



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA
DO ESTADO DO AMAZONAS – HEMOAM
MESTRADO EM CIÊNCIAS APLICADAS À HEMATOLOGIA



**INVESTIGAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS NA INCOMPATIBILIDADE
MATERNO-FETAL EM RECÉM-NASCIDOS NA CIDADE DE MANAUS**

ELIONE DOS SANTOS FERREIRA

MANAUS - AM

2016

ELIONE DOS SANTOS FERREIRA

**INVESTIGAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS NA INCOMPATIBILIDADE
MATERNO-FETAL EM RECÉM-NASCIDOS NA CIDADE DE MANAUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia da Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM para obtenção do grau de Mestre em Hematologia.

Orientador: Sérgio Roberto Lopes Albuquerque

MANAUS - AM

2016

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

F383i	<p>Ferreira, Elione dos Santos Investigação dos aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal em recém-nascidos na cidade de Manaus AM / Elione dos Santos Ferreira. Manaus : [s.n], 2016. 89 f.: il., color.; 1 cm.</p> <p>Dissertação - PGSS - Ciências Aplicadas à Hematologia (Mestrado) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2016. Inclui bibliografia Orientador: Albuquerque, Sergio Roberto Lopes</p> <p>1. Incompatibilidade. 2. Materno-Fetal. 3. Aloimunização. 4. Icterícia. I. Albuquerque, Sergio Roberto Lopes (Orient.). II. Universidade do Estado do Amazonas. III. Investigação dos aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal em recém-nascidos na cidade de Manaus-AM</p>
-------	--

Elaborado por Jeane Macelino Galves - CRB-11/463



Elione / turma 02/2014

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS-UEA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS À HEMATOLOGIA



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 01/2016

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO (A) ALUNO (A) AO TÍTULO DE MESTRE

TURMA 02/2013

No dia dezoito do mês de outubro de 2016, às 14h30 realizou-se a Sessão Pública da Defesa de Dissertação: **“Investigação dos aspectos Clínicos na incompatibilidade materno-fetal em recém-nascidos na Cidade de Manaus”**. Apresentada por **Elione dos Santos Ferreira**, para obtenção do título de mestre; Área de Concentração: Segurança Transfusional.

A banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

Prof. (a) Dr. (a) Sérgio Roberto Lopes Albuquerque (Presidente)
 Prof. (a) Dr. (a) Leny Nascimento da Motta Passos (Membro interno)
 Prof. (a) Dr. (a) Erich Vinícius de Paula (Membro externo)

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. (a) Dr. (a) Sérgio Roberto Lopes Albuquerque	Conceito: <u>APROVADA</u>
Prof. (a) Dr. (a) Leny Nascimento da Motta Passos	Conceito: <u>APROVADA</u>
Prof. (a) Dr. (a) Erich Vinícius de Paula	Conceito: <u>APROVADA</u>

A Dissertação foi considerada:

Aprovada
 Não Aprovada

Manaus, 18 de outubro de 2016.

Na forma regulamentar foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da banca e pelo aluno (a):

Prof. (a) Dr. (a) Sérgio Roberto Lopes Albuquerque (Presidente)

Prof. (a) Dr. (a) Leny Nascimento da Motta Passos (Membro interno)

Prof. (a) Dr. (a) Erich Vinícius de Paula (Membro externo)

Aluno (a) Elione dos Santos Ferreira

Elione dos Santos Ferreira

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos aqueles que doam parte do seu tempo e de sua vida à pesquisa. Aos que, iluminados por Deus, realizam novas descobertas no campo científico minimizando o sofrimento, especialmente de seres humanos tão pequeninos e indefesos como os conceptos. Dedico também à minha família e a todas as mães que lutam pela vida de seus bebês com fé e esperança.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus pelas bênçãos concedidas, pelo privilégio de cursar esse programa de mestrado de elevado nível e por me dar forças para trilhar toda essa jornada com êxito.

Ao meu esposo Evandro de Souza Carneiro da Cunha pela paciência, colaboração e apoio incondicional.

Aos meus pais Eder Levy Ferreira e Margarida dos Santos Ferreira que sempre me motivaram a aprimorar meus conhecimentos e a crescer em minha carreira acadêmica.

Ao meu filhote André Ferreira dos Santos, minha nora Maria Ângela Holanda dos Santos e meu netinho Amarildo Neto pelo incentivo.

Ao meu lindo bebê Gabriel de Souza Carneiro da Cunha que me alegrou nas horas mais difíceis, pelo carinho que me dedicava a cada retorno para casa, apesar de tão ausente.

