

# Aloimunização

## *Alloimmunization*

### Revisão

#### Palavras-chave

Isoimunização Rh  
Gravidez

#### Keywords

Rh isoimmunization  
Pregnancy

### Resumo

Aloimunização é a formação de anticorpos quando há a exposição do indivíduo a antígenos não próprios, como ocorre, por exemplo, na transfusão de sangue incompatível e nas gestantes, cujos fetos expressam em suas células sanguíneas antígenos exclusivamente de origem paterna. Este artigo se restringe à aloimunização contra antígenos eritrocitários em pacientes obstétricas. Quase todos os anticorpos anti-eritrocitários podem ser enquadrados em um dos 29 sistemas de grupos sanguíneos já reconhecidos, sendo os mais comumente implicados na doença hemolítica perinatal o anti-D, anti-c e anti-Kell, seguidos por anti-C, anti-E, anti e, anti-Fy<sup>a</sup> e anti-Jk<sup>a</sup>. A pesquisa de anticorpos irregulares permite o diagnóstico de indivíduos aloimunizados e modernas técnicas genéticas têm melhor caracterizado estas pacientes para a profilaxia e segmento pré-natal. O tradicional acompanhamento das gestações de risco para a doença hemolítica perinatal, com a espectrofotometria do líquido amniótico e a transfusão intraperitoneal, vem rapidamente sendo substituído pela dopplervelocimetria na artéria cerebral média e a transfusão intravascular guiada por ultrassonografia em tempo real. É possível também citar como avanços melhorias nos materiais e na qualidade do sangue transfundido, que, em conjunto, têm elevado a sobrevivência de fetos acometidos. Indubitavelmente, a correta aplicação da profilaxia com uso do anti-D é exitosa com potencial para reduzir os casos de aloimunização.

### Abstract

Alloimmunization is the formation of antibodies when there is an exposition of the individual to non-self antigens, as it occurs, for example, in the transfusion of incompatible blood and pregnancies, in whom the fetus express in its sanguineous cells antigens exclusively of paternal origin. This article is restricted to the alloimmunization against erythrocytes antigens in obstetric patients. Almost all the anti-erythrocytes antibodies can be fit in one of the 29 systems of already recognized sanguineous groups, being more implied in the hemolytic disease of the newborn anti-D, anti-c and anti-Kell, followed by anti-C, anti-E, anti e, anti-Fy<sup>a</sup> and anti-Jk<sup>a</sup>. The research of irregular antibodies, to permit the diagnosis of alloimmunized people, and the modern genetic techniques have better characterized these patients for the prophylaxis and prenatal segment. The traditional accompaniment of the gestations of risk for hemolytic disease of the newborn, with the spectral analysis of the amniotic liquid and the intraperitoneal transfusion, has being quickly substituted for the Doppler ultrasound evaluation in the middle cerebral artery, the intravascular transfusion guided by ultrasonography in real time, beyond improvements in the materials and the quality of the blood, that in set, have raised the survival of the attempting fetus. Doubtlessly, the correct application of the prophylaxis with use of anti-D is successful with potential to reduce the alloimmunization cases.

#### Correspondência:

Eduardo Baioschi  
Rua Emilio Mallet, 465 – apto. 134 – Vila Gomes Cardim  
CEP 03320-000 – São Paulo (SP), Brasil  
Fone/Fax: (11) 5572-2605  
E-mail: edubaioschi@ultrairapida.com.br

#### Recebido

22/4/09

#### Aceito com modificações

8/6/09

<sup>1</sup> Médico Assistente; Coordenador do Atendimento de Hemopatias e Hemoterapia do Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Professor Adjunto do Departamento de Obstetrícia e Chefe da Disciplina de Medicina Fetal da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

## Métodos para elaboração do texto

Esta revisão bibliográfica foi efetuada na base de dados Medline, com coleta de publicações do período de 1966 a 2009, com o uso dos seguintes Medical Subject Headings (MeSH): “RH isoimmunization”, “RH alloimmunization” e “pregnancy”. Antes do período citado, a revisão foi manual. Também foi feito o levantamento bibliográfico junto a base de dados Lilacs, com os seguintes descritores em ciências da saúde (DeCS): aloimunização RH, isoimunização RH e gravidez. Os trabalhos considerados mais relevantes foram referidos no texto.

## Aloimunização

Aloimunização é a formação de anticorpos quando há a ocorrência de exposição do indivíduo a antígenos não próprios, como ocorre, por exemplo, na transfusão de sangue incompatível e nas gestantes, cujos fetos expressam em suas células sanguíneas antígenos exclusivamente de origem paterna, os quais podem chegar à circulação materna durante a gestação ou no parto. A ocorrência de hemorragia fetomaterna constitui a base da etiopatogenia de várias afecções, como a doença hemolítica perinatal (DHPN)<sup>1</sup>, a plaquetopenia aloimune perinatal<sup>2</sup>, a neutropenia aloimune neonatal<sup>3</sup>, reações do tipo enxerto *versus* hospedeiro e, possivelmente, a gênese de algumas doenças autoimunes<sup>4</sup>. Este artigo será restrito a aloimunização contra antígenos eritrocitários em pacientes obstétricas, evento que quando tomado em conjunto com a incompatibilidade materno fetal para o sistema ABO está presente em 9% das gestantes<sup>5</sup>.

A sensibilização é muito rara durante a primeira gravidez, ocorrendo somente em torno de 0,8 a 1,5% das vezes, respondendo o contingente de primigestas aloimunizadas por 5 a 6% dos casos, demonstrando que precedendo a aloimunização, quase sempre há uma

gestação de conceito positivo para o antígeno sensibilizante (feto imunizante), ou evento transfusional incompatível<sup>6</sup>.

Ao ser cruzada a placenta, a partir da décima semana de gestação, os anticorpos IgG maternos dirigidos contra antígenos eritrocitários desencadeiam um processo de hemólise imunomediada que resulta em anemia fetal. Esta anemia terá graus variáveis, de acordo com a intensidade da hemólise, determinando diversos mecanismos compensatórios, desde o aumento da eritropoese medular, seguida de recrutamento de sítios extramedulares, como fígado, baço, placenta, rins e até suprarenais, até que ocorra congestão hepática, obstrução do sistema porta, redução da pressão oncótica e, finalmente, se instale a insuficiência cardíaca e a hidropisia fetal<sup>7</sup>.

