

16º Congresso Nacional de Iniciação Científica

TÍTULO: AVALIAÇÃO TERAPÊUTICA NA DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL POR INCOMPATIBILIDADE RH(D).

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: BIOMEDICINA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS

AUTOR(ES): BRUNA BISPO AMARO

ORIENTADOR(ES): MARCO AURÉLIO FERREIRA FEDERIGE

Realização:

Apoio:

Resumo

A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) é caracterizada pela destruição das células sanguíneas do feto ou do recém-nascido. Este evento ocorre quando há incompatibilidade entre o sangue materno Rh(D) negativo em contato com o sangue do filho Rh(D) positivo, este contato ocorre principalmente durante o parto e pequenas quantidades de sangue são capazes de gerar a sensibilização da mãe. Para que não ocorra a sensibilização é necessário administrar antiglobulina anti-D, como profilaxia em até 72 horas após o parto. Porém quando não há profilaxia, em resposta contra o antígeno eritrocitário fetal, o sistema imune materno iniciara sua produção de anticorpos da classe IgM, sendo que estes não são capazes de atravessar a barreira placentária, assim impossibilitando qualquer tipo de agressão ao feto desta primeira gestação. Na presença de uma segunda gestação incompatível, onde a mãe foi previamente sensibilizada, haverá a produção de anticorpos de classe IgG, que são capazes de atravessar a barreira placentária, estes ligam-se ao antígeno eritrocitário hemolisa as células, o que pode levar o feto ou recém-nascido a diferentes quadros clínicos, variando, de leve com presença de discreta palidez, até casos graves com edema generalizado. A diferença de cada caso está associada à concentração e ao tempo de exposição ao anticorpo. O diagnóstico e o acompanhamento durante toda a gestação estão diretamente relacionados ao prognóstico pós-natal, pois quando são realizados apropriadamente é possível minimizar os riscos de morbidade e mortalidade que o feto ou recém-nascido podem apresentar. A técnica terapêutica a qual o paciente será submetido apresenta extrema relevância no prognóstico, de acordo com o acometimento e condições do nascimento, as técnicas aplicadas podem ser não invasivas como a fototerapia e invasivas no caso da transfusão intra-uterina e exosanguíneo-tranfusão, sendo estes as principais abordagens terapêuticas atuais.

Introdução

O primeiro relato da DHPN ocorreu em 1609, quando uma enfermeira francesa relatou o nascimento de gêmeos, um natimorto e hidrópico e o outro que desenvolveu icterícia grave, indo ao óbito após alguns dias por Kernicterus. Em 1939, Levine & Stetson, identificaram a presença de um anticorpo que não aglutinava o sangue materno, mas sim o do recém-nascido e o do pai. Em 1940, Landsteiner & Winer, demonstraram a existência de grupos sanguíneos Rh distintos, os Rh negativos e os Rh positivos¹. Foi, então, que, em 1941, Levine *et al.*, *apud* Wirthner definiram que

anticorpos anti-D presentes em gestantes Rh-negativas eram os responsáveis pelo desencadeamento da doença hemolítica perinatal (DHPN)¹. Desde então, muitos outros anticorpos foram descritos, também responsáveis pela DHPN^{1,3}. A DHPN é decorrente da destruição das hemácias do feto ou recém-nascido, e pode apresentar diferentes graus de intensidade², envolvendo principalmente os grupos sanguíneos Rh e ABO, podendo eles serem inclusos no grupo chamado major, ou em outro chamado minor onde mais de 50 outros antígenos estão inclusos³, mais raramente entre 2% dos casos são comumente os c, E e Kell⁴. Alguns desses antígenos podem ser causadores de doenças significativas, sendo que a mais grave e mais frequente forma da doença é por incompatibilidade pelo Rh(D) o qual pertence ao grupo major, necessitando de volumes maiores de 0,1ml de sangue fetal, o suficiente para gerar resposta imunológica, que seria adequada para 99,7% das eventualidades à imunização da mãe^{3,5,8}. A doença dificilmente ocorre na primeira gravidez sendo que a resposta imune primária é a produção de anticorpos IgM, e estes não ultrapassam a placenta, tornando-a uma resposta fraca². Porém na segunda gravidez com a mãe previamente sensibilizada, o sistema imune apresentara como resposta secundária a produção de IgG, anticorpo que possui a capacidade de atravessar a barreira placentária, atingindo a circulação do feto, a qual possui os antígenos herdados do pai, fixando-se em suas hemácias resultando em hemólise^{1,3}. A destruição das hemácias fetais, podem levar a diferentes quadros clínicos da doença, nos casos mais graves podem promover insuficiência hepática, hipoalbuminemia, hidrôpsia fetal, encefalopatia bilirrubínica aguda e Kernicterus³.

