monitoramento da DHPN realizados nas gestantes aloimunizadas;
- d) Observar o emprego de profilaxia materna;
- e) Verificar a relação entre os anticorpos maternos e os resultados clínicos e laboratoriais dos recém-nascidos, bem como os tratamentos empregados em cada caso; e
- f) Propor recomendações protocolares para auxiliar na assistência perinatal.

5 . MÉTODOS

5.1. Delineamento do Estudo

Foi realizado um estudo observacional descritivo e retrospectivo de nascimentos e gestações ocorridos entre janeiro de 2011 e dezembro de 2019 no HNMD.

5.2. Variáveis

As variáveis contempladas no estudo foram divididas em dois grupos:

I) Relativas à história materna: idade materna, período gestacional no momento do parto; número de gestações, partos e abortos; exames laboratoriais pré-natais de tipagem sanguínea ABO/RhD, Pesquisa de Anticorpos Irregulares (técnica em gel) e titulação (técnica em tubo), realizados pelo laboratório de análises clínicas do HNMD ou lançados no PIN da gestante; exames imuno-hematológicos pós-natais de tipagem sanguínea ABO/RhD, Pesquisa de Anticorpos Irregulares e Identificação de Anticorpos Irregulares (especificidade do anticorpo) realizados na técnica em gel pelo Serviço de Hemoterapia do HNMD; exames complementares (invasivos ou não) e prescrição de imunoglobulina anti-D no PIN da gestante.

II) Relativas à história do recém-nascido: exames imuno-hematológicos realizados pela técnica em gel de tipagem sanguínea ABO/RhD; teste de antiglobulina humana direto (Coombs direto); Teste de eluição ácida (quando em presença de resultado de Coombs direto positivo); Fenotipagem; exames laboratoriais de hemograma; bilirrubina total e indireta; lactato desidrogenase (LDH); reticulócitos e proteína C reativa, realizados em amostras de sangue de cordão ou periférico dos recém-nascidos; além do tratamento através de fototerapia e/ou solicitação de transfusão de concentrado de hemácias ou exsanguíneotransfusão.

5.3. Casuística

O estudo foi realizado no Serviço de Hemoterapia do Hospital Naval Marcílio Dias tomando como base os registros manuais e informatizados de exames laboratoriais, imuno-hematológicos e complementares de gestantes e recém-nascidos, atendidos no HNMD no período de janeiro de 2011 até dezembro de 2019.

5.3.1. Critérios de inclusão

Todas as gestantes que realizaram parto no Centro Obstétrico do HNMD, cujos recém-nascidos apresentaram:

- Resultado positivo no teste direto da antiglobulina humana (Coombs direto) devido a presença de aloanticorpos irregulares maternos;
- Resultado positivo no teste direto da antiglobulina humana (Coombs direto) devido a presença de anticorpos naturais regulares maternos que evoluíram com necessidade de transfusão sanguínea; e
- Resultado negativo no teste direto da antiglobulina humana (Coombs direto), embora a mãe possuísse aloanticorpos imunes ou naturais irregulares, detectados na pesquisa de anticorpos irregulares.

5.3.2. Critérios de exclusão

Todas as gestantes que realizaram parto no Centro Obstétrico do HNMD, cujos recém-nascidos apresentaram:

- Resultado positivo no teste direto da antiglobulina humana (Coombs direto) devido a presença de anticorpos naturais regulares maternos que não evoluíram com necessidade de transfusão sanguínea; e
- Gestantes menores de 18 anos de idade.

5.4. Coleta de dados

Os dados foram coletados a partir de registros manuais arquivados no Serviço de Hemoterapia; prontuários de gestantes e recém-nascidos; registros informatizados do Serviço de Análises Clínicas (Software COMPLAB) e em Prontuário Informatizado Naval (PIN) do HNMD.

5.5. Análise de dados

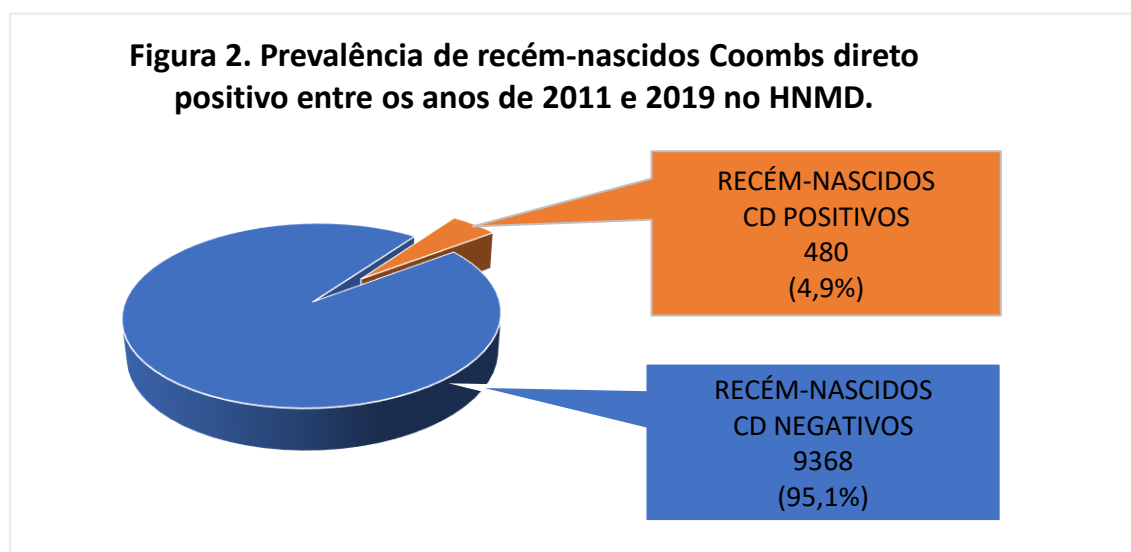
Os dados coletados foram compilados e posteriormente lançados em planilhas, tabelas, gráficos e histogramas utilizando software Microsoft *Office Excel* 2016.

Cuidados Éticos

Por se tratar de um estudo descritivo realizado somente com coleta de dados, mantendo a privacidade dos sujeitos do estudo, a Comissão de Ética e Pesquisa do HNMD concedeu a isenção de apresentação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e aprovou o estudo sob registro CAAE 30573620.8.0000.5256.

6 . RESULTADOS

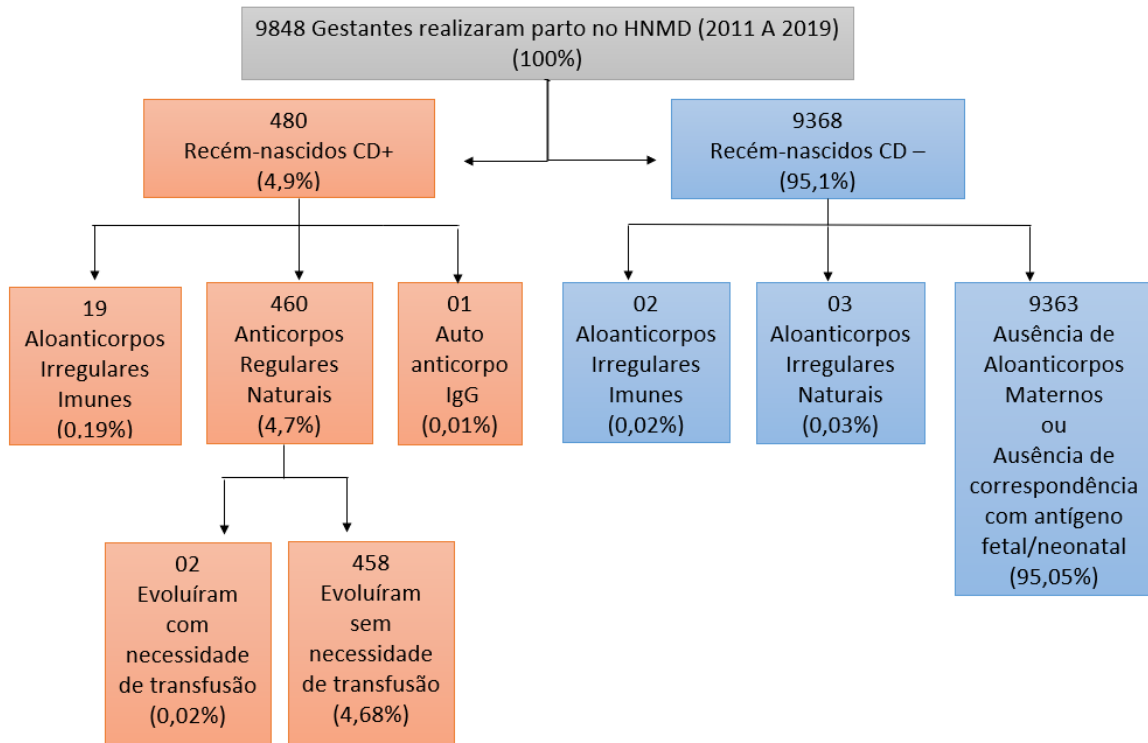
Entre os anos de 2011 e 2019, um total de 9848 gestantes tiveram seus partos realizados no Serviço de Obstetrícia do Hospital Naval Marcílio Dias (HNMD), dos quais 480 (4,9%) resultaram em recém-nascidos com teste de Coombs direto positivo (Figura 2)



Dentre os resultados de Coombs Direto (CD) positivos, 19 foram ocasionados por aloanticorpos maternos irregulares imunes acompanhados ou não por anticorpos naturais, 460 foram decorrentes de anticorpos maternos regulares naturais exclusivamente (dos quais 2 evoluíram com necessidade intervenção hematológica) e 1 foi causado por autoanticorpo materno da classe IgG (Figura 3).

Dos recém-nascidos com resultados de CD negativos, 2 foram concebidos por mães com aloanticorpos irregulares imunes, acompanhados ou não por anticorpos naturais e 3 por mães com aloanticorpos irregulares naturais. O restante dos recém-nascidos com teste de CD negativo foi gerado por mulheres que não possuíam aloanticorpos ou cujos aloanticorpos não encontraram correspondência nos antígenos do conceito. (Figura 3).

Figura 3. Classificação dos anticorpos maternos identificados no HNMD de 2011 à 2019



O Serviço de Hemoterapia do HNMD é responsável por realizar tipagem sanguínea e CD dos recém-nascidos e confirmar a tipagem sanguínea das mães após o parto. Sempre que o CD apresenta resultado positivo e nos casos de observação de discrepância ABO na amostra materna, há necessidade de realização da pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) na amostra das mães e/ou a inclusão do teste do eluato na amostra dos recém-nascidos, visando posterior identificação do(s) anticorpo(s) que possa(m) estar ocasionando tais reações. Partindo dessa gama de estudos realizados durante o período estipulado e levando em consideração os critérios de exclusão pré-determinados, a presente dissertação selecionou para análise um total de 27 casos, sendo 22 provenientes de recém-nascidos com teste de CD positivo e 5 de recém-nascidos CD negativo, cujas mães apresentavam pesquisa de anticorpos irregulares positivas. Os estudos selecionados foram subdivididos conforme a classificação e a especificidade dos anticorpos maternos identificados (Figuras 4, 5, 6, 7 e 8).

Figura 4. Classificação dos anticorpos maternos pertencentes aos 27 casos estudados

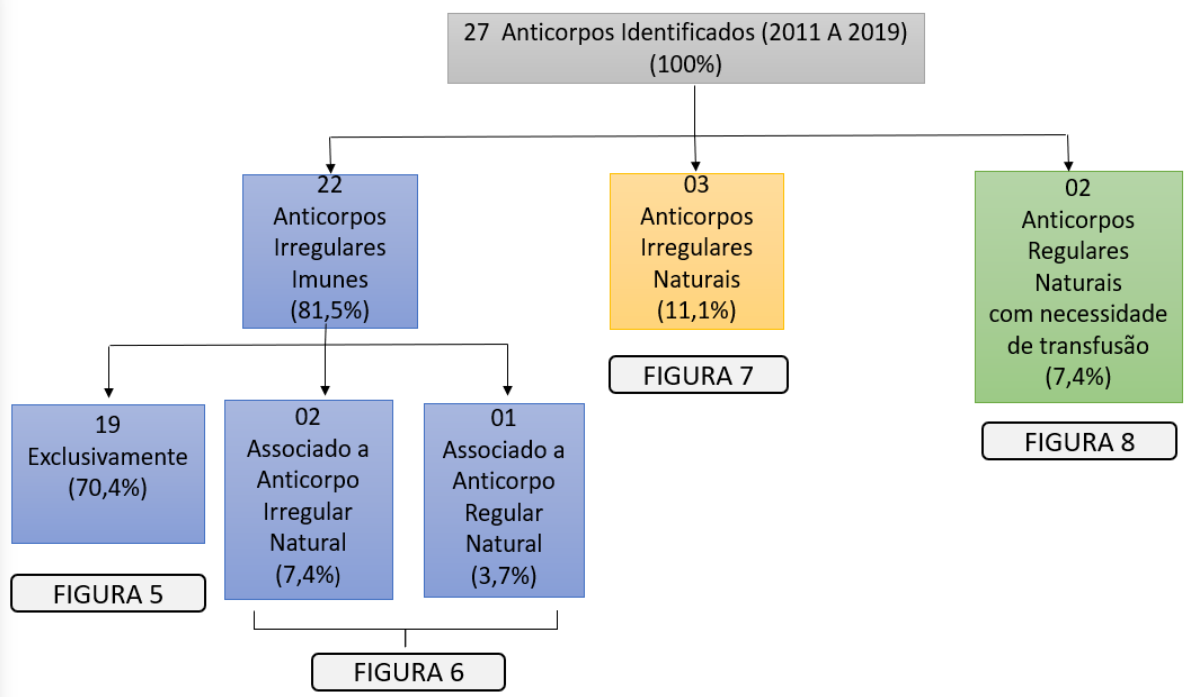


Figura 5. Especificidade dos anticorpos imunes maternos exclusivos

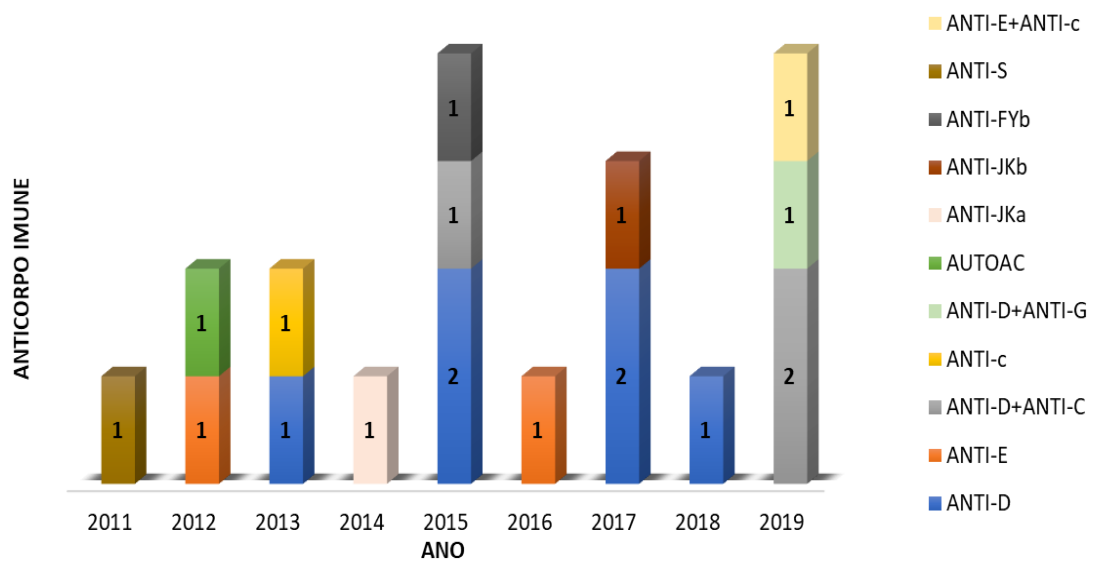


Figura 6. Especificidade dos anticorpos imunes maternos associados à anticorpos naturais

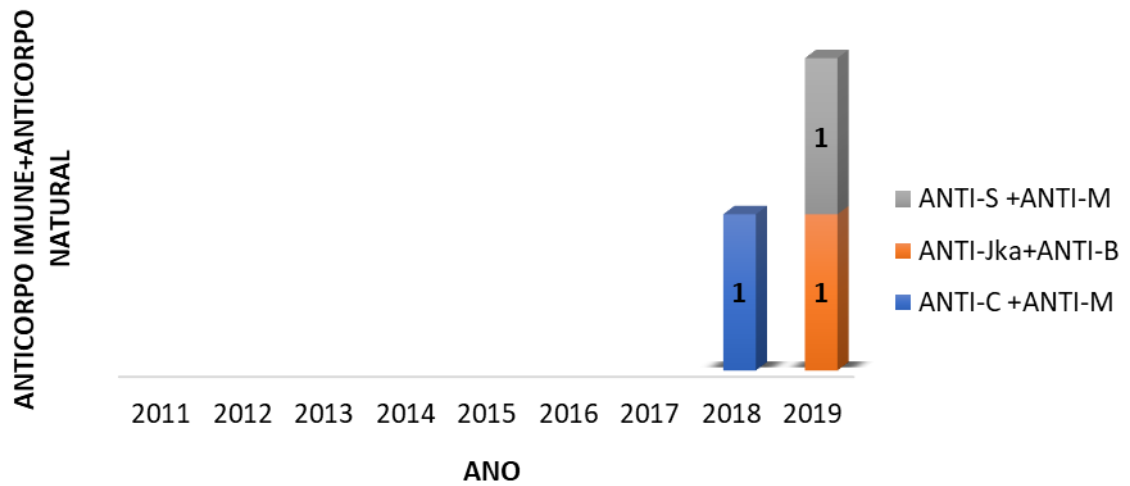
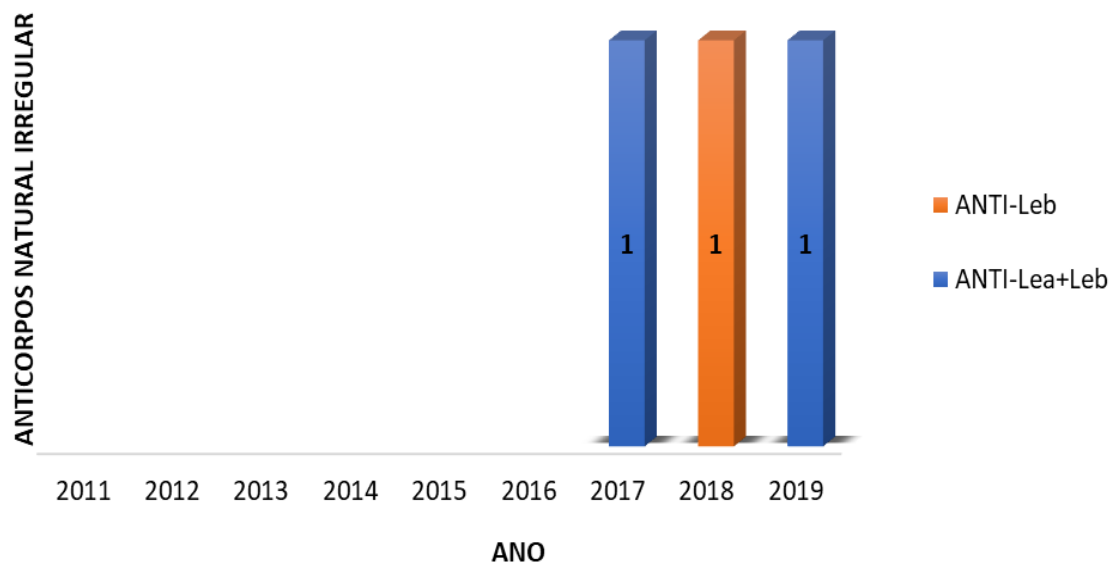
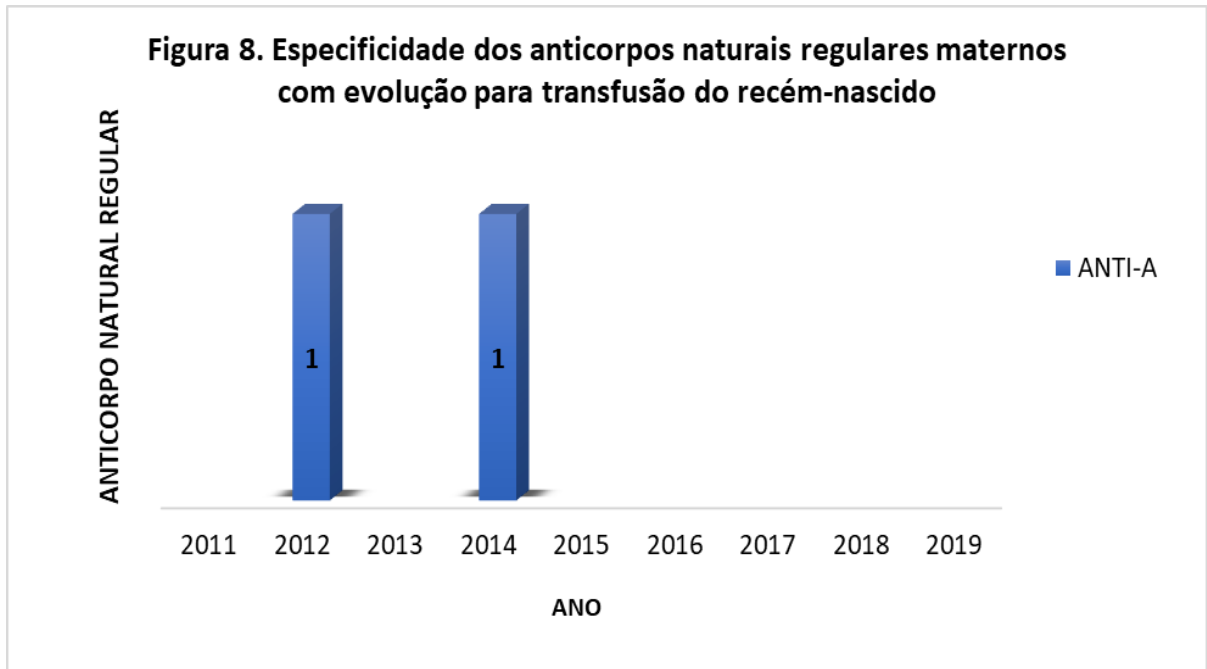


Figura 7. Especificidade dos anticorpos naturais irregulares maternos





A figura 9 demonstra as frequências relativas e absolutas dos anticorpos identificados nos 27 casos selecionados e a tabela 1 resume as informações apresentadas.