Ao meu orientador Dr. Sérgio Roberto Lopes Albuquerque pelo respeito, ética, profissionalismo e competência em me guiar com extrema paciência ao universo da Imunohematologia e por me conduzir nesse percurso fazendo-o bem mais suave.

Aos professores Erich de Paula e Antônio Rufino que contribuíram grandemente com a lapidação desse trabalho me direcionando com muita sabedoria e conhecimento.

À Dra. Reneide Pinheiro de Andrade que desde o primeiro momento me ajudou e me deu total apoio junto à equipe do banco de sangue da Maternidade Balbina Mestrinho, me tirando dúvidas e removendo os obstáculos do caminho.

A toda equipe da Maternidade Balbina Mestrinho que me abriu as portas e me acolheu para que eu pudesse desenvolver essa pesquisa. Em especial ao Diretor Dr. Marcos Lourenço, ao Departamento de Ensino e Pesquisa, à equipe do banco de sangue, à equipe de enfermagem, aos pediatras, às assistentes sociais e à equipe do SAME por disponibilizar os prontuários necessários.

A toda equipe de Programa de Pós-graduação em Ciências aplicadas à Hematologia – PPGH.

Às acadêmicas Auriane Bessa da Silva, Samires T. Aparício e Katiúscia M. Cruz que contribuíram voluntariamente na coleta dos dados a despeito de todos os seus afazeres acadêmicos.

À bibliotecária Ana Cristina Chagas Sena pelo apoio e disponibilidade em me ajudar a buscar os melhores livros e artigos para compor meu referencial.

As minhas amigas Aneth O. Leda, Tarciana C. Cipriano, Alessandra Cristina, Célia Ferreira e Alcemira Bandeira que me apoiaram, incentivaram e oraram por mim no percurso dessa jornada.

À Universidade do Estado do Amazonas – UEA.

À Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas – HEMOAM.

À FAPEAM, CAPES e CNPq pelo apoio à pesquisa.

EPÍGRAFE

“O temor do Senhor é o princípio da sabedoria”.

Provérbios 9:10

INVESTIGAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS NA INCOMPATIBILIDADE MATERNO-FETAL EM RECÉM-NASCIDOS NA CIDADE DE MANAUS, AM.

RESUMO

Introdução: A incompatibilidade materno-fetal é a base etiológica de aspectos clínicos que cursam com anemia hemolítica fetal e icterícia pós-natal, agravo que ainda persiste no cenário mundial, principalmente em países subdesenvolvidos, apesar dos avanços ocorridos nas últimas décadas relacionados à identificação de antígenos de grupos sanguíneos, melhoria na assistência pré-natal e da introdução da terapia utilizando soro contendo anticorpos dirigidos contra o antígeno RhD. **Objetivo:** Investigar os aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal em recém-nascidos (RNs). **Casuística e Métodos:** Foi realizado um estudo descritivo em 1.425 RNs na cidade de Manaus - AM, nos meses de maio a setembro de 2015, acerca da incompatibilidade materno-fetal, relacionando os dados clínicos com os teste de tipagem sanguínea ABO e RhD, pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.) e teste da antiglobulina direto (T.A.D.). Na análise dos dados categorizados foi utilizado o teste qui-quadrado com correção de Yates e exato de Fisher e na comparação de duas variáveis quantitativas foi aplicado o coeficiente de correção de Pearson. **Resultados:** Encontrou-se uma frequência do grupo sanguíneo O em 61,3% das mães e 61,1% dos RNs com predominância do RhD positivo em 94,6% das mães e 96,4% dos RNs. Verificou-se uma significância estatística entre a incompatibilidade materno-fetal ABO e a presença de icterícia em 26,3% dos casos ($p < 0,0001$). O resultado do P.A.I. positivo foi de 0,2% do total de mães, sendo o anti-RhD o único anticorpo irregular encontrado. Considerando apenas as incompatibilidades Rh, o percentual de P.A.I. positivo passa a ser 5,5%, contudo, apenas um caso de Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) foi notificado. Os RNs ABO incompatíveis de mães do grupo O com filhos A ou B apresentaram icterícia em uma proporção mais elevada do que outras incompatibilidades ABO. **Conclusão:** Incompatibilidade materno-fetal ABO, mesmo com P.A.I. e T.A.D. negativo, mostrou-se importante, impactando na presença de elevada icterícia. Casos de incompatibilidade materno-fetal ABO com quadros hemolíticos e presença de icterícia foram detectados, porém, sem diagnóstico específico nas rotinas hospitalares. O anti-RhD foi responsável por 100% dos resultados de P.A.I. positivos nas mães RhD negativo, o que evidencia a necessidade de maior habilidade de gestão com vistas à prevenção da aloimunização.