Quase todos os anticorpos antieritrocitários podem ser enquadrados em um dos 29 sistemas de grupos sanguíneos já reconhecidos, sendo o sistema sanguíneo Rh o mais complexo e mais imunogênico após o ABO<sup>7</sup>. Virtualmente, todos os anticorpos que reagem em um teste de antiglobulina indireto (teste de Coombs indireto), a 37 °C, têm potencial para levar a DHPN<sup>8-10</sup> (Quadro 1). Contudo, geralmente a hemólise causada por anticorpos de baixa frequência, na maioria das vezes, não é suficientemente severa para requerer transfusão intrauterina, não obstante possam requerer transfusão neonatal<sup>11</sup>.

Embora a doença hemolítica neonatal causada pela incompatibilidade feto-materna para antígenos do sistema ABO seja a mais comum, esta tem caráter benigno, pois raramente é grave, excepcionalmente provoca anemia<sup>12</sup> e na literatura há descrição de apenas quatro casos de hidropisia por esta causa<sup>3</sup>, constituindo-se na prática em uma intercorrência neonatal.

O sistema Rhesus (Rh) de grupo sanguíneo é responsável por 95% dos casos da DHPN entre nós<sup>10</sup>.

O sistema Rh é bastante amplo, perdendo em complexidade apenas para o HLA<sup>13</sup>, já sendo descrito perto de 50 antígenos ligados ao sistema Rh<sup>14</sup>. Contudo, somente cinco sorotipos estão envolvidos com formas clinicamente significantes da DHPN, a saber: D, C, E, c, e, sendo o antígeno D notoriamente o mais implicado nos casos de aloimunização, devido a sua maior antigenicidade<sup>15</sup>. A presença do antígeno D é frequentemente empregada como sinônimo de positividade para o fator Rh, o que também será adotado neste trabalho. O lócus Rh está localizado no braço curto do cromossomo 1, no qual somente dois genes foram identificados, um gene RHD e outro RHCE<sup>7</sup>. Aproximadamente 55% dos indivíduos Rh-D positivos são heterozigotos em seu lócus RHD<sup>16</sup>. O complexo Rh é crítico para a estrutura da membrana. Os eritrócitos Rhnull, que faltam as proteínas do Rh, são estomatócitos e esferócitos e os indivíduos afetados têm anemia hemolítica<sup>17</sup>.

**Quadro 1** - Sistemas sanguíneos e anticorpos envolvidos com desencadeamento de doença hemolítica perinatal<sup>8,11</sup>

| Sistema sanguíneo | Anticorpos envolvidos em DHPN                                                                                                                         | Frequência (%) |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Rhesus            | Anti-D, E, C, C <sup>c</sup> , c, e                                                                                                                   | 55,9           |
| Kell              | Anti-K, K1, K2, k, Kp <sup>a</sup> , K3, Kp <sup>b</sup> , K4, Ku, K5, Js <sup>a</sup> , k <sup>6</sup> , Js <sup>b</sup> , K7, U1 <sup>a</sup> e K10 | 28,5           |
| Duffy             | Anti-Fy <sup>a</sup> , Fyb, Fy3 e Fy5                                                                                                                 | 7,1            |
| MNS               | Anti-M, N, S, s, U, En <sup>a</sup> , Mi <sup>a</sup> , Mur e V <sup>a</sup>                                                                          | 5,7            |
| Kidd              | Anti-Jk <sup>a</sup>                                                                                                                                  | 1,9            |
| Lutheran          | Anti-Lu <sup>a</sup>                                                                                                                                  | 0,7            |
|                   | Anti-U                                                                                                                                                | 0,2            |
| Diego             | Anti-Di <sup>a</sup> , Di <sup>b</sup> , Wt <sup>a</sup> , Di <sup>18</sup> (ELO) e Di <sup>15</sup> (BOW)                                            | -              |
| Colton            | Anti-Co <sup>a</sup> e Co <sup>3</sup>                                                                                                                | -              |
| H                 | Anti-H                                                                                                                                                | -              |
| Outros            | Anti-U, JFV, Kg, JONES, HJK e REIT                                                                                                                    | -              |

A perda da expressão antigênica da proteína D nas hemácias de indivíduos Rh negativos é gerada por três mecanismos principais. Nos caucasianos, o mecanismo é a deleção total do gene RHD. Em dois terços das pessoas de raça negra ocorre o chamado pseudogene, que é a inserção de 37 pares de base no locus RHD, o qual leva a não codificação da proteína D (stop condon) e outros 15% destes indivíduos carregam um gene híbrido RHD-CE-D, que não expressa o antígeno D e produz um antígeno C alterado. Em asiáticos, 10 a 30% dos fenótipos Rh negativos são DEL, que expressam fracamente o antígeno D, e assim são erroneamente enquadrados como Rh negativos nos testes convencionais para tipagem sanguínea<sup>17</sup>.

Dentre os indivíduos que expressam o antígeno D, existem ainda variações no fenótipo dependentes de alterações de sua estrutura molecular, estes alelos RHD são classificados como D parcial, D fraco e DEL<sup>17</sup>.

A importância clínica das variações para pacientes obstétricas está no fato de que aquelas pacientes D fraco, dos subtipos 1, 2 e 3, que compreende 90% desta ocorrência, não produzem anti-D e, assim, podem receber transfusão de sangue Rh positivo e não necessitam receber profilaxia da aloimunização RhD na gestação. Já em pessoas com os subtipos D fraco 6, 7, 11 e 15, há relatos de DHPN fatal secundária à aloimunização RhD<sup>7</sup>. Já os indivíduos que apresentam D parcial, embora frequentemente sejam rotulados como Rh positivos nos testes convencionais, podem ser aloimunizados por transfusões de sangue Rh positivo ou na gestação de fetos Rh positivos, devendo receber profilaxia com imunoglobulina anti-D sempre que esta condição for detectada<sup>17</sup>.

Entre nós, o antígeno Rh (D) está presente em torno de 85% dos indivíduos da raça branca, em 90 a 95% dos negros e praticamente em 100% dos amarelos e índios<sup>18,19</sup>. A frequência de nascimentos com incompatibilidade Rh (D) entre mães e recém-nascidos constatada em nossa população urbana foi de 7%<sup>18</sup>. O antígeno Rh (D) já está bem desenvolvido e expresso nas hemácias fetais a partir da sexta semana de gestação<sup>13</sup>.

Somente uma pequena parte das mulheres Rh negativas que tem recém-nascidos Rh positivos, tornam-se imunizadas e tem crianças afetadas pela DHPN, sugerindo que há fatores protegendo a grande maioria das mães da aloimunização. Entre estes, está o fato de que, por motivo ainda não esclarecido, até um terço dos indivíduos são incapazes de produzirem anticorpos anti-D, mesmo depois de repetidos estímulos<sup>13</sup>. Também se assinala o acentuado grau de proteção conferido pela incompatibilidade ABO entre mãe suscetível e recém-nascido, o que reduziria o risco de sensibilização de 16 para 2% nesta eventualidade<sup>20</sup>. O provável mecanismo envolvido seria a rápida destruição das hemácias fetais incompatíveis pelos anticorpos maternos anti-A e/ou anti-B, o que originaria

a proposta de utilização de plasma contendo elevados títulos de imunoglobulina na prevenção da sensibilização materna.