Objetivo

O artigo tem como objetivo a avaliação das principais técnicas terapêuticas na doença hemolítica perinatal por incompatibilidade pelo fator Rh(D).

Metodologia

Este trabalho é uma revisão bibliográfica, e tem como base artigos e livro científicos sobre o tema.

Desenvolvimento

A aloimunização Rh corresponde a 94% dos casos da doença hemolítica perinatal². Em 1966, na França, a DHPN pelo fator Rh acometia seis em cada 1000 nascidos vivos, hoje

este valor foi reduzido para quatro de cada 1000 nascidos vivos. Avanços nas pesquisas e estudos nesta área se seguiram, melhorando a compreensão da fisiopatologia da doença e dos mecanismos envolvidos, proporcionando melhorias nos protocolos de condução das gestações, dos métodos propedêuticos para o diagnóstico, até a condução mais segura do recém-nascido. Inovações nos tratamentos atuais permitiram uma drástica mudança nas estatísticas da incidência da doença. Na Europa e América do Norte, 15 a 17% das gestantes caucasianas são Rh negativas, sendo que 1 a 1,5 % destas, estão aloimunizadas. Nos países desenvolvidos, como nos Estados Unidos, a prevalência da DHPN foi, ainda, em 2003, de 7 para cada 1000 nascidos vivos. No Brasil, apesar de poucos estudos, sabe-se que 10% das gestantes são Rh negativas, sendo 7% dos nascimentos com incompatibilidade Rh (D) segundo Baiochi *et al.* (2007), de acordo com dados apresentados no Manual Técnico do Ministério da Saúde (2010) a DHPN acomete 5 de cada 1000 gestações, porém os dados disponíveis são ainda pouco confiáveis¹. A doença hemolítica perinatal (DHPN) secundária à aloimunização é ainda prevalente em nosso meio, em 85% da população branca, mesmo com as melhorias no acesso e no uso da profilaxia anti-D, iniciada no Brasil em 1972¹. Porém como consequência do amplo uso da imunoprofilaxia anti-D, houve um crescimento relativo da frequência da aloimunização por outros antígenos. Contudo, o antígeno RhD continua sendo o mais frequente⁶.

Fisiopatologia da Doença Hemolítica Perinatal pelo fator Rh

O antígeno (D) do sistema Rh, é o principal antígeno eritrocitário responsável pela doença hemolítica perinatal, isto ocorre devido a sua alta imunogenicidade e prevalência, contribuindo com 60% dos casos em fetos assintomáticos e 90% dos casos de anemia fetal grave. Sendo este o mais relevante clinicamente, classificando-o como Rh-positivo ou Rh-negativo, de acordo com a ausência ou presença do antígeno. A sensibilização ocorre geralmente no parto e puerpério, entretanto pode ocorrer durante a gravidez, abortamento, gravidez ectópica e transfusões incompatíveis⁶. Durante a gestação, é possível notar o disparo imunológico e o desencadeamento da doença, isto ocorre em circunstâncias onde o volume das trocas fetomaternas, que podem variar entre 0,2ml e menos de 30ml. Sendo que 25 a 30ml correspondem a 99,6% dos casos, podendo assim afirmar que quanto maior o volume transferido maior o risco de aloimunização, porém volumes pequenos como 0,2ml de hemácias fetais podem também iniciar uma resposta aloimune⁵. Posteriormente há o reconhecimento dos antígenos Rh(D) pelos linfócitos B maternos que iniciaram uma resposta imune. A transferência materno-fetal de IgG através da placenta tem como