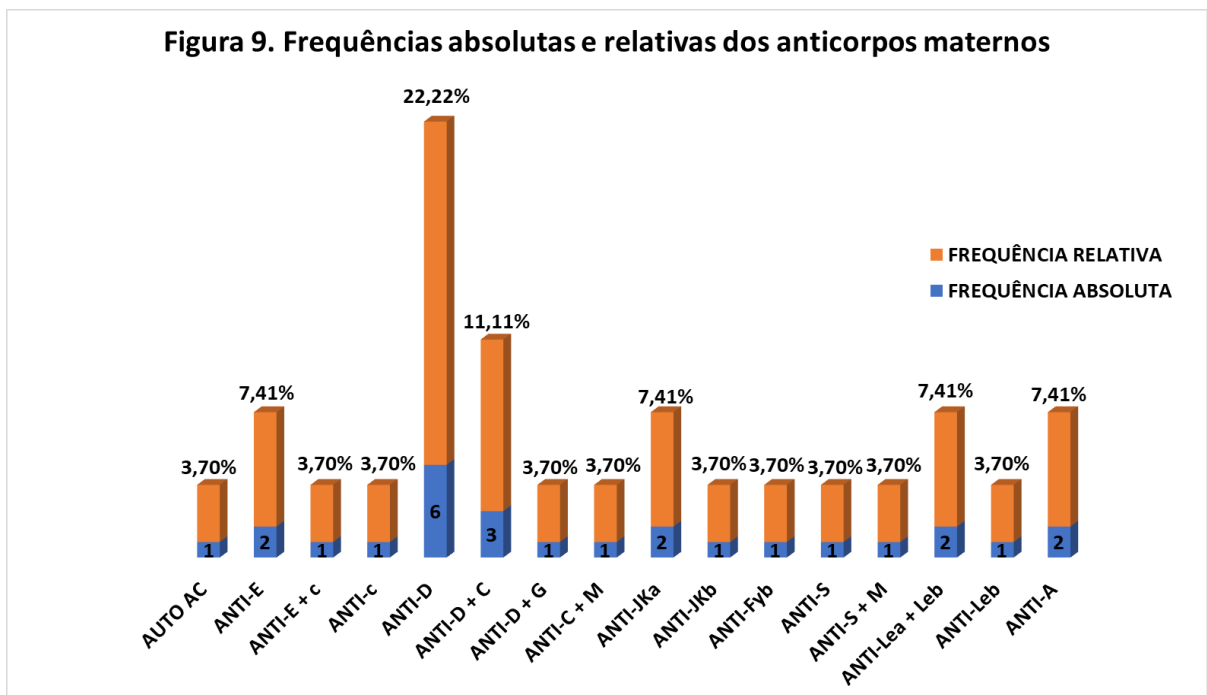


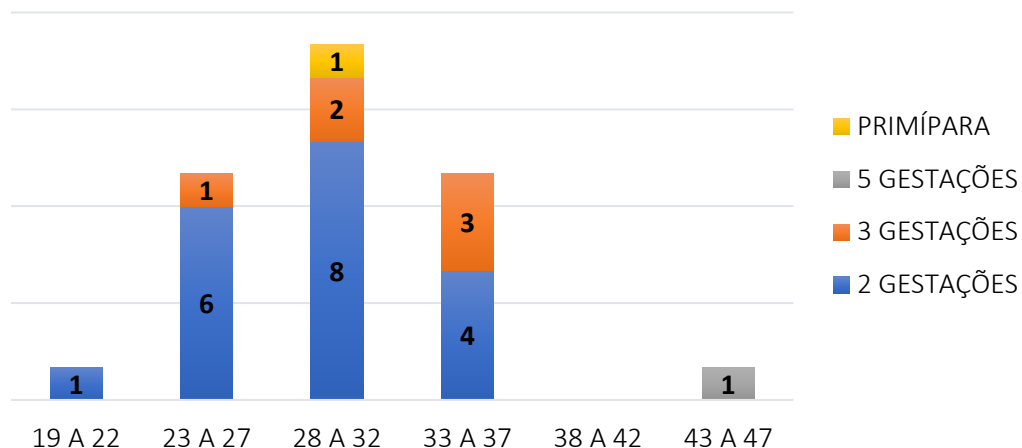
Tabela 1. Casos de aloimunizações maternas estudadas no HNMD entre 2011 e 2019.

ANO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	RECÉM-NASCIDO COOMBS DIRETO POSITIVO						RECÉM-NASCIDO COOMBS DIRETO NEGATIVO					
		CLASSIFICAÇÃO DO ANTICORPO MATERNO						CLASSIFICAÇÃO DO ANTICORPO MATERNO					
		ANTICORPO IMUNE		ANTICORPO NATURAL		ANTICORPO IMUNE + NATURAL		ANTICORPO IMUNE		ANTICORPO NATURAL		ANTICORPO IMUNE + NATURAL	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2011	ANTI-S							1	3,7				
2012	ANTI-A ANTI-E AUTOAC	2	7,4	1	3,7								
2013	ANTI-D ANTI-c	2	7,4										
2014	ANTI-A ANTI-Jka	1	3,7	1	3,7								
2015	ANTI-D+ C ANTI-FYB ANTI-D ANTI-D	4	14,8										
2016	ANTI-E	1	3,7										
2017	ANTI-D ANTI-D ANTI- JKb ANTI-Lea+Leb	3	11,1							1	3,7		
2018	ANTI-C+ M ANTI-D ANTI-Leb	1	3,7			1	3,7			1	3,7		
2019	ANTI-D+ G ANTI-D+ C ANTI-D+ C ANTI-Jka+ B ANTI-S+ M ANTI-E+ c ANTI-Lea+Leb	4	14,8			1	3,7			1	3,7	1	3,7
TOTAL		18	66,7%	2	7,40%	2	7,40%	1	3,70%	3	11,10%	1	3,70%

Legenda: Nº - Número de casos totais observados de 2011 a 2019; % - Porcentagem de casos observados de 2011 a 2019.

Analisando respectivamente as variáveis quantitativas contínua e discreta relacionadas à história obstétrica das gestantes aloimunizadas, foi verificado que a idade média materna foi de 30,6 anos (IC 95% 28,8 – 32,5) e o número médio de gestações foi de 2,3 (IC 95% 2,0 – 2,6). Sendo possível observar na figura 10 o número de gestações distribuídas por faixa etária das gestantes aloimunizadas.

Figura 10. Número de gestações distribuídas por faixa etária (em anos) das gestantes aloimunizadas.



Outras variáveis quantitativas discretas relacionadas à história obstétrica das gestantes aloimunizadas, tais como: número de partos, abortos e transfusões, foram averiguadas, totalizando 14 gestantes (51,9%) com um parto anterior; 4 (14,8%) com um parto e um aborto anterior; 2 (7,4%) com um parto e uma transfusão anterior; 2 (7,4%) com dois partos; 1 (3,7%) com dois partos e dois abortos; 2 (7,4%) com um aborto; 1 (3,7%) com um aborto e uma transfusão anterior e 1 (3,7%) primípara. A tabela 2 correlaciona as variáveis quantitativas mencionadas às especificidades dos anticorpos observados em cada um dos casos estudados.

Tabela 2. História obstétrica das gestantes aloimunizadas

ANTICORPOS IMUNE MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	IDADE (ANOS)	GESTAÇÕES	PARTOS	ABORTOS	TX CH
	ANTI-E*	32	2	1	0	
	ANTI-E	31	2	1	0	
	ANTI-c	30	2	1	0	
	ANTI-Jka	25	2	1	0	
	ANTI-FYb	37	3	1	1	
	ANTI-S	28	3	1	1	
	ANTI-E+ANTI-c	27	2	1	0	
	ANTI-JKb	36	2	1	0	SIM
	AUTOAC**	37	2	1	0	SIM
	ANTI-D	33	3	1	1	
	ANTI-D	30	2	0	1	
	ANTI-D	27	2	1	0	
	ANTI-D***	44	5	2	2	
	ANTI-D	32	2	1	0	
	ANTI-D	23	2	1	0	
	ANTI-D+ANTI-C	22	2	1	0	
	ANTI-D+ANTI-C****	26	3	2	0	
	ANTI-D+ANTI-C	28	2	1	0	
	ANTI-D+ANTI-G***	35	3	2	0	
ANTICORPO NATURAL MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	IDADE (ANOS)	GESTAÇÕES	PARTOS	ABORTOS	TX CH
	ANTI-A	27	2	0	1	
	ANTI-A	37	3	1	1	
	ANTI-Lea +ANTI-Leb	24	2	1	0	
	ANTI-Lea +ANTI-Leb	29	1	0	0	
	ANTI-Leb	33	2	0	1	SIM
ANTICORPO IMUNE + NATURAL MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	IDADE (ANOS)	GESTAÇÕES	PARTOS	ABORTOS	TX CH
	ANTI-C+ANTI-M	30	2	1	0	
	ANTI-Jka+ANTI-B	30	2	1	0	
	ANTI-S+ANTI-M	34	2	1	0	

Legenda: TX CH - Transusão de Concentrado de Hemácias.

* Gestação de gemelares

** Paciente falcêmica;

*** História de DHPN em gestação anterior

****História de PAI positiva em gestação anterior

Examinando os resultados laboratoriais pré-natais de tipagem sanguínea e pesquisa de anticorpos irregulares, lançados nos registros informatizados (Software COMPLAB e PIN) das 27 mães estudadas, foi constatado que 55,6% pertenciam ao grupo sanguíneo O, 37% ao grupo A e 3,7% aos grupos sanguíneos B e AB, respectivamente. Destas, 63% eram RhD positivo e 37% RhD negativo (Figura 11). Em relação à pesquisa de anticorpos irregulares, foi verificado que em 17 casos (63%) houve solicitação do referido exame durante o pré-natal, sendo a primeira testagem realizada no segundo trimestre em 9 (53%) gestantes (Figura 12).

Figura 11. Tipagem sanguínea das gestantes aloimunizadas

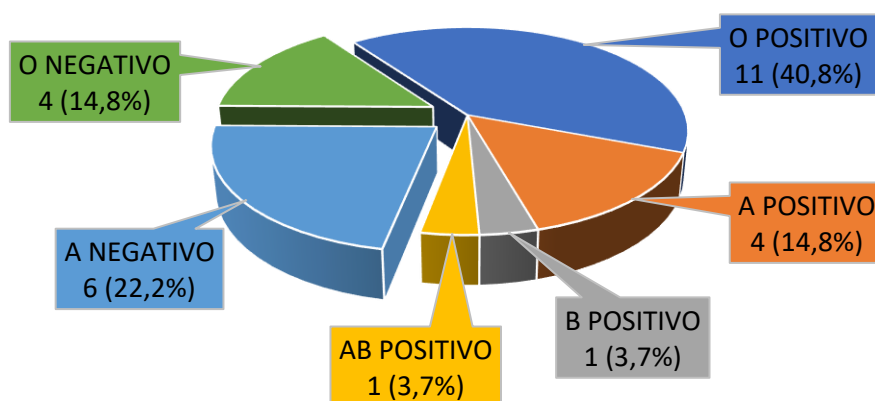
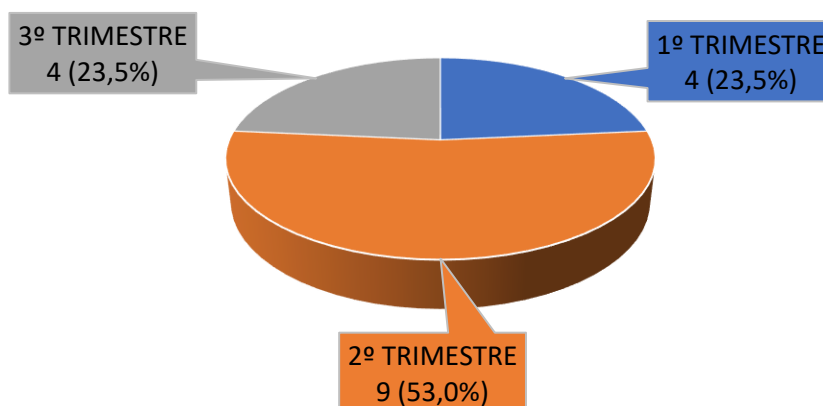


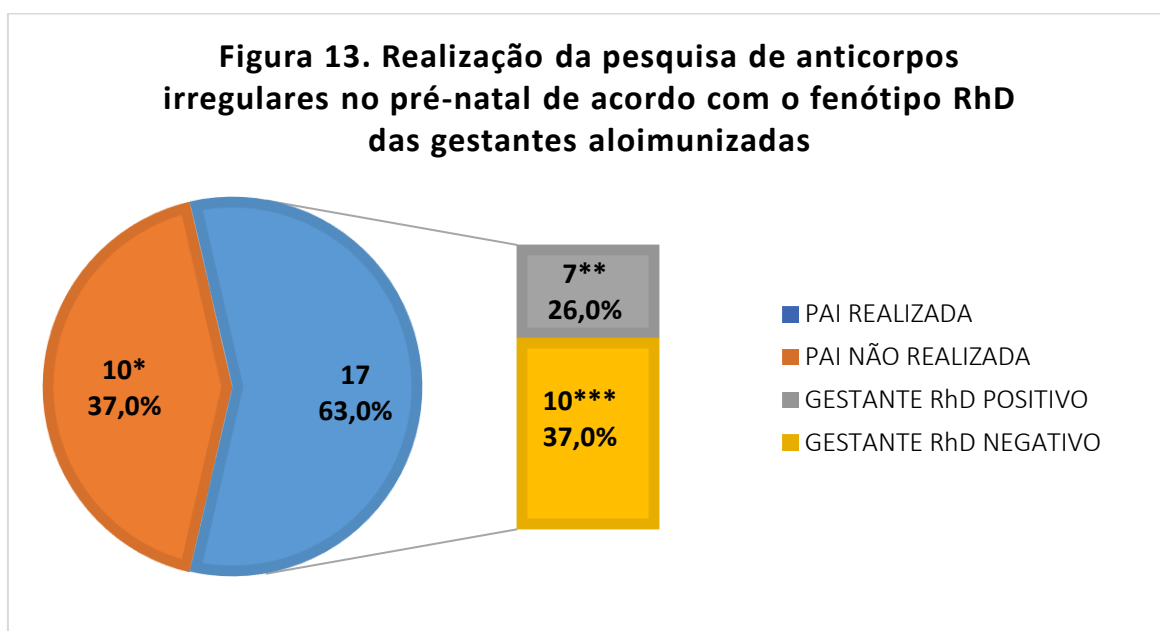
Figura 12. Fase gestacional de realização da 1ª PAI nas gestantes aloimunizadas.



Dentre as 17 gestantes que realizaram a pesquisa de anticorpos irregulares durante o pré-natal, 10 (37%) eram RhD negativo e apresentaram anticorpos irregulares imunes (anti-D (6), anti-D+C (2 partos da mesma mãe + 1 caso) e anti-D+G) e 7 (26%) eram RhD positivo e apresentaram anticorpos irregulares imunes associados ou não a anticorpos naturais (anti-Jk^b, anti-C+M, anti-Jk^a+ anti-B e autoanticorpo materno IgG) e anticorpos irregulares naturais (anti-Le^a +Le^b (2) e anti-Le^b). As demais 8 aloimunizações maternas (29,6%) do estudo foram detectadas por realização de PAI na amostra pós-parto e evidenciaram anticorpos irregulares imunes (anti-E (gestação de gemelares); anti-E; anti-c; anti-E+c; anti-Jk^a; anti-Fy^b; anti-S; e anti-S+M), todos pertencentes a gestantes RhD positivo.

Além das aloimunizações elencadas, foram observados 2 casos (7,4%) de anticorpo regular natural (anti-A) da classe IgG, identificados nos eluatos dos recém-nascidos de mães RhD positivo.

A figura 13 demonstra a correlação entre a realização da Pesquisa de Anticorpos Irregulares no pré-natal das gestantes estudadas, com seus respectivos fenótipos RhD.



*Gestantes RhD positivo. Das quais 3 (11,1%) apresentavam histórico de aborto.

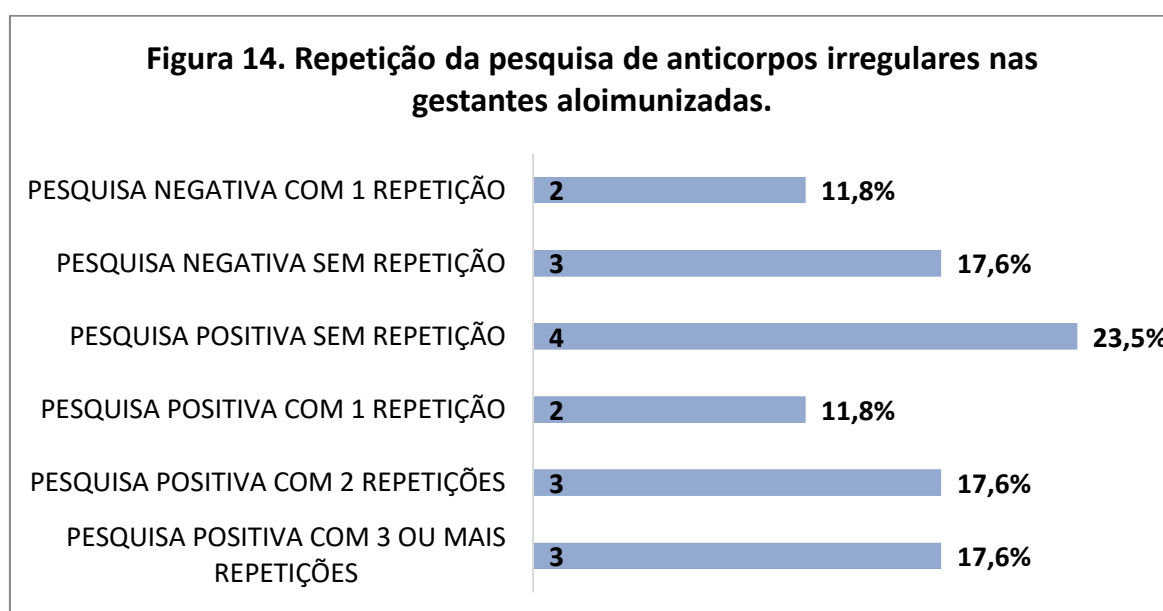
**Gestantes RhD positivo. Das quais 2 (7,4%) apresentavam histórico TX CH e 1 (3,7%) TX CH + aborto.

***Gestantes RhD negativo. Das quais 3 (11,1%) apresentavam histórico de aborto.

Nas PAI realizadas no primeiro trimestre foram observados 2 resultados positivos (anti-D+G e anti-Le^a +Le^b) com repetição nos demais trimestres e 2 resultados negativos (anti-Jkb e anti-C+M) sem repetição nos demais trimestres. Nas pesquisas realizadas no segundo trimestre

foram observados 2 resultados negativos (anti-D+C), os quais positivaram nas novas solicitações do exame, que ocorreram na 33ª e 39ª semanas gestacionais, respectivamente e 7 resultados positivos (2 casos de anti-D; anti-D+C; anti-Jk^a+anti-B; anti-Le^a +Le^b; anti-Le^b; e autoanticorpo quente presente em gestante falcêmica) destes, somente 2 não foram repetidos (anti-Jk^a+anti-B; anti-Le^a +Le^b) e o caso do autoanticorpo quente foi acompanhado juntamente com o Serviço de Hemoterapia. Nas PAI realizadas no terceiro trimestre foram observados 4 resultados (anti-D), dos quais 3 foram positivos (sendo 2 com repetições) e 1 negativo na 29ª semana gestacional, sem repetição. Nenhum dos casos possuía relato em prontuário referindo administração de Ig anti-D no período pré-parto e todos os casos positivaram, tanto nas amostras maternas quanto nas amostras de cordão enviadas ao Serviço de Hemoterapia após o nascimento dos conceitos.

A figura 14 exibe a frequência de repetições da pesquisa de anticorpos irregulares nas gestantes aloimunizadas estudadas.



Das 17 gestantes com aloanticorpos que realizaram PAI no pré-natal, 9 não tiveram o título avaliado e 8 apresentaram título crítico ≥ 16 em algum momento durante a gestação. Dentre as gestantes que não tiveram o título do aloanticorpo avaliado, 4 apresentavam PAI inicialmente negativas que positivaram no terceiro trimestre gestacional e/ou na amostra pós-parto (Tabela 3). Nenhuma gestante necessitou de transfusão de concentrado de hemácias durante a gestação, embora 3 tivessem realizado pré-gravidez.

Tabela 3. Titulação dos aloanticorpos maternos identificados no pré-natal

ANTICORPO IMUNE MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	1º TRIMESTRE (0-13 SEM)				2º TRIMESTRE (14 - 26 SEM)				3º TRIMESTRE (27 - 40/41 SEM)			
		PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD
ANTICORPO IMUNE MATERNO	ANTI-JKb**/ §	NEG	10	NR									
	AUTOAC**					POS	20	NR					
	ANTI-D***									POS	39	NR	
	ANTI-D									POS	30 /34 /37	64 /256 /512	
	ANTI-D***/ §									NEG	29	NR	
	ANTI-D					POS	15 /19	NR /256		POS	31 /34	256 /NR	
	ANTI-D*/***									POS	30 /39	512 /8192	
	ANTI-D					POS	22 /25	NR /4		POS	29 /30 /32 /36	4 /4 /8 /128	
	ANTI-D+ANTI-C §					NEG	21	NR		POS	39	NR	
	ANTI-D+ANTI-C*					POS	25	32		POS	40	32	
	ANTI-D+ANTI-C §					NEG	19	NR		POS	33	1024	
	ANTI-D+ANTI-G*	POS	8	NR		POS	23 / 29	NR	8	POS	33 /35	128 / > 2048	128/32768
ANTICORPO NATURAL IRREGULAR MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	1º TRIMESTRE (0-13 SEM)				2º TRIMESTRE (14 - 26 SEM)				3º TRIMESTRE (27 - 40/41 SEM)			
		PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD
	ANTI-Lea+ANTI-Leb					POS	26	NR					
	ANTI-Lea+ANTI-Leb	POS	12	NR		POS	27	NR		NEG	34	NR	
ANTICORPO IMUNE + NATURAL MATERNO	ANTI-Leb**/****					POS	17	NR	2	POS	28 /32	NR/NR	NR/16
	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	1º TRIMESTRE (0-13 SEM)				2º TRIMESTRE (14 - 26 SEM)				3º TRIMESTRE (27 - 40/41 SEM)			
		PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	PAI	IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD
ANTICORPO IMUNE + NATURAL MATERNO	ANTI-Jka+ANTI-B					POS	14	NR					
	ANTI-C+ANTI-M §	NEG	8	NR									

Legenda: IG - Idade gestacional (semanas); PAI - Pesquisa de Anticorpos Irregulares; NEG – Negativo; POS – Positivo; NR- Não Realizado; SEM – Semanas.

* Mães com resultado de pesquisa de anticorpos irregulares positiva ou DHPN em gestação anterior

** Mães com transfusão prévia

***Mães com aborto prévio

§ Soroconversão ou anticorpo não identificado no primeiro teste devido ao baixo título

Além das ultrassonografias obstétricas padrão realizadas ao longo dos três trimestres em todas as gestantes, no mínimo mais uma ultrassonografia foi solicitada para avaliação de hidropsia fetal em seis gestantes estudadas, sendo a medida doppler da velocidade sistólica de pico da artéria cerebral média (para avaliação da anemia fetal) requerida em cinco das gestações anteriores (Tabela 4). Procedimentos invasivos como: cordocentese e TIU não foram realizados em nenhum dos casos estudados.

Tabela 4. Exames complementares realizados no pré-natal das gestantes aloimunizadas.