### ■ Diagnóstico

A pesquisa de anticorpos irregulares através do teste de Coombs indireto deve ser realizada para todas as gestantes, na primeira visita pré-natal, e repetido na 28ª semana de gestação<sup>12</sup>, embora haja evidência que anticorpos detectados apenas no terceiro trimestre não causem DHPN<sup>21</sup>. Se um anticorpo é identificado e ele está associado ao desenvolvimento de DHPN (Quadro 1), então uma titulação deveria ser obtida bem como o genótipo do sangue paterno para o respectivo antígeno. Se o sangue paterno for negativo para o antígeno em questão o feto não será afetado, não sendo necessários testes adicionais se a paternidade é certa<sup>22</sup>. Caso o sangue paterno seja positivo e heterozigoto para o antígeno em questão, ou ainda, não seja conhecido, podemos utilizar a determinação direta da genotipagem fetal por reação em cadeia da polimerase (PCR)<sup>23</sup> em amostra de líquido amniótico, vilo corial, sangue fetal obtido por cordocentese<sup>24</sup> ou, ainda, preferencialmente por técnica não invasiva, em amostra de sangue periférico materno com uma acurácia superior a 94,8%<sup>25</sup>. Caso o sangue paterno seja positivo e homozigoto ou a genotipagem do feto mostre que ele carrega o antígeno para o qual a gestante é sensibilizada, esta deve ser encaminhada para um serviço pré-natal especializado para acompanhamento. Em gestantes que mantenham títulos do anticorpo até 1:8 ou 4 UI/mL, o feto é considerado como de risco mínimo de acometimento antenatal grave pela DHPN<sup>26</sup>.

### ■ Seguimento e terapêutica

Até há menos de uma década, o acompanhamento de gestantes aloimunizadas com risco para DHPN consistia na realização de amniocentese seriada a cada duas a três semanas, para determinação de desvios na densidade óptica do líquido amniótico a 450 nm, até que atingisse o percentil 80<sup>27</sup> da zona 2 da curva de Liley<sup>28</sup>, para idades gestacionais maiores que 28 semanas ou a curva de Queenan et al.<sup>29</sup>, para idades gestacionais acima de 14 semanas. Quando este patamar era alcançado, era realizada a funiculocentese, tendo na mão sangue preparado para uma imediata transfusão se o hematócrito fetal fosse menor que 30% ou seu nível de hemoglobina menor que 10 g/dL<sup>30</sup>.

Esta prática vem mudando rapidamente com o emprego da doplervelocimetria na avaliação do pico de velocidade sistólica na artéria cerebral média (PVS-ACM) fetal. O estudo de Mari et al.<sup>31</sup> demonstrou que valores maiores que 1,5 múltiplos da mediana no PVS-ACM, para uma determinada idade gestacional, denunciavam todos os

casos de anemia fetal moderada ou severa com uma taxa de falso-positivo de 12%. A avaliação do PVS-ACM pela doplervelocimetria apresenta vantagens no diagnóstico da anemia fetal, quando comparada com a análise do líquido amniótico pela espectrofotometria. A doplervelocimetria é o método mais eficaz, seguro, não invasivo, de fácil repetição, aquele que fornece o resultado imediatamente por ser um método direto, é o de eleição na aloimunização Kell, em que a anemia ocorre principalmente por depleção medular, ao invés de hemólise e que se usado no acompanhamento de gestantes aloimunizadas evita até 70% dos procedimentos invasivos, porém a técnica adequada e o correto treinamento dos examinadores são fundamentais<sup>32,33</sup>.

As avaliações podem ser iniciadas a partir da 18ª semana de gestação e repetidas semanalmente<sup>34</sup>, porém com aumento na taxa de falsos-positivos após a 35ª semana<sup>35</sup>; depois da transfusão intrauterina, há redução da sensibilidade para 58% após uma transfusão e para 36% após duas transfusões<sup>36</sup>. Um normograma construído a partir de valores obtidos da população brasileira apresenta valores de PVS na ACM<sup>37</sup>.

A ultrassonografia pode revelar sinais da presença da DHPN, como espessamento e alteração da ecogenicidade placentária; hepatoesplenomegalia com aumento de circunferência abdominal do feto; duplo contorno da bexiga, estômago ou vesícula biliar; derrame pericárdico; aumento da hidrocele e do líquido amniótico; ascite ou mesmo a hidropisia, porém são todos sinais tardios que aparecem em fetos severamente anêmicos com déficit de hemoglobina acima de 7 g/dL<sup>38</sup>. O mesmo pode se dizer dos padrões não reativos ou sinusoidais na avaliação pela cardiocografia<sup>39</sup>. Têm surgido descrições de outras formas indiretas de avaliação da anemia fetal baseadas na ultrassonografia, como o índice cárdio-femoral, com sensibilidade de 80,9%, valor preditivo positivo de 73,1% para anemia fetal abaixo de 10 g/dL e um ponto de corte de 0,60<sup>40</sup>.

Fetos imaturos com anemia moderada ou grave têm indicação de receber transfusão intrauterina (TIU). Esta técnica, originalmente descrita com dupla amniocentese e transfusão intraperitoneal guiada por radioscopia, tem passado por aprimoramentos como a transfusão intravascular com agulha guiada por fetoscopia<sup>41</sup> e, atualmente, a infusão intravascular de glóbulos concentrados orientada por ultrassonografia em tempo real<sup>28</sup>. Este procedimento tem bons resultados, com risco de perda fetal de 1 a 3%, taxa de insucesso de 3,5%<sup>42</sup> e a sobrevida global excede 80%<sup>22,43</sup>. Estão descritas sete diferentes técnicas de TIU.

A técnica de transfusão intravascular mostrou-se claramente superior a intraperitoneal, principalmente nos fetos hidróticos<sup>44</sup>. A associação da exosanguíneo à transfusão intravascular tem a seu favor a menor possibilidade

de sobrecarga circulatória do feto, mas em contrapartida aumenta o tempo de procedimento. Este último fator aliado a capacidade de acomodação da volemia extra no leito placentário tornou o exosanguíneo menos usual. O emprego da técnica combinada de transfusão intravascular seguida por intraperitoneal resulta em um hematócrito fetal mais estável, alongando o intervalo entre as transfusões, mostrando um declínio médio diário do hematócrito de 0,01% contra 1,1% observado na transfusão intravascular simples<sup>45</sup>, porém também aumenta o tempo e os riscos do procedimento.