objetivo conceder a imunidade passiva para o feto, sendo assim uma trágica consequência de um evento fisiológico. As formas clínicas da doença hemolítica dependerão da intensidade da destruição e da propensão de produção de eritrócitos, este processo submete-se em grande parte da concentração da IgG, anti-D e das suas subclasses envolvidas. O quadro clínico varia de discreta palidez até grave edema generalizado que prejudicam a respiração do recém-nascido⁶. Entre 45 a 50% dos casos o feto apresentará anemia leve e não necessitará de tratamento, em 25 a 30% dos casos o feto apresenta anemia moderada, porém não progride para hidropsia, mas o risco de icterícia grave são elevados e 20 a 25% terão anemia grave ainda intraútero que quando prolongada, estimula a eritropoiese medular e extramedular, levando a uma hepatomegalia, podendo levar a distensão do parênquima, insuficiência hepática e hipoalbuminemia, reduzindo a pressão oncótica dos vasos sanguíneos. Ainda pode ocorrer lesão cardíaca por hipóxia, que resulta em insuficiência circulatória, todos esses processos em conjunto, resultam em edema generalizado e ascite, ao que se denomina como hidropsia fetal, a forma mais grave que pode ocorrer, sendo que metade dos casos ocorre antes de 30 semanas de gestação.^{2,1,7} O feto, forma como resultado da hemólise, a bilirrubina não conjugada, a qual é eliminada parcialmente pela placenta materna, ao nascimento o recém-nascido se tornará dependente dos seus próprios mecanismos hepáticos para o processamento do metabolismo da bilirrubina, porém, a bilirrubina livre, não conjugada pode ultrapassar a barreira encefálica, com risco de desenvolvimento de Kernicterus, que se caracteriza pela impregnação de bilirrubina nos núcleos da base, no sistema nervoso central, levando a alterações neurológicas, ou seja sequelas crônicas causadas pela toxicidade da bilirrubina. Não há risco de Kernicterus intra-útero, pois a bilirrubina indireta é metabolizada pelo fígado materno, caso não forem tratados a mortalidade por Kernicterus pode chegar a 90% dos casos. As possíveis sequelas podem ser manifestações precoces, ligeiras e reversíveis como letargia e alteração dos tônus musculares, ou até mesmo manifestações graves como opistótono, convulsões e morte^{2,1,7}. O acúmulo de bilirrubina indireta, as quais são neurotoxinas vem sendo relacionada com um aumento no risco de esquizofrenia quando o indivíduo está em formação, além de relatos os quais dizem que fetos do sexo masculino parecem ser mais gravemente afetados quando comparados ao sexo feminino⁶. Nas situações das formas mais graves, o risco de óbito torna-se elevado

de acordo com a conduta obstétrica, nos casos de maturidade pulmonar comprovada, é feita a interrupção da gravidez para tratamento imediato no período neonatal⁴.

Diagnóstico

A incidência de isoimunização antes do parto é de 1 a 2%, geralmente após a 28ª semana em 90% dos casos⁸. Nos casos de uma gestante Rh negativa sensibilizada, exames não invasivos podem ser realizados, como por exemplo o uso de ultrassonografia com doppler para a medição do pico de velocidade sistólica na artéria cerebral média do feto, que permite avaliar o grau de anemia¹³. No início da gravidez é recomendado que seja feita a identificação do tipo sanguíneo materno, para o sistema ABO e RhD, além de uma triagem para anticorpos anti-eritrocitários irregulares. Em 1997 foi descrita pela primeira vez a determinação não invasiva do grupo de sangue do feto através do *cellfree* DNA, Consiste em um teste de genotipagem RhD e tipagem fetal de outros antígenos como o Kell, Rh(C/c) e Rh (E/e)³, a partir do plasma materno, minimizando os riscos clínico. A sensibilidade e a especificidade da técnica de genotipagem estão fortemente relacionadas à idade gestacional, ao tempo de armazenamento da amostra pós-coleta, às quantidades de DNA fetal obtido e às regiões analisadas do gene RhD. Marcadores da presença de DNA fetal também são importantes para garantir que o DNA amplificado foi o DNA materno e não o fetal. Esta técnica é considerada simples, rápida, sensível, específica e vem despontando como uma importante ferramenta na prática clínica em vários países. No Brasil, faltam estudos que demonstrem o impacto da sua implantação no acompanhamento a gestantes RhD negativo⁹. Quando há ausência de anticorpos no início da gestação, a pesquisa deve ser realizada na 28ª semana de gestação em todas as mulheres grávidas Rh negativas, apesar de não haver confirmação da eficácia para a triagem de anticorpos. Sendo uma prática padrão em toda a Europa, América do Norte, Austrália e também no Brasil^{8,10}. O diagnóstico de isoimunização Rh o qual possui todos os antígenos codificados por RHD e RHCE¹⁰, é feito baseado na detecção de anticorpos anti-D no soro materno⁸. Pesquisa de Anticorpos Antieritrocitários Irregulares para determinação de anticorpos maternos é fundamental no diagnóstico pré-natal, nos casos de positividade, os anticorpos devem ser titulados³. É necessário realizar também o teste paterno para o tipo RhD, se positivo, a zigosidade deve ser avaliada, pois pais homozigotos sempre passam o antígeno RhD para sua prole, enquanto os heterozigóticos tem uma chance de passar de 50%.

