



**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
INSTITUTO DE SAÚDE DE NOVA FRIBURGO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**



**NATHALIA NOGUEIRA DE LIMA RIBEIRO**

**DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL:  
UMA BREVE REVISÃO DA LITERATURA**

**NOVA FRIBURGO, 2017**

NATHALIA NOGUEIRA DE LIMA RIBEIRO

**DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL:  
UMA BREVE REVISÃO DA LITERATURA**

Monografia apresentada à Universidade Federal Fluminense/Instituto de Saúde de Nova Friburgo, como Trabalho de Conclusão do Curso de graduação em Biomedicina.

ORIENTADORA:  
PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. FABIANA NUNES GERMANO

NOVA FRIBURGO, 2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca de Nova Friburgo

R484d Ribeiro, Nathália Nogueira de Lima  
Doença hemolítica perinatal: uma breve revisão de literatura. / Nathalia Nogueira de Lima Ribeiro; Profa. Dra. Fabiana Nunes Germano , orientadora. -  
- Nova Friburgo, RJ: [s.n.], 2017.  
33 f. : il.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) –  
Universidade Federal Fluminense, Instituto de Saúde de Nova Friburgo,  
2017.  
1. Doença hemolítica perinatal. 2. Hematologia pediátrica. 3. Recém-nascido. I. Germano, Fabiana Nunes, Orientadora. II. Título.

CDD M618.9215

**NATHALIA NOGUEIRA DE LIMA RIBEIRO**

**DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL:  
UMA BREVE REVISÃO DA LITERATURA**

Monografia apresentada à Universidade Federal Fluminense/ Instituto de Saúde de Nova Friburgo, como Trabalho de Conclusão do Curso de graduação em Biomedicina.

Apresentada em: 11/12/2017

**Banca Examinadora**

---

Profa. Dra. Fabiana Nunes Germano  
Universidade Federal Fluminense – Instituto de Saúde de Nova Friburgo

---

Prof. Dr. Leonardo de Souza Mendonça  
Universidade Federal Fluminense – Instituto de Saúde de Nova Friburgo

---

Profa. Dra. Caroline Fernandes dos Santos Bottino  
Universidade Federal Fluminense – Instituto de Saúde de Nova

---

Profa. Dra. Lívia Mattos Pinto de Lima (suplente)  
Universidade Federal Fluminense – Instituto de Saúde de Nova

NOVA FRIBURGO, 2017

*Dedico este trabalho à minha família  
por todo o amor, incentivo, compreensão e  
apoio durante todo este Curso de Graduação.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Aos meus queridos pais Fábio e Rosinha por sempre me incentivarem e me apoiarem para chegar até aqui.

A minha querida irmã Thamara pelas palavras de carinho e de apoio nos momentos em que pensei em desistir.

Ao meu amado Felipe pela paciência, compreensão, em aturar meus momentos de ausência e estresse, e me encorajar.

Ao meu bem mais precioso e amado, filho Aquiles, por ter ficado cada segundo bonzinho para deixar a mamãe escrever e sempre me retribuindo com seu sorriso.

Aos amigos que fizeram parte dessa trajetória, dividindo momentos de descontração, estudos, discussão e conquistas, sem vocês o caminho seria mais difícil.

Aos meus professores por toda a instrução e sabedoria que foram passadas. Em especial, a minha Professora orientadora Fabiana, que compartilhou seus conhecimentos, sendo fundamental na elaboração deste trabalho, demonstrando paciência e compreensão. Agradeço pelo seu carinho e dedicação.

Agradeço a todos que contribuíram até aqui.

*“Dizem que a vida é para quem sabe viver,  
Mas ninguém nasce pronto. A vida é  
Para quem é corajoso o suficiente  
Para se arriscar e humilde o  
Bastante para aprender”  
(Clarisse Lispector)*

## RESUMO

A presente revisão tem como objetivo realizar uma breve revisão da literatura sobre a doença hemolítica perinatal, ressaltando sua importância em termos de saúde pública. Foram realizadas buscas por artigos nas seguintes bases de dados Medline/Pubmed, Scielo, periódicos capes, teses e monografias de instituições fidedignas, foram utilizados 46 entre os anos de 1932 a 2016, A pesquisa bibliográfica considerou artigos publicados no idioma inglês e português. A doença hemolítica perinatal causada pela incompatibilidade do fator Rh pode variar desde um índice laboratorial de hemólise até uma anemia severa compensatória dos tecidos eritropoéticos, acarretando em hepatomegalia e esplenomegalia. Os recém-nascidos afetados, se não tratados com exsanguíneo transfusão ou outras técnicas como a fototerapia, podem desenvolver *Kernicterus* que é uma síndrome identificada pela impregnação da bilirrubina nos núcleos da base cerebral. O sistema Rh é de grande importância clínica, o antígeno D é o mais imunogênico e o com maior número de variantes dentre todos os antígenos constituintes do sistema Rh. O anticorpo anti-Rh(D) é o principal responsável pelo desenvolvimento da doença hemolítica perinatal. Com a introdução da profilaxia anti-Rh(D) o número de óbitos de recém-nascidos caiu drasticamente em países desenvolvidos, mas essa não é a realidade nacional. Conclui-se que ainda há uma carência de dados sobre o tema em nosso país. O diagnóstico precoce e a profilaxia são essenciais para a qualidade de vida dos recém-nascidos. Torna-se necessário a implementação e/ou intensificação dos programas de conscientização para mulheres sobre o pré-natal adequado e sua importância.

**Palavras chave:** Doença hemolítica perinatal, recém- nascido, antígeno D, Rh



## ABSTRACT

The present review aims to make a brief review of the literature on perinatal hemolytic disease, highlighting its importance in terms of public health. We searched for articles in the following databases Medline / Pubmed, Scielo, periodicals capes, theses and monographs of trustworthy institutions, were used 46 between the years 1932 to 2016, The bibliographic research considered articles published in English and Portuguese. Perinatal hemolytic disease caused by the incompatibility of Rh factor can range from a laboratory indication of hemolysis to a compensatory severe anemia of erythropoietic tissues, leading to hepatomegaly and splenomegaly. Affected newborns, if not treated with exsanguineo transfusion or other techniques such as phototherapy, may develop Kernicterus which is a syndrome identified by the impregnation of bilirubin in the nuclei of the cerebral base. The Rh system is of great clinical importance, the D antigen is the most immunogenic and the one with the highest number of variants among all the constituent antigens of the Rh system. Anti-Rh (D) antibody is the main responsible for the development of perinatal hemolytic disease. With the introduction of anti-Rh (D) prophylaxis, the number of newborn deaths has fallen dramatically in developed countries, but this is not the national reality. We conclude that there is still a lack of data on the subject in our country. Early diagnosis and prophylaxis are essential for the quality of life of newborns. It is necessary to implement and / or intensify awareness programs for women about adequate prenatal care and its importance.

**Keywords:** Perinatal hemolytic disease, newborn, D antigen, Rh

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>4</b>
<b>4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>5</b>
4.1 HISTÓRICO DA DHPN.....	5
4.2 ETIOLOGIA E PATOGÊNESE DA DHPN.....	6
4.3 ESTRUTURA MOLECULAR DO SISTEMA RH.....	10
4.4 EPIDEMIOLOGIA DA DHPN.....	14
4.5 DIAGNÓSTICO.....	16
4.6 PROFILAXIA.....	22
4.7 TRATAMENTO.....	23
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>25</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>26</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> – Figura representativa da eritroblastose fetal.....	8
<b>FIGURA 2</b> – Representação da fisiopatologia da DHPN.....	9
<b>FIGURA 3</b> – Impregnação bilirrubinica na porção dorsal da ponte e núcleos da medula oblonga (Kernicterus).....	10
<b>FIGURA 4</b> – Estrutura do gene RHCE e RHD.....	11
<b>FIGURA 5</b> – Representação do complexo Rh na hemácia.....	12
<b>FIGURA 6</b> – Variantes RhD nas hemácias.....	13
<b>FIGURA 7</b> – Esquematização do teste de Coombs indireto.....	17
<b>FIGURA 8</b> – Reação antígeno anticorpo.....	17
<b>FIGURA 9</b> – Esfregaço de células sanguíneas.....	18
<b>FIGURA 10</b> - Imagem demonstrando as células sanguíneas após o teste de Kleihauer – Betke.....	21
<b>FIGURA 11</b> – Representação da fototerapia.....	24

## LISTA DE ABREVIATURAS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
DHPN	Doença hemolítica perinatal
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real

## 1. INTRODUÇÃO

Conceitua-se a doença hemolítica perinatal pela disfunção generalizada acompanhada de anemia, hemólise e presença de formas jovens e imaturas das hemácias na circulação periférica (WHALEY E WONG, 1989). A gravidade da doença pode variar desde um indício laboratorial de hemólise até uma anemia severa, acarretando em hepatomegalia e esplenomegalia (GONÇALVES, 2011).

A doença hemolítica perinatal decorre por incompatibilidade sanguínea materno fetal, ou melhor, pela incompatibilidade do fator Rh. Dessa forma, o organismo da mãe começa a produzir anticorpos direcionados contra os antígenos presentes nos eritrócitos do feto, mecanismo reconhecido como aloimunização eritrocitária. Aloimunização é a produção de anticorpos quando ocorre a exposição do indivíduo a antígenos não próprios (BAIOCHI et al, 2009). A aloimunização pode ser primária ou secundária; a primária é caracterizada por resposta imune com baixo título de anticorpos, geralmente da classe IgM, enquanto que na resposta imune secundária o organismo passa a produzir em maior proporção anticorpos da classe IgG (LANGHI JÚNIOR et al, 2007). A passagem transplacentária dos anticorpos acontece por meio do transporte ativo e envolve o fragmento Fc da imunoglobulina e seu receptor presente na placenta (SCHIMIDT .LC et al, 2010).