A veia umbilical intra-hepática mostra-se uma alternativa quando há dificuldade ou falha no acesso a inserção placentária do cordão. Com uma taxa de sucesso maior que 90%, baixo índice de complicações, principalmente bradicardia fetal (menor que na funiculocentese) e sangramento intraperitoneal que acaba sendo reabsorvido<sup>46</sup>.

A transfusão fetal intracardíaca, com uma taxa de complicações de 20%, fica reservada para casos em que o acesso a outra via não foi possível, sendo também descrita na ressuscitação de fetos exanguinados por hemorragia pós-funiculocentese<sup>47</sup>.

O hematócrito alvo após a conclusão da TIU varia amplamente entre os diversos serviços, entre 30 e 60%<sup>48</sup>, sendo mais frequentemente adotado entre 40 e 50%<sup>16</sup> ou hemoglobina fetal entre 14 e 18 g/dL<sup>49</sup>. Para o cálculo do volume sanguíneo a ser transfundido há diversas fórmulas<sup>49</sup>, sendo as mais difundidas:  $V \text{ (mL)} = \text{idade gestacional em semanas} - 20 \times 10$ , no caso da transfusão intraperitoneal<sup>50</sup> e  $V \text{ (mL)} = \text{volemia feto-placentária} \times \text{hematócrito alvo} - \text{hematócrito atual do feto/hematócrito do concentrado de glóbulos}$ , no caso da via intravascular<sup>51</sup>. Na prática, porém, este volume acaba sendo limitado pela tolerância fetal ao aumento de volemia e viscosidade sanguínea acarretados pela transfusão, ficando entre 30 a 50 mL/kg de peso fetal, infundidos a uma velocidade média de 10 mL/minuto<sup>27</sup>. Assim, fetos severamente anêmicos não devem ter seu hematócrito inicial aumentado mais que quatro vezes para não acarretar descompensação cardiovascular, devido à mudança de viscosidade do sangue<sup>52</sup>.

A transfusão deve ser repetida visando manter o hematócrito fetal acima de 27 a 30%, tomando-se por base o declínio do hematócrito fetal de 1% ao dia. Usualmente, a supressão da eritropoiese fetal ocorre após a terceira TIU. Então, o intervalo entre as transfusões pode ser aumentado tendo como base um declínio diário da hemoglobina de 0,4 g/dL após a primeira transfusão; 0,3 g/dL após a segunda; e 0,2 g/dL após a terceira<sup>36</sup>. A volemia feto-placentária varia de 117 mL/kg de peso fetal estimado por ultrassom na 18ª semana de gestação até 93,1 mL/kg na 31ª semana, com valor médio de 110 mL/kg<sup>53</sup>.

Devemos utilizar nas TIU concentrados de glóbulos tipo O, negativos para o antígeno RhD ou outro antígeno

para o qual a gestante seja aloimunizada, devem estar frescos para evitar altos níveis de potássio; com elevado hematócrito ao redor de 80%, para redução da sobrecarga volumétrica; lavados, para remoção de anticorpos; irradiados a 25 Gy, para prevenir a reação enxerto *versus* hospedeiro; e obviamente com provas sorológicas de rotina negativas incluindo também a sorologia negativa para o citomegalovírus<sup>16,22</sup>. Eventualmente, a própria gestante pode ser a fonte da doação sanguínea para o seu feto, o que parece trazer algum benefício na redução da aloimunização materna a outros antígenos eritrocitários presentes no sangue heterólogo transfundido, bem como psicológico para as gestantes que sentem que estão ajudando seus fetos<sup>54</sup>. Os glóbulos transfundidos para o feto têm meia-vida semelhante àquela observada em indivíduos adultos, em torno de 60 dias<sup>55</sup>.

A ocorrência de hemorragia feto-materna em uma paciente aloimunizada tem o potencial de aumentar a gravidade da DHPN durante a gestação e nas gestações seguintes, assim é recomendado que seja evitada a punção placentária durante a TIU, bem como é contraindicada a biópsia de vilos coriais em gestantes aloimunizadas<sup>56</sup>.

A movimentação fetal durante a TIU pode comprometer o procedimento, bem como aumentar os riscos de intercorrências como lesões viscerais e trauma do cordão umbilical. São empregados, através da funiculocentese, agentes paralisantes. Inicialmente, é usado o brometo de pancurônio e, depois, agentes de ação mais curta como o brometo de vencurônio na dose de 0,1 mL/kg de peso fetal, que leva a cessação quase imediata da movimentação fetal, efeito que persiste por até duas horas<sup>57</sup>.

A sobrevida fetal após TIU varia com a experiência do serviço e a técnica empregada, com média de sobrevida de 74% para fetos hidróticos e de 94% para não hidróticos, com uma perda fetal média de 1 a 3%<sup>22</sup>, podendo chegar a 20% em fetos hidróticos<sup>58</sup>, tendo como causas principais a corioamnionite, amniorrexe prematura, hemorragia fetal, bradicardia, hematoma do cordão, tamponamento e trombose de vasos umbilicais<sup>42,59</sup>; assim sendo, é obrigatório a obtenção de um termo de consentimento pós-informado registrado no prontuário da paciente, que descreva os riscos e benefícios do procedimento, antes de qualquer atuação.

Pacientes com antecedentes obstétricos de perdas fetais recorrentes, TIU ou exossanguíneo transfusão neonatal secundárias à aloimunização apresentam maior chance de necessitar TIU em idade gestacional precoce nas gestações seguintes<sup>60</sup>. O período do início do segundo trimestre constitui um desafio para TIU, já que o acesso aos vasos fetais antes da 20ª semana é tecnicamente difícil<sup>61</sup>. Nestas pacientes temos a alternativa da transfusão intraperitoneal<sup>61</sup> ou, ainda, manipulação da imunidade materna com uma combinação de plasmaferese materna seriada seguida por

gamaglobulina hiperimune endovenosa de 0,8 a 1 g/kg semanalmente<sup>62</sup>, a partir da 12ª semana de gestação até que haja possibilidade para TIU.

Devemos considerar ainda a administração de fenobarbital (30 mg – três vezes por dia), entre sete a dez dias antes do parto, visando induzir a maturidade hepática fetal. Tal procedimento tem mostrado redução da necessidade de exossanguíneo transfusão pela hiperbilirrubinemia de até 75%<sup>63</sup>, embora ainda não existam estudos controlados.