ANTICORPO IMUNE MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	EXAMES DE PAI			EXAMES DE IMAGEM	
		IG	TÍTULO	TÍTULO EXTRA HNMD	ULTRASSONOGRAFIA PARA AVALIAÇÃO DE HIDROPSIA FETAL	DOPPLER VSP-ACM PARA AVALIAÇÃO DA ANEMIA FETAL
	ANTI-D	15 / 19 / 31 / 34	NR/256/256/NR		AUSÊNCIA DE SINAIS DE HIDROPSIA FETAL	1,08 MoM - 35 Semanas 0,93 MoM - 36 Semanas
	ANTI-D*/***	30 / 39	512 / 8192		AUSÊNCIA DE SINAIS DE HIDROPSIA FETAL	1,33 MoM - 36 Semanas
	ANTI-D	22/ 25/ 29/ 30/ 32/ 36	NR/4/4/4/8/128		AUSÊNCIA DE SINAIS DE HIDROPSIA FETAL	NR
	ANTI-D+ANTI-C*	25 / 40	32 / 32		AUSÊNCIA DE SINAIS VELOCIMÉTRICOS COMPATÍVEIS COM HF - 38 Semanas	
	ANTI-D+ANTI-C §	19 / 33	NR**/ 1024		AUSÊNCIA DE SINAIS DE HIDROPSIA FETAL	1,24 MoM - 33 Semanas
	ANTI-D+ANTI-G*	8 / 23 /29 / 33 / 35	NR/NR/128/>2048	NR/8 /128/ 32.768	AUSÊNCIA DE SINAIS DE HIDROPSIA FETAL	1,67 MoM - 27 Semanas 1,59 MoM - 34 Semanas 1,41 MoM - 36 Semanas

Legenda: PAI- Pesquisa de Anticorpos Irregulares; IG - Idade Gestacional (semanas); VSP-ACM - Velocidade sistólica de pico da artéria cerebral média (Valor de referência < 1,5MoM); NR -Não realizado; MoM - Múltiplos da Mediana; HF – Hidropsia Fetal.

* Mães com relato de DHPN em gestação anterior

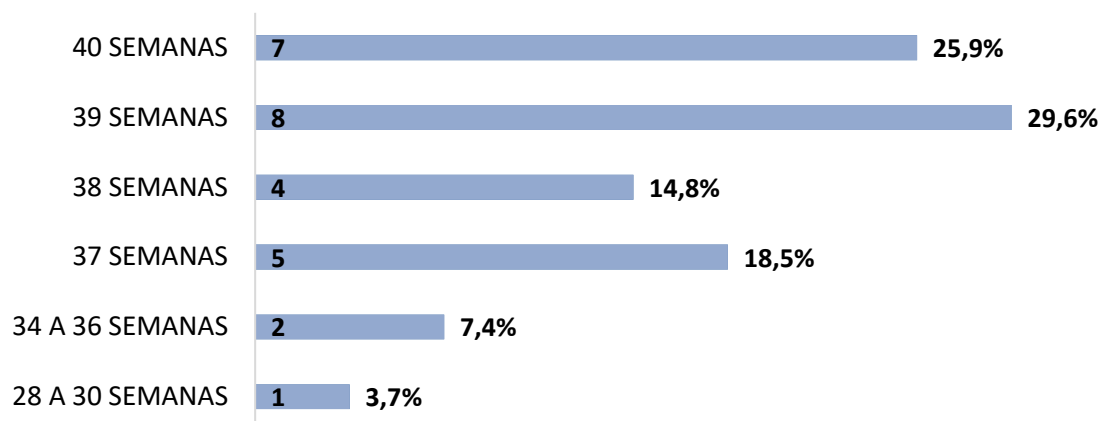
**Titulação não realizada devido a PAI negativa

*** Mãe com aborto prévio

§ Soroconversão ou anticorpo não identificado no primeiro teste devido ao baixo título

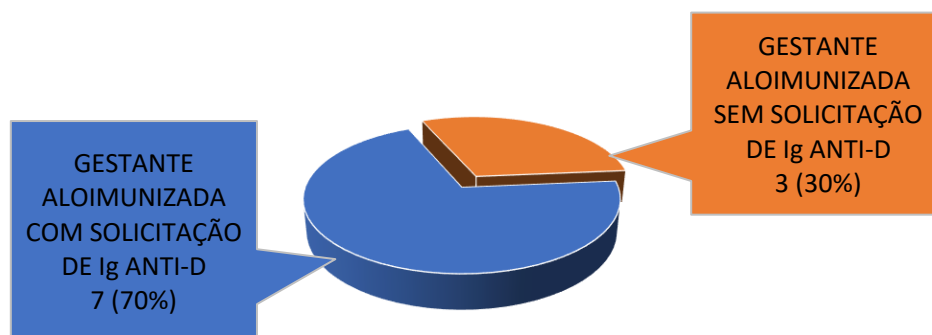
A duração gestacional média foi de 38,1 semanas (IC 95% 37,2 – 39,0). Um dos partos ocorreu com 29 semanas de gestação (mãe falcêmica apresentando autoanticorpo); 02 outros partos aconteceram com 34 e 36 semanas de gestação, respectivamente (mães portadoras de anti-E, em gestação de gemelares, e anti-Jk^a, com histórico de parto prematuro); 05 partos foram realizados com 37 semanas (mães detentoras de anti-Jkb, anti-S+M, anti-D, anti-D+C, anti-D+G – as três últimas gestantes apresentavam títulos: 256, 1024 e >2048 dos respectivos anticorpos no terceiro trimestre de gestação); 4 partos foram realizados com 38 semanas (anti-Le^a+Le^b, anti-A natural IgG e 02 anti-D, uma das gestantes com anti-D apresentava título 512 na 37^a semana de gestação); 08 partos aconteceram com 39 semanas (anti-E, anti-E+c, anti-C+M, anti-Le^a+Le^b, anti-Le^b, anti-A natural IgG e 2 mães com anti-D); 7 partos ocorreram com 40 semanas de gestação (anti-D, anti-D+C, anti-c, anti-Fy^b, anti-S, anti-Jk^a+anti-B natural IgG e anti-C+M) (Figura 15). O parto foi vaginal em 9 casos e cesáreo em 18.

Figura 15. Idade gestacional no momento do parto das gestantes aloimunizadas.



Segundo relatos no Prontuário Informatizado Naval (PIN) das 10 gestantes RhD negativo que tiveram recém-nascidos RhD positivo, cujos resultados de CD foram positivos por anticorpo anti-D, 7 possuíam prescrição para realização de imunoglobulina anti-D prévia à alta hospitalar (Figura 16).

Figura 16. Solicitação de imunoprofilaxia anti-D para puérperas RhD negativo aloimunizadas.



Os exames realizados nas amostras de cordão dos recém-nascidos das gestantes aloimunizadas demonstraram que: 100% eram RhD positivo, 15 eram O, 7 eram A, 3 eram B, 1 era AB e 1 apresentou resultado de tipagem sanguínea ABO inconclusiva. O teste de Coombs direto revelou positividade em 22 (81,5%) e negatividade em 5 (18,5%) recém-nascidos. A

técnica de eluição foi realizada em 18 dos 22 casos de CD positivo, evidenciando os aloanticorpos maternos ligados aos eritrócitos neonatais. Houve solicitação de exames para avaliação de hematócrito e bilirrubina dos 22 recém-nascidos CD positivo e os casos mais críticos observados ocorreram devido aos anticorpos maternos: anti-Jk^a (RN com hematócrito 33,5% e icterícia Zona II de Kramer); anti-D título 256 no segundo e terceiro trimestres de gestação (RN com hematócrito 33% tendendo para baixo nos exames seguintes e icterícia Zonas III e IV de Kramer, tratada com fototerapia); anti-D título 8192 na data do parto (RN com hematócrito 43,7% em queda e icterícia Zonas III e IV devido a bilirrubina indireta 14,5mg/dl, 24h após o nascimento, tratada com fototerapia); anti-A (RN com hematócrito 34,9%, icterícia Zonas III e IV e bilirrubina indireta 22,4mg/dl, cursando com realização de exsanguíneotransfusão); anti-A (RN sem icterícia, mas com hematócrito 30,6% em queda nos exames seguintes, justificando a realização da transfusão de concentrado de hemácias 6 dias após o parto) e anti-D+G (RN com hematócrito 15,9% e icterícia, que mesmo após fototerapia, transfusão de concentrado de hemácias, exsanguíneotransfusão parcial e IGIV, evoluiu para o óbito). Além dos casos em que, embora o hematócrito ao nascimento fosse superior a 42%, o recém-nascido apresentou icterícia Zonas I e II (anti-Jka+ B), Zona II (anti-c, anti-D) Zonas II e III (anti-D e anti-D+C tratado com fototerapia), Zona III (anti-E+c), e sem classificação da icterícia por Zonas de Kramer em prontuário (anti-E, anti-D+C, anti-C+M, anti-D e autoanticorpo, sendo os dois últimos tratados com fototerapia). Os procedimentos realizados nos recém-nascidos, baseados nos resultados laboratoriais e clínicos observados, estão elencados na tabela 5.

Tabela 5 - Procedimentos realizados nos recém-nascidos com teste de CD positivo, baseado nos resultados dos exames laboratoriais e clínicos

	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	EXAMES LABORATORIAIS			EXAME CLÍNICO	PROCEDIMENTO		
		HTC	BI/BT	OUTROS	ICTERÍCIA ^{§§}	FOTO	TX/ EXT	ANTIB
ANTICORPO IMUNE MATERNO	ANTI-E	d1 G1-38,9 G2-48,7	d1 G1-5,3/5,5 G2-5,3/5,8	d1 (G2) PCR 1,0 WBC 11,7	d1 G1 - ++/4 G2 - ++/4			d2- d11 G2
	ANTI-E	d1- 56,3	d1- 3,9/5,9	d2- WBC 12,4				
	ANTI-c	d3- 48,0	d3- 3,9/4,6		d3- +/4 Zona II			
	ANTI-Jka	d1- 33,5 d3- 33,2 d9- 30,4	d1- 1,9/2,4 d3- 8,3/8,7 d9- 7,6/8,0	d1- PCR 3,0 HMC Neg d4- WBC 4,5 (8bt)	d5 e d9 ++/4 Zona II			d3 - d9
	ANTI-FYb	d1- 55,0	d1- 4,0/4,5					
	ANTI-E+ANTI-c	d3- 64	d3- 12,7/13,2		d3 ++/4 Zona III			
	ANTI-JKb	d7- 50,2	d7- 6,3/6,7	d7- LDH 691				
	AUTOAC	dp- 57,0 d3- 47,6 d18- 31,6	d1- 6,0/6,4 d3- 9,6/10,2 d5- 5,7/6,1	dp- WBC 12,6 PCR 1,8 d1- HMC neg	d3 - d8 +/4	d3 - d9 Única		d1 - d9 (Sepse materna)
	ANTI-D	d1- 42,3 d3- 45,0	d2- 9,4/9,9 d3- 12,6/13,0		d3- +/4 Zona II e III			
	ANTI-D	d1- 50,0 d4- 49,0	d1- 4,2/4,7 d4- 12,3/12,8		d4- +/4 Zona II			
	ANTI-D	d1- 33,0 d4- 30,5 d7- 29,1	d1- 8,4/11 d4- 2,3/3,6 d7- 0,5/0,7		d1- Zona III d2- Zona III/IV d3- Zona I	d2 - d3 Tripla		
	ANTI-D	dp- 43,7 d1- 36,9 d4- 38,0	dp- 6,6/7,4 d1- 14,5/15,4 d4- 8,5/9,3	dp- WBC 28,6 PCR 1,0 d1- HMC neg PCR 1,1 RET 13,6	d1- ++/4 d2- +++/4 Zona III e IV d7- +/4	dp - d2 Tripla d3 Dupla d4 Única		d1 - d6 (Sepse)
	ANTI-D*	dp- 41,9 d1- 30,0 d2- 37,0	dp- 1,1/1,5 d1- 4,1/4,5 d2- 6,1/6,7					
	ANTI-D	d1- 44,4 d2- 45,0 d5- 51,9	d1- 6,4/6,9 d2- 5,1/5,6 d5- 5,5/6,0		d4- +/4	d1-d4 dupla octofoto		
	ANTI-D+ANTI-C	d1- 48,4 d2- 50,3	d1- 6,9/7,0	d1- PCR 1,2				
	ANTI-D+ANTI-C	d2- 55,1	d2- 9,3/9,9	d2- RET 5,13	d2- ++/4			
	ANTI-D+ANTI-C	dp- 44,2 d2- 40,3 d4- 41,0	dp- 3,2/3,8 d2- 8,0/8,6 d4- 14,0/14,7		d3 Zona II e III d7-d8- +/4	d1-d2 Única d4 Biliberço		
	ANTI-D+ANTI-G	dp- 15,9 d1- 33,0**	dp- 8,3/9,1 d1- 3,3/4,1	dp- PCR 1,2 ERIT534 TAP 31% (INR 2,46) PTT 62,9 d1- HMC neg TAP 18% (INR 4,24) PTT 139,3	dp- ++/4	dp Dupla Bilispot passado para octo +1 bilispot	dp TX (60 ml) CH EXT (80ml/ 45min) IGIV	

ANTICORPO NATURAL MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	EXAMES LABORATORIAIS			EXAME CLÍNICO	PROCEDIMENTO		
		HTC	BI	OUTROS	ICTERÍCIA ^{§§}	FOTO	TX/EXT	ANTIB
	ANTI-A	d3- 34,9 d5- 32,0 d7- 35,0	d3- 22,4/23,0 d4- 15,2/15,8**** d7- 9,6/10,2	d3- PCR 1,0	d1- Zona III/IV d3- +++/4 d6- +/4	d1 – d4 Dupla octofoto	d3 EXT	
ANTICORPO IMUNE + NATURAL MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	HTC	BI	OUTROS	ICTERÍCIA ^{§§}	FOTO	TX/EXT	ANTIB
		d1- 30,6 d7- 22,8 **** d8- 34,5	d1- 2,7/3,2 d7- 0,8/1,2 d8- 1,3/1,7	d1- ERIT 90 PCR2,9 WBC 16,2 (6bt) d7- WBC 8,2 PCR<0,32 LDH 1876 RET 6,3			d7 TX 1CH	d1 - d7
	ANTI-A							
ANTICORPO IMUNE + NATURAL MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	HTC	BI	OUTROS	ICTERÍCIA ^{§§}	FOTO	TX/EXT	ANTIB
		d1- 46,6 d2- 51,2	d1- 3,9/4,6 d2- 4,9/5,4	d2- WBC 15,7	d2- ++/4			
	ANTI-C +ANTI-M							
ANTICORPO IMUNE + NATURAL MATERNO	ESPECIFICIDADE DO ANTICORPO	HTC	BI	OUTROS	ICTERÍCIA ^{§§}	FOTO	TX/EXT	ANTIB
		d2- 45,8 d4- 38,5	d2- 10,1/10,8 d4- 7,6/8,4	d2- PCR 1,8 WBC 14,3 (2meta) d4- PCR1,0 WBC14,5 (6bt) HMC pos [§] d7- HMC neg	d3 - d4 ++/4 Zona I e II			d4 - d14 (Sepse)
	ANTI-Jka+ANTI-B							

Legenda: dp – dia do parto; d1 – 1 dia após o parto; d2 – 2 dias após o parto,; CD- Coombs Direto (VR: Negativo); HTC – Hematócrito (VR: 42-67%); BT-Bilirrubina Total (VR RN à termo: 2-6mg/dl / VR RN prematuro: 6-8mg/dl(48h); 10-12mg/dl (3-5dias))/ BI – Bilirrubina Indireta; FOTO - Fototerapia; TX - Transfusão de concentrado de hemácias; EXT - Exsanguíneotransfusão; ANTIB – Antibioticoterapia (ampicilina + gentamicina); G1 e G2- Gemelar 1 e 2; PCR – Proteína C reativa (VR<1,0 mg/l); WBC – Leucometria (VR: 5-21x10³/μl); bt- Bastões, meta- Metamielócitos; HMC- Hemocultura (VR: Negativa); LDH (VR: 125-765 U/L); RET- Reticulócitos(VR:1,6% a 8,3%);); ERIT-eritroblastos;;TAP- Tempo de Atividade da Protrombina (VR:70-100%); INR- Razão Normalizada Internacional (VR: 0,8-1,2); PTT- Tempo de Tromboplastina Ativada (VR: 28 a 40 segundos); IGIV- Imunoglobulina intravenosa.

*Prontuário não localizado

** HTC após transfusão de 60ml de CH + EXT parcial

*** BI pós exsanguíneotransfusão

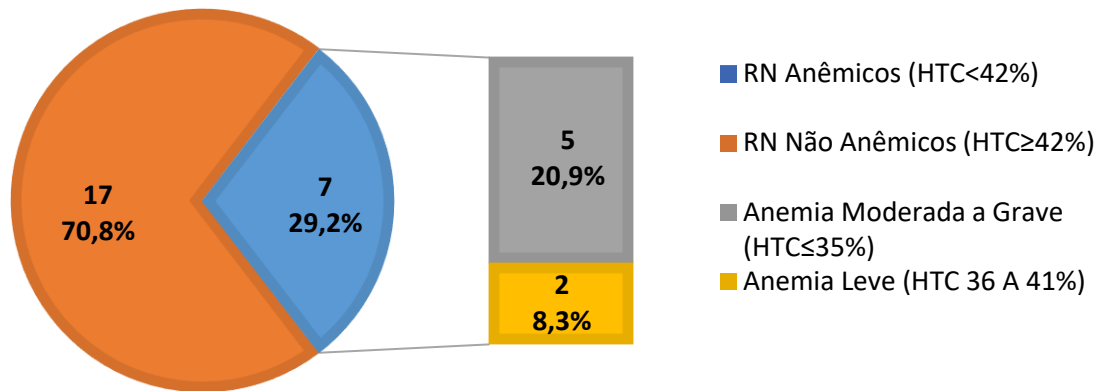
**** Solicitação de transfusão de concentrado de hemácias

§ Hemocultura positiva- Actinomyces naeslundii (contaminante)

§§ Icterícia por Zonas de Kramer - Método não invasivo de triagem de recém-nascidos com risco de hiperbilirrubinemia que correlaciona a progressão cefalocaudal da icterícia dérmica com o nível sérico de bilirrubina neonatal. Quando o aparecimento de icterícia dérmica for confinado ao rosto e pescoço (zona 1), a concentração sérica de bilirrubina está entre 4 e 8 mg/dl; quando a icterícia dérmica progride para o tronco até o umbigo (zona 2), os níveis estão entre 5 e 12 mg/dl; se a icterícia dérmica avança para a virilha e parte superior coxas (zona 3), os níveis séricos de bilirrubina se situam entre 8 e 16 mg/dl; joelhos até os tornozelos e cotovelos até os pulsos (zona 4) ficam icterícios entre os níveis de 11 e 18 mg/dl; e os pés e mãos, incluindo as palmas e plantas (zona 5), tornam-se icterícios com níveis séricos de bilirrubina ≥ 15 mg/dl. Essa correlação é independente do quadro clínico do recém-nascido, sendo equiparada apenas com a taxa de aumento da concentração sérica de bilirrubina (158,159).

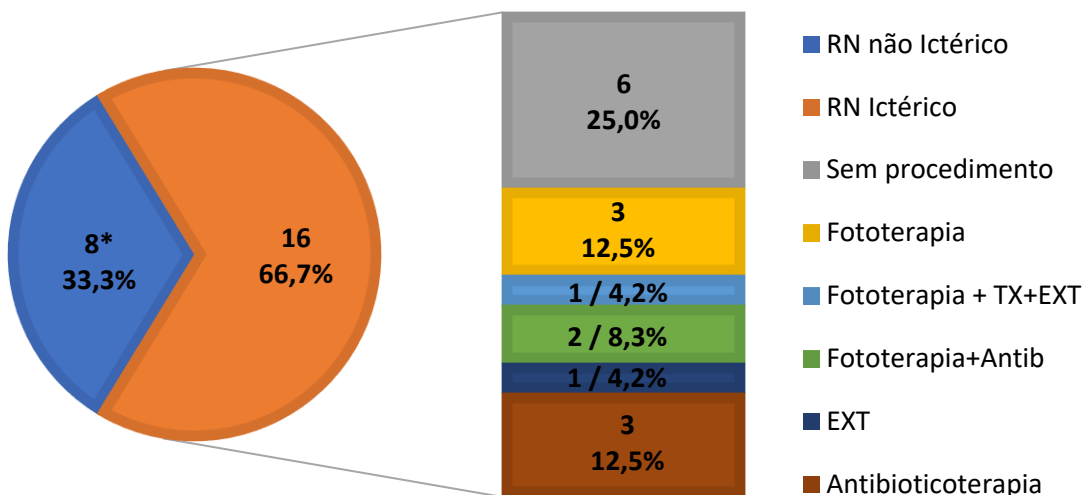
A frequência e o grau de anemia dos recém-nascidos estão demonstrados na figura 17 e a porcentagem de recém-nascidos icterícios, bem como os procedimentos realizados estão representados na figura 18.

Figura 17. frequência e grau de anemia em recém-nascidos de mães aloimunizadas



3 RN CD negativo não tiveram exames laboratoriais solicitados

Figura 18. Porcentagem de recém-nascidos icterícios e procedimentos realizados



3 RN CD negativo não tiveram exames laboratoriais solicitados

* 1 caso de TX CH + antibioticoterapia

No total, 8 (29,6%) dos 27 recém-nascidos vivos receberam tratamento para DHPN. Destes, 5 fizeram fototerapia, 1 transfusão de troca (exsanguíneotransfusão), 1 transfusão simples de concentrado de hemácias e 1 fez fototerapia, transfusão de troca, transfusão simples e utilizou IGIV (Figura 18).

7. DISCUSSÃO

Na DHPN, anticorpos antieritrocitários maternos de mais de 50 diferentes especificidades são capazes de atravessar a placenta, se ligar ao antígeno correspondente presente nos glóbulos vermelhos fetais e neonatais, desencadeando sua destruição prematura ou suprimindo a eritropoiese na medula óssea fetal (84,160).

Após a introdução da imunoglobulina RhD, a incompatibilidade ABO e a aloimunização materna não RhD surgiram como causas significativas de DHPN, que embora bastante comuns, são frequentemente benignas em seus respectivos cursos clínicos (19,50). Corroborando com a literatura, 460 (4,7%) dos 480 (4,9%) partos de recém-nascidos com teste de Coombs direto positivo realizados no Hospital Naval Marcílio Dias entre os anos de 2011 e 2019, foram ocasionados por incompatibilidade ABO materno-fetal (2 deles com necessidade de intervenção hematológica). Os demais casos foram em decorrência de aloimunização materna por anticorpos imunes irregulares de diferentes especificidades (anti-D, anti-c, anti-E, anti-C, anti-G, anti-Jka, anti-Jkb e anti-Fyb) e autoanticorpo quente indeterminado.

A avaliação detalhada da história obstétrica durante a primeira consulta pré-natal é primordial para garantir o adequado acompanhamento gestacional, em especial quando se refere a gestantes aloimunizadas. Sendo assim, informações relativas à gestações, abortos, transfusões prévias, intercorrências ou complicações em gestações ou transfusões anteriores, além de histórico de profilaxia anti-RhD em gestações anteriores ou atual garantem a adoção de conduta adequada e oportuna (35,107)

Em relação à história obstétrica das 27 gestantes estudadas, independentemente da especificidade do anticorpo identificado, 17 casos (63%) de sensibilização materna ocorreram após a primeira gestação e na ausência de procedimentos transfusionais prévios, demonstrando a importância da preocupação na investigação de aloimunização materna não somente em múltiparas ou politransfundidas.

A realização oportuna dos exames laboratoriais pré-natais permite prevenir, identificar e corrigir anormalidades que possam afetar a gestante e seu feto, além de possibilitar instituição precoce do tratamento adequado à doenças pré-existentes ou que possam ocorrer durante a gestação, auxiliando assim na redução da morbimortalidade materna e neonatal (161). Dentre outros exames, a rotina obstétrica pré-natal inclui a solicitação de testes imuno-hematológicos que visam definir a tipagem sanguínea (ABO/RhD) e explorar o estado imunitário antieritrocitário materno em relação a presença ou ausência de anticorpos irregulares séricos (162).