Quando a doença hemolítica é decorrente da incompatibilidade do fator Rh da mãe e do feto é muita das vezes grave devido a imunogenicidade dos antígenos que compõem o sistema Rh (BAÍÁ, 2006). Sabe-se que o sistema Rh é o mais polimórfico e imunogênico dentre todos os sistemas do grupo sanguíneo, foram identificados até o momento 49 antígenos, cujos os principais são: D, C, c, E, e (NARDOZZA .L et al, 2010). Porém o antígeno D é o mais imunogênico dentro do sistema Rh (CASTILHOS, 2007). Os antígenos constituintes do sistema Rh por volta de 30 a 45 dias de gestação já estão bem desenvolvidos, embora a sua detecção seja viável na oitava semana de gestação somente nos eritrócitos (DURAN, 2007). O *locus* Rh é constituído por dois genes homólogos RHD, expressa o antígeno D, e o gene RHCE. O RHD por ter um elevado grau de polimorfismo gera fenótipos D variantes, esses por sua vez, são classificados em D normal, D fraco, D

parcial e D parcial fraco. O que vai determinar se o antígeno é fraco ou parcial será a quantidade e a característica do antígeno D encontrado (MOSER et al, 2008).

É importante salientar que a introdução da imunoglobulina humana a partir dos anos 60 trouxe uma redução drástica da incidência da aloimunização materna, e como resultado o índice da doença hemolítica perinatal também sofreram uma queda (LILEY, 2003). O uso da imunoglobulina anti-D em gestantes RhD negativas, em países que implementaram essa profilaxia, a taxa de mortalidade sofreu uma redução de 90% (WANDRON, 2005). Estudos confirmam que a administração da imunoglobulina anti-D em mulheres RhD negativas na 28ª semana de gestação contribuiu para a prevenção e a redução da aloimunização de 2% para 0,1% (KOENING, 2000).

De fato o que pesa para a saúde pública é a questão econômica, ou seja, o custo que implica a profilaxia à todas gestantes RhD negativas na 28 semana de gestação, infelizmente esse é um fator que em nosso país não podemos desconsiderar, e com certeza esse pode ser um dos maiores problemas para a erradicação da doença hemolítica perinatal enfrentado no Brasil. Estudos demonstram que a aplicação da imunoglobulina anti-D é economicamente rentável quando equiparada com o custo do tratamento e da vigia dos casos de aloimunização que esse mesmo programa previne (VICENTE et al, 2003).

O surgimento dos primeiros testes de genotipagem fetal RHD utilizando a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase) nos anos 90, revolucionou o diagnóstico da doença. A amplificação do DNA fetal era feita a partir de células obtidas do líquido amniótico ou de células das vilosidades coriônicas (ROUILLAC et al, 2007). No ano de 1997, Lo e colaboradores conseguiram demonstrar a existência do DNA fetal livre no plasma materno, e com isso possibilitou o diagnóstico precoce da doença hemolítica perinatal.

Sendo assim, este trabalho tem como finalidade realizar uma breve revisão bibliográfica sobre a importância da doença hemolítica perinatal, destacando os principais aspectos acerca da doença.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

- Realizar uma breve revisão da literatura sobre a doença hemolítica perinatal por incompatibilidade do fator Rh.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Descrever o desenvolvimento da DHPN
- Elucidar a estrutura do sistema Rh
- Caracterizar o perfil clínico da DHPN
- Discutir os métodos de diagnóstico
- Enfatizar o tratamento e a importância da prevenção

### **3 METODOLOGIA**

O presente estudo é uma revisão da literatura, sob formato de monografia, a respeito da importância da doença hemolítica perinatal causada pela incompatibilidade do sistema Rh. Buscas por artigos que fossem relevantes ao tema foram realizadas nas bases de dados Medline/Pubmed, Scielo, periódicos capes, teses e monografias de instituições fidedignas. A pesquisa bibliográfica considerou artigos publicados no idioma inglês e português, utilizando os seguintes descritores: eritroblastose fetal, doença hemolítica perinatal, incompatibilidade Rh, aloimunização, fetal erythroblastosis, perinatal haemolytic disease, Rh incompatibility, alloimmunization. Foram utilizados 46 artigos, publicados entre os anos de 1932 a 2016.



## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 HISTÓRICO

Em 1609 ocorreu o primeiro registro de doença hemolítica perinatal (DHPN) com o caso da gravidez gemelar de uma francesa, que deu à luz uma criança hidrópica natimorta e outra com icterícia grave. Foi demonstrado que os achados de hidropsia fetal, anemia hemolítica e icterícia eram quadros clínicos de uma mesma doença. A hemólise fetal estimulava a eritropoese e assim ocorria o aumento de eritroblastos na corrente sanguínea do feto/recém-nascido. Devido à presença de hematopoese extramedular e eritroblastonemia essa doença ficou conhecida como eritroblastose fetal (DIAMOND et al,1932).

Levine e Stetson (1939) relataram o caso de uma mulher que foi transfundida com o sangue do esposo depois de ter dado à luz a um recém-nascido hidrópico. Verificaram um anticorpo que não aglutinava no sangue dessa mãe, porém a aglutinação ocorria no sangue do recém-nascido e do pai, concluindo assim que a mãe estaria sensibilizada por um antígeno que o feto recebera através do pai.

Landsteiner e Wiener, no ano de 1940 detectaram esse antígeno por meio da inoculação dos glóbulos vermelhos de macaco *Rhesus* em coelhos, nesse estudo eles descrevem que o soro obtido dos coelhos continha a presença de um anticorpo que aglutinava 85% dos glóbulos vermelhos de indivíduos caucasianos, esses indivíduos foram classificados em *Rhesus* positivo (Rh positivo). Os outros 15% dos indivíduos, cujos eritrócitos não aglutinavam com o soro foram denominados *Rhesus* negativo (Rh negativo) (WIRTHNER et al, 1988).

Levine e colaboradores (1941) confirmaram que a presença do anticorpo anti-D em gestantes Rh negativas era a causa do desenvolvimento da doença hemolítica perinatal, a partir de então, vários outros anticorpos relacionados com o desencadeamento da DHPN começaram a ser descritos (WIRTHNER et al, 1988).

Na década de 60 foi realizado um estudo com mulheres voluntárias RhD negativas, em que utilizaram injeções contendo eritrócitos RhD positivos e Imunoglobulina G anti-D, e observaram que essas gestantes não geravam anticorpos anti-D. Subsequentemente definiram a administração da imunoglobulina anti-D em gestantes RhD negativas, imediatamente após o parto

ou quando acontecia hemorragia feto materna, visando desta maneira a prevenção da aloimunização da mãe (SCOTT, 2001).

Em meados dos anos 70, a profilaxia da DHPN passou a prevalecer, com a administração da imunoglobulina anti-D dentro de 72 horas logo após o parto (SCOTT, 2001). Ainda nos anos 70, surge a ecografia obstétrica, exame que auxiliou no acompanhamento das gestantes, por conseguinte na detecção da aloimunização materna. Já nos anos 80, o aparecimento da ecografia de alta resolução possibilitou a colheita do sangue do feto através da via per cutânea pelo cordão umbilical para a análise do grupo sanguíneo fetal, anemia e acidose (LILEY, 2003).

Também em 1987 a progressão da biologia molecular e da bioquímica permitiu a determinação dos polipeptídios do sistema Rh, e a identificação do gene ocorreu em 1991 (LILEY, 2003). Já em 1997 foi descrito a presença do DNA fetal livre na circulação materna (MARQUES, 2012). Lo e colegas (1997), utilizaram a técnica da PCR em tempo real (RT-PCR) para detectar com precisão o DNA fetal no plasma materno e quantifica-lo.

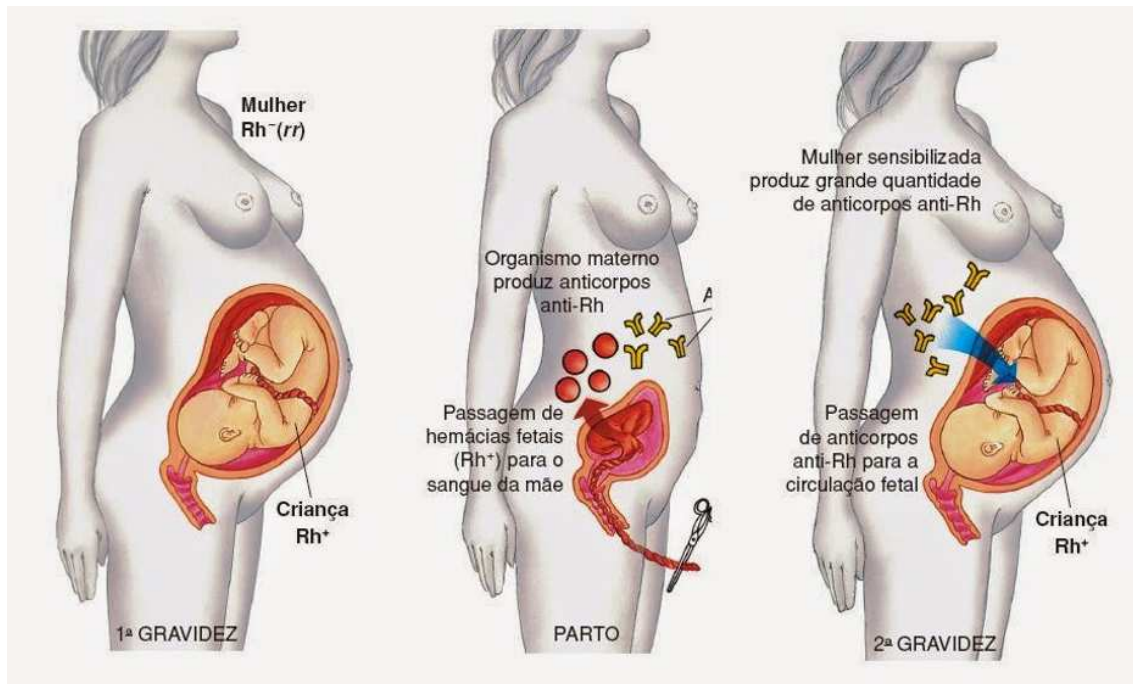
Em 2001, foi realizada a determinação genética do genótipo fetal RhD através do plasma materno (Finning et al., 2008). Contudo a doença continuava a persistir, pois anticorpos continuavam dirigindo diretamente aos antígenos que não faziam parte do sistema Rh, e com isso outros sistemas também têm sido estudados com mais ênfase, e sua relação com a DHPN (RAMASETHU, 2001).