A época para resolução das gestações acometidas pela DHPN tem mudado. Para fetos submetidos à TIU intraperitoneal, a regra era o parto na 32ª semana, evoluindo com síndrome de membrana hialina e necessidade de exossanguíneo transfusão como complicações frequentes. O emprego da TIU intravascular tem encorajado muitos serviços a realizar a última transfusão em torno da 35ª semana de gestação, com previsão do parto em torno de três semanas à frente, na maioria dos casos sem necessidade de exossanguíneo transfusão<sup>22</sup>. É importante lembrar que a TIU não é *a priori* uma indicação para cesárea eletiva<sup>59</sup>, e o teste de Clements no líquido amniótico, para avaliação de maturidade pulmonar, fica comprometido devido à presença de bilirrubina e sangue residual das TIU, devendo nestes casos a comprovação da maturidade pulmonar fetal ser feita pela relação lecitina-esfingomielina e a presença do fosfatidilglicerol<sup>22</sup>.

As crianças que foram submetidas à TIU não apresentaram alterações físicas ou do desenvolvimento com acompanhamento por até 11 anos, exceto a maior ocorrência de surdez neurosensorial, provavelmente pela prolongada exposição a altos níveis de bilirrubina e seu efeito tóxico no oitavo par nervoso craniano<sup>64</sup>. Em contrapartida, é comum em recém-nascidos, que receberam TIU, a anemia sintomática no primeiro mês de vida, uma vez que a transfusão fetal suprime sua hematopoiese levando a virtual ausência de reticulócitos no sangue periférico e hipoplasia eritroide na medula<sup>65</sup>, necessitando até seu restabelecimento de suporte transfusional<sup>66</sup> e/ou eritropoietina subcutânea, três vezes por semana, 200 UI/kg<sup>67</sup>.

O manejo das aloimunizadas para o sistema Kell apresenta algumas particularidades. Uma vez que a grande maioria dos pais são Kell negativos<sup>68</sup>, somente 5% dos recém-nascidos de gestantes aloimunizadas para este fator apresentam DHPN. Assim, nestes casos a abordagem do status antigênico paterno eliminará a necessidade de testes adicionais na maioria dos casos. Contudo, naqueles casos em que o feto de uma gestante aloimunizada carrega este antígeno, tem sido relatada acentuação da anemia fetal por outro mecanismo, que não somente a hemólise, em função da atuação deste anticorpo em células eritroides progenitoras, levando também a redução na eritropoiese. A inibição na formação dos glóbulos vermelhos, como um mecanismo adicional de anemia no feto, faz com que as

alterações da espectrofotometria do líquido amniótico não guardem boa correlação com seu nível de anemia<sup>69</sup>.

Devido à baixa frequência de aloimunização por outros anticorpos do sistema Rh (C, c, E, e) e anticorpos não-Rh, faltam na literatura protocolos específicos, recomendando-se que nestes raros casos seja seguido o algoritmo usado na aloimunização Rh-D<sup>22</sup>. Com exceção da aloimunização RhD, não há estratégias específicas para profilaxia. Podemos sempre adotar medidas gerais que minimizem o risco de troca sanguínea feto-materna no período antenatal, evitando procedimentos invasivos no feto e seus anexos bem como manobras de versão externa. Já no parto, deveria ser realizado pela via vaginal; não fazer uso excessivo de ocitocina; realizar amniotomia oportuna; evitar a remoção manual da placenta e não manter o clameamento do cordão umbilical enquanto se aguarda a dequitação<sup>70</sup>.

### ■ Profilaxia

Embora estejam em andamento estudos com anticorpos monoclonais, produzidos por Engenharia Genética<sup>71</sup>, toda imunoglobulina anti-D ainda é obtida somente a partir de plasma humano, sendo, portanto, um hemoderivado. Os doadores, em sua maioria, são mulheres pós-menopausadas imunizadas por gestações, ou homens imunizados voluntariamente, mantidos em estado hiperimune por reaplicações constantes de pequenas doses de hemácias Rh positivas. Esta rotina traz alguns riscos para os doadores como: hepatites e imunização contra antígenos eritrocitários não D, além do risco inerente de se submeter a plasmáfereze para retirada da imunoglobulina.

No Brasil, todo soro anti-D é importado e só esta disponível em apresentação para uso intramuscular de 250 e 330 µg (Partogama SDF® - Baxter) ou 300 µg (Matergam® - ZLB/Behring). Falta em nosso mercado a apresentação de 50 µg, o qual tem indicação precisa nos abortamentos até 12 semanas de gestação, seu uso representa além de economia, maior racionalidade<sup>72</sup>.

Em recente revisão sistemática da Fundação Cochrane<sup>73</sup>, foi apontada a efetividade da profilaxia pós-natal da aloimunização Rh com anti-D, reduzindo a ocorrência de sensibilização para 1,5%. As evidências, porém, foram consideradas limitadas para recomendar qual seria a dose ótima a ser aplicada (Grau B de recomendação). A cobertura profilática obtida no pós-parto não foi substancialmente diferente, quando doses de 100, 200 ou 300 µg de anti-D foram administradas.

A aplicação antenatal de anti-D em gestantes Rh negativas, durante o terceiro trimestre e outros eventos potencialmente sensibilizantes, reduz em mais dez vezes o risco de sensibilização<sup>74</sup> (Grau A de recomendação), o que traria a ocorrência de aloimunização Rh (D), com uso pleno da profilaxia, para índices de 1:1000<sup>22</sup>.

Todavia, na prática, a despeito destes esforços, 1 a 2% das mulheres Rh negativas apresentarão formação de anticorpos anti-D, durante ou após a gestação de uma criança Rh positiva<sup>75</sup>. Em grande parte, isto pode ser atribuído a não aplicação da profilaxia, conforme recomendada<sup>76</sup>; falha em determinar adequadamente a quantidade de hemorragia fetomaterna, com consequente emprego de subdoses de anti-D; e ainda a eventos de hemorragia fetomaterna não diagnosticados durante a gestação<sup>77</sup>. Este conjunto de situações clínicas é responsável pela ineficácia de 11,3% na taxa de prevenção da aloimunização Rh (D) entre gestantes, o que manteria sua prevalência entre 0,2 a 1% na população, ou ainda, entre 2 a 8,2% naquelas Rh negativas<sup>5</sup>. Mesmo em centros urbanos, o índice de não utilização da profilaxia com anti-D no período antenatal chega a 80% das pacientes com indicação de recebê-la<sup>77</sup>, denotando o não cumprimento do protocolo já estabelecido pelo Ministério da Saúde<sup>78</sup>. A condução e o manejo dos casos de aloimunização demandam pessoal especializado, que domine as várias facetas de DHPN para obter o melhor resultado perinatal possível, bem como difundir a prática da profilaxia.