Embora a determinação da tipagem sanguínea seja obrigatória para todas as gestantes, não existe um consenso mundial em relação à ampla realização da pesquisa de anticorpos irregulares, no que tange o status RhD das mesmas. Nos países desenvolvidos, as diretrizes (59,73,75,76) relativas à triagem pré-natal de anticorpos eritrocitários de todas as mulheres grávidas, independente do fator RhD, é prática justificada e implementada, mas nos serviços pré-natais dos países em desenvolvimento ou com poucos recursos, embora muitas vezes existam diretrizes estabelecidas e seja um método de simples realização (4), a triagem pré-natal de anticorpos é realizada principalmente em mulheres RhD negativo ou com histórico obstétrico adverso, devido ao custo envolvido e a falta de infraestrutura e instalações para realização dos testes necessários (74,163). Tal fato, além de dificultar o diagnóstico precoce de algumas gestações aloimunizadas, retarda o tratamento e limita a publicação de dados referentes às taxas de aloimunização entre mulheres grávidas e à incidência da DHPN nesses países, dificultando, por conseguinte, a elaboração de políticas públicas que garantam a prevenção e atendimentos satisfatórios (14). Segundo Awowole et al., a prevalência de anticorpos para glóbulos vermelhos na gravidez varia de acordo com a etnia e a localização geográfica, enquanto o resultado obstétrico depende do padrão de atendimento disponível (164).

O HNMD, seguindo recomendações técnicas do MS (77,78,107,165), preconiza como exames imuno-hematológicos pré-natais a tipagem sanguínea de todas as gestantes e a pesquisa de anticorpos irregulares (Coombs indireto) das gestantes RhD negativo ou com algum antecedente de acometimento fetal ou neonatal. Quando a presença de aloanticorpos maternos é detectada, a amostra é encaminhada ao Serviço Hemoterapia para a realização da identificação do anticorpo em questão, permitindo assim que a gravidez possa ser monitorada por repetidos testes laboratoriais e, se necessário, por investigações clínicas adicionais que auxiliarão na tomada de decisão em relação ao tratamento adequado em cada caso.

Entre os anos de 2011 e 2019, apesar do respeito às normas brasileiras pré-natais estabelecidas (77,78,165), não foi possível detectar a presença de aloanticorpos em 8 gestantes atendidas no HNMD. Destes anticorpos, 2 possuíam alto risco de desenvolvimento de DHPN (anti-c e anti-E+c), 3 possuíam risco médio (2 anti-E e 01 anti-Fyb) e 3 detinham baixo risco de desenvolvimento da doença (anti-Jka, anti-S e anti-S+M) (Quadro 1). Tal situação ocorreu devido ao fato das gestantes serem RhD positivo e, portanto, não terem o teste de pesquisa de anticorpos irregulares solicitado durante o pré-natal, sendo a detecção dos referidos anticorpos possível somente após o parto de recém-nascidos CD positivo ou em decorrência de discrepâncias nas tipagens sanguíneas maternas observadas no pós-parto. Embora, felizmente, nenhum dos casos tenha evoluído com gravidade, tal fato enfatiza a importância da

implementação de triagem pré-natal de anticorpos para todas as gestantes, independentemente do status RhD.

De acordo com De Haas et al., um programa de triagem abrangente visa identificar as gestações em que o tratamento intrauterino do feto seja necessário e / ou o parto deva ser induzido para diminuir o risco de desenvolvimento de doença hemolítica grave (30). Nesse contexto, a ausência de um programa de triagem pré-natal de anticorpos eritrocitários que incluía todas as gestantes, tende a adiar o tratamento, aumentando o risco de DHPN grave.

Correlacionando os resultados laboratoriais pré-natais de tipagem sanguínea e pesquisa de anticorpos irregulares, lançados nos registros informatizados (Software COMPLAB e PIN) das 27 gestantes estudadas, foi constatado que: dentre as 17 (63%) gestantes que tiveram a pesquisa de anticorpos irregulares realizada, 10 (37%) eram RhD negativo e 7 (26%) RhD positivo, das quais 3 (11,1%) apresentavam histórico transfusional. As demais gestantes do estudo eram RhD positivo e não apresentavam relato de solicitação ou resultado da pesquisa de anticorpos irregulares nos registros informatizados. Além disso, foi verificado que dentre as gestantes que realizaram pesquisa de anticorpos irregulares durante o pré-natal, 9 (53%) foram realizadas no segundo trimestre e 4 (23,5%) somente no terceiro trimestre gestacional. Tal fato retarda o encaminhamento das mesmas ao pré-natal de alto risco e, por conseguinte, o monitoramento da gestação.

Os anticorpos eritrocitários observados com maior frequência nas amostras maternas foram: anti-D (n=6, 22,2%), seguido por anti-D+anti-C (n=3, 11,1%). Além disso, 10 (37%) das 27 gestantes imunizadas apresentavam mais de um aloanticorpo. De acordo com Markham et al., mulheres com múltiplos anticorpos antieritrocitários têm maior probabilidade de desenvolver doença hemolítica significativa do feto e do recém-nascido do que aquelas com um único anticorpo, uma vez que essa fisiopatologia pode sugerir uma resposta imune mais agressiva nessas gestantes, especialmente na presença de anticorpo anti-D (166).

No presente estudo, o autoanticorpo identificado em uma das gestantes foi considerado imune devido ao fato de pertencer a paciente falcêmica politransfundida e portadora de aloanticorpo. Segundo Yazdanbakhsh (167), o desenvolvimento de autoanticorpos eritrocitários após aloimunização ocorre em populações politransfundidas portadoras de hemoglobinopatias com uma incidência de aproximadamente 6% a 10%. Teorias possíveis para explicar esse fenômeno incluem falha na regulação da linfoproliferação induzida por aloanticorpos, assim como processamento e apresentação de aloantígenos alterados as células T. Do ponto de vista clínico, os autoanticorpos contra antígenos eritrocitários podem ser patológicos, causando hiper hemólise por reação transfusional hemolítica tardia e menor

sobrevida das hemácias do paciente (167). Tal fato também pode acometer as hemácias do feto ou do recém-nascido, quando se trata de autoanticorpos da classe IgG, levando a DHPN, normalmente leve (168,169). O recém-nascido em questão foi concebido pré-termo (29ª semana gestacional) devido a hemólise materna ocasionada pelo autoanticorpo quente indeterminado, que a levou a óbito um dia após o parto e provocou DHPN leve com necessidade de fototerapia única no concepto.

Por outro lado, os anticorpos contra antígenos do Sistema Lewis (anti-Lea e anti-Leb) identificados no estudo, apesar de receberem a classificação de anticorpos naturais irregulares foram observados em duas gestantes com uma gestação prévia e em uma primípara. Tais anticorpos normalmente não estão associados à DHPN, pois geralmente pertencem a classe IgM. Além disso, os antígenos Lewis não são intrínsecos aos eritrócitos, sendo adsorvidos passivamente na membrana eritrocitária do concepto, a partir do plasma, em torno de 10 dias a 6 meses após o parto (53,170).

Em relação aos 2 anticorpos anti-A identificados como causadores de DHPN por incompatibilidade ABO materno-fetal no estudo, cabe ressaltar que, embora a incompatibilidade ABO seja um evento relativamente frequente (afeta 15 a 25% de todas as gestações), apenas 1% dos casos há desenvolvimento de DHPN (171,172).

A AABO define como anticorpo clinicamente significativo, aquele que causa diminuição da sobrevida dos glóbulos vermelhos, por reação transfusional hemolítica ou doença hemolítica do feto e do recém-nascido (36). Segundo o quadro 1, 44,5% (n=12) dos aloanticorpos identificados no estudo (anti-D, anti-D+anti-C, anti-D+anti-G, anti-c e anti-c+anti-E) possuíam alto risco de desenvolvimento de DHPN; 14,8% (n= 4) dos aloanticorpos (anti-E, anti-Fyb e anti-C+anti-M) possuíam risco médio; 29,6% (n=8) (anti-Jka, anti-Jkb, anti-S, autoanticorpo e anti-A) apresentavam baixo risco e 11,1% (n=3) (anti-Leb e anti-Lea+Leb) não possuíam risco de desenvolvimento de DHPN, devido à baixíssima expressão desses antígenos nos eritrócitos fetais.

A atenção pré-natal se constitui em um conjunto de ações que são simultaneamente preventivas, promotoras de saúde, diagnósticas e curativas, visando o bom desfecho da gestação e auxiliando na redução da morbimortalidade materna e neonatal (161,173,174). Assim sendo, além da realização dos exames pré-natais de rotina de maneira oportuna e abrangente, é de suma importância o cumprimento às determinações de repetição dos mesmos em períodos pré-estabelecidos ou em decorrência de eventos significativos.

No Brasil, a periodicidade recomendada de repetição da pesquisa de anticorpos irregulares das gestantes RhD negativo quando o resultado inicial for negativo, ocorre a cada 4

semanas, a partir da 24ª semana gestacional (78) e, quando o resultado for positivo, preconiza-se referir a gestante ao pré-natal de alto risco (78). Além disso, independente da tipagem RhD, mulheres com histórico de anticorpos ou eventos clínicos significativos de glóbulos vermelhos que possam promover a formação de anticorpos, como: transfusões de sangue, complicações na gravidez e amostragem de vilosidades coriônicas, podem precisar de testes adicionais de triagem de anticorpos durante o segundo e terceiro trimestres gestacionais (84). Tais recomendações visam garantir a detecção de aloanticorpos não observados no exame realizado no primeiro trimestre ou consulta, devido ao baixo título inicial ou aos casos de soroconversão, uma vez que, à medida que a gravidez avança, aumenta a possibilidade de hemorragia feto-materna (3% no primeiro trimestre, 12% no segundo, 45% no terceiro e 64% no momento do parto) (175).

Foi relatado que a hemorragia feto-materna transplacentária ocorre em mais de 75% das gestações e que apenas 0,1 ml de sangue positivo para antígeno é suficiente para causar sensibilização em uma mãe negativa para o mesmo (55,56).

Analizando os registros informatizados do Serviço de Análises Clínicas (COMPLAB) e o Prontuário Informatizado Naval (PIN) das 27 gestantes estudadas, foi possível constatar que, das 17 gestantes cuja pesquisa de anticorpos irregulares foi realizada durante o pré-natal, 29,4% (n=5) apresentavam resultado inicialmente negativo. Dessas, 11,8% positivaram na 1ª repetição do teste (2 anti-D+C) e 17,6% não tiveram o teste repetido durante o pré-natal, sendo os anticorpos (anti-D, anti-Jkb e anti-C+M) identificados somente na amostra materna pós-parto e no eluato dos RN. Além disso, foram observados 4 casos de PAI positiva (anti-Jka, anti-D, anti-Lea+Leb e autoanticorpo), todos sem repetição durante o pré-natal (Figura 14). Tais achados corroboram com os estudos de Dajak e Raguz, que enfatizam a necessidade da realização da pesquisa de anticorpos irregulares em todas as gestantes, bem como sua repetição no terceiro trimestre, especialmente em multíparas (108,176).

De acordo com o MS, no Brasil, apesar das recomendações existentes em relação à profilaxia com imunoglobulina anti-D serem divulgadas e conhecidas, a aloimunização materno-fetal ainda afeta cerca de cinco a cada mil gestações (165). Na Holanda, a prevalência de gestações sensibilizadas com anti-D é de uma em mil (30) e na África, embora a prevalência da negatividade RhD na população ser baixa (3-8%), as taxas de aloimunização anti-D em mulheres com potencial para engravidar chegam a 2-12% devido as barreiras aos testes e cuidados pré-natais (91).

No HNMD, apesar dos esforços despendidos com a imunoprofilaxia, o anticorpo anti-D continua sendo o responsável pelo maior número de casos sensibilização materna (n=10;

37,0%) e está vinculado ao maior risco de anemia fetal grave. Os resultados encontrados estão de acordo com os observados em outros estudos (4,108,163,176–179). Tal fato possivelmente está associado à elevada imunogenicidade e a alta frequência do antígeno na população estudada, bem como à possibilidade de transfusão sanguínea RhD discordante ou à dose insuficiente de RhIG.

Embora os casos mais graves de DHPN envolvam o antígeno RhD, devido a sua elevada imunogenicidade, Koelewijn et al. descreveram que 2 a 4% das gestações não imunizadas com o anticorpo anti-D podem ocasionar DHPN grave o suficiente para exigir tratamento por TIU e/ou transfusões de troca neonatais (118). No mesmo artigo demonstraram que a transfusão de hemácias é o fator de risco independente mais importante para aloimunização não-RhD durante a gravidez, seguido pela paridade (gestação prévia), doença hematológica e cirurgia de grande porte. Divergindo da literatura, dentre as 27 gestantes estudadas, 15 eram RhD positivo aloimunizadas por anticorpos não RhD, sendo a maior parte delas (n=11) sensibilizadas em decorrência de gestação(ões) prévia(s) e somente 3 devido a gestação e/ou transfusão prévias (sendo uma portadora de doença hematológica) e 1 primípara. As demais 2 gestantes RhD positivo do estudo não apresentavam aloanticorpos, mas sim isoaglutininas anti-A da classe IgG.

Durante o pré-natal, além da identificação do aloanticorpo materno, sua titulação em intervalos regulares pode ser ocasionalmente útil na tentativa de definir sua concentração relativa presente e indicar o momento de encaminhamento da gestante para cuidados especializados e/ou monitoramento da DHPN por meios não sorológicos (53,87,88). No presente estudo, a titulação dos aloanticorpos maternos foi realizada em 8 gestantes e deixou de ser realizada em 9, das quais 4 (anti-Jkb, anti-D, anti-D+C e anti-C+M) apresentaram PAI inicialmente negativas que positivaram somente no terceiro trimestre gestacional e/ou na amostra pós-parto e 5 (anti-D, anti-Jka+anti-B, 2 anti-Lea+Leb e autoanticorpo) que, apesar de possuírem resultado (s) de PAI positiva (s), não contaram com a realização do referido teste, devido à falta de amostra sanguínea suficiente ou mesmo em decorrência do desconhecimento da importância de sua realização quando se trata de anticorpos não RhD.

Ultrassonografia e Doppler da artéria cerebral média fetal (VSP-ACM) são exemplos de exames clínicos não invasivos de escolha para a monitorização dos casos de gestações com risco de DHPN grave, previamente acompanhados através de titulação (53,93). Durante a análise foi constatado que em 8 casos os aloanticorpos identificados atingiram títulos ≥ 16 nos exames pré-natais. Destes, 6 casos (3 anti-D, 2 anti-D+C e anti-D+G) possuíam relato de ausência de sinais de hidropsia fetal após exame de USG, sendo três deles acompanhados por

Doppler da VSP-ACM com resultados $<1,5\text{MoM}$, um associado ao Doppler da VSP-ACM com resultados $>1,5\text{MoM}$ e outro caso somente com relato de ausência de sinais velocimétricos compatíveis com hidropsia fetal (Tabela 4). Os demais casos (anti-D e anti-Leb) não possuíam resultados de exames complementares de imagem para investigação da anemia fetal nos respectivos prontuários informatizados.

Como tratamento da DHPN fetal, a TIU é capaz de preservar o resultado neurológico em muitas crianças, embora aquelas com hidropisia grave possam desenvolver paralisia cerebral, atraso grave no desenvolvimento e surdez (6,138). Alternativas em potencial ou terapias maternas adjuvantes durante a gravidez para diminuir a gravidade da anemia fetal incluem IGIV e plasmaférese terapêutica, embora as evidências para apoiar a eficácia dessas terapias sejam limitadas (6). O presente estudo não contou com a realização deste tratamento ou de terapias alternativas em nenhum dos fetos.

Analisando a idade gestacional média no estudo (38,1 semanas [IC 95% 37,2 – 39,0]) foi possível constatar que os 3 partos pré-termo (anti-Jka, autoanticorpo e anti-E em gemelares) ocorreram por motivos alheios à DHPN e que 6 partos realizados entre 37 e 40 semanas (4 anti-D, anti-D+C, anti-D+G) foram antecipados devido à sensibilização com altos títulos RhD nas gestantes e elevado risco de desenvolvimento de DHPN.

Mulheres RhD negativo, não sensibilizadas por anticorpo anti-D, fazem profilaxia com RhIG perinatal para evitar aloimunização e reduzir o risco de DHPN (84). Quando RhIG é administrada dentro de 72 horas após o parto de um neonato RhD positivo, cuja mãe possui fenotipagem negativa para o antígeno D, a incidência de aloimunização diminui de 12 a 13% para 1 a 2%. Quando RhIG é administrada na 28ª semana de gestação, além da dose pós-natal, a incidência de aloimunização diminui ainda mais, passando a ser de 0,1% (84,171,180). O HNMD preconiza a realização de profilaxia pós-parto com imunoglobulina Rh em gestantes RhD negativo, cujos recém-nascidos apresentem tipagem sanguínea positiva para o antígeno RhD e não há obrigatoriedade para a realização da profilaxia pré-natal anti-D de rotina (RAADP) para mulheres RhD negativo com parceiros RhD positivo no referido hospital.

Segundo o Prontuário Informatizado Naval (PIN) das 10 gestantes RhD negativo estudadas, 5 apresentavam relato de administração de RhIG após o parto anterior; 2 informaram não ter realizado RhIG na gestação anterior e 3 prontuários não constavam relatos referentes à utilização de profilaxia prévia. Além disso, nenhuma gestante realizou profilaxia pré-natal de rotina (RAADP) com imunoglobulina anti-D durante a gestação estudada e 70% das gestantes sensibilizadas tinham prescrição de RhIG no pós-parto (Figura 16).

Uma dose de 300 µg (1.500 UI) de RhIG protege contra a imunização ocasionada por 15 ml de glóbulos vermelhos ou 30 ml de sangue total RhD positivo (75,84). Nos casos de hemorragia feto-maternas superiores a estes volumes, uma dose extra de RhIG deve ser administrada para prevenir o risco de aloimunização materna por anti-D (75,110). No HNMD, a dosagem de 300 µg recomendada pelo MS (78) é prescrita, respeitando o prazo de administração de 72h após o parto e não é preconizada a realização da avaliação de hemorragia feto-materna através de métodos qualitativos e/ou quantitativos no referido hospital.

Após o parto, a realização do testes imuno-hematológicos (tipagem sanguínea, Coombs direto e eluato) na amostra do sangue de cordão e o monitoramento contínuo com verificações regulares de exames laboratoriais (reticulócito, hematócrito, hemoglobina e bilirrubina), fornece informações relacionadas à recuperação da medula ou a necessidade de tratamento neonatal por fototerapia, transfusão simples ou transfusão de troca (156,181). No estudo, 22 (81,5%) recém-nascidos apresentaram teste de Coombs direto positivo e a técnica de eluição, realizada em 18 deles, permitiu a identificação dos respectivos aloanticorpos maternos ligados aos eritrócitos neonatais. Exames laboratoriais realizados em suas amostras detectaram 7 RN anêmicos ($HTC < 42\%$), dos quais 5 (20,9%) apresentavam anemia moderada a grave (2 anti-A, anti-Jka, anti-D, anti-D+G) e 2 (8,3%) anemia leve (anti-D e anti-E) (Figura 17). Além disso, a porcentagem de RN ictéricos foi de 66,7% (n=16), dos quais 7 (29,2%) receberam tratamento para DHPN e 1 (4,2%), apesar de não apresentar icterícia, necessitou de transfusão de concentrado de hemácias para tratamento da anemia (Figura 18).

Segundo uma revisão publicada em 2015 (30), a doença hemolítica perinatal pode ser classificada como: DHPN muito grave, nos casos que evoluem para morte intrauterina e casos tratados por transfusões intrauterinas (TIU) e / ou transfusão de troca (EXT) após o nascimento; DHPN grave, quando inclui casos tratados com transfusões de reposição e casos em que a indução pré-termo do trabalho de parto for necessária; e DHPN leve, nos casos sem necessidade de indução pré-termo do trabalho de parto e nos quais o tratamento com fototerapia é suficiente. Seguindo este conceito, o estudo contou com 5 casos de DHPN leve (3 anti-D, 1 anti-D+C e 01 autoanticorpo) que evoluíram com necessidade de fototerapia; 1 caso de DHPN grave (anti-A) com necessidade de transfusão de concentrado de hemácias e 2 casos de DHPN muito grave, um com necessidade de EXT (anti-A) e o outro (anti-D+G) que além da EXT precisou de transfusão de concentrado de hemácias, IGIV e fototerapia, evoluindo com o falecimento do RN um dia após o parto. Infelizmente um dos prontuários do estudo (anti-D) não foi localizado, tornando impossível a descrição dos procedimentos adotados.

8. CONCLUSÃO

- a) A incompatibilidade ABO, ocasionada por anticorpos naturais regulares maternos contra antígenos eritrocitários do Sistema ABO fetal/neonatal, foi a causa mais comum de positividade no teste de Coombs direto em recém-nascidos no Serviço de Obstetrícia do Hospital Naval Marcílio entre os anos de 2011 e 2019. Além disso, em menor proporção, auto ou aloanticorpos imunes maternos também ocasionaram resultados positivos no referido teste.
- b) Anticorpos de diferentes especificidades estiveram envolvidos nos casos de DHPN no HNMD, dentre eles: anti-A, anti-D, anti-c, anti-E, anti-C, anti-G, anti-Jka, anti-Jkb e anti-Fyb, além de um autoanticorpo quente indeterminado materno. Foi possível perceber que, apesar da utilização de imunoprofilaxia RhD pós-parto, a aloimunização materna por anticorpo anti-D continua sendo a principal responsável pelos casos de DHPN no referido hospital e que 10 gestantes possuíam múltiplos anticorpos antieritrocitários, apresentando maior probabilidade de desenvolvimento de DHPN significativa;
- c) A análise detalhada da história obstétrica das gestantes estudadas, demonstrou que a sensibilização materna ocorreu principalmente durante a primeira gestação ou após o primeiro parto, independentemente de abortos e procedimentos transfusionais prévios. Possibilitando reforçar a preocupação na investigação de aloimunização materna não somente em multíparas ou politransfundidas.