Sendo necessário a certeza da paternidade⁸. Outra maneira de realizar o diagnóstico, é a utilização de imagens por ultrassonografia, que tem como primeira evidencia de feto acometido o aumento da circunferência abdominal, devido à hepatoesplenomegalia, entre outros achados como derrame cavitário e edema placentário. Infelizmente, esses sinais ultrassonográficos são tardios⁶.

O diagnóstico pós-natal da doença, necessita de um histórico clínico compatível, confirmado laboratorialmente, e com sinais evidentes de hemólise¹². É fundamental exames como tipagem sanguínea do recém-nascido pelo sangue do cordão umbilical no ato do parto, onde é investigado se existe realmente incompatibilidades do recém-nascido Rh(D) para mãe Rh(D) negativo. Realização do teste de antiglobulina direta, onde a positividade do fator Rh associada à positividade do Coombs Direto (CD) confirmam o conflito imunológico e alerta para a DHPN¹, e para confirmação da presença de anticorpos IgG nos eritrócitos do recém-nascido¹¹. É importante ressaltar que se houve profilaxia materna, com imunoglobulina anti-RhD, administrada na 28ª semana de gravidez, portanto o teste de Coombs pode ser positivo em 15% dos casos, pois os anticorpos atravessam a barreira placentária, mas neste caso, não há evidencia de hemólise. O hemograma do recém-nascido apresenta reticulocitose entre 10 a 40% e macrocitose em casos de transfusão in útero, neutropenia, neutrofilia e trombocitopenia³¹, podendo apresentar também hipoglicemia. Na fase aguda da encefalopatia bilirrubínica após o nascimento o feto apresenta-se letárgico, com sucção débil e hipotônico, irritabilidade, esturpor, febre, choro alto e alternância entre hipo e hipertonia. Na etapa mais avançada, caracteriza-se por lesão irreversível, poderá evoluir com opistótomo, choro estridente, apnéia, não sucção, febre, rebaixamento de consciência, convulsões e até óbito^{1,3,11}.

Prevenção e profilaxia da isoimunização anti-Rh(D)

Na primeira consulta, todas as gestantes devem fazer tipagem sanguínea, e pesquisa de anticorpos irregulares, devendo esta ser realizada ao menos duas vezes durante toda a gestação. É necessário que as gestantes Rh(D) negativas não sensibilizadas, recebam em torno de 500 unidades contendo 100 microgramas de anti-D, sendo as doses distribuídas na 28ª e 34ª semana, esta medida é fundamental para redução dos riscos de sensibilização decorrente de hemorragias feto-maternais.

Abordagem terapêutica

A seguinte abordagem terapêutica relaciona-se a transfusão intra-uterina (TIU), que hoje é considerada bem estabelecida e padronizada mundialmente⁴. É realizada em casos selecionados de acordo com a gravidade⁸, sendo estes, fetos com risco de hidropsia, fetos com Artéria cerebral média (ACM) alterada, hematócrito <30% e hemoglobina <10 (g/dL) quando abaixo de 34 semanas e em fetos hidrópicos¹³. A TIU é utilizada na maioria das vezes na correção da anemia fetal, e começou a ser realizada por Liley em 1963 através da transfusão intraperitoneal. A TIU tem também como objetivo a prevenção e tratamento da hidropsia fetal antes do nascimento, permitindo que a gestação avance de um modo que garanta a sobrevivência do neonato⁸, podendo ser repetida visando manter o hematócrito fetal acima de 27% a 30%²¹. Apesar deste tratamento ter obtido uma redução na morbidade e na mortalidade dos fetos comprometidos pela DHPN grave, existe a possibilidade de complicação na realização da TIU, tais como rotura prematura de membranas, parto pré-termo, sofrimento fetal agudo e acidentes do cordão umbilical. Após a realização da técnica, é comum que recém-nascido apresente discreta anemia precoce, e com possibilidade de apresentar teste da antiglobulina direta negativo, pois as hemácias Rh(-) que foram transfundidas ainda na gestação ainda são predominantes^{8,13}.