### Resumo para conduta

Todas as gestantes na primeira consulta de pré-natal devem ser submetidas à determinação do grupo sanguíneo ABO-Rh e à pesquisa de anticorpos irregulares pela prova de Coombs indireto (CI). Mulheres D fraco são consideradas, para fins de profilaxia, como sendo Rh positivas e aquelas D parcial e DEL como Rh negativas; aquelas com CI positivo são acompanhadas por um protocolo específico para as sensibilizadas.

Grávidas com Rh negativo e CI negativo devem ser informadas sobre a possibilidade de incompatibilidade sanguínea com seus respectivos parceiros, sendo solicitada a determinação ABO-Rh (D) destes indivíduos. Se o parceiro for Rh positivo ou desconhecido, a gestante fará o CI mensalmente a partir de então e, se este se mantiver negativo, receberá a dose padronizada de 300 µg de anti-D intramuscular na 28ª semana e nas primeiras 72 horas depois do parto ou até em 28 dias<sup>20</sup>, em caso de omissão ou falta do produto, desde que o recém-nascido seja Rh positivo ou D fraco, apresente teste de Coombs direto (CD) negativo e que o parto ocorra após três semanas da primeira dose.

Em casos de abortamento, gestação molar ou ectópica, sangramentos genitais e trauma abdominal na gravidez, biopsia de vilos coriais, amniocentese, funiculocentese, versão cefálica externa ou óbito fetal, toda grávida Rh negativa com CI negativo e parceiro Rh positivo ou desconhecido, recebe profilaxia com 300 µg de anti-D intramuscular, preferencialmente nas primeiras 72 horas após o evento<sup>20</sup>, reaplicada a cada 12 semanas naquelas que se mantenham grávidas<sup>16</sup>.

Em não gestantes, Rh negativas, não sensibilizadas, transfundidas inadvertidamente com sangue Rh positivo, administra-se 12 µg de anti-D para cada mililitro de sangue incompatível. Quando se necessita o emprego de mais que cinco ampolas, a dose deve ser fracionada a cada 24 horas<sup>16</sup>. Para transfusões incompatíveis acima de 900 mL, em homens ou mulheres com prole constituída, nada deve ser feito. Naquelas que desejem engravidar, entretanto, deverá ser feita inicialmente exossanguíneo transfusão de 1,5 volumes, com sangue ABO compatível, Rh negativo, seguida de aplicação de anti-D na dose suficiente para neutralizar 25% do volume de sangue incompatível transfundido<sup>7</sup>.

A dose de 300 µg de anti-D mostrou-se eficaz em evitar a aloimunização com volumes de hemorragia fetomaternal de até 30 mL (10 µg/mL)<sup>78</sup>. A realização rotineira de testes para avaliação da ocorrência de hemorragia feto-maternal excessiva é ainda uma questão em aberto. No Brasil, o Ministério da Saúde não tem qualquer normatização para a realização de testes para

surpreender casos de hemorragias feto-maternal excessivos, embora preconizado por alguns autores<sup>77,79</sup>. O teste mais largamente aplicado para este fim é o Kleihauer-Betke, baseado na resistência da hemoglobina fetal à eluição ácida, permitindo que seja corada, visibilizada e avaliada quantitativamente<sup>77</sup>. É preconizado que a coleta do sangue materno para avaliação da hemorragia feto-maternal, seja feita precocemente, preferencialmente entre 30 e 120 minutos<sup>12</sup> após o evento gerador da indicação da aplicação da profilaxia com anti-D.

O risco de aloimunização na moléstia trofoblástica gestacional é desconhecido. Porém, na mola parcial isto seria possível<sup>80</sup>, indicando-se a profilaxia com anti-D em todos os casos de mola, já que o diagnóstico do subtipo é anatomopatológico, portanto retrospectivo.

A imunização ativa com vacinas de vírus atenuados como o do sarampo, rubéola, caxumba e varíola deve ser adiada por até três meses após a última administração de imunoglobulina anti-D, devido à possibilidade de inativação e prejuízo de sua eficácia.

## Referências

1. Zipursky A, Pollock J, Neelands P, Chown B, Israels LG. The transplacental passage of foetal red blood-cells and the pathogenesis of Rh immunisation during pregnancy. *Lancet*. 1963;2(7306):489-93.
2. Kaplan C, Forestier F, Daffos F, Tchernia G, Waters A. Management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfus Med Rev*. 1996;10(3):233-40.
3. Bux J, Jung KD, Kauth T, Mueller-Eckhardt C. Serological and clinical aspects of granulocyte antibodies leading to alloimmune neonatal neutropenia. *Transfus Med*. 1992;2(2):143-9.
4. Nelson JL. Non-host cells in the pathogenesis of autoimmune disease: a new paradigm? *Ann Rheum Dis*. 1999;58(9):518-20.
5. Cianciarullo MA, Ceccon MEJ, Vaz FAC. Prevalência de marcadores imuno-hematológicos em recém-nascidos ao nascimento e em suas respectivas mães e incidência de doença hemolítica numa maternidade de São Paulo. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49(1):45-53.
6. Huchet J, Dallemagne S, Huchet C, Brossard Y, Larsen M, Parnet-Mathieu F. Ante-partum administration of preventive treatment of Rh-D immunization in rhesus-negative women. Parallel evaluation of transplacental passage of fetal blood cells. Results of a multicenter study carried out in the Paris region. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 1987;16(1):101-11.
7. Flegel WA. The genetics of the Rhesus blood group system. *Blood Transfus*. 2007;5(2):50-7.
8. Moise KJ Jr. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000;92(1):75-81.
9. Nardoza LM, Camano L, Fernandes Moron A, Chinen PA, Lobo GA, Araújo Junior E. Anti-Diego alloimmunization: report of two cases. *Arch Gynecol Obstet*. 2007;275(6):495-7.
10. Nardoza LM, Lobo GR, Moron AF, Camano L, Araujo E Jr, Guimarães Filho HA. Anti-Lewis alloimmunization: report of seven cases. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2008;35(4):311-2.
11. Daniels G, Poole J, de Silva M, Callaghan T, MacLennan S, Smith N. The clinical significance of blood group antibodies. *Transfus Med*. 2002;12(5):287-95.
12. British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force, Gooch A, Parker J, Wray J, Qureshi H. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. *Transfus Med*. 2007;17(4):252-62.
13. Avent ND, Liu W, Scott ML, Jones JW, Voak D. Site directed mutagenesis of the human Rh D antigen: molecular basis of D epitopes. *Vox Sang*. 2000;78 Suppl 2:83-9.
14. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood*. 2000;95(2):375-87.
15. Hartwell EA. Use of Rh immune globulin: ASCP practice parameter. *American Society of Clinical Pathologists*. *Am J Clin Pathol*. 1998;110(3):281-92.
16. Moise KJ Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2002;100(3):600-11.
17. Westhoff CM. The structure and function of the Rh antigen complex. *Semin Hematol*. 2007;44(1):42-50.
18. Baiocchi E, Camano L, Sass N, Colas OR. Frequências dos grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO e RhD em puérperas e seus recém-nascidos. *Rev Assoc Med Bras*. 2007;53(1):44-6.
19. Moreira Júnior G, Bordin JO, Kuroda A, Kerbauy J. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: the influence of racial and antigenic pattern differences between donors and recipients in Brazil. *Am J Hematol*. 1996;52(3):197-200.