#### **4.2. ETIOLOGIA E PATOGÊNESE DA DHPN**

A DHPN, tendo como causa a incompatibilidade do fator Rh, é uma patologia caracterizada por uma anemia fetal de diferentes graus, hidropsia e icterícia. Sabe-se que é uma doença decorrente da incompatibilidade entre o fator Rh materno e o fator Rh fetal, sendo o antígeno D do sistema Rh o principal responsável pelo seu desencadeamento. O antígeno D tem alta prevalência, ou seja, está presente em 85% da população branca e possui alta imunogenicidade (MACHADO, 2006). A determinação do tipo sanguíneo Rh deve ser feita no começo da gestação, pois a DHPN tem significativa morbidade e mortalidade perinatal (NARDOZZA et al, 2010).

A aloimunização é o fenômeno que dá início à DHPN. O que define a aloimunização, nesse caso, é a presença de anticorpos na circulação da gestante dirigidos contra antígenos de grupos sanguíneos existente na hemácia do feto (BRICCA et al, 2011). Sabe-se que a aloimunização é resultado da sensibilização materna (FIGURA 1), ou seja, mulheres Rh negativas produzem anticorpos anti-Rh ao gerarem filhos Rh positivos durante a primeira gestação. Tal passagem de hemácias Rh positivas do feto para circulação materna acontece principalmente no momento do parto, devido à ruptura da placenta, ou também esse contato pode ser através de transfusões sanguíneas, esse acontecimento estimula a formação de anticorpos anti-Rh criando assim uma memória imunológica e conseqüentemente a gestante estará sensibilizada (GONÇALVES et al, 2001).

Após a primeira exposição ao antígeno eritrocitário o sistema imunológico materno gera anticorpos da classe IgM, entretanto seu elevado peso molecular não permite sua passagem pela barreira placentária. Quando acontece uma segunda exposição a esse antígeno eritrocitário é estimulada a produção rápida e elevada de anticorpos da classe IgG, esse tipo de anticorpo possui baixo peso molecular e, portanto, conseguem atravessar a barreira placentária (VICENTE et al, 2003). Além do baixo peso molecular, a passagem do anticorpo IgG acontece por meio de transporte ativo envolvendo o fragmento Fc da imunoglobulina IgG e receptores Fc na placenta (SCHIMIDT et al, 2010).



**Figura1:**Figura representativa da eritroblastose fetal.

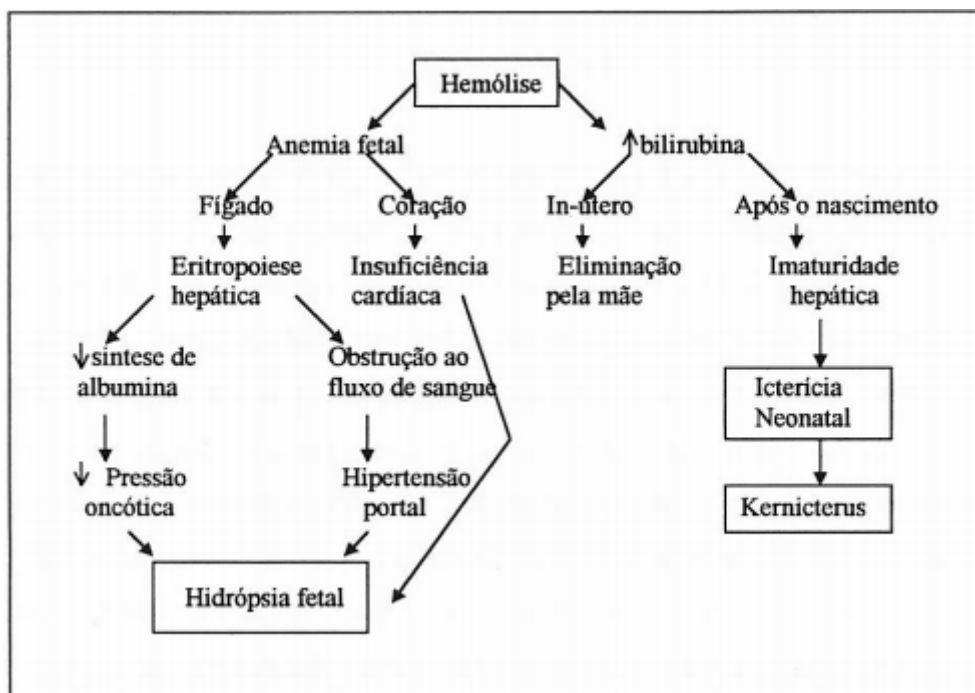
(Fonte:<https://planetabiologia.com/eritroblastose-fetal-doenca-hemolitica-do-recem-nascido-o-que-e/>)

Sendo assim, a DHPN no período fetal resulta da passagem transplacentária da IgG materna para a circulação fetal. A IgG se fixa sobre os sítios antigênicos dos eritrócitos fetais e como consequência ocorre a hemólise eritocitária tanto no feto, quanto no recém-nascido (BRICCA et al, 2011). Essa hemólise, quando prolongada (FIGURA 2), causa uma anemia grave no feto estimulando a produção de eritropoetina fetal, eritropoese medular e extramedular. Dependendo da gravidade da eritropoese, pode chegar a nível hepático causando a distensão do parênquima e consequentemente a insuficiência hepática, queda dos níveis de albumina (hipoalbuminémia) e hidropsia (GONÇALVES et al, 2001).

Quando ocorre a hemólise dos eritrócitos fetais o resultado é a elevação de bilirrubina. A bilirrubina em altas concentrações é nociva, porém no período fetal a placenta faz a eliminação dessa substância, podendo ser dosada na circulação da mãe e no líquido amniótico, mas no período neonatal devido a imaturidade do sistema hepático ela poderá se acumular e trazer complicações para o neonato (VILASCHI, 2012).

No período intrauterino a severidade da doença está relacionada à anemia, em torno de 10% dos fetos apresentam anemia grave, podendo levar ao óbito

se não tratada. Quando o feto já apresenta anemia grave ocorre o surgimento de eritrócitos imaturos na circulação, evidenciando a eritroblastose fetal. A produção de eritrócitos imaturos se acumula tanto no baço quanto no fígado, e esse quadro leva a formação de um edema placentário e trofoblástico, aspectos preocupantes para sobrevivência fetal, visto que prejudicam as trocas e o fluxo sanguíneo com a placenta (VILASCHI, 2012).



**Figura 2:** representação da fisiopatologia DHPN. (Fonte: Gonçalves *et al*, 2001)

No período neonatal, os anticorpos maternos ainda persistem por um longo período na circulação do neonato, causando hemólise e contribuindo para o agravamento da anemia. Ocorre a hiperbilirrubinemia, pois com o fígado ainda imaturo e com a ausência da depuração da bilirrubina pela placenta o recém-nascido não faz a conjugação e a excreção de toda bilirrubina produzida pelo processo de degradação da hemoglobina (VILASCHI, 2012). Subsequentemente, a concentração de bilirrubina total e a concentração de bilirrubina indireta (não conjugada) se eleva no sangue e assim inicia-se a

deposição da bilirrubina indireta nos gânglios da base cerebral, bem como nos núcleos cerebrais (FIGURA 3). Essa condição induz à toxicidade e a encefalopatia aguda e crônica denominada de *Kernicterus*, derivada de um estado de icterícia muito grave pode causar danos irreversíveis ao sistema nervoso central (VILASCHI, 2012).

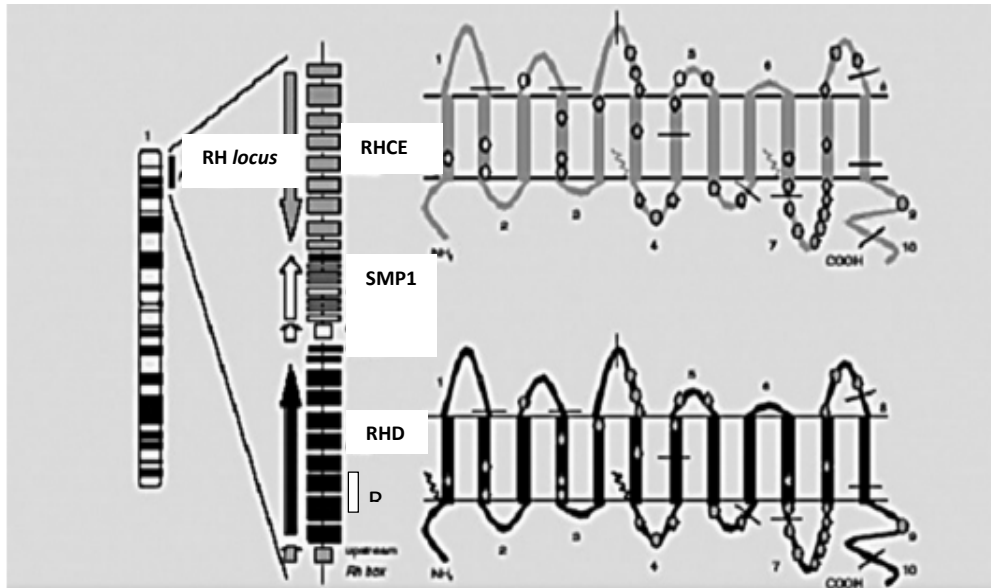


**Figura 3** Impregnação bilirrubínica na porção dorsal da ponte e núcleos da medula oblonga (*Kernicterus*). Fonte: (<http://anatpat.unicamp.br/bikernicterus.html>).