A análise dos exames para monitoramento da DHPN, evidenciou que tanto os exames imuno-hematológicos (tipagem sanguínea ABO/RhD, pesquisa de anticorpos irregulares com identificação e titulação do anticorpo evidenciado) quanto os exames complementares (USG e Doppler VSP-ACM) foram solicitados no HNMD. Embora tenha sido observada a importância da ampliação do programa de triagem, titulação e identificação de anticorpos antieritrocitários no pré-natal, para todas as gestantes, independentemente do status RhD, iniciando, preferencialmente, no primeiro trimestre gestacional e com repetições seriadas nos demais trimestres. Além do monitoramento gestacional, através de exames complementares de imagem por USG e Dopplervelocimetria, para todas as gestantes com título de anticorpos ≥ 16 , visando inferir a necessidade de investigação de anemia fetal grave através de exames invasivos

ou mesmo permitir a transferência das gestantes para centros especializados, quando a VSP-ACM atingir valores $\geq 1,5\text{MoM}$ ou a USG demonstrar indícios de hidropsia fetal;

- d) Observando as medidas profiláticas adotadas no HNMD foi possível constatar que, embora a realização de profilaxia pós-parto com imunoglobulina Rh (RhIG) seja utilizada de forma abrangente, algumas gestantes ainda apresentaram sensibilização por anticorpo anti-D, reforçando a importância da complementação do procedimento adotado com a realização da profilaxia pré-natal anti-D de rotina (RAADP) para mulheres RhD negativo com parceiros RhD positivo além do investimento em testes de qualificação e quantificação da hemorragia feto-materna, com o intuito de administração de dose adicional da medicação. Além disso, cabe ressaltar a importância da avaliação de falhas na aplicação dos protocolos para utilização de imunoglobulina Rh;
- e) Após a verificação do exame clínico (icterícia neonatal por Zona de Kramer) e dos resultados dos exames laboratoriais (hematócrito / bilirrubina / reticulócitos / LDH) dos recém-nascidos, foi possível constatar que os anticorpos direcionados aos antígenos do Sistema Rh (D, E, C, c, G) foram os principais responsáveis por quadros de icterícia e anemia mais intensos, culminando com tratamentos como a fototerapia (nos casos mais brandos de icterícia) até exsanguíneotransfusão ou transfusão de concentrado de hemácias (nos casos mais graves de icterícia ou anemia, respectivamente);
- f) Recomendações protocolares de manejo imuno-hematológico e laboratorial foram propostas, com o intuito de auxiliar os profissionais da área de saúde materno-infantil na futura elaboração de protocolos clínicos de acompanhamento de gestantes aloimunizadas e seus conceitos acometidos pela doença hemolítica perinatal.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os aspectos pré-natais e pós parto analisados no estudo enfatizam a necessidade de implementação de diretrizes pré-definidas sobre triagem e monitoramento perinatal de gestações aloimunizadas e assistência aos recém-nascidos acometidos, bem como investimentos em ações de prevenção do risco de aloimunização e orientação às mulheres sensibilizadas em relação ao risco de desenvolvimento ou agravamento da DHPN em gestações futuras.

Recomendações protocolares de manejo laboratorial e imuno-hematológico de gestantes aloimunizadas e seus conceitos acometidos pela doença hemolítica perinatal foram elaboradas para colaborar com os profissionais da área de saúde materno-infantil na padronização das condutas de assistência perinatal. Além disso, o presente estudo sugere a adoção de medidas profiláticas de rotina, tais como: ampla administração de RhIG na 28ª semana gestacional; investimento em testagens qualitativas e quantitativas destinadas à avaliação de hemorragias feto-maternas em mulheres RhD negativo, (visando administração de doses adicionais de RhIG para impedir a sensibilização materna pelo antígeno RhD fetal) e o aprimoramento do protocolo transfusional, com a inclusão de fenotipagem eritrocitária e transfusões fenótipo compatíveis para mulheres em idade fértil, como medidas de prevenção da sensibilização Rh e Kell.

10. PRODUTO GERADO PELO ESTUDO

**RECOMENDAÇÕES PARA O MANEJO LABORATORIAL
E IMUNO-HEMATOLÓGICO DE
GESTANTES ALOIMUNIZADAS E SEUS CONCEPTOS ACOMETIDOS
PELA DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL**

APRESENTAÇÃO

Na Doença Hemolítica Perinatal (DHPN), anticorpos maternos imunes ou naturais, ambos da classe IgG, dirigidos contra antígenos eritrocitários herdados do pai e presentes nas hemácias do feto, atravessam a barreira placentária, promovem hemólise prematura dos eritrócitos e/ou supressão da eritropoiese, ocasionando anemia fetal e eventualmente a morte (5,8,9). Este processo patológico que se inicia intraútero, pode se estender ao período neonatal, justificando a nomenclatura dada a essa patologia (10).

A DHPN pode ser desencadeada por mecanismos imunológicos distintos como: incompatibilidade ABO, entre os anticorpos naturais maternos e os antígenos do Sistema ABO do feto, e aloimunização materna contra antígenos eritrocitários pertencentes aos principais Sistemas de grupos sanguíneos (Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS, Diego P, Lutheran e Xg) do feto (2,41–45). No caso da imunização ABO, por apresentarem ocorrência esperada, os anticorpos são classificados como naturais regulares. Mas, em situação de aloimunização, os anticorpos podem aparecer após estímulos transfusionais e gestacionais, recebendo a denominação de anticorpos imunes e irregulares, devido a sua ocorrência inesperada (2).

As manifestações clínicas mais frequentes da doença hemolítica por anticorpos regulares ABO se dão pelo surgimento, nas primeiras vinte e quatro horas de vida, de icterícia (devido a hiperbilirrubinemia), com presença de anemia leve e palidez. Também podem ser observados graus brandos de hepatoesplenomegalia e aumento moderado de reticulócitos (2). Já nos casos de doença hemolítica por anticorpos irregulares, foi demonstrado que: hidropsia, icterícia grave e kernicterus são diferentes manifestações de um mesmo processo que cursa com hemólise, anemia, eritropoiese extra medular, hepatoesplenomegalia moderada a grave, presença de eritroblastos na circulação fetal e encefalopatia em recém-nascidos devido ao efeito prejudicial da hiperbilirrubinemia crônica no cérebro (23,39).

A presente publicação visa contribuir para o aprendizado e disseminação do conhecimento entre os profissionais de saúde da área materno-infantil em relação ao manejo de gestantes aloimunizadas e seus conceitos acometidos pela DHPN, uma vez que, exames laboratoriais e imuno-hematológicos, realizados em épocas apropriadas durante o pré-natal, representam ferramentas essenciais no acompanhamento da gestação, auxiliando a identificação precoce de gestantes e fetos sensibilizados, permitindo a monitorização da evolução da anemia fetal e garantindo a adoção de terapêutica adequada para melhorar o prognóstico do recém-nascido.

1.1. Recomendações para o manejo pré-natal

O diagnóstico precoce de gestações aloimunizadas é extremamente importante, uma vez que diferentes especificidades de anticorpos eritrocitários maternos são capazes de provocar doença hemolítica perinatal, cuja manifestação pode variar de assintomática a hidropsia fetal, kernicterus e morte intrauterina ou neonatal(6). Sendo assim, a detecção, identificação e acompanhamento do título desses anticorpos maternos durante o pré-natal pode garantir um gerenciamento oportuno e evitar mortalidade significativa dos conceitos em risco(19).

A rotina de triagem pré-natal regular de anticorpos eritrocitários de todas as mulheres grávidas, independentemente do fenótipo RhD, embora não seja justificada sob uma perspectiva clínica de custo-benefício, representa a única maneira de detectar fetos com risco de DHPN grave devido a sensibilização materna, além de ser útil na garantia da disponibilidade oportuna de sangue negativo para o antígeno em questão, nos casos de necessidade de transfusão materna, fetal ou neonatal, especialmente quando se trata de aloanticorpos contra antígenos de alta frequência na população(4).

Uma opção sugerida na tentativa de aumentar o rastreio de gestantes aloimunizadas sem um aumento substancial dos custos em relação aos protocolos adotados nos países desenvolvidos, que incluem todas as gestantes, seria a realização da triagem de mulheres com histórico de aloimunização; transfusão ou aborto; múltiparas; submetidas a cirurgias de grande porte ou portadoras de doença hematológica; além das mulheres RhD negativo já rastreadas.

Cabe ressaltar que, independentemente da tipagem RhD, mulheres expostas a eventos sensibilizantes elencados no quadro abaixo, podem precisar de testes adicionais de triagem de anticorpos durante o segundo e terceiro trimestres gestacionais(84).

Quadro 4. Formas de exposição materna ao sangue fetal

Espontânea	Traumática
Momento do parto	Amniocentese
Deslocamento prematuro de placenta	Biópsia de vilosidades coriônicas
Abortamento espontâneo	Cordocentese
Morte fetal intraútero	Abortamento induzido
Gestação ectópica	Transfusão sanguínea intrauterina
Mola hidatiforme	Versão externa
	Manipulação obstétrica
	Trauma abdominal

Fonte: BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012.

Quadro 5. Exames laboratoriais para rotina pré-natal

EXAMES LABORATORIAIS 1º TRIMESTRE (0-13 semanas) OU 1ª CONSULTA:

- a) Imuno-hematologia:** Tipagem sanguínea ABO/RhD e Coombs Indireto com identificação e titulação do anticorpo (gestantes RhD negativo ou com histórico de aloimunização, transfusão, aborto, múltiparas, submetidas a cirurgias de grande porte, expostas a eventos sensibilizantes e portadoras de doença hematológica);
- b) Hematologia:** Hemograma e Coagulograma (TAP, PTT, Tempo de sangramento);
- c) Bioquímica:** Glicose, Ureia, Creatinina, TGO, TGP e Proteínas totais e frações;
- d) Hormônios:** TSH e T4livre;
- e) Imunologia:** Sorologia para Sífilis, Brucelose, Listeriose, HIV, Toxoplasmose (IgM/IgG), Hepatite B (HbsAg e Anti-Hbs), Hepatite A (IgM/IgG), Hepatite C (Anti-HCV), CMV(IgM/IgG), Rubéola (IgM/IgG), Herpes (IgM/IgG) e anti-HTLV;
- f) Urinálise:** EAS e Urinocultura;
- g) Parasitologia:** Exame Parasitológico de fezes.

EXAMES LABORATORIAIS 2º TRIMESTRE (14 – 26 semanas):

- a) Imuno-hematologia:** Coombs Indireto com identificação e titulação do anticorpo (em caso de resultado positivo na triagem anterior, histórico de aloimunização e eventos sensibilizantes durante a gestação);
 - b) Hematologia:** Hemograma e Coagulograma (TAP, PTT, Tempo de sangramento);
 - c) Bioquímica:** Glicose, Ureia, Creatinina, TGO, TGP, Proteínas totais e frações e Teste de tolerância a glicose com 75g de dextrosol;
 - d) Hormônios:** TSH e T4livre;
 - e) Imunologia:** Sorologia para Sífilis, HIV, Toxoplasmose (IgM/IgG) e Anti-HTLV;
 - f) Urinálise:** EAS e Urinocultura;
- OBS:** Teste de tolerância a glicose com 75g (Se glicemia acima de 85mg/dl ou em caso de fator de risco. Realizar o exame preferencialmente entre a 24ª-28ªsem)

EXAMES LABORATORIAIS 3º TRIMESTRE (27 – 40/41 semanas):

- a) Imuno-hematologia:** Tipagem sanguínea ABO/RhD e Coombs Indireto com identificação e titulação do anticorpo (em caso de resultado positivo anterior, múltiparas ou com histórico de aloimunização, eventos sensibilizantes, aborto, transfusão, cirurgias de grande porte, portadoras de doença hematológica e em gestantes RhD negativo antes da administração pré-natal de Ig anti-D);
 - b) Hematologia:** Hemograma e Coagulograma (TAP, PTT, Tempo de sangramento);
 - c) Bioquímica:** Glicose, Ureia, Creatinina, TGO, TGP e Proteínas totais e frações;
 - d) Hormônios:** TSH e T4livre;
 - e) Imunologia:** Sorologia para Sífilis, Brucelose, Listeriose, HIV, Toxoplasmose (IgM/IgG), Hepatite B (HbsAg e Anti-Hbs), Hepatite A (IgM/IgG), Hepatite C (Anti-HCV), CMV (IgM/IgG), Rubéola (IgM/IgG), Herpes (IgM/IgG) e anti-HTLV;
 - f) Urinálise:** EAS e Urinocultura;
- OBS:** Teste rápido HIV e Sífilis (pré-nascimento).

No Brasil, a periodicidade de repetição da pesquisa de anticorpos irregulares (teste de Coombs indireto) em gestantes RhD negativo com parceiro RhD positivo ou desconhecido é recomendada pelo Ministério da Saúde nos seguintes moldes:

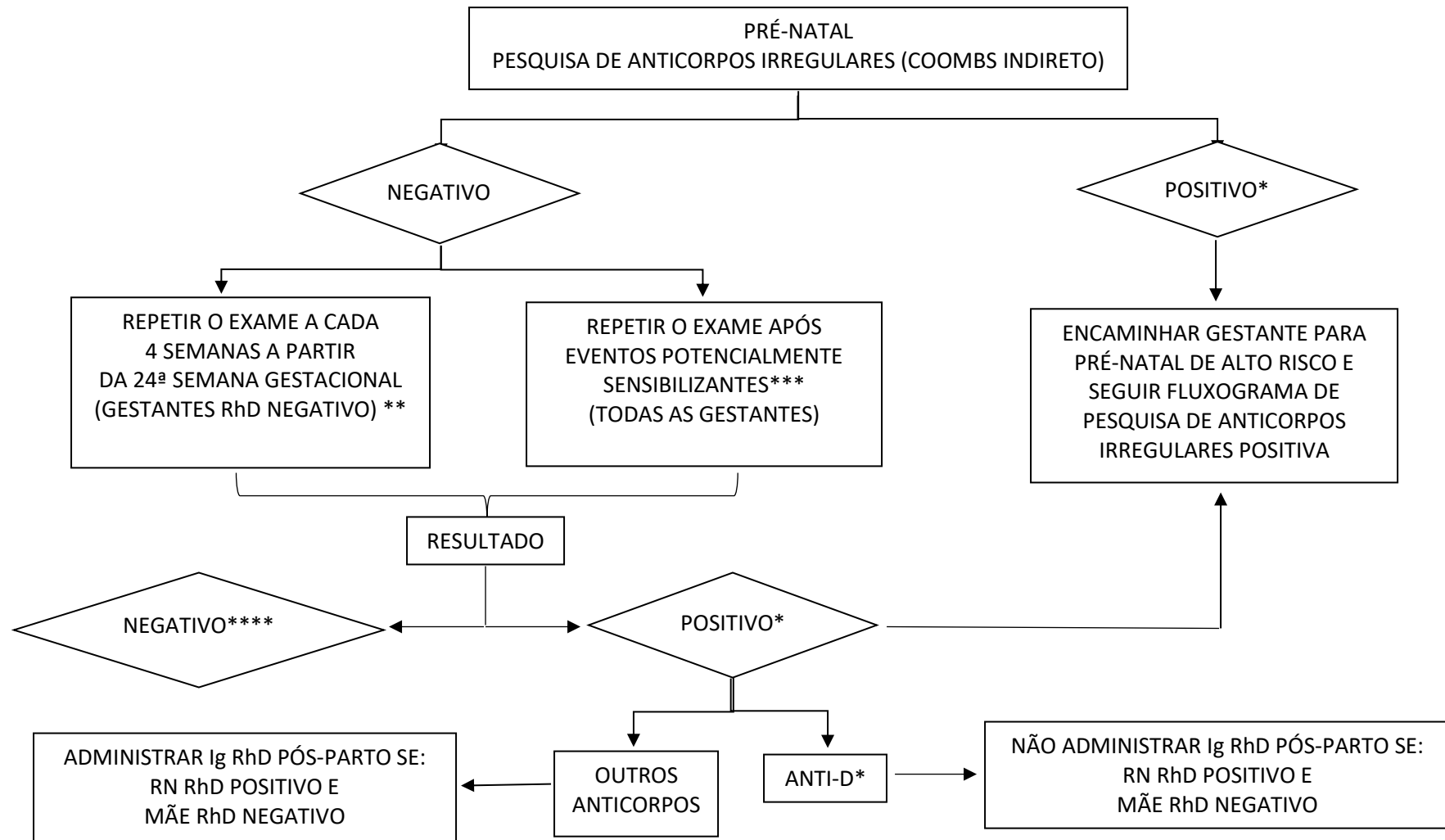
- Quando o resultado inicial for negativo, deve ocorrer a cada 4 semanas a partir da 24ª semana gestacional (78) e
- Quando o resultado for positivo, preconiza-se referir a gestante ao pré-natal de alto risco. (78)

Tais recomendações visam garantir a detecção de aloanticorpos não observados no exame realizado no primeiro trimestre ou consulta, devido ao baixo título inicial ou aos casos de soroconversão, uma vez que, à medida que a gravidez avança, aumenta a possibilidade de hemorragia feto-materna(175).

Outro ponto de extrema relevância diz respeito à utilização de imunoglobulina Rh (RhIG) como profilaxia padrão de mulheres RhD negativo não sensibilizadas por anticorpo anti-D (53,170). Além da administração, em até 72h, pós-parto ou após evento/procedimento potencialmente sensibilizante, amplamente divulgadas, a utilização pré-natal da imunoglobulina RhD na 28ª gestacional (107,111,182), no procedimento conhecido como profilaxia pré-natal anti-D de rotina (RAADP), visa reduzir a taxa de risco de aloimunização materna para o antígeno D, atuando na prevenção da doença hemolítica RhD do feto e do recém-nascido (30,75,109).

Existem outras indicações clínicas para administração de RhIG em mulheres RhD negativo, como por exemplo: aborto; cordocentese; gravidez ectópica; trauma abdominal; morte intra-uterina ou natimorto; e transfusão acidental ou inadvertida com hemácias RhD positivo (44,53,110).

Figura 19. Fluxograma laboratorial para triagem de gestações aloimunizadas



* Não ocasionado por administração pré-natal de imunoglobulina anti-D (profilático ou após evento potencialmente sensibilizante)

** Para gestantes RhD positivas, a repetição ocorrerá na 28ª semana gestacional.

*** Evento Potencialmente Sensibilizante: hemorragia anteparto; aborto espontâneo ou terapêutico; cordocentese; gravidez ectópica ou molar; morte fetal; trauma abdominal; versão cefálica externa.

**** Caso o resultado permaneça negativo na 28ª semana gestacional, a profilaxia pré-natal de rotina com imunoglobulina anti-D (RAADP) pode ser utilizada em gestantes RhD negativo.

Apesar das recomendações existentes em relação à profilaxia com RhIG, a aloimunização materno-fetal ainda afeta cerca de cinco a cada mil gestações, tendo como principais causas: falhas na administração da imunoglobulina (administração tardia, em volume insuficiente ou omissão de administração após evento reconhecidamente sensibilizante); inadequada detecção da hemorragia feto-materna; além do uso de drogas endovenosas e transfusões de sangue (55,75,165). Cerca de 98% dos casos de aloimunizações maternas são devido ao antígeno D do Sistema Rh e 2% a outros antígenos, tais como: K, E ou c (165).

O desencadeamento da DHPN depende de vários fatores, tais como: especificidade do(s) aloanticorpo(s) irregular(es); subclasse IgG do(s) anticorpo(s) e o grau de expressão do antígeno na membrana eritrocitária fetal/neonatal (35,53). O quadro abaixo representa a relevância clínica dos principais anticorpos envolvidos na DHPN.

Quadro 6. Importância clínica dos anticorpos irregulares

Sistema de Grupo Sanguíneo	Especificidade do Anticorpo	Risco de desenvolver DHPN em crianças com antígeno positivo ^b	Curso clínico da doença ^a
ABO	Anti-A, Anti-B e Anti-AB	Baixo risco de doença	Em geral leve, incidentalmente grave
Rh	Anti-D	Alto risco de doença	Frequentemente muito grave
	Anti-c	Alto risco de doença	Muito grave ou leve
	Anti-E	Médio risco de doença	Por vezes grave, mas em sua maioria leve
	Outros anticorpos	Médio risco de doença	Incidentalmente grave, mas principalmente leve
Kell	Anti-K	Alto risco de doença	Muito grave ou leve
	Outros anticorpos	Médio risco de doença	Leve a grave
Duffy	Anti-Fya/ Anti-Fyb	Médio risco de doença	Principalmente leve
Kidd	Anti-Jka/ Anti-Jkb	Baixo risco de doença	Principalmente leve
MNS	Anti-M/Anti-N/Anti-S/Anti-s	Baixo risco de doença	Principalmente leve, muito raramente grave
	Outros anticorpos	Baixo risco de doença	Principalmente leve, muito raramente grave
Outros	I, Le, P1, Lu, Yt	Sem risco (devido à baixíssima expressão desses antígenos nas hemácias fetais)	Nenhum
	Outros anticorpos	Muito baixo risco de doença	Muito raramente graves

^a Doença muito grave: Necessidade de transfusão intrauterina e/ou exsanguíneotransfusão após o nascimento. Doença grave: Necessidade de transfusão intrauterina e/ou indução pré-termo de parto e/ou transfusões de sangue após o nascimento. Doença leve: Apenas o tratamento com fototerapia é necessário.

^b Alto risco: > 50%, Médio risco: 10–50%, Baixo risco: 1 - 10%, Muito baixo risco / incidentalmente <1%.

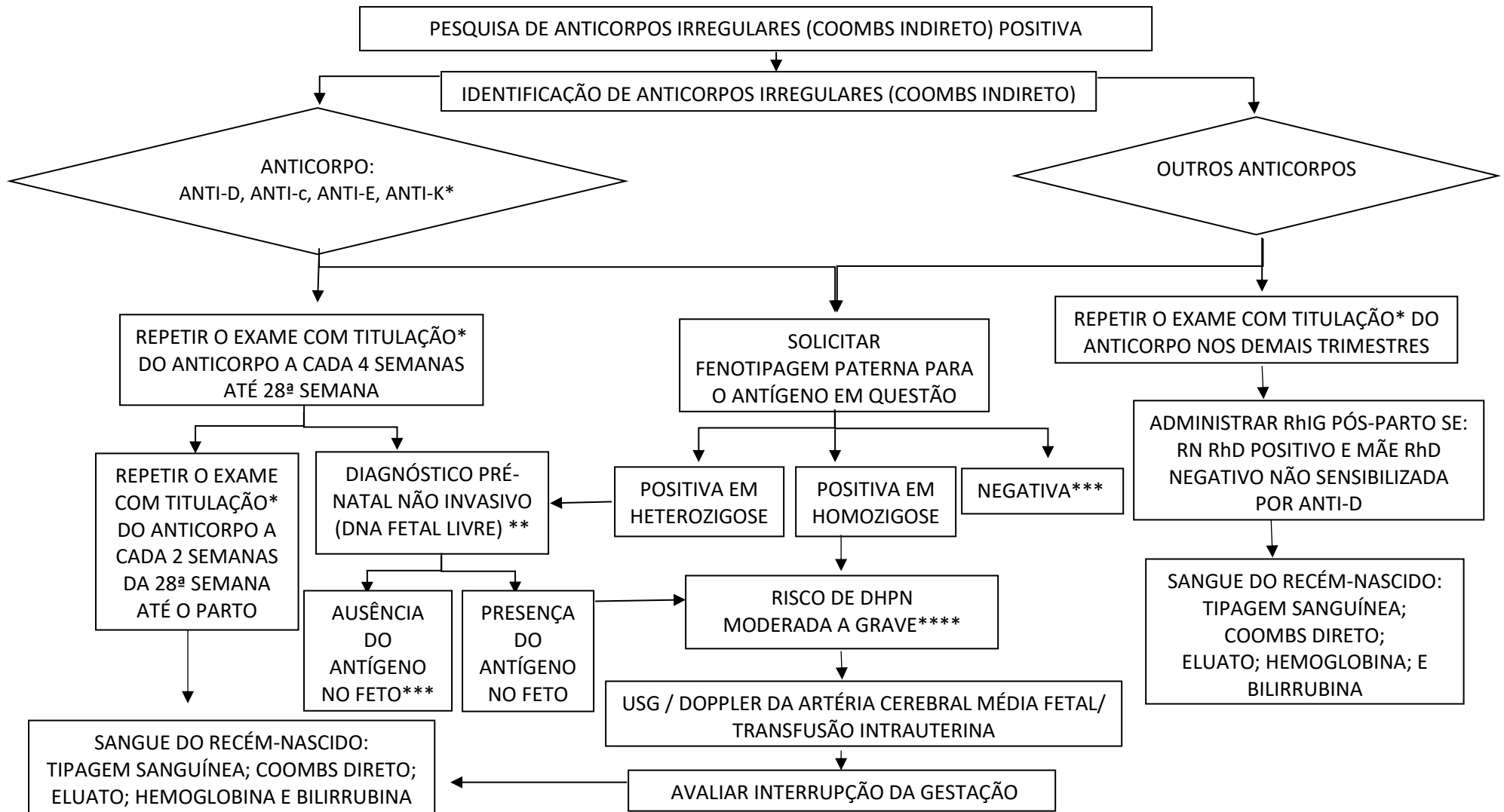
Após a determinação da especificidade do aloanticorpo materno, a titulação pode ser útil para definir sua concentração relativa presente. Embora não haja consenso a respeito do valor de corte para cada um dos aloanticorpos envolvidos na DHPN, os títulos críticos costumam variar entre 8 e 32 dependendo do laboratório e das técnicas empregadas (71,90,91). O Ministério da Saúde adota como título crítico para anti-D valores ≥ 16 e qualquer título para outros anticorpos, especialmente anti-K(165).