20. Bowman JM. Controversies in Rh prophylaxis. Who needs Rh immune globulin and when should it be given? *Am J Obstet Gynecol.* 1985;151(3):289-94.
21. Rothenberg JM, Weirermiller B, Dirig K, Hurd WW, Schilder J, Golichowski A. Is a third-trimester antibody screen in Rh+ women necessary? *Am J Manag Care.* 1999;5(9):1145-50.
22. Schumacher B, Moise KJ Jr. Fetal transfusion for red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1996;88(1):137-50.
23. Pirelli K, Pietz B, Johnson S, Pinder H, Bellissimo D. Molecular determination of RhD zygosity. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(6 Suppl 1):S172.
24. Spence WC, Potter P, Maddalena A, Demers DB, Bick DP. DNA-based prenatal determination of the RhEe genotype. *Obstet Gynecol.* 1995;86(4 Pt 2):670-2.
25. Chinen PA, Nardoza LMM, Camano L, Moron AF, Pares DBS, Martinhago CD, et al. Non-invasive fetal RHD genotyping by real-time polymerase chain reaction using plasma from D-negative Brazilian pregnant women. *J Reprod Immunol.* 2007;75(1):A8-A9.
26. Howard H, Martlew V, McFadyen I, Clarke C, Duguid J, Bromilow I, et al. Consequences for fetus and neonate of maternal red cell allo-immunisation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1998;78(1):F62-6.
27. Gonçalves LFA, Parente LMM, Saab Neto JA, Del Rio DA. Tratamento da isoimunização fetal severa por fator RH através da ex-sanguíneo transfusão intra-uterina. *Arq Catarin Med.* 1993;22(1/2):45-50.
28. Bang J, Bock JE, Trolle D. Ultrasound-guided fetal intravenous transfusion for severe rhesus haemolytic disease. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1982;284(6313):373-4.
29. Queenan JT, Tomai TP, Ural SH, King JC. Deviation in amniotic fluid optical density at a wavelength of 450 nm in Rh-immunized pregnancies from 14 to 40 weeks' gestation: a proposal for clinical management. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;168(5):1370-6.
30. Moise KJ Jr. Changing trends in the management of red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Arch Pathol Lab Med.* 1994;118(4):421-8.
31. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, Rahman F, Zimmerman R, Moise KJ Jr, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med.* 2000;342(1):9-14.
32. Oepkes D, Seaward PG, Vandenbussche FP, Windrim R, Kingdom J, Beyene J, et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *N Engl J Med.* 2006;355(2):156-64.
33. Nardoza LM, Moron AF, Araujo Júnior E, Camano L, Chinen PA, Torloni MR. Rh alloimmunization: Doppler or amniotic fluid analysis in the prediction of fetal anemia? *Arch Gynecol Obstet.* 2007;275(2):107-11.
34. Bartha JL, Abdel-Fattah SA, Hunter A, Denbow M, Kyle P, Soothill PW. Optimal interval between middle cerebral artery velocity measurements when monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunization. *Fetal Diagn Ther.* 2006;21(1):22-5.
35. Zimmerman R, Carpenter RJ Jr, Durig P, Mari G. Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. *BJOG.* 2002;109(7):746-52.
36. Scheier M, Hernandez-Andrade E, Fonseca EB, Nicolaidis KH. Prediction of severe fetal anemia in red blood cell alloimmunization after previous intrauterine transfusions. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(6):1550-6.
37. Nardoza LM, Simioni C, Garbato G, Araujo Júnior E, Guimarães Filho HA, Torloni MR, et al. Nomogram of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity at 23-35 weeks of gestation in a Brazilian population: pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008;21(10):714-8.
38. Soothill PW, Nicolaidis KH, Rodeck CH, Clewell WH, Lindridge J. Relationship of fetal hemoglobin and oxygen content to lactate concentration in Rh isoimmunized pregnancies. *Obstet Gynecol.* 1987;69(2):268-71.
39. Lima MIM, Cabral ACV, Vieira AC, Corrêa MD. Padrão cardiocardiográfico em relação a hemoglobina do cordão de pacientes isoimunizadas pelo fator Rh. *J Bras Ginecol.* 1990;100(1-2):21-3.
40. Cabral ACV, Barcelos TB, Apocalipse IGM, Leite HV, Reis ZSN. Índice cárdio-femoral para avaliação da anemia de fetos de gestantes isoimunizadas. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(8):450-5.
41. Rodeck CH, Kemp JR, Holman CA, Whitmore DN, Karnicki J, Austin MA. Direct intravascular fetal blood transfusion by fetoscopy in severe Rhesus isoimmunisation. *Lancet.* 1981;1(8221):625-7.
42. Van Kamp IL, Klumper FJ, Oepkes D, Meeran RH, Scherjon SA, Vandenbussche FP, et al. Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(1):171-7.
43. Nardoza LM, Camano L, Moron AF, Chinen PA, Torloni MR, Cordioli E, et al. Perinatal mortality in Rh alloimmunized patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007;132(2):159-62.
44. Harman CR, Bowman JM, Manning FA, Menticoglou SM. Intrauterine transfusion-intraoperative versus intravascular approach: a case-control comparison. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(4):1053-9.
45. Moise KJ Jr, Carpenter RJ Jr, Kirshon B, Deter RL, Sala JD, Cano LE. Comparison of four types of intrauterine transfusion: effect on fetal hematocrit. *Fetal Ther.* 1989;4(2-3):126-37.
46. Nicolini U, Nicolaidis P, Fisk NM, Tannirandorn Y, Rodeck CH. Fetal blood sampling from the intrahepatic vein: analysis of safety and clinical experience with 214 procedures. *Obstet Gynecol.* 1990;76(1):47-53.
47. Westgren M, Selbing A, Stangenberg M. Fetal intracardiac transfusions in patients with severe rhesus isoimmunisation. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1988;296(6626):885-6.
48. Plecas DV, Chitkara U, Berkowitz GS, Lapinski RH, Alvarez M, Berkowitz RL. Intrauterine intravascular transfusion for severe erythroblastosis fetalis: how much to transfuse? *Obstet Gynecol.* 1990;75(6):965-9.
49. Santiago MD, Rezende CAL, Cabral ACV, Leite HV, Vitral ZNR, Apocalypse IM. Cálculo do volume de sangue necessário para a correção da anemia fetal em gestantes isoimunizadas. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2008;30(4):196-200.
50. Bowman JM, Manning FA. Intrauterine fetal transfusions: Winnipeg 1982. *Obstet Gynecol.* 1983;61(2):203-9.
51. Daffos F. Technical aspects of prenatal samplings and fetal transfusion. *Curr Stud Hematol Blood Transfus.* 1988;5(5):127-9.
52. Radunovic N, Lockwood CJ, Alvarez M, Plecas D, Chitkara U, Berkowitz RL. The severely anemic and hydropic isoimmune fetus: changes in fetal hematocrit associated with intrauterine death. *Obstet Gynecol.* 1992;79(3):390-3.
53. Nicolaidis KH, Clewell WH, Rodeck CH. Measurement of human fetoplacental blood volume in erythroblastosis fetalis. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;157(1):50-3.