#### 4.3 ESTRUTURA MOLECULAR DO SISTEMA RH

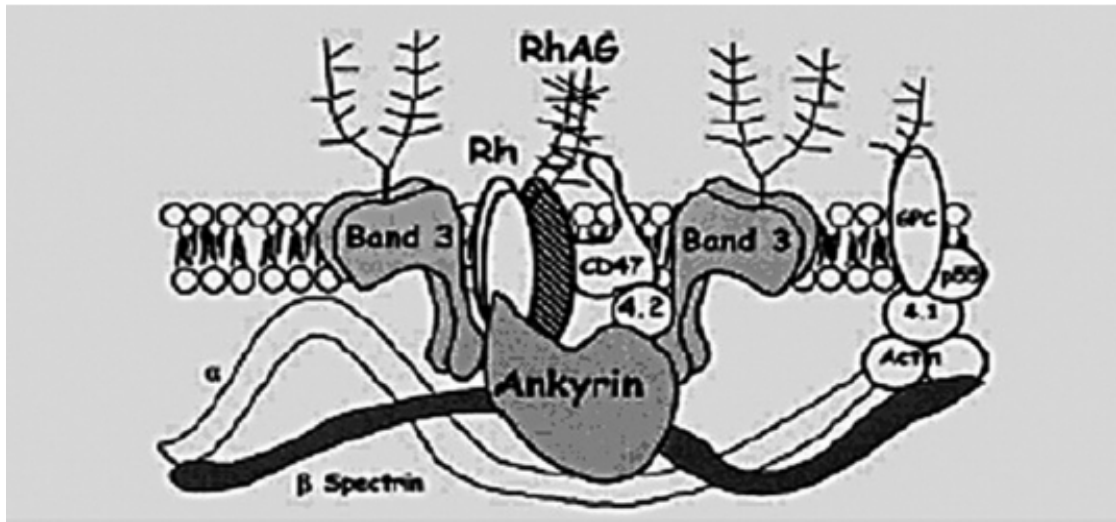
O sistema Rh é de grande relevância clínica, o entendimento de sua base molecular possibilitou a compreensão do mecanismo do fenótipo Rh negativo, tanto quanto as variantes dos antígenos RHD e RHCE. Compreende 49 antígenos dentre os principais são os antígenos D, C, c, E, e (NARDOZZA et al, 2010).

RHD e RHCE são genes homólogos e possuem algumas diferenças, como deleção e a orientação em que se encontram. A orientação do gene RHD é oposta à do gene RHCE: 5'RHD3' e 3'RHCE5' (DANIELS et al, 2007). Ambos apresentam 10 exóons e estão localizados no braço curto do cromossoma 1, *locus* 34 e 36 (DANIELS et al, 2009). O gene RHD possui uma deleção de 600pb no íntron 4 em relação ao gene RHCE e estão separados por 30.000pb. Também é importante citar que entre o gene RHD e RHCE tem um outro gene denominado de SMP1 cuja sua função está relacionada com a expressão do RH na membrana eritrocitária (FIGURA 4) (WAGNER, 2004).



**Figura 4:** Estrutura do gene RHCE e RHD. Fonte: modificada Nardozza et al, 2010

A presença ou a ausência do antígeno D na superfície da hemácia prediz se o indivíduo é Rh positivo ou Rh negativo. Os antígenos RH (D, e, Cc, Ee) são carregados por proteínas não glicosiladas que estão presentes na membrana do eritrócito e essas possuem de 30-32 KDa. No interior da membrana do eritrócito a proteína Rh se associa a RhAG, uma glicoproteína Rh associada produzida no cromossoma 6. A presença da RhAG é importante para que ocorra a expressão do Rh no eritrócito (NARDOZZA et al, 2010). A proteína Rh na membrana eritorocitária forma um complexo não covalente com outras proteínas, abrangendo a banda 3, glicoforinas como GPA e GPB e CD47, as quais se encontram reduzidas em indivíduos Rh null (DANIELS et al, 2007 e NARDOZZA et al, 2010) (FIGURA 5).



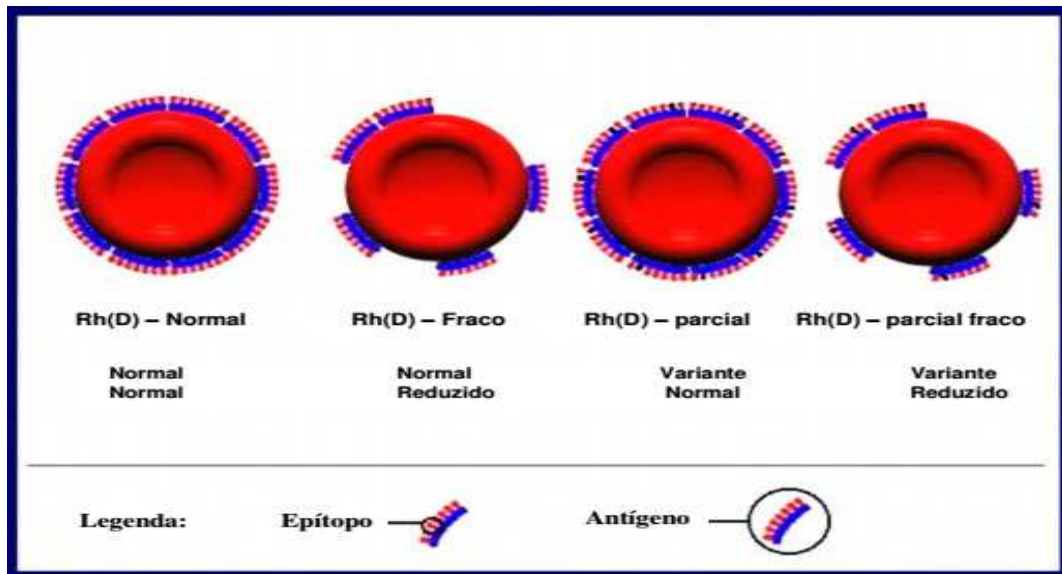
**Figura 5:** Representação do complexo Rh na hemácia.

Fonte: NARDOZZA, et al, 2010).

A proteína RHD por ter um elevado grau de polimorfismo origina fenótipos D variantes. Esses são classificados em D normal, D fraco, D parcial e D parcial fraco (BAÍA, 2006).

Na FIGURA 6, pode se observar que a primeira hemácia é Rh D normal, com o número correto de antígenos e a presença de todos os epítomos D. Já a segunda hemácia ilustra uma hemácia Rh D fraco, ou seja, nota-se a redução de antígenos, mas tem a presença de todos epítomos Rh D. Em relação à terceira hemácia, representa o fenótipo Rh D parcial, nesse caso, apresenta todos os antígenos, porém os epítomos estão alterados, para cada antígeno há um ou mais epítomos alterados, e por último, a quarta hemácia demonstra o fenótipo Rh D parcial fraco, ocorre redução de antígenos para cada hemácia e também os epítomos estão alterados em cada antígeno.





**Figura 6:** Variantes RhD nas hemácias. Fonte: Sabino, 2008.

O antígeno D parcial não possui epítipo completo, sua classificação é feita através dos epítipos que faltam no antígeno D, e ainda pode ter a expressão reduzida, sendo assim denominado de D parcial fraco. Portanto a classificação do D parcial depende de anticorpos monoclonais para cada epítipo presente no mosaico (RAMOS, 2007).

O antígeno D fraco ocorre em torno de 0,2 a 1% da população caucasiana, e surgiu como consequência de mutações pontuais ou perda de sentido nos éxons do gene RHD. As substituições dos aminoácidos dos diversos tipos de RhD fraco são observadas nos segmentos transmembranares e intracelulares da proteína RhD, essa é a razão pelo qual ocorre a fraca expressão do antígeno RhD na membrana do eritrócito (MULLER et al, 2001).

Na rotina, são utilizados os métodos que amplificam as regiões do íntron 4 e éxon 10 para a genotipagem do RHD. Além disso, a técnica da PCR multiplex permite a identificação molecular das variantes RHD híbridas, ou seja, que possuem inserção total ou parcial do gene RHD (SINGLETON et al, 2000).

#### 4. 4 EPIDEMIOLOGIA DA DHPN

Até a década de 60, a DHPN apresentava taxas de mortalidade e morbidade bastante elevadas, mas com o advento da imunoglobulina anti-D essa doença teve sua incidência reduzida (CARVALHO, 2012). A prevalência de casos de DHPN em países desenvolvidos é de 2,5 por 100.000 nascidos vivos; de forma global essa taxa é estimada em 276 casos por 100.000 nascidos vivos, o que é significativo (COSTUMBRADO et al, 2017).

Nos Estados Unidos e Canadá a incidência da taxa de aloimunização é de 0,2%, devido à profilaxia adotada no pré-natal desde a década de 70. Entretanto, na Inglaterra a incidência é de 1,8%, visto que só recentemente a profilaxia no acompanhamento de pré-natal foi adotada (MEDEIROS et al, 2011).