Apesar do título do anticorpo isoladamente não ser capaz de prever a gravidade da DHPN(91), sugere o encaminhamento da gestante para cuidados especializados com necessidade de monitoramento da doença por meios não sorológicos (53,88).

Exames moleculares não invasivos baseados na detecção do DNA fetal livre no plasma materno, são capazes de determinar a presença ou ausência do antígeno fetal correspondente, a partir do rastreamento dos respectivos genes que codificam sua produção (53,59). Além disso, quando a identidade paterna for confirmada, tais procedimentos podem ser precedidos ou acompanhados de avaliação da zigosidade ou mesmo por realização de fenotipagem paterna para o antígeno em questão, objetivando determinar se o feto tem 50% ou 100% de chance de carregar o antígeno implicado (91).

Ultrassonografia e Doppler da artéria cerebral média fetal (VSP-ACM) também são exemplos de exames não invasivos de escolha para a monitorização dos casos de gestações com risco de DHPN moderada a grave (53,93), além de serem indicados para acompanhamento dos casos de gestações prévias acometidas pela DHPN, a partir da 18ª semana gestacional(183,184).

Figura 20. Fluxograma laboratorial para acompanhamento de gestantes com pesquisa de anticorpos irregulares (Coombs indireto) positiva.



*Títulos ≥ 16 são considerados críticos e as gestantes passam a ser avaliadas através de USG e Dopplerfluxometria, exceto os casos de anti-K, em que títulos menores já devem ser monitorados.

**Se a genotipagem não invasiva para o antígeno fetal não estiver disponível, mas a fenotipagem paterna for positiva, as gestações devem ser monitoradas como se o feto fosse antígeno positivo.

***Baixo risco de anemia fetal

****Ver fluxograma para acompanhamento de gestante com risco de DHPN moderada a grave.

Resultados perinatais adversos relacionados ao Doppler com velocidade sistólica de pico da artéria cerebral média $\geq 1,5\text{MoM}$ para a idade gestacional correspondente e/ou ultrassonografia com presença de hidropsia fetal, pressupõem avaliação através de procedimentos invasivos.

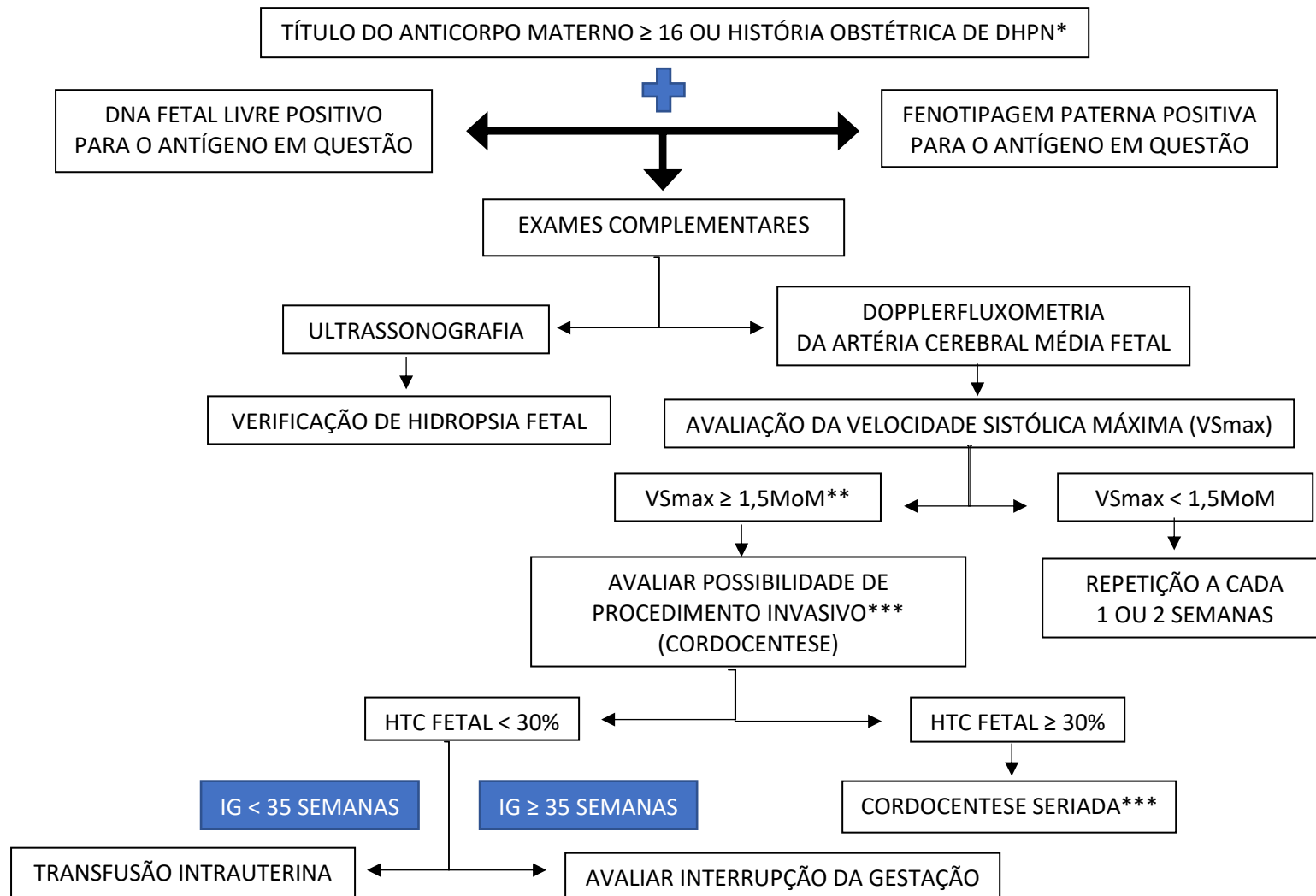
Embora necessários, os procedimentos invasivos para determinação de anemia fetal oferecem riscos de infecção, abortamento, trabalho de parto prematuro, agravamento da sensibilização materna e rompimento das membranas corioamnióticas (53). Dessa forma, devem ser solicitados e realizados com muita cautela e somente em casos de forte suspeita de anemia fetal (106).

A cordocentese é o exame invasivo considerado “padrão ouro” na investigação fetal(184). Após sua realização, a amostra de sangue fetal pode ser testada quanto a hemoglobina, hematócrito, bilirrubina, Coombs direto, fenotipagem de antígenos eritrocitários, além de doenças genéticas e infecciosas (35,53).

Quando, após a cordocentese, é diagnosticado risco significativo de anemia (nível de hemoglobina inferior a 10g/dl e hematócrito abaixo de 30% ou 2 desvios-padrão abaixo da média do hematócrito para a idade gestacional), o feto deverá receber transfusão intrauterina para prevenir ou tratar a hidropsia fetal (184). Essa técnica invasiva requer conhecimento especializado e têm um risco de 1 a 3% de eventos adversos fetais (91).

As transfusões intrauterinas normalmente são realizadas até a 35^a semana gestacional, com antecipação da indução do trabalho de parto entre 37-38 semanas de gestação, dependendo do grau de anemia fetal(91,170).

Figura 21. Fluxograma para acompanhamento de gestantes com risco de DHPN moderada a grave



*História obstétrica com relato de DHPN (icterícia neonatal, exsanguinotransfusão neonatal, transfusões intrauterinas ou hidropisia fetal)

**VSmax ≥ 1,5MoM – História prévia de DHPN leve ou ausente – Reavaliação 2-3 dias – Se VSmax ≥ 1,5MoM - Avaliar procedimentos invasivos/ Se VSmax < 1,5MoM - Repetir em 1-2 semanas

***VSmax ≥ 1,5MoM – História prévia de DHPN moderada a grave – Avaliar procedimentos invasivos

*** A cada 1 ou 2 semanas, sempre com sangue disponível para possível TIU

1.2. Recomendações para o manejo pós-parto

O processo de destruição das hemácias fetais iniciado intraútero persiste por dias ou semanas após o parto, uma vez que os anticorpos maternos continuam na circulação do recém-nascido. A destruição das hemácias neonatais, além de anemia, pode ocasionar o acúmulo de bilirrubina, em decorrência da imaturidade do fígado do neonato em conjugar e eliminar adequadamente esse metabólito (2,30,34). Sendo assim, nos casos de hemólise moderada a grave, a bilirrubina não conjugada ou indireta pode atingir níveis tóxicos, atravessando a barreira hematoencefálica e se depositando nos gânglios da base e núcleos do tronco encefálico do neonato, levando a uma encefalopatia irreversível, cuja lesão anatomopatológica é denominada Kernicterus.(30,49,70)

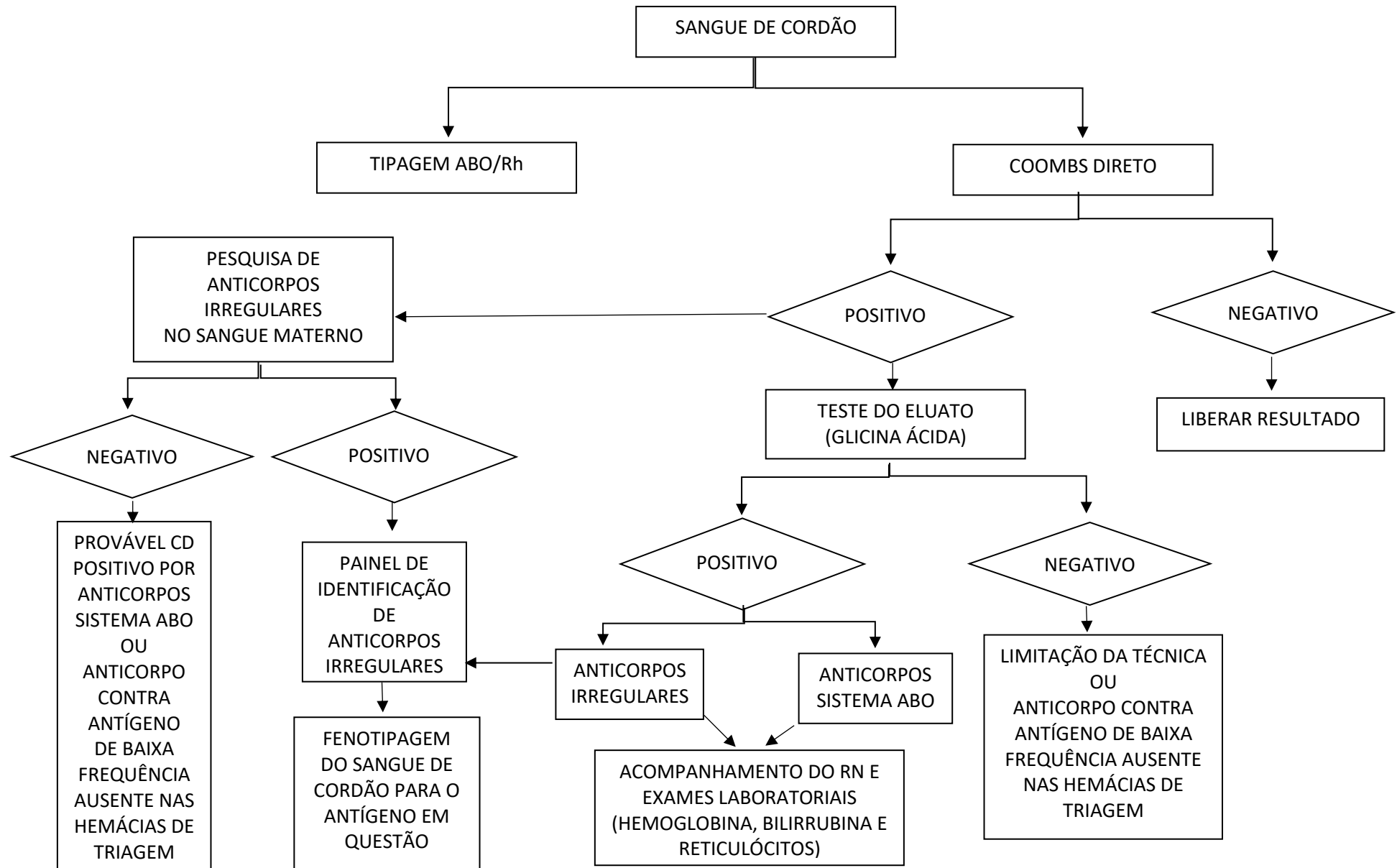
O quadro abaixo elenca os exames imuno-hematológicos realizados nas amostras pós-parto de mães e seus respectivos recém-nascidos, para avaliação imuno-hematológica de DHPN:

Quadro 7. Exames realizados nas amostras pós-parto	
Exames na Amostra Materna	Exames na Amostra do Recém-Nascido
Tipagem ABO/RhD	Tipagem ABO/RhD
Pesquisa de Anticorpos Irregulares (Coombs Indireto)	Teste de Antiglobulina Humana Direto (Coombs Direto)
Se PAI + realizar Identificação de Anticorpos Irregulares	Se TAD + realizar Eluição e Identificação de Anticorpos
A titulação dos anticorpos não é recomendada na amostra materna pós parto.	

Fonte: Adaptado de GIRELLO; KUHN, 2016

Cabe ressaltar que a análise isolada de resultado de Coombs direto positivo nem sempre indica redução da sobrevivência dos eritrócitos (2,81) e, em algumas situações (baixo título de anticorpos, fraca interação antígeno-anticorpo ou hemólise intravascular), apesar do resultado do teste de Coombs direto ser negativo, tal fato não exclui a sensibilização dos eritrócitos neonatais (95). Portanto, exames complementares: clínicos, laboratoriais (hemoglobina, hematócrito, bilirrubinas totais e frações, lactado desidrogenase e reticulócitos) e imuno-hematológicos (eluato da amostra do recém-nascido CD negativo de mães aloimunizadas) auxiliarão na conclusão do diagnóstico de DHPN (34,96).

Figura 22. Fluxograma laboratorial para acompanhamento de recém-nascidos



O manejo pós-natal da doença hemolítica perinatal é centrado principalmente no tratamento da hiperbilirrubinemia com fototerapia e exsanguíneotransfusão para prevenir o kernicterus (127) e, embora controversas, as indicações de transfusão de concentrados de hemácias nos recém-nascidos afetados por anemia hemolítica ou hiporregenerativa também representam uma excelente ferramenta de tratamento neonatal (49,150). Portanto, a triagem regular da hemoglobina e bilirrubina nos neonatos com DHPN é essencial para a detecção precoce de anemia e hiperbilirrubinemia e garantem a instituição do tratamento adequado com o intuito de evitar possíveis complicações (96).

A fototerapia é a modalidade terapêutica mais utilizada mundialmente para o tratamento da hiperbilirrubinemia ou icterícia neonatal (18). Tal procedimento é realizado no recém-nascido para converter a bilirrubina indireta em isômeros menos lipofílicos e menos tóxicos para o cérebro (53), que poderão portanto ser excretados pelos rins e fezes sem a necessidade de processamento no fígado. Os principais determinantes da eficácia da fototerapia são: o comprimento de onda e a intensidade da luz utilizada; o tempo de exposição e a área de superfície exposta, além do limiar em que a fototerapia é iniciada.(185).

A exsanguíneotransfusão, ou transfusão de troca, é utilizada para tratamento da hiperbilirrubinemia neonatal e fundamenta-se na substituição do sangue circulante no neonato por sangue total ou reconstituído (concentrado de hemácias + plasma fresco congelado) de doadores de sangue (135). Tal procedimento garante a remoção de altos níveis de bilirrubina indireta do neonato (para prevenir a encefalopatia bilirrubínica), além de retirar parte dos anticorpos maternos circulantes e de hemácias neonatais sensibilizadas (53,57).

Os testes pré-transfusionais obrigatórios para a seleção dos hemocomponentes destinados a exsanguíneotransfusão incluem: tipagem ABO/RhD; pesquisa de anticorpos irregulares; prova de compatibilidade; além da inclusão do teste direto da antiglobulina humana (com execução do teste de eluição nos casos de positividade), visando identificação do(s) anticorpo(s) materno(s) sensibilizante(s) na amostra do recém-nascido (135,155). Será utilizado para transfusão, o sangue total colhido há menos de cinco dias e, em caso de reconstituição, será recomendado o uso de plasma compatível com as hemácias do neonato e hemácias compatíveis com plasma da mãe ou simplesmente concentrado de hemácias do grupo O e plasma fresco congelado do grupo AB (134). Nos casos de incompatibilidade pelo sistema Rh ou por outros sistemas, as hemácias serão compatíveis com o plasma da mãe e desprovidas do(s) antígeno(s) contra o(s) qual (is) a mãe está imunizada (135). Além disso, o concentrado de hemácias para uso em recém-nascidos com peso inferior a 1.200 gramas deve ser irradiado,

desleucocitado ou não reagentes para Citomegalovírus e hemoglobina S negativo (134) e a irradiação torna-se essencial se o recém-nascido realizou TIU anterior (153,154).

Os gatilhos para a transfusão de concentrado de hemácias em recém-nascidos são baseados no valor do hematócrito ou taxa de hemoglobina; na condição clínica (status cardiorrespiratório, insuficiente ganho de peso, necessidade de oxigênio suplementar, letargia e algumas comorbidades); idade gestacional ao nascimento e idade pós-natal (79,103,151). Além disso, o volume a ser infundido em cada transfusão não deve exceder 10 a 15mL/kg/4 horas (103,122,123). O Serviço de Hemoterapia realizará a tipagem ABO/RhD e pesquisa de anticorpos antieritrocitários irregulares (utilizando preferencialmente soro materno ou eluato do recém-nascido), sendo a prova de compatibilização dispensada na primeira transfusão, caso o resultado da pesquisa de anticorpos irregulares seja negativa e o concentrado de hemácias a ser transfundido do grupo O. Caso a pesquisa de anticorpos irregulares apresente resultado positivo para anticorpos clinicamente significativos, a transfusão deverá ser realizada utilizando hemocomponentes fenotipados que não possuam o antígeno correspondente e, nestes casos, a prova de compatibilidade deverá ser realizada utilizando o soro da mãe ou do neonato (134). Além disso, o concentrado de hemácias para uso em recém-nascidos com peso inferior a 1.200 gramas deve ser irradiado, desleucocitado ou não reagentes para Citomegalovírus, hemoglobina S negativo e, preferencialmente, colhido em CPDA1 (134).

Os benefícios potenciais da transfusão de concentrado de hemácias incluem correção da anemia, melhora da oxigenação tecidual e estabilidade cardiorrespiratória (186). Tais benefícios precisam ser ponderados em relação à possíveis resultados adversos associados à transfusão (103).

Embora ainda controversas, outras modalidades de tratamento da DHPN têm sido estudadas. A imunoglobulina intravenosa (IGIV), proposta na ocorrência de aumento da bilirrubina total, apesar da utilização de fototerapia intensiva ou quando a bilirrubina total se aproxima de 2 a 3 mg/dL do nível de indicação de exsanguíneotransfusão, age bloqueando os receptores Fc nos macrófagos e diminuindo a destruição de eritrócitos revestidos com anticorpos. Além disso, outros agentes farmacoterapêuticos como albumina, fenobarbital e metaloporfirinas, zinco, clofibrato e prebióticos têm sido estudados como possíveis opções de tratamento para hiperbilirrubinemia, embora nenhum seja recomendado atualmente (18,42,185).

1.3. Medidas profiláticas

A aloimunização materna é a principal causa imunológica de anemia fetal (3,187). Portanto, a prevenção da imunização em gestantes, através da utilização de imunoglobulina Rh (RhIG), é uma medida extremamente importante para evitar o desenvolvimento da DHPN, uma vez que, o tratamento dessa patologia não é simples nem financeiramente viável, principalmente em países em desenvolvimento (108).

A RhIG como medida profilática visa reduzir o risco de aloimunização materna para o antígeno D e pode ser utilizada durante o pré-natal, na 28ª semana gestacional, como também deve ser administrada após eventos potencialmente sensibilizantes e em até 72h após o parto de mulheres RhD negativo com pesquisa de anticorpos irregulares (Coombs indireto) negativa para o anticorpo anti-D e recém-nascido RhD positivo (30,75,107,109,111).

Apesar de não serem considerados mundialmente obrigatórios, os testes qualitativos e quantitativos destinados à avaliação de hemorragias feto-maternas em mulheres RhD negativo são de extrema relevância para indicação de administração de doses adicionais de RhIG, visando impedir a sensibilização materna ao antígeno RhD (75,110).

Cabe ressaltar que, alguns centros de referência preconizam a obtenção do consentimento materno previamente à administração da RhIG, uma vez que a medicação é derivada de plasma humano e a possibilidade de transmissão de agentes infecciosos não pode ser totalmente descartada.(73,110,112). Além disso, é de extrema relevância o registro da utilização da RhIG no prontuário das gestantes, visando auxiliar os laboratórios na interpretação de resultados obtidos na análise de amostras maternas durante o pré-natal, bem como na orientação aos obstetras em relação à prescrição ou contra-indicação de administração de RhIG no pós-parto.

Outra medida profilática relevante diz respeito à utilização de meios que visem evitar a sensibilização de mulheres em idade fértil, como por exemplo a transfusão fenótipo compatível para os antígenos mais imunogênicos dos Sistemas Rh e Kell (59). Além disso, nas mulheres RhD negativo, não gestantes e não sensibilizadas, transfundidas inadvertidamente com sangue RhD positivo, a administração de RhIG, em doses apropriadas, pode impedir a sensibilização por anticorpo anti-D (188).

O quadro abaixo demonstra as principais variações nas recomendações de prevenção da aloimunização materna, refletindo a heterogeneidade da literatura mundial sobre o assunto e destacando a necessidade de criação de uma diretriz internacional visando melhorar a segurança e a qualidade das medidas profiláticas adotadas.