Descritores: Incompatibilidade materno-fetal, aloimunização e icterícia.

RESEARCH OF CLINICAL ASPECTS OF FETAL MATERNAL INCOMPATIBILITY IN NEWBORN IN MANAUS CITY, AM.

ABSTRACT

Introduction: Maternal-fetal incompatibility is the etiological basis of clinical features that occur with fetal hemolytic anemia and post-natal jaundice, injury still persists on the world stage, especially in developing countries, despite advances in the past decades relating to the identification of blood group antigens, improved prenatal care and the introduction of therapy using serum containing antibodies against the RhD antigen. **Objective:** To investigate the clinical aspects of maternal-fetal incompatibility in newborns. **Methods:** A descriptive study was conducted in 1.425 newborns in Manaus - AM, in the months from may to september 2015, about the maternal-fetal incompatibility, linking clinical data with the blood typing test ABO and RhD, search irregular antibodies (P.A.I.) and the direct antiglobulin test (D.A.T.). In the analysis of categorical data was analyzed using the chi-square test with Yates correction and Fisher's exact test and comparison of two quantitative variables was applied the Pearson correction coefficient. **Results:** We found a frequency of blood group O in 61.3% of mothers and 61.1% of newborns with a predominance of positive RhD in 94.6% of mothers and 96.4% of newborns. There was a statistical significance between maternal-fetal ABO incompatibility and the presence of jaundice in 26.3% of cases ($p < 0.0001$). The result of P.A.I. Positive was 0.2% of all mothers, with anti-RhD antibody found the unique irregularly. Considering only the Rh incompatibility, the percentage of P.A.I. positive becomes 5.5%, however, only one case of Hemolytic Disease of Newborn (HDN) was diagnosed. The newborns ABO incompatible group of mothers with children A or B had jaundice in a higher proportion than others ABO incompatibility. **Conclusion:** Maternal-fetal ABO incompatibility, even with P.A.I. and D.A.T. negative, it was an important factor, impacting in the presence of high jaundice. Maternal-fetal incompatibility cases with ABO hemolytic conditions and presence of jaundice were detected, however, no specific diagnosis in the hospital routines. The anti-RhD accounted for 100% of the results P.A.I. positive in RhD negative mothers, which highlights the need for greater management skill with a view to preventing alloimmunization.

Keywords: maternal-fetal incompatibility, alloimmunization, jaundice.

INVESTIGAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS NA INCOMPATIBILIDADE MATERNO-FETAL EM RECÉM-NASCIDOS NA CIDADE DE MANAUS, AM.

RESUMO LEIGO

Alguns tipos de sangue da mãe e do seu filho podem levar a uma anemia (destruição do sangue) grave no bebê que pode comprometer a sua vida durante a gravidez ou após o seu nascimento. Muitos avanços na assistência para mulheres gestantes têm ajudado na prevenção e redução da gravidade e do risco de morte por este problema que era bastante alto até a década de 60. Assim sendo, o objetivo deste estudo foi investigar se a diferença entre os tipos sanguíneos da mãe e do seu filho está causando anemia ou não no bebê. O estudo foi realizado na Maternidade Balbina Mestrinho na cidade de Manaus – AM nos meses de maio a setembro de 2015, com 1.425 recém nascidos (RN) que se encontravam internados no local do estudo, avaliando o seu estado geral e resultados de alguns exames que identificam essa diferença e possíveis alterações. Nos resultados verificou-se que o sangue do tipo de O era o mais encontrado entre mães e filhos e que a presença de cor amarelada na pele foi mais comum nos bebês cuja mãe era do tipo de sangue O e seu filho do tipo de sangue A ou B. A anemia grave que pode ser prevenida com uma vacina específica (Imunoglobulina anti-RhD), causada quando o tipo de sangue materno é do tipo O negativo e o do seu filho O positivo foi diagnosticada apenas em um bebê. Concluiu-se que casos de anemia grave encontrada em bebês Rh positivo, filhos de mães Rh negativo ainda ocorrem apesar de haver uma “vacina” preventiva. Os bebês que são do tipo A ou B com mães do tipo O têm maior chance de sofrer complicações deixando a pele amarelada do que os casos de bebês com o tipo de sangue compatível com o de sua mãe e que a anemia grave pode não ter sido notificada em alguns casos por isso é fundamental que os serviços de saúde e os profissionais dispensem maior cuidado a essas crianças e suas mães a fim de minimizar os riscos dessa doença, principalmente nos casos em que já existe a prevenção.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição segundo dados demográficos dos recém-nascidos incluídos no estudo.....	49
Tabela 2. Distribuição segundo os grupos sanguíneos ABO e Rh das mães e recém-nascidos incluídos no estudo.....	52
Tabela 3. Distribuição segundo a incompatibilidade ABO e Rh entre as mães e recém-nascidos do estudo em relação a idade gestacional, peso ao nascer, apgar, necessidade de reanimação e UTI.....	53
Tabela 4. Relação entre incompatibilidade ABO e relato de icterícia nos recém-nascidos do estudo.....	55
Tabela 5. Relação entre incompatibilidade ABO e necessidade de fototerapia nos recém-nascidos do estudo.....	55
Tabela 6. Relação entre incompatibilidade Rh e necessidade de fototerapia nos recém-nascidos do estudo.....	56
Tabela 7. Distribuição segundo a incompatibilidade ABO e Rh entre as mães e recém-nascidos do estudo e o resultado do P.A.I.....	56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição segundo a idade das mães incluídas no estudo.....	50
Gráfico 2. Distribuição segundo o número de gestações das mães incluídas no estudo.....	50
Gráfico 3. Distribuição segundo os grupos sanguíneos ABO das mães e recém-nascidos incluídos no estudo.....	51
Gráfico 4. Distribuição segundo o grupo sanguíneo ABO das mães e recém-nascidos incluídos no estudo relacionado com a presença de icterícia.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP - Associação Americana de Pediatria