A prevalência da DHPN vem se mantendo devido a fatores como: falha na administração da imunoprofilaxia e no reconhecimento da situação clínica, hemorragia materno fetal, transfusão sanguínea incompatível e até casos de sensibilização espontânea (SEIDL, 2013). Em países desenvolvidos a DHPN não é mais considerada um problema de saúde pública (PILGRIM et al, 2009). No Brasil não existem evidências da extensão do problema, pois os estudos nacionais estão relacionados somente ao tratamento e diagnóstico, o que não é eficiente em termos de avaliação de custos e impactos para o sistema único de saúde (SUS). Conhecer a situação epidemiológica do país pode ajudar a quantificar a problemática, visando assim a prevenção de forma eficiente e abrangente (PACHECO, 2013).

A incidência do antígeno D no Brasil, está em torno de 85% nos indivíduos da raça branca, 90 a 95% nos indivíduos da raça negra e aproximadamente 100% nos índios e pardos (MEDEIROS et al, 2011). Um estudo realizado na cidade de São Paulo por Baiochi e colaboradores (2007) estimou que no Brasil a incidência do fenótipo Rh negativo é observado em 10% das gestantes, e entre elas 7% dos bebês eram RhD positivos. De acordo com o manual técnico de gestação de alto risco do Ministério da Saúde, apresentado em 2010, a cada 1000 gestações 5 gestantes desenvolvem DHPN (MS, 2010).

De acordo com o Ministério da Saúde, a DHPN é vista como doença de causa de morte evitável em crianças com até 5 anos de idade, desde que o SUS disponha de tecnologia necessária e qualidade assistencial (MALTA et al, 2007).

Sabe-se que o pré-natal tardio e a sua não realização também dificultam o acesso à prevenção e ao diagnóstico da doença, o que faz com que o tratamento fique complicado (SEIDL, 2013).

Além disso foram notificados pelo SIH-SUS (sistema de informações hospitalares do SUS), em 2010, 2515 internações em crianças com faixa etária menor que um ano de idade por DHPN (DATASUS,2010). No entanto, os registros encontrados sobre a notificação da doença não são confiáveis. Um estudo realizado já questionou que os problemas dos registros da DHPN estão relacionados ao erro do diagnóstico por médicos, a omissão da subnotificação dos casos, e também a ausência de uma investigação sobre o monitoramento desses agravos (LOBATO et al, 2008).

A secretaria do estado do Rio de Janeiro/RJ propôs no ano de 2003, o programa de profilaxia Rh em parceria com o IFF (Instituto Fernandes Figueira), no qual definiram o protocolo de administração e distribuição da imunoglobulina anti-Rh para as gestantes Rh negativas. O IFF, instituto de referência para o monitoramento do pré-natal de mulheres Rh negativas, relata que 50% das pacientes por ano apresentação aloimunização Rh (SEIDL, 2013).

Porém, ressalta-se mais uma vez que inexistência de dados epidemiológicos precisos quanto à frequência da DHPN no Brasil pode ter sua origem no preenchimento incompleto e errôneo dos dados no momento do atendimento e internações hospitalares (SEIDL, 2013). A DHPN não vem sendo denotada como agravo, por ser um problema menos visível, mas pode evoluir para consequências irreversíveis e graves. Existem maneiras de evitar e combater adequadamente a doença seja por melhoria na prevenção e na utilização da tecnologia relacionadas à assistência das gestantes durante o pré-natal (BESERRA *et al*, 2016).

#### 4 . 5 DIAGNÓSTICO

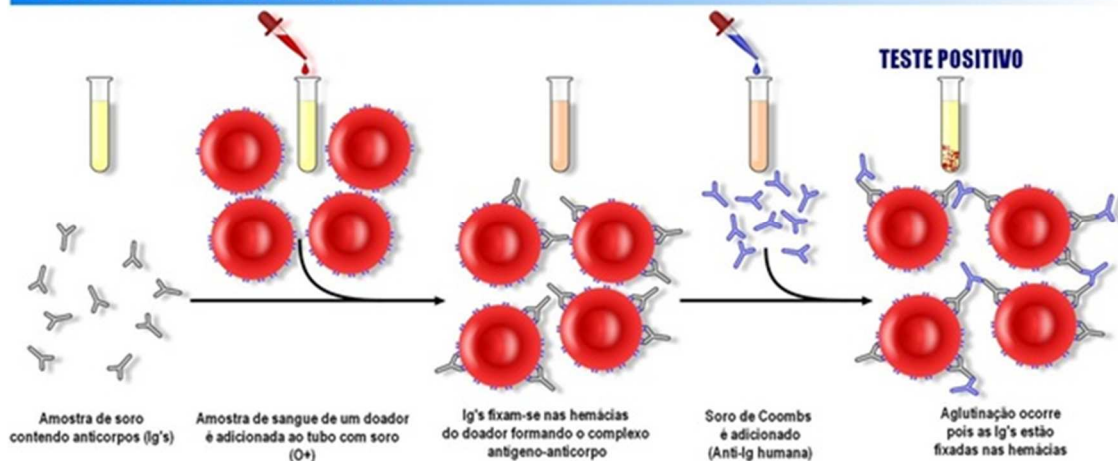
O diagnóstico clínico permite a identificação das mães com risco de terem filhos com a DHPN, buscando assim evitar complicações futuras. A pesquisa do grupo sanguíneo e do fator Rh e a determinação de anticorpos irregulares são de suma importância no período de pré-natal (LANGHI JÚNIOR et al, 2007).

Quando constatada a gravidez faz-se necessário a realização dos testes para identificação do tipo sanguíneo materno para os sistemas ABO e Rh, assim como a triagem para anticorpos irregulares (LUBUSKY, 2010). A presença do anticorpo anti-D no sangue materno deverá ser avaliada logo na primeira consulta do acompanhamento pré-natal e recomenda-se fazer a repetição do exame uma semana antes do parto (MACHADO, 2006).

Entre os exames laboratoriais realizados no acompanhamento da gestante no pré-natal estão a análise do hematócrito, da hemoglobina, a tipagem sanguínea dos sistemas ABO/Rh(D) e a pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) ou Coombs indireto. Em 1945, Coombs e colaboradores descreveram o teste de antiglobulina humana (AGH), cuja utilização detectava *in vivo* hemácias sensibilizadas pelos anticorpos anti-D, auxiliando assim no diagnóstico da doença hemolítica perinatal (PINTO, 2007). O soro de Coombs é considerado uma das descobertas mais importantes da medicina transfusional (COVAS, 2007), possibilitando que vários outros anticorpos fossem identificados com seus antígenos correspondentes (PINTO, 2007).

O teste de antiglobulina humana pode ser direto ou indireto. O teste de antiglobulina indireto (teste de Coombs indireto) (FIGURA 7) é realizado para a pesquisa de anticorpos irregulares e é efetuado em todas as grávidas Rh negativas. O principal objetivo desse teste é a detecção de anticorpos livres presentes no plasma/soro da gestante (GIRELLO, KUHN, 2011). O teste deverá ser feito logo no início do pré-natal e repetido na 28ª semana de gestação (GOOCH et al, 2007).

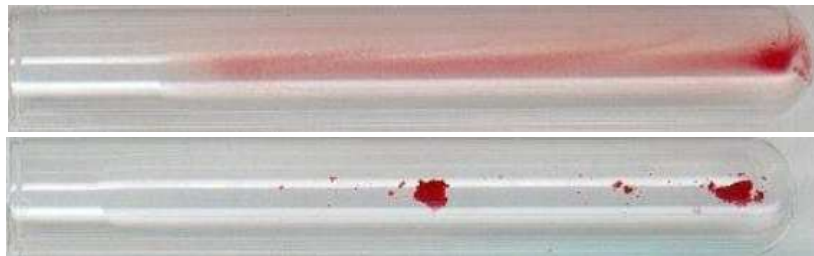
## TESTE DE COOMBS INDIRETO



**Figura 7:** Esquemática do teste de Coombs indireto

Fonte: <http://wss0271.wordpress.com/2011/08/29/coombs-direto-e-indireto/>.

O teste de Coombs direto verifica o aparecimento de anticorpos da mãe unidos aos eritrócitos Rh positivos do recém-nascido. Caso ocorra a aglutinação logo após a indução pela antiglobulina diz-se que o teste tem resultado positivo, mas ao contrário, caso não ocorra a aglutinação o teste é considerado negativo (FIGURA 8) (LANGHI JÚNIOR et al, 2007).

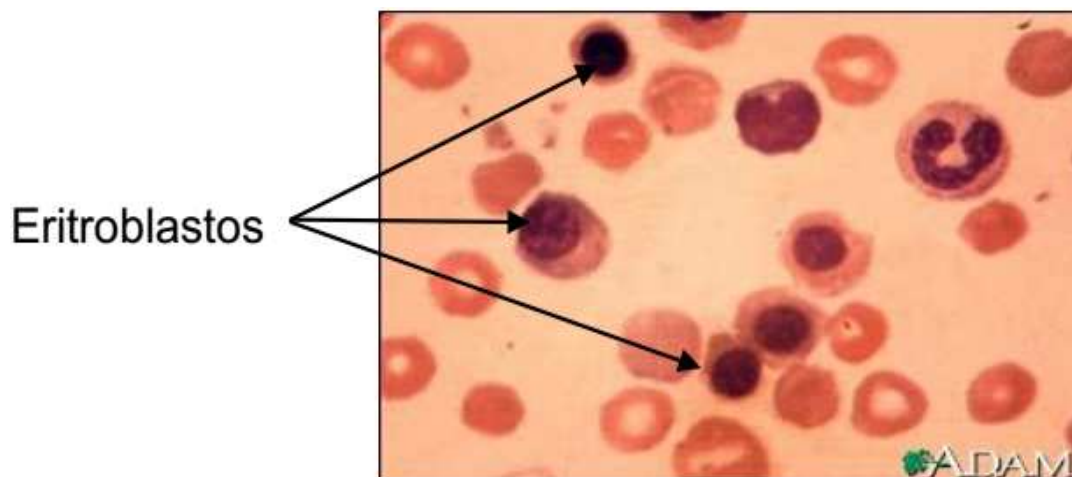


**Figura 8:** Reação antígeno anticorpo (teste de Coombs), a imagem superior mostra uma reação negativa enquanto que a inferior mostra uma reação positiva. Fonte: Valente, 2009.