Tem como principal objetivo a estabilização do recém-nascido, tratando a anemia e a hiperbilirrubinemia⁸, dois métodos de tratamento são mais frequentemente utilizados, São estes, a fototerapia intensiva uma das formas mais realizadas de tratamento, onde é utilizado um equipamento que emite luz, sendo um procedimento menos trabalhoso, simples, barato e submete-se a um risco praticamente nulo. É iniciado preferencialmente logo após o nascimento quando já há sinais de icterícia¹⁰. A ação da luz sobre a bilirrubina depositada na pele é quase imediata, eliminando isômeros e outros produtos tóxicos de transformação lenta^{18,19}. E o segundo método é a Exsangüíneo-transfusão (EXT). No período de 1940, época em que não havia um tratamento pós-natal adequado, a taxa de mortalidade girava em torno de 50%. Em 1945 foi praticado por Wallerstein a EXT no tratamento da eritroblastose fetal e em 1949 para hiperbilirrubinemia em geral, reduzindo a taxa de mortalidade em até 25%^{9,7}. Em 1951 a técnica foi aperfeiçoada por Diamond, com a utilização da veia umbilical no tratamento⁹. O objetivo dessa terapia é redução da morbidade e mortalidade neonatal⁷, visando à remoção das hemácias fetais sensibilizadas além dos anticorpos maternos⁸, de modo que haja a diminuição dos níveis de bilirrubina sérica e hemólise². O procedimento baseia-se na troca do sangue

do recém-nascido, por sangue compatível de um doador, retirando substâncias nocivas e oferecendo ao organismo outras essenciais para a sobrevivência⁷. A EXT é indicada principalmente quando não há resposta a terapias anteriores¹⁹, sendo que esta é uma técnica utilizada não apenas para o tratamento de hiperbilirrubinemia, prevenindo sequelas neurológicas, mas usa-se também em anemias hemolíticas graves, prevenindo sepse, intoxicações exógenas e até mesmo atraso do desenvolvimento neuropsicomotor^{7,9}. Para a realização da terapia são necessários alguns fatores determinantes de urgência, tais como, velocidade da destruição eritrocitária, variáveis relacionadas ao peso, idade em horas de vida^{9,19}, bilirrubina indireta do cordão > 5mg/dl, anemia com Hb 10-12mg/dl, sinais de encefalopatia bilirrubínica aguda e sinais característicos como hipertonia, hiperextensão cervical, febre e choro estridente^{19,20}. Considerando que o risco de complicações à doença pode torna-se maior quando a além de valores excedidos de bilirrubina, este é somado a outros fatores de risco como asfixia perinatal, acidose, proteínas totais <4g/dl e albumina <2,5g/dl¹⁹. Com o início desta terapia associada a imunoprofilaxia anti-D, houve um grande impacto no tratamento da doença hemolítica perinatal². Apesar da técnica ter obtido bons resultados, e submeter o paciente a um tempo de internação menor comparado a outros tratamentos, como a fototerapia⁹, alguns riscos não podem ser ignorados sendo que a técnica tem uma mortalidade em torno de 0,5% dos casos, podendo levar a apneia, bradicardia, cianoses, hipotermia e alterações metabólicas¹⁹. Técnicas terapêuticas alternativas menos invasivas para diminuir os riscos, vem sendo aprimoradas e mais utilizadas, tentando substituir a EXT¹⁹, porém 20% dos recém-nascidos precisam realizar a EXT².

Resultados

Tópico não pertinente por se tratar de uma revisão bibliográfica.

Considerações finais

A doença hemolítica perinatal está associada a incompatibilidade materno fetal, principalmente pelo fator Rh(D), sendo este o mais agressivo da sua classe. Observa-se pela leitura, que a incidência da doença tem decrescido com os avanços nas pesquisas da fisiopatologia da doença, de modo que é possível aprimorar os tratamentos de acordo com a necessidade de cada caso. A terapêutica para casos mais graves ainda necessita de técnicas mais invasivas, como TIU e EXT expondo o

paciente a riscos maiores do que aqueles que apresentam sinais mais brandos e utilizam técnicas não invasivas como por exemplo fototerapia. Considerando a avaliação das referências sobre a doença, seus riscos e tratamentos, ainda é necessário mais estudos e aprimoramento de técnicas que reduzam ainda mais os números de casos, visando um prognóstico positivo aqueles que foram acometidos pelos variáveis graus da DHPN.