Quadro 8. Medidas profiláticas adotadas mundialmente para DHPN

ATIVIDADE	AMERICAN COLLEGE OF OBSTETICIANS AND GYNECOLOGISTS (ACOG) (75)	BRITISH COMMITTEE FOR STANDARDS IN HAEMATOLOGY (BCSH) (110)	MINISTÉRIO DA SAÚDE BRASÍLIA/DF (MS) (77,78,107)
RAADP (PROFILAXIA PRÉ-NATAL DE ROTINA COM IMUNOGLOBULINA ANTI-D)	Dose única 300µg na 28ª semana (efeito imunopreventivo por aproximadamente 12 semanas) Recomendada PAI pré-administração	Dose única 300µg na 28ª semana ou 2 doses de 100µg às 28ª e 34ª semanas. Preconizada PAI pré-administração	Administração de 300 µg na 28ª semana de gestação de mulheres RhD negativas, com PAI negativa (106)
ADMINISTRAÇÃO PÓS PARTO DE Ig ANTI-D E REALIZAÇÃO DE TESTE PARA AVALIAÇÃO DE HEMORRAGIA FETO-MATERNA	300µg até 72h após parto de RN RhD positivo HFM < 15ml CH RhD+ fetal < 30ml ST RhD+ fetal Recomendada realização teste HFM após o parto e após hemorragia pré-natal com mais de 20 semanas, para determinação da dose de Ig anti-D adicional.	100µg até 72h após parto de RN RhD positivo HFM < 5ml CH RhD+ fetal < 10ml ST RhD+ fetal Obrigatória realização teste HFM após o parto e após hemorragia pré-natal com mais de 20 semanas, para determinação da dose de Ig anti-D adicional.	300µg até 72h após parto de RN RhD positivo/CD negativo (76) HFM < 15ml CH D+ fetal < 30ml ST D+ fetal Não menciona a realização de teste para HFM
ADMINISTRAÇÃO DE Ig ANTI-D EM EVENTOS POTENCIALMENTE SENSIBILIZANTES	Gestação < 12semanas Dose min 50 Até 72h após gestação ectópica Dose min 50-120µg Até 72h após gravidez tubária, aborto espontâneo, interrupção terapêutica da gestação e procedimento obstétrico invasivo. Gestação > 12 semanas Dose min 300µg Até 72h após interrupção terapêutica da gestação e gravidez tubária Dose 125 - 300 µg Até 72h após procedimento obstétrico invasivo, hemorragia pré-natal e trauma abdominal	Gestação < 12semanas Dose min 50µg Até 72h após gestação ectópica, gestação molar, interrupção terapêutica da gestação e sangramento uterino repetido, intenso e com dores abdominais. Gestação 12- 20 semanas Dose min 50µg Até 72h após procedimentos invasivos, trauma, hemorragia obstétrica e aborto. Gestação > 20semanas Dose min 100µg Até 72h após procedimentos invasivos, trauma, hemorragia obstétrica, aborto, pós-parto e procedimento de recuperação celular intraoperatório.	Preconiza a realização de 300 µg até 72h após abortamento, gestação ectópica, gestação molar, sangramento vaginal ou após procedimentos invasivos, cirurgia fetal intraútero, óbito fetal, versão cefálica externa e trauma abdominal (76,106).

CONSENTIMENTO INFORMADO	Não menciona	Todas as gestantes receberão informações escritas e verbais e o consentimento deve ser obtido pré-administração de Ig anti-D	Não menciona
RASTREABILIDADE (REGISTROS DE ADMINISTRAÇÃO DE Ig)	Não menciona	Preconizado para distinguir Ig anti-D ativa de passiva	Não menciona

Legenda: PAI – Pesquisa de anticorpos irregulares; HFM – Hemorragia feto-materna; CH- Concentrado de hemácias; ST- Sangue total; Ig – Imunoglobulina, PAI – Pesquisa de Anticorpos Irregulares (Coombs Indireto), RN-Recém-nascido, CD – Coombs direto

1.4. Aconselhamento gestacional e abordagem multidisciplinar

Em relação as mulheres aloimunizadas, é primordial a orientação e o aconselhamento em relação ao risco de desenvolvimento de DHPN e agravamento da patologia em gestações futuras. Além disso, sobretudo quando a aloimunização diz respeito a anticorpos contra antígenos de alta frequência na população, uma abordagem multidisciplinar que envolva minimamente os serviços de hemoterapia, anestesia, neonatologia e medicina materno-fetal é essencial na obtenção de um bom desfecho, visto que, na maioria das vezes, a limitação de dados acessíveis requer o aproveitamento de todos os recursos disponíveis para prever o comportamento do anticorpo e permitir fornecimento adequado de hemocomponentes fenótipo compatíveis para o caso de uma possível necessidade transfusional (189,190).

A indisponibilidade de componentes sanguíneos compatíveis, frequentemente requer a adoção de medidas como: fenotipagem de familiares; busca em programas nacionais ou internacionais de doadores raros; doações autólogas maternas seriadas; criopreservação dos componentes coletados (190–195) e, em casos extremos, a transfusão de unidades incompatíveis antígeno-positivas, com cobertura de imunoglobulina intravenosa, na tentativa de reduzir ou evitar a reação transfusional hemolítica (196).

Ante ao exposto, é possível constatar a importância do aconselhamento de mulheres aloimunizadas, bem como de garantir o planejamento do parto e traçar estratégias colaborativas para a obtenção de hemocomponentes compatíveis nos casos de iminência de hemorragia materna e hemólise fetal ou neonatal.

REFERÊNCIAS

1. Oliveira MBSC, Ribeiro FC, Vizzoni AG. Conceitos básicos e aplicados em imunohematologia [Internet]. Epsjv. Rio de Janeiro: EPSJV/Fundação Oswaldo Cruz; 2013. 1–156 p. Available from: <http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/Material/L226.pdf>
2. Girello AL, Kühn TIBB. Fundamentos da Imuno-hematologia Eritrocitária. 4th ed. São Paulo: Editora Senac; 2016. 327 p.
3. Abbasi N, Johnson JA, Ryan G. Fetal anemia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017;50(2):145–53.
4. Das S, Shastry S, Rai L, Baliga PB, Transfusion B. Frequency and clinical significance of red cell antibodies in pregnancy – A prospective study from India. *Indian J Pathol Microbiol*. 2020;63:241–6.
5. Gupta GK, Balbuena-Merle R, Hendrickson JE, Tormey CA. Immunohematologic aspects of alloimmunization and alloantibody detection: A focus on pregnancy and hemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2020;59(5):102946. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102946>
6. Hendrickson JE, Delaney M. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn: Modern Practice and Future Investigations. *Transfus Med Rev* [Internet]. 2016;30(4):159–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2016.05.008>
7. International Society of Blood Transfusion (ISBT) [Internet]. 2022, sep 30. [cited 2022 Nov 7]. Available from: <https://www.isbtweb.org/working-parties/red-cell-immunogenetics-and-blood-group-terminology>
8. Thakral B, Malhotra S, Saluja K, Kumar P, Marwaha N. Hemolytic disease of newborn due to anti-Jkb in a woman with high risk pregnancy. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2010;43(1):41–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transci.2010.05.007>
9. Castleman JS, Moise KJ, Kilby MD. Medical therapy to attenuate fetal anaemia in severe maternal red cell alloimmunisation. *Br J Haematol*. 2021;192(3):425–32.
10. Campos MVX. Correlação entre títulos de anticorpos anti-D e desfecho gestacional adverso em gestantes com antecedente de doença hemolítica perinatal. Faculdade de medicina da USP. [São Paulo]: 2015.108f. Dissertação (Mestrado em Obstetrícia e Ginecologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2015.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Datasus. Sistema de Informação de Nascidos Vivos (SISNAC). Nascidos vivos a partir de 2008. [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 20]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinasc/cnv/nvuf.def>
12. Brasil. Ministério da Saúde. Datasus. Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS). Mortalidade - 1996 a 2018, pela CID-10. [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 20]. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/evita10uf.def>
13. Malta DC, Sardinha LM V., Moura L. Atualização da lista de causas de mortes evitáveis por intervenções do Sistema Único de Saúde do Brasil. *Epidemiol e Serviços*

Saúde. 2010;19(2):173–6.

14. Lobato G, Reichenheim ME, Coeli CM. Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH-SUS): Uma avaliação preliminar do seu desempenho no monitoramento da doença hemolítica perinatal Rh(D). *Cad Saude Publica*. 2008;24(3):606–14.
15. Santos AC. Sistema de informações hospitalares do Sistema Único de Saúde: documentação do sistema para auxiliar o uso das suas informações [Internet]. Mestrado profissional. [Rio de Janeiro]: 2009. 226f. Dissertação (Mestrado em Gestão da Informação e Comunicação em Saúde) - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro; 2009. Available from: <http://www.arca.fiocruz.br/xmlui/handle/icict/2372>
16. Castilho SL de. Mapeamento das condições necessárias para a incorporação da genotipagem RhD a partir do DNA fetal livre no plasma materno na rotina pré-natal de gestantes RhD-negativo acompanhadas no SUS. [Rio de Janeiro]: 2011. 66f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Instituto Fernandes Figueira, Rio de Janeiro; 2011.
17. Pacheco CAMS. Doença Hemolítica Perinatal RhD: Um Problema de Saúde Pública no Brasil. [Internet]. Fundacao Oswaldo Druz. Instituto Nacional da Saude da Mulher, da Crianca e do Adolescente Fernandes Figueira. [Rio de Janeiro]; 2013. Available from: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/7929>
18. Ree IMC, Smits-Wintjens VEJH, van der Bom JG, van Klink JMM, Oepkes D, Lopriore E. Neonatal management and outcome in alloimmune hemolytic disease. *Expert Rev Hematol* [Internet]. 2017;10(7):607–16. Available from: <https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1331124>
19. Agrawal A, Hussain KS, Kumar A. Minor blood group incompatibility due to blood groups other than Rh(D) leading to hemolytic disease of fetus and newborn: A need for routine antibody screening during pregnancy. *Intractable Rare Dis Res*. 2020;9(1):43–7.
20. Moinuddin I, Fletcher C, Millward P. Prevalence and specificity of clinically significant red cell alloantibodies in pregnant women - a study from a tertiary care hospital in Southeast Michigan. *J Blood Med* [Internet]. 2019 Aug 20 [cited 2020 Aug 5];10:283–9. Available from: <https://www.dovepress.com/prevalence-and-specificity-of-clinically-significant-red-cell-alloanti-peer-reviewed-article-JBM>
21. Bowman J. Thirty-five years of Rh prophylaxis. *Transfusion*. 2003;43(12):1661–6.
22. Diamond L, Blackfan K, Baty J. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterum gravis neonatorum and anemia of the newborn. *J Pediatr*. 1932;1:269–309.
23. Machado IN, Berini R. Doença hemolítica perinatal: aspectos atuais. *Rev Cienc Med, Campinas*. 2006;15(1):69–74.
24. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intra-group agglutination. *J Am Med Assoc*. 1939;113(2):126–7.

25. Landsteiner K, Weiner AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1940;43(1):223–223.
26. Levine P, Katzin EM, Burnhan L. Isoimmunization in pregnancy: It's possible bearing on the etiology of erythroblastosis fetalis. *J Am Med Assoc*. 1941;116:825–7.
27. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol*. 1945;26:255–66.
28. Chown B. Anemia from bleeding of the foetus into mother's circulation. *Lancet*. 1954;266(6824):1213–5.
29. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem hämoglobin in den erythrocyten eines blutaustreiches. *Klin Wochenschr*. 1957;35(12):637–8.
30. De Haas M, Thurik FF, Koelewijn JM, van der Schoot CE. Haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang*. 2015;109(2):99–113.
31. Finn R, Clarke CA, Donohoe WTA, McConnell RB, Woodrow JC, Krevans JR, et al. Experimental studies on the prevention of Rh hemolytic disease. *Br Med J*. 1961;1:1486–90.
32. Schneider J, Preisler O. The prophylaxis of rhesus sensitization with immunoglobulin-anti-D. *Arztl Forsch*. 1967;21(11):414–20.
33. Costumbrado J, Mansour T, Ghassemzadeh S. Rh Incompatibility [Updated 2020 Aug 15]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459353/>
34. Das S. Hemolytic disease of the fetus and newborn. IntechOpen, 2019. [Internet]. 2019 [cited 2019 Nov 17]. p. 1–23. Available from: <https://www.intechopen.com/books/blood-groups/hemolytic-disease-of-the-fetus-and-newborn>.
35. Dubey R, Trigunait P, Pawar A, Kumar Yadav A. Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn: Past, Present and Future Considerations. *Acta Sci Med Sci*. 2019;3(10):153–61.
36. American Association of Blood Banks (AABB). Technical Manual. 15th ed. USA: Bethesda; 2005.
37. Castilho L, Júnior JP, Reid ME. Fundamentos de Imuno-hematologia. São Paulo: Atheneu; 2015. 1–232 p.
38. Mari G. Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: The untold story. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005;25(4):323–30.
39. Castleman JS, Kilby MD. Red cell alloimmunization: A 2020 update. *Prenat Diagn*. 2020;40(9):1099–108.
40. Ohto H, Denomme GA, Ito S, Ishida A, Nollet KE, Yasuda H. Three non-classical

- mechanisms for anemic disease of the fetus and newborn, based on maternal anti-Kell, anti-Ge3, anti-M, and anti-Jra cases. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2020;59(5):102949. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102949>
41. Baiochi E, Nardoza LMM. Aloimunização. *Rev Bras Ginecol e Obstet*. 2009;31(6):311–9.
 42. Köker S, Celik K, Özkul M, Olukman O, Karapınar T, Vergin R, et al. Impact of Minor Blood Group Incompatibility Versus ABO and Rh Blood Group Incompatibility in Newborns with Indirect Hyperbilirubinaemia: A Single-Centre Clinical Experience. *HK J Paediatr (new Ser)*. 2019;24:120–6.
 43. Lee CK, Ma ESK, Tang M, Lam CCK, Lin CK, Chan LC. Prevalence and specificity of clinically significant red cell alloantibodies in Chinese women during pregnancy - A review of cases from 1997 to 2001. *Transfus Med*. 2003;13(4):227–31.
 44. Nassar G, Wehbe C. Erythroblastosis Fetalis [Internet]. StatPearls - NCBI Bookshelf. Treasure Island (FL); 2021 [cited 2022 Jan 22]. p. 1–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513292/>
 45. Novaretti MC. Investigação laboratorial em pacientes com anticorpos eritrocitários. In: *Hemoterapia: Fundamentos e Prática*. São Paulo: Atheneu; 2007. p. 186–9.
 46. Halbrecht L. Role of hemagglutinins anti-A and anti-B in pathogenesis of jaundice of newborn (icterus neonatorum precox). *Amer J Dis Child*. 1944;68:248.
 47. Ghilardi F, Thucydides R, Biancalana AJ, Nastari F. Análise clínica laboratorial na sensibilização eritrocitária perinatal com a realização de estudo imuno-hematológico pelo gel-centrifugação. *Bol da Soc Bras Hematol e Hemoter*. 1995;17(170):59–63.
 48. Araújo MA, Deffune E, Carlos LMB, Magalhães SMM, Golim MA, Câmara LMC. Avaliação das subclasses IgG1 e IgG3 na doença hemolítica perinatal. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2003;25(4):201–6.
 49. Delaney M, Matthews DC. Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus and newborn. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr*. 2015;2015(1):146–51.
 50. Jain A, Malhotra S, Marwaha N, Kumar P, Sharma RR. Severe ABO hemolytic disease of fetus and newborn requiring blood exchange transfusion. *Asian J Transfus Sci*. 2018;12(2):176–9.
 51. Maranhão CK. Prevalência de anticorpos irregulares em gestantes atendidas em serviços públicos da hemorrede de Santa Catarina. [Internet]. [Ribeirão Preto]: 2016.150f. Dissertação (Mestrado em Hemoterapia e Medicina Transfusional) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto,; 2016. Available from: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17155/tde-07062017-145049/pt-br.php>
 52. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet Gynecol*. 1997;89(2):272–5.

53. Harmening DM. Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão. 6ª. Rio de Janeiro: Revinter; 2015. 684 p.
54. Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: From structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014;5:1–17.
55. Schmidt LC, Corrêa JMD, Loures LF. Atualizações na profilaxia da isoimunização Rh. *Femina*. 2010;38(7):345–52.
56. Brizot M., Nishie EN, Liao AW, Zugaib M, Simões R. Aloimunização Rh na Gestação Projeto Diretrizes. *Fed Bras das Assoc Ginecol e Obs*. 2011;1–11.
57. MCpherson RA, Pincus MR. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais de Henry. 21st ed. Barueri, São Paulo: Manole; 2012. 1669 p.
58. Danielle L. Tate, Jacques E. Samson and GM. Hemolytic disease of the fetus/neonate. In: Berghella V, editor. *Maternal-fetal Evidence Based Guidelines Third Edition* [Internet]. Third Edit. CRC Press; 2017. p. 467–76. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781841848235>
59. British Committee for Standards Haematology (BCSH). Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancy. *Transfus Med*. 2016;26(4):246–63.
60. Cianciarullo MA, Esther M, Ceccon J, Adolfo F, Vaz C. Prevalência de marcadores imuno-hematológicos em recém-nascidos e em suas respectivas mães e incidência de doença hemolítica em uma maternidade de São Paulo. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49(1):45–53.
61. Walsh CA, Russell N, McAuliffe FM, Higgins S, Mahony R, Carroll S, et al. Relationship between maternal antibody type and antenatal course following intrauterine transfusion for red cell alloimmunisation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2013 Dec 1 [cited 2020 Aug 5];171(2):235–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24075591>
62. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Icterícia em Recém-Nascido. In: *Atenção à Saúde do Recém-Nascido: guia para profissionais de saúde* [Internet]. 2nd ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2013. p. 59–77. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atencao_saude_recem_nascido_profissionais_v2.pdf
63. Vaughan, J.; Manning, M.; Warwick R. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anemia. *N Engl J Med*. 1998;338(12):798–803.
64. Mattaloni SM, Arnoni C, Céspedes R, Nonaka C, Boggione CT, Brajovich MEL, et al. Clinical Significance of an Alloantibody against the Kell Blood Group Glycoprotein. *Transfus Med Hemotherapy*. 2017;44(1):53–7.
65. Arora S, Doda V, Maria A, Kotwal U, Goyal S. Maternal anti-M induced hemolytic disease of newborn followed by prolonged anemia in newborn twins. *Asian J Transfus Sci*. 2015;9(1):98–101.
66. Yasuda H, Ohto H, Nollet KE, Kawabata K, Saito S, Yagi Y, et al. Hemolytic disease

- of the fetus and newborn with late-onset anemia due to anti-M: A case report and review of the Japanese literature. *Transfus Med Rev.* 2014;28(1):1–6.
67. Waldvogel S, Natterer J, Canellini G, Truttmann A, Tissot JD. Severe neonatal hyporegenerative anemia due to anti-Vw (anti-MNS9) alloantibody. *J Perinat Med.* 2009;37(4):422–4.
 68. Heathcote DJ, Carroll TE, Flower RL. Sixty Years of Antibodies to MNS System Hybrid Glycophorins: What Have We Learned? *Transfus Med Rev* [Internet]. 2011;25(2):111–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2010.11.003>
 69. Vaena MM de V. Análise dos fatores de risco para anemia dos recém-nascidos Rh positivos filhos de gestantes aloimunizadas RhD. [Internet]. [Rio de Janeiro]: 2012. 41f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e da Mulher)- Instituto Fernandes Figueira, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,; 2012. Available from: [https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/4116/1/Vaena%2C MMV Dissertacao.pdf](https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/4116/1/Vaena%2C%20MMV%20Dissertacao.pdf)
 70. Shapiro SM. Chronic bilirubin encephalopathy: diagnosis and outcome. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010;15(3):157–63.
 71. Koelewijn JM, Slootweg YM, Folman C, van Kamp IL, Oepkes D, de Haas M. Diagnostic value of laboratory monitoring to predict severe hemolytic disease of the fetus and newborn in non-D and non-K-alloimmunized pregnancies. *Transfusion.* 2020;60(2):391–9.
 72. Judd WJ, Jhonson ST, Storry JR. Judd's Methods in Immunohematology. 3rd ed. MD: AABB, Bethesda,; 2008. 667 p.
 73. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC). Guideline No. 133: Prevention of Rh Alloimmunization. *J Obstet Gynaecol Canada* [Internet]. 2018;40(1):e1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2017.11.007>
 74. Kahar M. Frequency of Red Cell Alloantibodies in Pregnant Females of Navsari District: An Experience that Favours Inclusion of Screening for Irregular Erythrocyte Antibody in Routine Antenatal Testing Profile. *J Obstet Gynecol India.* 2018;68(4):300–5.
 75. American College of Obstetrician and Gynecologists (ACOG). Practice Bulletin N. 181: Prevention of Rh D Alloimmunization. *Obstet Gynecol.* 2017;130(2):57–70.
 76. Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion (ANZSBT). Guidelines for transfusion and immunoheamatology laboratory practice. 1st ed. Sydney, Australian: Transfusion Science Standing Committee Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion Ltd; 2020. 1–73 p.
 77. Brasil. Ministério da Saúde. Caderneta da Gestante. Brasília, DF: 2018. [Internet]. Vol. 53. 2018 [cited 2019 Nov 1]. p. 1689–99. Available from: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/31/Caderneta-da-Gestante-2018.pdf>
 78. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Caderno de Atenção Básica nº 32: Atenção ao pré-natal de baixo risco. Brasília, Ministério da Saúde: 2012.