Frequentemente, os principais sinais característicos da doença hemolítica perinatal são: anemia, icterícia e edema, podendo se apresentar de forma leve, média ou grave. Com leve grau de sensibilização da mãe a manifestação clínica e laboratorial ocorre após o nascimento, nessa situação a providência a se tomar é a substituição de todo o sangue do recém-nascido por sangue Rh negativo,

assim os anticorpos não terão hemácias para fazer a aglutinação (GONÇALVES, 2001).

A hemólise dos eritrócitos fetais e anemia estimulam a eritropoese, esse estímulo faz com que a medula óssea do feto produza eritrócitos em ritmo mais acelerado, e dessa forma a quantidade de eritrócitos nucleados (eritroblastos) na circulação fetal é elevada. A FIGURA 9 demonstra o esfregaço sanguíneo com essa alteração (SILVA, 2011).



**Figura 9:** Esfregaço de células sanguíneas, setas apontam eritroblastos nucleados. Fonte: ADAM.

O número de eritroblastos no recém-nascido pode variar entre 10.000-100.000 células/ $\mu\text{L}$ , podendo chegar a 500.000 células/ $\mu\text{L}$  de sangue em 48 horas após nascimento. Isso significa que para cada 100 glóbulos brancos há entre 25 a 200 eritroblastos. Sabe-se que a contagem de eritrócitos nucleados não deve ultrapassar 10 por 100 glóbulos brancos no período neonatal. Com o tempo esses eritrócitos nucleados tendem a desaparecer em poucos dias após o nascimento, o que não significa cura da doença (GONÇALVES, 2001).

A manifestação do edema universal (*hidropsfetalis*) só aparece em natimortos ou em bebês que morrem após as primeiras horas do nascimento. O recém-nascido com *hidropsfetalis* apresenta bastante quantidade de líquido em

seus tecidos e o índice de hemoglobina e eritrócitos encontram-se muito baixos (WHALEY, 1989).

Acreditava-se que somente a insuficiência cardíaca poderia ser a causa da hidropsia, porém estudos demonstraram que a hipertensão venosa portal e umbilical também estão relacionadas a esse quadro de ascite fetal. Além disso o recém-nascido tem disfunção hepática, o que faz com que desenvolva hipoproteinemia, o que correlacionado com a placenta edematosa dificultará a passagem das proteínas contribuindo para a formação do edema generalizado e da ascite (MACHADO, 2006).

Os neonatos atingidos pela doença também irão ter como consequência do dano cerebral sequelas neuropsicomotoras. A incompatibilidade materna fetal pelo sistema Rh tem sido correlacionada à um acréscimo no risco de esquizofrenia para a criança em formação, uma explicação seria que o acúmulo de bilirrubina indireta poderia prejudicar as células da Glia e então levar a esquizofrenia (MACHADO, 2006).

Um critério que é utilizado para verificar a gravidade da patologia, é a contagem reticulocitária. Em quadros normais essa não deve ultrapassar 3% no recém-nascido, no entanto, em alguns momentos poderá ser elevada. (WHALEY, 1989). A reticulocitose é um achado persistente na anemia hemolítica.

A forma de avaliar a DHPN é dividida em dois métodos: os não invasivos e os invasivos (ARAUJO et al, 2003). Dentre os métodos não invasivos que vem sendo utilizado estão a ultrassonografia, a cardiotocografia e a dopplervelocimetria (TAVEIRA *et al*, 2003). O exame ultrassonográfico é importante, pois avalia o perímetro do fígado e do baço fetais. Na presença de anemia hemolítica esses órgãos irão mostrar alterações, que podem indicar aloimunização materna e consequente DHPN (PEREIRA, 2012). Sua utilização possibilitou o aumento da segurança quando se realiza o procedimento de amniocentese, sendo o método escolhido para o acompanhamento de grávidas aloimunizadas. É um método auxiliar dos métodos invasivos, e quando se deseja preparo para a colheita arterial de sangue fetal, tratamento fetal e até o planejamento do parto (LILEY, 2003). A avaliação dopplervelocimétrica quantifica o pico de velocidade sistólica da artéria cerebral média fetal, e se baseia na inversão entre o hematócrito fetal e a velocidade do fluxo sistólico. Tal

método pode ser feito entre os 16 e 35 semanas semanalmente ou quinzenalmente durante todo pré-natal (Mari *et al.*, 2000) e é considerado confiável para a detecção da anemia fetal (HARKNESS, 2004). Já a cardiotocografia é empregada na avaliação do bem-estar do feto, exclusivamente nas gestações consideradas de alto risco. Sua fundamentação se dá mediante avaliação de gráficos da frequência cardíaca fetal e do tônus uterino (músculo uterino) (PATTISON, 2000).

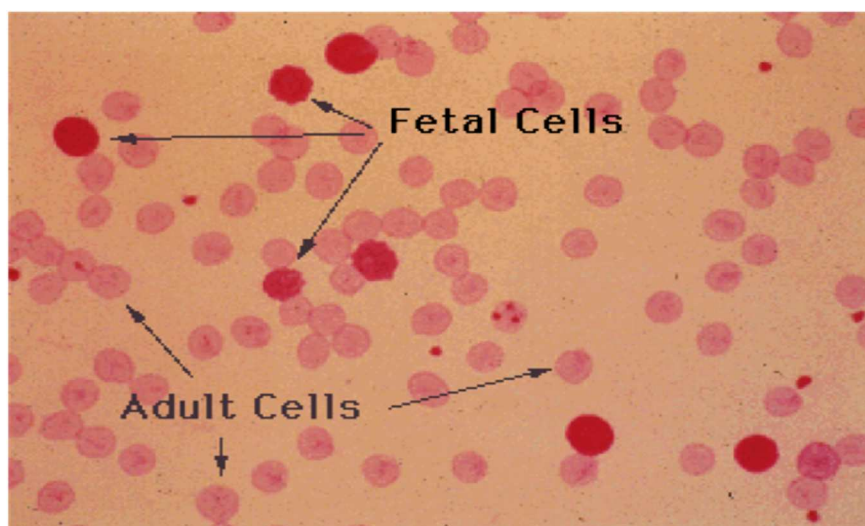
Há alguns anos, os métodos invasivos eram os únicos disponíveis para identificar o tipo Rh fetal, dentre eles se destacam a amniocentese, biópsia de vilos coriônicos e cordocentese. É importante salientar que tais procedimentos podem levar o feto ao óbito (aproximadamente 1% de risco) e levar à aloimunização, por essa questão são utilizados somente em casos de gravidez de alto risco, ou seja, apenas em gestações sugestivas de DHPN, gravidez anteriormente afetada e títulos de anticorpos irregulares aumentados (PEREIRA, 2012). A amniocentese é realizada em grávidas aloimunizadas com histórico de fetos acometidos e com títulos de anticorpos irregulares elevados ou significativos. Esse método consiste na colheita do líquido amniótico através da introdução de uma agulha na parede abdominal da grávida até atingir a cavidade uterina (AABB, 1999). Após a colheita do líquido amniótico, o mesmo será analisado por espectrofotometria (ROMAN, 2005). A análise da bilirrubina no líquido amniótico prediz o grau de hemólise fetal (HOFFBRAND *et al.*, 2008). Outro método invasivo utilizado para o diagnóstico é a cordocentese, em que há o recolhimento do sangue do feto através da artéria umbilical. Sua vantagem é a análise direta do grau de anemia para posterior início do tratamento. O objetivo desse procedimento é a identificar o genótipo do feto, avaliar a presença ou a ausência da anemia e a acidose (ROMAN, 2005). Esta técnica poderá ser efetuada a partir das 18 semanas de gestação (LILEY, 2003).

Em relação a genotipagem RHD fetal, é considerada uma das técnicas mais importantes para o diagnóstico confirmatório (AVENT, 2008). O DNA fetal está presente no plasma materno e sua concentração aumenta no decorrer da gestação (VAN *et al.*, 2006). A genotipagem fetal a partir do sangue materno utiliza a técnica de PCR, as células são obtidas da punção do vilos coriônicos, líquido amniótico ou também células fetais presentes na circulação da mãe



(URBANIANK, 2000). A determinação do DNA fetal veio devido aos avanços tecnológicos e à PCR em tempo real (RT-PCR), análise quantitativa que possibilita diferenciar o material genético fetal do material genético da mãe (DANIELS et al, 2009).

O teste de kleihauer ou teste de Kleihauer–Betke (eluição ácida) tem sido utilizado para a quantificação da hemorragia feto-materna. Esse teste é sensível para diferenciar hemácias de adulto das hemácias do feto (FIGURA 10). O teste é apoiado na destruição e eluição das hemoglobinas adultas, sendo a hemoglobina fetal preservada, corada com solução de hematoxilina e quantificada. Tal técnica é utilizada em casos de anemia fetal, quando há indicação para fazer a transfusão intrauterina, é um teste útil para informar a pureza do sangue fetal colhido pela técnica de cordocentese (MOISE, 2002).