54. Gonsoulin WJ, Moise KJ Jr, Milam JD, Sala JD, Weber VW, Carpenter RJ Jr. Serial maternal blood donations for intrauterine transfusion. *Obstet Gynecol.* 1990;75(2):158-62.
55. Pattison N, Roberts A. The management of severe erythroblastosis fetalis by fetal transfusion: survival of transfused adult erythrocytes in the fetus. *Obstet Gynecol.* 1989;74(6):901-4.
56. Moise KJ Jr, Carpenter RJ Jr. Increased severity of fetal hemolytic disease with known rhesus alloimmunization after first-trimester transcervical chorionic villus biopsy. *Fetal Diagn Ther.* 1990;5(2):76-8.
57. Leveque C, Murat I, Toubas F, Poissonnier MH, Brossard Y, Saint-Maurice C. Fetal neuromuscular blockade with vecuronium bromide: studies during intravascular intrauterine transfusion in isoimmunized pregnancies. *Anesthesiology.* 1992;76(4):642-4.
58. Maxwell DJ, Johnson P, Hurley P, Neales K, Allan L, Knott P. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication. *Br J Obstet Gynaecol.* 1991;98(9):892-7.
59. Kumar S, Regan F. Management of pregnancies with RhD alloimmunisation. *BMJ.* 2005;330(7502):1255-8.
60. Lobato G, Soncini CS. Relationship between obstetric history and Rh(D) alloimmunization severity. *Arch Gynecol Obstet.* 2008;277(3):245-8.
61. Howe DT, Michailidis GD. Intraperitoneal transfusion in severe, early-onset Rh isoimmunization. *Obstet Gynecol.* 2007;110(4):880-4.
62. Fox C, Martin W, Somerset DA, Thompson PJ, Kilby MD. Early intraperitoneal transfusion and adjuvant maternal immunoglobulin therapy in the treatment of severe red cell alloimmunization prior to fetal intravascular transfusion. *Fetal Diagn Ther.* 2008;23(2):159-63.
63. Trevett TN Jr, Dorman K, Lamvu G, Moise KJ Jr. Antenatal maternal administration of phenobarbital for the prevention of exchange transfusion in neonates with hemolytic disease of the fetus and newborn. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(2):478-82.
64. Hudon L, Moise KJ Jr, Hegemier SE, Hill RM, Moise AA, Smith EO, et al. Long-term neurodevelopmental outcome after intrauterine transfusion for the treatment of fetal hemolytic disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(4):858-63.
65. Thorp JA, O'Connor T, Callenbach J, Cohen GR, Yeast JD, Albin J, et al. Hyporegenerative anemia associated with intrauterine transfusion in rhesus hemolytic disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;165(1):79-81.
66. Saade GR, Moise KJ, Belfort MA, Hesketh DE, Carpenter RJ. Fetal and neonatal hematologic parameters in red cell alloimmunization: predicting the need for late neonatal transfusions. *Fetal Diagn Ther.* 1993;8(3):161-4.
67. Scaradavou A, Inglis S, Peterson P, Dunne J, Chervenak F, Bussel J. Suppression of erythropoiesis by intrauterine transfusions in hemolytic disease of the newborn: use of erythropoietin to treat the late anemia. *J Pediatr.* 1993;123(2):279-84.
68. Bowman JM, Pollock JM, Manning FA, Harman CR, Menticoglou S. Maternal Kell blood group alloimmunization. *Obstet Gynecol.* 1992;79(2):239-44.
69. Vaughan JL, Warwick R, Letsky E, Nicolini U, Rodeck CH, Fisk NM. Erythropoietic suppression in fetal anemia because of Kell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(1):247-52.
70. Lobo GA, Nardoza LM, Camano L. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006;94(2):139-40.
71. Sibénil S, de Romeuf C, Bihoreau N, Fernandez N, Meterreau JL, Regenman A, et al. Selection of a human anti-RhD monoclonal antibody for therapeutic use: impact of IgG glycosylation on activating and inhibitory Fc gamma R functions. *Clin Immunol.* 2006;118(2-3):170-9.
72. Baiocchi E, Camano L, Bordin JO, Avritscher AP, Andrade CMA, Traina E. Por que usamos imunoglobulina anti-D em excesso no abortamento precoce? *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2004;26(5):363-7.
73. Crowther C, Middleton P. Anti-D administration after childbirth for preventing rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(2):CD000021.
74. Crowther CA, Keirse MJ. Anti-D administration in pregnancy for preventing rhesus alloimmunisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(2):CD000020.
75. Letsky EA, de Silva M. Preventing Rh immunisation. *BMJ.* 1994;309(6949):213-4.
76. Howard HL, Martlew VJ, McFadyen IR, Clarke CA. Preventing Rhesus D haemolytic disease of the newborn by giving anti-D immunoglobulin: are the guidelines being adequately followed? *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104(1):37-41.
77. Baiocchi E, Camano L, Bordin JO. Avaliação da hemorragia feto-materna em puérperas com indicação para ministração de imunoglobulina anti-D. *Cad Saúde Pública.* 2005;21(5):1357-65.
78. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Gestante de alto risco. Brasília: Ministério da Saúde; 2000.
79. Miyadahira S. Prevenção da aloimunização Rh. *Rev Assoc Med Bras.* 2000;46(4):308-9.
80. ACOG practice bulletin. Prevention of Rh D alloimmunization. Number 4, May 1999 (replaces educational bulletin Number 147, October 1990). Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. American College of Obstetrics and Gynecology. *Int J Gynaecol Obstet.* 1999;66(1):63-70.