- [Internet]. 2012 [cited 2019 Nov 1]. p. 320. Available from:
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cadernos_atencao_basica_32_prenatal.pdf.
79. Freitas BAC de, Franceschini S do CC. Fatores associados à transfusão de concentrado de hemácias em prematuros de uma unidade de terapia intensiva. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2012;24(3):224–9.
 80. Koelewijn JM, Vrijkotte TGM, Van Der Schoot CE, Bonsel GJ, De Haas M. Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: A population study in the Netherlands. *Transfusion*. 2008;48(5):941–52.
 81. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Imuno-Hematologia Laboratorial. Brasília, Ministério da Saúde: 2014 [Internet].
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf. 2014 [cited 2020 Aug 6]. p. 59. Available from:
http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/imuno_hematologia_laboratorial.pdf
 82. Race RR. The Rh genotypes and Fisher's theory. *Blood*. 1948;3(2):27–42.
 83. Cherif-Zahar B, Bloy C, Le Van Kim C, Blanchard D, Bailly P, Hermand P, et al. Molecular cloning and protein structure of a human blood group Rh polypeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(16):6243–7.
 84. Clarke G, Hannon J. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn and Perinatal Immune Thrombocytopenia. In: *Clinical Guide to Transfusion*. Canadian: Canadian Blood Service; 2018. p. 1–8.
 85. Credidio DC. Variantes do antígeno RhD : estudo sorológico e molecular. [Internet]. [Campinas]: 2010. 99f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo; 2010. Available from:
http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/310414/1/Credidio_DeboraCastilho_M.pdf
 86. Sandler SG, Flegel WA, Westhoff CM, Denomme GA, Delaney M, Keller MA, et al. It's time to phase in RHD genotyping for patients with a serologic weak D phenotype. *Transfusion*. 2015;55(3):680–9.
 87. Silva PH, Alves HB, Comar SR, Henneberg R. *Hematologia Laboratorial: Teoria e Procedimentos*. Porto Alegre: Artmed; 2015. 448 p.
 88. Judd WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited. *Transfusion*. 2001;41(11):1445–52.
 89. Kennedy MS. Perinatal Issues in Transfusion Practice. In: *Technical Manual of the American Association of Blood Banks*. 16th ed. MD: Bethesda; 2008. p. 625–36.
 90. Moise KJ. Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2008 Aug 1;13(4):207–14. Available from:
<https://doi.org/10.1016/j.siny.2008.02.007>

91. Webb J, Delaney M. Red Blood Cell Alloimmunization in the Pregnant Patient. *Transfus Med Rev* [Internet]. 2018;32(4):213–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887796318300166>
92. Higel F, Seidl A, Sörgel F, Friess W. N-glycosylation heterogeneity and the influence on structure, function and pharmacokinetics of monoclonal antibodies and Fc fusion proteins. *Eur J Pharm Biopharm*. 2016;100:94–100.
93. Mari G. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *N Engl J Med*. 2000;342(1):9–14.
94. Basu S, Kaur R, Kaur G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: Current trends and perspectives. *Asian J Transfus Sci*. 2011;5(1):3–7.
95. Karagol BS, Zenciroglu A, Okumus N, Karadag N, Dursun A, Hakan N. Hemolytic disease of the newborn caused by irregular blood subgroup (Kell, C, c, E, and e) incompatibilities: report of 106 cases at a tertiary-care centre. *Am J Perinatol*. 2012;29(6):449–54.
96. Shin KH, Lee HJ, Song D, Lee SM, Kim IS, Kim H, et al. Characteristics of bilirubin according to the results of the direct antiglobulin test and its impact in hemolytic disease of the newborn. *Lab Med*. 2019;50(2):138–44.
97. Ramos ES. Cell-free fetal DNA in maternal plasma and noninvasive prenatal diagnosis. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2006;14(6):964–7.
98. Alison Woodworth CRM. Laboratory testing in pregnancy. In: William Clarke MAM, editor. *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*. Fourth. USA; 2020. p. 747–62.
99. Ahmadi MH, Hantuoshzadeh S, Okhovat MA, Nasiri N, Azarkeivan A, Amirizadeh N. Fetal RHD Genotyping from Circulating Cell-Free Fetal DNA in Plasma of Rh Negative Pregnant Women in Iran. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2016;32(4):447–53.
100. Zwiers C, van Kamp I, Oepkes D, Lopriore E. Intrauterine transfusion and non-invasive treatment options for hemolytic disease of the fetus and newborn—review on current management and outcome. *Expert Rev Hematol* [Internet]. 2017;10(4):337–44. Available from: <https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1305265>
101. Oepkes D, Seaward G, VANDENBUSSCHE FP, Windrim R. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *N Engl J Med*. 2006;355:156–64.
102. Taveira MR, Cabral ACV, Leite HV, Melo IG de, Lopes APB de M. Diagnóstico não invasivo da anemia fetal pela medida do pico de velocidade sistólica na dopplervelocimetria da artéria cerebral média. *Rev Bras Ginecol e Obs*. 2004;26(8):649–53.
103. New HV, Berryman J, Bolton- Maggs PH, Cantwell C. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and children. *Br J Haematol*. 2016;175(5):784–828.
104. Dodd JM, Andersen C, Dickinson JE, Louise J, Deussen A, Grivell RM, et al. Fetal middle cerebral artery Doppler to time intrauterine transfusion in red-cell

- alloimmunization: a randomized trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(3):306–12.
105. Daffos F, Capella Pavlosky M, Forestier F. A new procedure for fetal blood sampling in utero: Preliminary results of fifty-three cases. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1983;146(8):985–7. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(83\)90982-1](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(83)90982-1)
 106. Boudhraa K, Mammou S, Salah N Ben, Gara MF, E-mail V. Allo-immunisation érythrocytaire: Epidémiologie , prévention et traitement. *Tunis Med.* 2009;87(4):240–5.
 107. Ministério de Saúde. Manual De Gestação. Bras Ministério da Saúde Secr Atenção Primária à Saúde Dep Ações Programáticas Man Gestação Alto Risco [recurso eletrônico] / [Internet]. 2022;180–7. Available from: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/atencao-mulher/manual-de-gestacao-de-alto-risco-ms-2022/>
 108. Jerković Raguž M, Šumanovic Glamuzina D, Brzica J, Gruica T. The Incidence and Effects of Alloimmunization in Pregnancy during the Period 2000-2013. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2017;77(7):780–5.
 109. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Routine antenatal anti-D prophylaxis for women who are rhesus D negative [Internet]. Vol. 156, <https://www.nice.org.uk/guidance/ta156>. 2008 [cited 2019 Nov 10]. p. 1–27. Available from: <http://www.nice.org.uk/guidance/ta156>
 110. Quereshi H, Massey E, Kirwan D, Davies T, Robson S. British Committee for Standards in Haematology (BCSH): Guideline for the use of anti-D immunoglobulin for the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Med.* 2014;24(1):8–20.
 111. Xie X, Fu Q, Bao Z, Zhang Y, Zhou D. Clinical value of different anti-D immunoglobulin strategies for preventing Rh hemolytic disease of the fetus and newborn: A network meta-analysis. *PLoS One* [Internet]. 2020;15(3):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0230073>
 112. Brinc D, Lazarus AH. Mechanisms of anti-D action in the prevention of hemolytic disease of the fetus and newborn. *Am Soc Hematol Educ Progr.* 2009;185–91.
 113. Kumpel BM. On the immunologic basis of Rh immune globulin (anti-D) prophylaxis. *Transfusion.* 2006;46(9):1652–6.
 114. Baiochi E, Camano L, Bordin JO. Avaliação da Hemorragia Feto-materna em puérperas com indicação para ministração de imunoglobulina anti-D. *Cad saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Esc Nac Saúde Pública.* 2005;21(5):1357–65.
 115. Ferreira J. Detecção/Quantificação de Eritrócitos com Hemoglobina Fetal na Gravidez e Pós parto Utilizando um Analizador Hematológico [Internet]. Coimbra, Portugal. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública); 2013. Available from: [https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/14477/1/Joana Patrícia Santos Ferreira.pdf](https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/14477/1/Joana%20Patr%C3%ADcia%20Santos%20Ferreira.pdf)
 116. J. Davies; N. Almozain. Adverse Events Related to Anti-D Immunoglobulin (Ig). In:

- The 2021 Annual Serious Hazards of Transfusion (SHOT) [Internet]. UK; 2022. p. 68–74. Available from: <https://www.shotuk.org/wp-content/uploads/myimages/SHOT-REPORT-2021-FINAL-bookmarked-V3-November.pdf>
117. Spinks C. Adverse Events Related to Anti-D immunoglobulin (Ig). In: The 2019 Annual Serious Hazard of Transfusion (SHOT) [Internet]. UK: Print e Plant; 2020 [cited 2020 Aug 10]. p. 50–5. Available from: <https://www.shotuk.org/wp-content/uploads/myimages/8.-Adverse-Events-Related-to-Anti-D-Immunoglobulin-Ig-v2.pdf>
 118. Koelewijn J, Vrijkotte TGM, De Haas M, Van Der Schoot CE, Bonsel GJ. Risk factors for the presence of non-rhesus D red blood cell antibodies in pregnancy. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2009;116(5):655–64.
 119. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Manual Técnico de Pré-Natal e Puerpério: Atenção Qualificada e Humanizada. Brasília, Ministério da Saúde:2005 [Internet]. 2005 [cited 2019 Nov 1]. p. 161. Available from: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_pre_natal_puerperio_3ed.pdf
 120. World Health Organization. Nutritional anemia: report of a WHO scientific group. *Tech Rep Ser* 405. 1968;40.
 121. Araujo AAC, Araujo CSR, Reis SMB, Drum JO. Protocolo Transfusional: Guia de Práticas Transfusionais para Obstetrícia. Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS. 2013. [Internet]. 2013 [cited 2019 Mar 17]. p. 25. Available from: https://www.hsvp.com.br/painel/admin/upload/publicacoes/112_protocolotransfusional-obstetricia.pdf
 122. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Guia para uso de hemocomponentes. Brasília, Ministério da Saúde: 2015. [Internet]. <http://www.hemovita.com/downloads/guias/Guia-para-uso-de-hemocomponentes.pdf>. 2015 [cited 2019 Nov 1]. p. 136. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes_2ed.pdf
 123. Kim DH. Transfusion practice in neonates. *Korean J Pediatr*. 2018;61(9):265–70.
 124. Castilho L. O futuro da aloimunização eritrocitária. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2008;30(4):261–2.
 125. Luken J, Schnewille H, Ligthart P, Van Der Schoot C, Van Der Bom, J. Koopman M. Preventive matching for K-antigen in female blood recipients under 45 years of age reduces the incidence of K-alloimmunisation in pregnancy. *Vox Sang*. 2015;109:316.
 126. Sánchez-Durán M, Higuera M, Halajdian-Madrid C, Avilés M, Bernabeu-García A, Maiz N, et al. Management and outcome of pregnancies in women with red cell isoimmunization: a 15-year observational study from a tertiary care university hospital. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2019 Dec 1;19.
 127. Mari G, Norton ME, Stone J, Berghella V, Sciscione AC, Tate D, et al. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Clinical Guideline #8: The fetus at risk for anemia-diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2015;212(6):697–710. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2015.01.059>

128. Liley AW. Intrauterine Transfusion of Foetus in Haemolytic Disease. *Br Med J*. 1963;2(5365):1107–9.
129. Zwiers C, Lindenburg ITM, Klumper FJ, de Haas M, Oepkes D, Van Kamp IL. Complications of intrauterine intravascular blood transfusion: lessons learned after 1678 procedures. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017;50(2):180–6.
130. Moise KJ. Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Semin Hematol*. 2005;42(3):169–78.
131. Cvjetićanin MM, Plešinac S, Dotlić J, Plećaš D, Belović DK, Akšam S. Doppler middle cerebral artery peak systolic velocity measurement as diagnostic tool for fetal anemia after in utero transfusions in red blood cell alloimmunisation. *Vojnosanit Pregl*. 2020;77(1):8–13.
132. Scheier M, Hernandez-Andrade E, Fonseca EB, Nicolaides KH. Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195(6):1550–6.
133. Sousa S, Neves JP, Amaral A, Loureiro T. Transfusão intra-uterina: aspectos técnicos da transfusão fetal. *Acta Obs Ginecol Port*. 2013;7(3):190–8.
134. Brasil. Ministerio da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 - Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Brasília, Ministério da Saúde: 2017 [Internet]. 2017 [cited 2019 Nov 1]. p. 926. Available from: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>
135. Girelli G, Antoncetti S, Casadei AM, Del Vecchio A, Isernia P, Motta M, et al. Recommendations for transfusion therapy in neonatology. *Blood Transfus*. 2015;13(3):484–97.
136. Nwogu LC, Moise Jr KJ, Klein KL, Tint H, Castillo B, Bai Y. Successful management of severe red blood cell alloimmunization in pregnancy with a combination of therapeutic plasma exchange, intravenous immune globulin, and intrauterine transfusion. *Transfusion*. 2018;58(3):677–84.
137. van Kamp IL, Klumper FJCM, Oepkes D, Meerman RH, Scherjon SA, Vandenbussche FPHA, et al. Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2005;192(1):171–7. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002937804006635>
138. Lindenburg ITM, Van Kamp IL, Van Zwet EW, Middeldorp JM, Klumper FJCM, Oepkes D. Increased perinatal loss after intrauterine transfusion for alloimmune anaemia before 20 weeks of gestation. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2013;120(7):847–52.
139. Papantoniou N, Sifakis S, Antsaklis A. Therapeutic management of fetal anemia: Review of standard practice and alternative treatment options. *J Perinat Med*. 2013;41(1):71–82.

140. Schwatz J, Padmanabhan A, Aqui N, Balogun RA. Guideline on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the writing Committee of the American Society for Apheresis: The Seveth Special Issue. *J Clin Apher* [Internet]. 2016;31:149–62. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jca.21278/full>
141. Marson P, Gervasi MT, Tison T, Colpo A, De Silvestro G. Therapeutic apheresis in pregnancy: General considerations and current practice. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2020 Aug 9];53(3):256–61. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473050215001834>
142. Ruma MS, Moise KJ, Kim E, Murtha AP, Prutsman WJ, Hassan SS, et al. Combined plasmapheresis and intravenous immune globulin for the treatment of severe maternal red cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196(2):138.e1-138.e6.
143. Gottstein R, Cooke RWI. Systematic review of intravenous immunoglobulin in haemolytic disease of the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003;88(1):6–10.
144. Voto LS, Mathet ER, Zapaterio JL. High-dose gammaglobulin (IVIG) followed by intrauterine transfusions (IUTs): a new alternative for the treatment of severe fetal hemolytic disease. *J Perinat Med*. 1997;25(1):85–8.
145. Morgan C, Cannel G, Addison R. The effect of intravenous immunoglobulin on placental transfer of a platelet-specific antibody: Anti-P1A1. *Transfus Med*. 1991;1(4):209–16.
146. Chitkara U, Bussel J, Alvarez M, Lynch L, Meisel R, Berkowitz R. High-dose intravenous gamma globulin: Does it have a role in the treatment of severe erythroblastosis fetalis? *Obstet Gynecol*. 1990;76(4):703–8.
147. Bellone M, Boctor FN. Therapeutic plasma exchange and intravenous immunoglobulin as primary therapy for D alloimmunization in pregnancy precludes the need for intrauterine transfusion. *Transfusion*. 2014;54(8):2118–21.
148. Margulies M, Voto LS, Mathet ER. High-dose intravenous IgG for the treatment of severe Rhesus alloimmunization. *Vox Sang*. 1991;61(3):181–9.
149. Roy S, Nanovskaya T, Patrikeeva S, Cochran E, Parge V, Guess J, et al. M281, an anti-FcRn antibody, inhibits IgG transfer in a human ex vivo placental perfusion model. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2019;220(5):498.e1-498.e9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.02.058>
150. Lau W. Neonatal and Pediatric Transfusion. In: *Clinical Guide to Transfusion*. Canadian: Canadian Blood Service; 2017. p. 1–11.
151. Caldeira AP, Ramos ACR, Caldeira IP, Castro PS, Carneiro JA. Fatores associados à necessidade de hemotransfusão em recém-nascidos cadastrados em um ambulatório de Follow-up. *Unimontes Cient*. 2020;22(1):1–14.
152. Wallerstein H. Treatment of severe erythroblastosis by simultaneous removal and replacement of blood of the newborn infant. *Science* (80-). 1946;103:583–4.

153. Biagini S, Albiero A. Manual de Transfusão. Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, SP: 2020. [Internet]. Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo. 2020 [cited 2020 Sep 13]. p. 42. Available from: <http://www.prosangue.sp.gov.br/uploads/arquivos/MANUAL DE TRANSFUSÃO 20.pdf>
154. Boulton F. Transfusion guidelines for neonates and older children. *Br J Haematol*. 2004;124(4):433–53.
155. Robitaille N, Nuyt AM, Panagopoulos A, Hume HA. Exchange Transfusion in the Infant. In: *Handbook of Pediatric Transfusion Medicine*. USA: Elsevier Academic Press; 2004. p. 159–63.
156. American Academy of Pediatrics. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more week of gestation. *Pediatrics* [Internet]. 2004;114(1):297–316. Available from: <http://www.citeulike.org/group/11862/article/5941222>
157. L.P. Araújo. Algoritmo de Cuidado de Enfermagem a Neonato Portador de Hiperbilirrubinemia Submetido à Fototerapia: Uma Proposta. [Internet]. São José dos Campos, SP; 2013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23956527/>
158. Dam-Vervloet AJ, de Boer FA, Nijholt IM, Poot L, Bosschaart N, van Straaten HLM. Quantification of cephalocaudal progression of jaundice in preterm infants. *Pediatr Res*. 2022;(November):1–7.
159. Kramer LI. Advancement of Dermal Icterus in the Jaundiced Newborn. *Am J Dis Child*. 1969;118(3):454–8.
160. Smith HM, Shirey RS, Thoman SK, Jackson JB. Prevalence of clinically significant red blood cell alloantibodies in pregnant women at a large tertiary-care facility. *Immunohematology*. 2013;29(4):127–30.
161. Santos AF, Cruz AA, Sousa MF, Cunha MD, Ferreira CP, Souza IC, et al. Exames Laboratoriais Para Acompanhamento Do Pré-Natal E a Fisiopatologia Da Gestação: Uma Revisão Narrativa. 2021;180–95.
162. Rodrigues CM, Barroso HH, Campos Ribeiro L da C, Fernandes D de RF. Interpretação De Exames Laboratoriais, Pesquisas Clínicas E Testes Para Enfermeiros. 1a edição. Diamantina-MG: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2020.
163. Pahuja S, Gupta SK, Pujani M, Jain M. The prevalence of irregular erythrocyte antibodies among antenatal women in Delhi. *Blood Transfus*. 2011;9(4):388–93.
164. Awowole I, Cohen K, Rock J, Sparey C. Prevalence and obstetric outcome of women with red cell antibodies in pregnancy at the Leeds Teaching Hospitals NHS Trust, West Yorkshire, England. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2019 Jun 1;237:89–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.04.016>
165. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Manual Técnico de Gestação de Alto Risco. Brasília, Ministério da Saúde: 2012. [Internet]. 2012 [cited 2020 Aug 20]. p. 370–3. Available from:

- http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.pdf
166. Markham KB, Rossi KQ, Nagaraja HN, O'Shaughnessy RW. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to multiple maternal antibodies. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2015;213(1):68.e1-68.e5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2015.01.049>
 167. Yazdanbakhsh K, Ware RE, Noizat-Pirenne F. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: Pathophysiology, risk factors, and transfusion management. *Blood*. 2012;120(3):528–37.
 168. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps B. Erythrocyte autoantibodies, autoimmune hemolysis and pregnancy. *Vox Sang*. 1982;43:169–76.
 169. Benraad CEM, Scheerder HAJM, Overbeeke MAM. Autoimmune haemolytic anaemia during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1994;55(3):209–11.
 170. Committee on Practice Bulletins. Clinical Management Guidelines for Obstetrician – Gynecologists. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2020;133(76):168–86. Available from: <https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/practice-bulletin/articles/2020/07/diagnosis-and-management-of-vulvar-skin-disorders>
 171. Myle AK, Al-Khattabi GH. Hemolytic Disease of the Newborn: A Review of Current Trends and Prospects. *Pediatr Heal Med Ther*. 2021;Volume 12:491–8.
 172. Kurian R. To study the prevalence of ABO incompatibility in O blood group mothers and assessment of IgG subclasses (IgG1 and IgG3) in them and its correlation with occurrence and severity of ABO Hemolytic Disease of Newborn (ABO HDN) in a tertiary health care Centr. Vellore: Christian Medical College; 2020.
 173. Leal M do C, Esteves-Pereira AP, Viellas EF, Domingues RMSM, Gama SGN da. Assistência pré-natal na rede pública do Brasil. *Rev Saude Publica* [Internet]. 2020;54:8. Available from: <https://www.revistas.usp.br/rsp/article/view/165868>
 174. World Health Organization. WHO Recommendation on antenatal care for a positive pregnancy experience. Geneva: WHO; 2016. 1–172 p.
 175. Bowman J. RhD hemolytic disease of the newborn. *N Engl J Med*. 1998;339(24):1775–7.
 176. Dajak S, Stefanoviä V, Čapkun V. Severe hemolytic disease of fetus and newborn caused by red blood cell antibodies undetected at first-trimester screening (CME). *Transfusion*. 2011;51(7):1380–8.
 177. Varghese J, Chacko MP, Rajaiah M, Daniel D. Red cell alloimmunization among antenatal women attending a tertiary care hospital in south India. *Indian J Med Res*. 2013;138(JUL 2013):68–71.
 178. AL-Ibrahim NA, AL Saeed AH. Red blood cell alloimmunisation among Saudi pregnant women in the central province of Saudi Arabia. *Kuwait Med J*. 2008;40:116–23.

179. Gottvall T, Filbey D. Alloimmunization in pregnancy during the years 1992-2005 in the central west region of Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2008;87(8):843–8.
180. Liumbruno GM, D'Alessandro A, Rea F, Piccinini V, Catalano L, Calizzani G, et al. The role of antenatal immunoprophylaxis in the prevention of maternal-foetal anti-Rh(D) alloimmunisation. *Blood Transfus*. 2010;8(1):8–16.
181. Matteocci A, De Rosa A, Buffone E, Pierelli L. Retrospective analysis of HDFN due to ABO incompatibility in a single institution over 6 years. *Transfus Med*. 2018;29(3):197–201.
182. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. *Gestação de Alto Risco Manual Técnico* [Internet]. *Gestação de Alto Risco Manual Técnico*. 2010. 302 p. Available from: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.pdf
183. Moise KJ, Argoti PS. Management and prevention of red cell alloimmunization in pregnancy: A systematic review. *Obstet Gynecol*. 2012;120(5):1132–9.
184. Sá, R.A.M.; Oliveira CA. *Doença Hemolítica Perinatal*. In: *Ginecologia e Obstetrícia Febrasgo para médico residente*. 1ªed. Barueri-SP; 2016. p. 1197–216.
185. Hall, V., Avulakunta ID. Hemolytic Diseases of the Newborn. *StatPearls - NCBI Bookshelf*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557423/>; 2022. 1–10 p.
186. Correia CR, Parreira L, Aguiar M, Tuna ML. Transfusão de concentrado eritrocitário em recém-nascidos de muito baixo peso e/ou idade gestacional menor ou igual a 32 semanas: experiência de 4 anos de uma Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais. *Nascer e Crescer* [Internet]. 2016;25(2):77–82. Available from: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0872-07542016000200004&lang=es%0Ahttp://www.scielo.mec.pt/pdf/nas/v25n2/v25n2a04.pdf
187. Ghesquière L, Garabedian C, Coulon C, Verpillat P, Rakza T, Wibaut B, et al. Management of red blood cell alloimmunization in pregnancy. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* [Internet]. 2018;47(5):197–204. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468784718300692>
188. Marcondes L, Nardoza M. Doença hemolítica perinatal. | 369 Fem [Internet]. 2020;48(6):369–74. Available from: www.febrasgo.org.br/protocolos
189. Shree R, Ma KK, Er LS, Delaney M. Management of pregnancy sensitized with anti-Inb with monocyte monolayer assay and maternal blood donation. *Immunohematology*. 2018;34(1):7–10.
190. Howard PJ, Guerra L, Kuttner DK, George MR. Clinical approach after identification of a rare anti-Ena in a prenatal sample. *Immunohematology*. 2020;35(4):159–61.
191. Peyrard T. The LAN blood group system: A review. *Immunohematology*. 2013;29(4):131–5.
192. Wagner MM, van Dunné FM, Kuipers I, Thornton N, Folman CC, Ponjee GA, et al.

- Anti-Emm in a pregnant patient - case report. *Vox Sang.* 2014;106(4):385–6.
193. Moise KJ, Morales Y, Bertholf MF, Rossmann SN, Bai Y. Anti-Vel alloimmunization and severe hemolytic disease of the fetus and newborn. *Immunohematology.* 2017;33(4):152–4.
 194. Virk M, Papakonstantino K, Cai W, Oh D, Andrews J. Blood donation during pregnancy due to anti-Ku hemolytic disease of the fetus and newborn. *Lab Med.* 2019;50(4):421–5.
 195. Di Ciaccio P, Cutts B, Alahakoon TI, Dennington PM, Soo LA, Curnow J. Clinical consequences of the extremely rare anti-PP1Pk isoantibodies in pregnancy: a case series and review of the literature. *Vox Sang.* 2021;116(5):591–600.
 196. Win N, Almusawy M, Fitzgerald L, Hannah G, Bullock T. Prevention of hemolytic transfusion reactions with intravenous immunoglobulin prophylaxis in U– patients with anti-U. *Transfusion.* 2019;59(6):1916–20.