**Figura 10:** Imagem demonstrando hemoglobina fetal no teste de Kleihauer-Betke.( Celulas fetais/ células adultas- Mãe)  
Fonte <http://sheath.cnc.net/core-courseware/m6-HDFN/images/fetalhgb.png>.

#### 4. 6 PROFILAXIA

A utilização da imunoprofilaxia Rh (Rhlg) tem papel crucial para a medicina preventiva. Estudos mostraram que no Canadá, antes da inclusão da Rhlg, a taxa de imunização Rh D chegava a 13,2%, mas assim que a vacina começou a ser utilizada observou-se uma redução, chegando a 0,14% (Schmidt et al., 2010).

A profilaxia pós-natal com imunoglobulina anti-D (Rhlg) foi apoiada em trabalhos realizados na década de 60 e logo em seguida foi implementada na profilaxia da doença hemolítica perinatal. Sabe-se que é produzida a partir de *pools* de plasma humano, sendo um concentrado de IgG anti-D própria para a DHPN (Schmidt et al., 2010). Sua administração não é indicada para mulheres já sensibilizadas, pois o efeito da vacina apenas suprime a resposta imune primária (VICENTE, 2003).

Em relação ao mecanismo de ação da Rhlg, sabe-se que após a aplicação da Rhlg, anticorpos anti-D se ligam nas hemácias fetais, sensibilizando-as. Tais hemácias, agora sensibilizadas, são reconhecidas pelos macrófagos que as eliminam da circulação antes que o sistema imunológico materno seja ativado. Esse processo é conhecido como *clearance* de hemácias sensibilizadas (SCHMIDT et al, 2010). Para que aconteça uma supressão efetiva torna-se necessário 200 moléculas de anti-D por hemácia, por isso a dose correta e o período exato de aplicação da imunização passiva é muito importante. As hemácias do feto são removidas da circulação dentro de cinco dias após a aplicação da vacina fornecendo aproximadamente 99% de proteção se a aplicação acontecer até 72 horas após o parto (SCHMIDT et al, 2010).

#### 4.7 TRATAMENTO

A transfusão intraperitoneal se manteve por muito tempo como pilar para o tratamento da DHPN, porém com a chegada da ultrassonografia veio a possibilidade de observação do acesso em tempo real, e com isso a transfusão intraperitoneal foi substituída pelo procedimento intravascular (MOISE,2002). O sangue para a transfusão é obtido através de um doador do tipo O negativo. A quantidade de sangue a ser transfundido vai depender dos seguintes fatores: idade gestacional e hematócrito do doador, o objetivo final é um hematócrito de 40 a 50% (MOISE, 2002).

Logo após o parto, uma das manifestações que são observadas nos neonatos são hiperbilirrubinemia e anemia. Para o tratamento do quadro de icterícia que ocorre em consequência da hiperbilirrubinemia, existem vários procedimentos, como a exsanguineotransfusão, fototerapia e imunoglobulina (SMITS-WINTJENS et al, 2008). A fototerapia (Figura 11) consiste na conversão da bilirrubina via fotoxidação em um elemento mais solúvel e com a excreção facilitada. A luz da fototerapia pode ser do tipo halógena, fluorescente e de fibra óptica. Esse tratamento deve ser iniciado imediatamente após o parto devido ao fato da bilirrubina aumentar rapidamente. Se utilizada de forma correta, a fototerapia pode evitar a exsanguíneo transfusão (SMITS-WINTJENS et al, 2008). A exsanguíneo transfusão é recomendada quando a fototerapia não é suficiente e só deve ser utilizada quando os níveis de bilirrubina estiverem acima da curva e de acordo com a idade gestacional e fatores de risco (VILASCHI, 2012).



**Figura11.**Representação da fototerapia.

Fonte:<http://slideplayer.com.br/slide/3807996/12/images/30/Transfus%C3%A3o+exsangu%C3%ADneo+e+fototerapia.jpg>

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Apesar dos avanços no diagnóstico e no tratamento da DHPN, ainda assim observa-se que ela representa um importante problema de saúde pública. A principal causa da doença hemolítica perinatal é a aloimunização materna, que produz anticorpos anti-Rh(D). O conhecimento da estrutura genética do sistema Rh é de extrema importância para a compreensão da patologia. As técnicas genéticas como o PCR simplificaram o diagnóstico e aumentaram a sobrevivência dos fetos, assim como os métodos não invasivos que servem como auxiliares para o fechamento do diagnóstico. O acompanhamento da gestante via tipagem sanguínea e teste de Coombs indireto é de suma importância no pré-natal.

Conclui-se que ainda há uma carência de dados sobre o tema em nosso país. O diagnóstico precoce e a profilaxia são essenciais para a qualidade de vida dos recém-nascidos. Torna-se necessário a implementação e/ou intensificação dos programas de conscientização para mulheres sobre o pré-natal adequado e sua importância.

## 6. REFERÊNCIAS

AABB, American Association of Blood Banks, **Technical Manual - “Immunology”** 13<sup>a</sup>ed., cap.11:22-250, 1999a

Araújo F. *et al.*,”**Determinação pré-natal do genótipo RHD por métodos não invasivos**” - Programa Diab Tratamento Prenatal 15 (3): págs 126-132, 2003.

Avent ND “**RHD Genotyping from Maternal Plasma: Guidelines and Technical Challenges**” em **Methods in Molecular Biology**,: Prenatal Diagnosis 444, cap. 14: 185, 2008

Baiocchi.E, *et al.* Aloimunização. Rev Bras Ginecol Obstet.. vol.31 no.6 Rio de Janeiro June 2009.

Baía, Fátima “ **Doença Hemolítica Perinatal**”, Revista Portuguesa de Ciências Biomédicas, 1:6-21, 2006.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Gestação de alto risco: manual técnico / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas.** – 5. ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 302 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

Beserra, N. *et al.* **Aloimunização RhD em gestantes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil: perspectivas e desafios**, Cad. Saúde Pública 2016; 32(11):e00005516 | [www.ensp.fiocruz.br/csp](http://www.ensp.fiocruz.br/csp)

Bricca P, Guinchard E, Guitton Bliem C. **Management of feto-maternal red cell alloimmunizations.** Transfus Clin Biol. 2011;18(2):269-76.

Calhoun DA, “**Hematologic Aspects of the Maternal- fetal Relationship**”,**Hematologic Problems of the Neonate**”, R.D.Christensen., 2000, 1<sup>a</sup> ed., cap.6:91- 2000.

CARVALHO, yorrana. **Doença hemolítica perinatal: correlação com anticorpos irregulares.** Brasília.2012. 30 fls. Monografia apresentada ao curso de graduação em biomedicina da universidade católica de Brasília, Brasília, 2012.

Castilho L. **Testes pré-transfusionais frente às novas tecnologias.** Rev Bras Hematol Hemoter. 2000, vol.22 (Suplemento 2): 240-241

Circular Normativa nº 2 “**Profilaxia da Isoimunização Rh**”, Direção Geral de Saúde,2013

Connie *et al.*, “**The Structure and function of the RH Antigen Complex**” Semin Hematology: 44,1:42-50, 2007.

Costumbrado J, Ghassemzadeh S. **Rh Incompatibility.** [Updated 2017 Oct 16]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017 Jun-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459353>.

Covas DT, Langhi JDM, Bordin JO. **Hemoterapia - Fundamentos e Prática.** São Paulo:Atheneu; 2007. 632p

Daniels G *et al.*, “**Fetal RhD genotyping: a more eficiente use of anti-D immunoglobulin**” Transfusion Clinique et Biologique 14(6): 568-571, 2007.  
Daniels G *et al.*, “The Rh blood group system”- Essential Guide to Blood Groups- 1ª ed.; cap 4:33-44; 2007.

Daniels G *et al.*, “**Noninvasive prenatal diagnosis of fetal blood group phenotypes:current practice and future prospects**”, Pregnat Diagnostis, 29:101-107, 2009

DATASUS [base de dados na internet] BRASIL: Ministério da Saúde. [acesso em 23/11/2017]. Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203>.

Diamond LK, *et al.* **Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn.** J. Pediatr.1932; 1:269-309.

Duran JA, Rodrigues MJ. TAD: **Ausência de significado clínico como teste pré-transfusional.** ABO Revista de Medicina Transfusional. 2000; 1: 9-15. Disponível em <http://www.ipsangue.org/04/IndicesAB0/indice1.htm>

Finning K, *et al.*, “**The use of maternal plasma for prenatal RhD blood group genotyping**”- Methods Molecular Biologie, 496: 57-143, 2009

Geaghan SM. **Diagnostic laboratory technologies for the fetus and neonate with isoimmunization.** Seminars in perinatology. 2011;35(3):148-54.

Girello AL, Kuhn IBB. **Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária.** 2ª ed. São Paulo: Senac; 2007. 304p.

GONÇALVES, *et al.*, **Doença Hemolítica Perinatal – caso clínico**, In: Acta Pediatr. Port., 2001; nº6; Vol. 32 :385-8.

GOOCH, A.; PARKER, J.; WRAY, J.; QURESHI, H. **Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy.** Transfus Med. V. 17, n. 4, p. 252-62, 2007

Harkness UF, Spinnato JA. **Prevention and management of RhD isoimmunization.** Clinics in perinatology. 2004;31(4):721-42.

HOFFBRAND, A. V. *et al.* **Fundamentos em hematologia.** 5ª ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2008.

Jonathan Gillen-Goldstein *et al.*, “ **Métodos de Avaliação da Gestão de Risco**”, Obstetrícia e Ginecologia- Diagnóstico e tratamento; Alan H. DeChernet *et al.*, 9th ed, cap13:211-219, 2005.