Fontes Consultadas

1. Machado IN, Barini R. Doença hemolítica perinatal: aspectos atuais. Ver. Ciênc. Méd., Campinas. 2006; 15(1):69-74.
2. Seidl V. Doença hemolítica perinatal: Fatores de risco e abordagem terapêutica [tese]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira; 2013.
3. Valido AM, Guimarães H, Amaral JMV, Januário L, Carrapato R, Tomás T, Martins V. Consenso Nacional em Neonatologia. Sociedade Portuguesa de pediatria.[monografia] Coimbra, 2004.
4. Vitorello DA, Parente LMM, Ramos RJ, Gonçalves LFA, Baumgarten CD, Neto JAS. Transfusão Intra-uterina em Fetos Afetados pela Doença Hemolítica Perinatal Grave: Um Estudo Descritivo. 1998 20 (3): 137-144.
5. Vieira AA, Lima CLMA, Carvalho M, Moreira MELM. O uso da fototerapia em recém-nascidos:avaliação da prática clínica. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant, Recife. 2004 4 (4): 359-366.
6. Villaschi JF. Avaliação da evolução dos recém-nascidos com doença hemolítica perinatal por aloimunização materna, submetidos e não à transfusão intrauterina [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade federal de Minas Gerais; 2012.
7. Valido AM, Guimarães H, Amaral JMV, Januário L, Carrapato R, Tomás T, Martins V. Secção de neonatologia de SPP. Consenso clínico, Doença Hemolítica Feto e Recém-Nascido [monografia]; 2014.
8. Junior IF, Filho AB, Barbosa ADM, Lima GM, Souza MCS, Arruda ALM, Almeida FCP. Exsangüineotransfusão em icterícia neonatal: experiência em hospital universitário, 1993-1996. Pediatria, São Paulo, 1999. 21(4) : 302-307.
9. Mochdece CC. Fototerapia de Alta Intensidade no Tratamento da Hiperbilirrubinemia Neonatal Grave (BT>20 mg/dl) em Recém-Nascidos a Termo e

Próximo ao Termo Sem Doença Hemolítica.[dissertação]. Rio De Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz. 2009.

10. Pereira PCM. Isoimunização rh materna. Profilaxia, diagnóstico e tratamento: aspectos atuais. [monografia]. Bahia, Universidade Federal da Bahia; 2012.
11. Uezima CL, Barreto AM, Guinsburg R, Chiba AK, Bordin JO, Barros MMO, Santos AMN. Redução da exposição a doadores de sangue em prematuros submetidos a transfusões de hemácias com uso de bolsas de transferência pediátricas. Rev Paul Pediatr 2013;31(3):285-92.
12. Seidl V. Resultados perinatais de transfusões intrauterinas realizadas por doença hemolítica [tese]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira; 2013.
13. Sá CAM, Santos MCP, Carvalho M, Moreira MEL. Eventos adversos associados à exsanguíneo-transfusão na doença hemolítica perinatal: experiência de dez anos. Rev Paul Pediatr 2009;27(2):168-72.
14. Fasano RM. Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era. Rhesus blood group e Molecular diagnostic testing. 2015; 21, 28-34.
15. E. Baiochi, Camano L, Bordin JO. Avaliação da hemorragia feto-materna em puérperas com indicação para ministração de imunoglobulina anti-D.2005;Cad. Saúde Pública. 205; 21(5):1357-1365.
16. Schmidt LC, Lobato MM, Júnior MC, Cabral ACV, Faria MA. Genotipagem RhD fetal não invasiva no acompanhamento de gestantes RhD negativo. Fundação Hemominas, Belo Horizonte. 2011; 39(7): 337-344.
17. Pinho MO. Teste de antiglobulina e sua aplicação em laboratórios. Instituto Nacional de Câncer-M.S. Rio de Janeiro, 2007.
18. Malono J, Nabais I , Cohen A, Fraga G, Gonçalves S. Doença Hemolítica do Recém Nascido. Consensos em Neonatologia, 2015.
19. Baiochi E, Nardoza LMM. Aloimunização. Rev Bras Ginecol Obstet. 2009;31(6):311-9.
20. Hoffbrand AV, Moss PAH. Fundamentos em Hematologia.6°, 2013.