Koenig, JM, M.D., “**Evaluation and treatment of Erythroblastosis Fetalis in the Neonate**” em “Hematologic Problems of the Neonate”, R. D.Christensen., 2000, 1ª ed., cap. 10:185-203, 2000.

LANGHI JÚNIOR, *et al.* **Sistemas de grupos sanguíneos Duffy, Kell e Kidd. Hemoterapia:** Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2007.

Liley HG “**Immune Hemolytic Disease**” *Hematology of Infancy and Childhood*, Nathan and Oski's, volume 1 , 6ª ed., cap,3:56-80, 2003.

LIMA Alais Daniela. **Doença hemolítica causada por incompatibilidade Rh no recém nascido.** Recife. 2015. 28 fls. Monografia apresentada ao instituto nacional de ensino



superior e pesquisa e centro de capacitação educacional, como exigência do curso de pós-graduação Lato Sensu em hematologia e hemoterapia laboratorial. Recife. 2015.

Lo YMD, *et al.* **“Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum”**, *Lancet*; 350:485-487, 1997

Lobato G, *et al.* **The Hospital Information System of the Brazilian National Unified Health System: a preliminary evaluation of performance in monitoring RhD hemolytic disease of the newborn.** *Cad Saude Publica.* (24). Brazil 2008. p. 606-14.  
Lobato G, Reichenheim ME, Coeli CM.

Lubusky M. **“Prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women”**. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia.* 2010;154(1):3-7.

MACHADO, IN; BARINI, R. **Doença hemolítica perinatal: aspectos atuais.** *Rev. Cienc. Méd., Campinas,* 15(1):69-74, jan/fev., 2006

Malta DC, *et al.* **Lista de causas de mortes evitáveis por intervenções do Sistema Único de Saúde do Brasil.** *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2007; 16(4): 233-44.

Marques, Sara Homem de Melo, **“ADN fetal livre no sangue materno e diagnóstico pré-natal não invasivo”**, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Mestrado Integrado em Medicina, 2012.

Mari G, *et al.* **Noninvasive Diagnosis by Doppler Ultrasonography of Fetal Anemia Due to Maternal Red Cell Alloimmunization.** *New England Journal of Medicine.* 2000.  
Medeiros, Raquel, *et al.* **UTILIZAÇÃO DA VACINA ROGAN DURANTE O PRÉ-NATAL EM MULHERES RH NEGATIVO: CONHECIMENTO DOS PROFISSIONAIS DA SAÚDE.** *Revista de enfermagem ufpe on line,* 2011.

Moezi L, Keshavarz Z, Ranjbaran R, Aboualizadeh F, Behbahani AB, Abdullahi M, Ramezani A, Samsami A, Sharifzadeh S. **Fetal RHD genotyping using real-time polymerase chain reaction analysis of cell-free fetal DNA in pregnancy of RhD negative women in south of Iran.** *Int J Fertil Steril.* 2016; 10(1): 62-70.

Moise KJ, Jr. **Management of rhesus alloimmunization in pregnancy.** Obstetrics and gynecology. 2002;100(3):600-11

MOTA Clara, **Doença hemolítica do recém nascido,** petdocs, 2012. Disponível <[http://petdocs.ufc.br/index\\_artigo\\_id\\_37\\_desc\\_Imunologia\\_pagina\\_subtopico\\_48\\_busca](http://petdocs.ufc.br/index_artigo_id_37_desc_Imunologia_pagina_subtopico_48_busca)> acesso em 12 de setembro.2017, 12:00.

Müller, T.H, et al. **Pcr screening for common weak D types shows different distributions in three central Europeans populations.** Transfusion, 41:45-52, 2001.

Nardoza.L., Szulman Alexandre, Barreto José, Junior Edward, Moron antonio. **Bases moleculares do Sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional.** Rev Assoc Med Bras 2010; 56(6): 724-8.

Pacheco, Cynthia Amaral Moura Sá **Doença Hemolítica Perinatal RhD: um problema de saúde pública no Brasil.** Cynthia Amaral Moura Sá Pacheco/ Rio de Janeiro, 2013. 96f.: il. Tese (Doutorado em Saúde da Mulher e da Criança) – Instituto Fernandes Figueira, Rio de Janeiro, RJ, 2013.

Pattison N, McCowan L. **Cardiotocography for antepartum fetal assessment.** Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2):CD001068.

Pereira, PDCM. **Isoimunização Rh materna. Profilaxia, diagnóstico e tratamento: aspectos atuais** [https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/8102/1/P%C3%A2mela%20do%20Carmo%20Mesquita%20Pereira%20\(2012.1\).pdf](https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/8102/1/P%C3%A2mela%20do%20Carmo%20Mesquita%20Pereira%20(2012.1).pdf).

Pinto MO. **Aplicação do teste de Antiglobulina Humana = Teste de Coombs Direto e Indireto.** Texto Complementar - Controllab. 2007. Disponível em <http://www.controllab.com.br/pdf/> acesso 22/07/2017.

Pilgrim H, et al. **Routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women: a systematic review and economic evaluation.** Health Technology Assessment 2009;13(10). DOI: 10.3310/hta 13100.

Ramasethu J et al., **“Alloimmune Hemolytic Disease of the Newborn”**, William Hematology, Enert Beutler et al 6ª ed, cap 58:665-672, 2001.

Ramos Paulo, “**Antigénio RH D: Nomeclatura Reagentes e Técnicas de Grupagem**” (Orhto Clinical Diagnostics), AB0 Reviste de Medicina Transfusional, nº32:13-17, 2007.

REZENDE FILHO, J. F. **Protocolo minimamente invasivo para assistências às gestantes com aloimunização pelo fator Rh fundamentado no Doppler da artéria cerebral média fetal.** São Paulo, 2002. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Roman AS *et al.*, “ **Complicações do final de gravidez**” – “Obstetrícia e ginecologia Diagnóstico e tratamento”, Alan H.DeChernet *et al.*, 9ª ed., cap. 15: 233-245, 2005.

Rouillac C *et al.*, “**Noninvasive fetal RHD genotyping from maternal plasma Use of a new developed Free DNA Fetal Kit RhD1**” *Transfusion Clinique et Biologique* 14:572–577, 2007.

ROSSE, W. F, *et al.* **Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Blood.** v. 76, n. 7, p. 431- 7, 1990.

Sabino, Janine Schincariol. “**Determinação da incidência de Rh D fraco e Rh D parcial na população da área de abrangência do hemocentro de Botucatu**” / Janine Schincariol Sabino, Botucatu, São Paulo, 2008.

SEIDL, Valeria, **Doença hemolítica perinatal: fatores de risco e abordagem terapêutica.** Rio de Janeiro. 2013. 60 fls. Tese de doutorado em saúde da mulher e da criança. Instituto da Saúde da Mulher, Criança e Adolescente Fernandes Figueira. Rio de Janeiro. 2013.

Silva FP. **A abordagem clínica e hemoterápica na doença hemolítica do recém-nascido Rh** [dissertação]. Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto: Curso de Hematologia e Banco de Sangue; 2011

Singleton, B.K. *et al.* **The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in Africans with the RhD – negative blood groups.** *Phenotype blood*, 95: 12 -18, 2000.

Smits-Wintjens VE, Walther FJ, Lopriore E. **Rhesus haemolytic disease of the newborn: Postnatal management, associated morbidity and long-term outcome.** Semin Fetal Neonatal Med. 2008;13(4):265-71.

Schmidt .L.;C, Corrêa Júnior MD , Loures LF. **Atualizações na profilaxia da isoimunização Rh.** FEMINA | Julho 2010 | vol 38 | nº 7.

SCOTT, Marion L. **The complexities of the Rh system.** Vox Sanguinis 87:

Vicente LF et al., **“Profilaxia da isoimunização RhD: uma proposta de protocolo”** Acta médica Portuguesa; 16: 225-260, 2003

Taveira M.R, et al. **“Correlação entre os índices dopplervelocimétricos da veia cava inferior e ducto venoso e a concentração de hemoglobina do cordão em fetos de gestantes isoimunizadas”.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. 2003;25:577-83.

Urbaniak, et al. **“RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn”** Blood Reviews,14:4-61, 2000

Valente, F.R.**Avaliação do impacto da determinação do grupo fetal RhD na profilaxia da aloimunização na gravidez.**Porto. 2009. 77 fls. Dissertação de mestrado apresentado no programa de mestrado integrado em ciências farmacêuticas da universidade do Porto. Porto. 2009.

Van der Schoot CE, et al. **“Non-invasive antenatal RHD typing”** Transfusion Clinique et Biologique, 13; 1-2 :53-57, 2006.

Villaschi, Freitas Júlia. **Avaliação da evolução dos recém nascidos com doença hemolítica perinatal por aloimunização materna, submetidos e não à transfusão intrauterina.** Belo Horizonte. 2012. 108 fls. Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pos graduação em Saúde da mulher da faculdade de medicina da universidade federal de minas gerais. Belo Horizonte, MG, 2012.

Wagner FF, Flegel WA. **Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes.** Immunohematology 2004

Waldron PE e Cashore W.J “**Hemolytic disease of fetus and newborn**”, Neonatal Hematology, Pedro Alarcón and Eric Wener, cap 6:91-131, 2005.

WHALEY, Lucille F.; WONG, Donna L. **Enfermagem pediátrica: elementos essenciais à intervenção efetiva**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c1989. 910 p.

WIENER, Alexander Solomon. **Evolution of the human blood group factor**. The American Naturalist 77 (770): 199-210, 1943

Wirthner D, Hohlfeld P, Tissot JD. **Perinatal hemolytic disease**. Part 1: physiopathology. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 1998 Mar;27(2):135-43..

<<<http://anatpat.unicamp.br/bikernicterus.html>>> acesso em 30/10/2017