ALCON - Alojamento conjunto

BD - Bilirrubina direta

BI - Bilirrubina indireta

BT - Bilirrubina total

CD - Coombs direto

CD - Coombs indireto

CID – Código Internacional de Doenças

DALY - Disability Adjusted Life Years

DHPN - Doença Hemolítica Perinatal

DUM - Data da última menstruação

DNV - Declaração de nascido vivo

EXT - Exsanguíneotransusão

FT - Fototerapia

Hg - Hemoglobina

HEMOAM - Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

HEMOSIS – Sistema De informações do Hemoam

IgG - imunoglobulina tipo gamma

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAI - Pesquisa de anticorpos irregulares

Rh - Rhesus

RN - Recém-nascido

SIM-DATASUS - Sistema de Informações sobre Mortalidade do SUS

SBP - Sociedade Brasileira de Pediatria

TAD - Teste de aglutinação direta

TIU - Transfusão intra-uterina

UTIN - Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal

UCINCO - Unidade de Cuidado Intensivo Neonatal Convencional

UCINCA - Unidade de Cuidado Intermediário Neonatal Canguru

VPP - Ventilação por pressão positiva

VPM - Ventilação pulmonar mecânica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Aspectos históricos.....	19
1.2 Aloimunização Materna	22
1.3 Fisiopatologia da hemólise no recém-nascido.....	24
1.4 A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN)	27
1.5 Sistemas de Grupos Sanguíneos e os antígenos eritrocitários.....	30
1.5.1 Incompatibilidade materno-fetal pelo Sistema ABO	30
1.5.2 Incompatibilidade materno-fetal pelo Sistema Rh	32
1.5.3 Incompatibilidade materno-fetal por outros sistemas de grupos sanguíneos	34
1.6 Métodos laboratoriais de diagnóstico nas incompatibilidades	36
1.7 Imunoprofilaxia anti-RhD.....	38
1.8 Aspectos Terapêuticos.....	39
2. JUSTIFICATIVA.....	42
3. OBJETIVOS	43
3.1 Objetivo Geral.....	43
3.2 Objetivos Específicos.....	43
4.1 Casuística	43
4.1.1 Área de Estudo	43
4.1.2 Local de Estudo.....	43
4.1.3 Período do Estudo	44
4.1.4 População do Estudo	44
4.1.5 Amostra	44
4.1.6 Critérios de Elegibilidade.....	44
4.2 Métodos.....	45
4.2.1 Método do Estudo	45
4.2.2. Método de inclusão dos sujeitos.....	45
4.2.3 Método de coleta de dados	45
4.2.3 Métodos laboratoriais de rotina da Instituição do estudo.....	45
4.3 Análise estatística.....	46
4.4 Considerações éticas	47
5. RESULTADOS.....	48

6. DISCUSSÃO.....	57
7. CONCLUSÕES.....	71
8. REFERÊNCIAS.....	73
9. ANEXOS.....	78
9.1 Parecer substanciado do CEP.....	78
9.2 Carta de Anuência do HEMOAM.....	81
9.3 Termo de dispensa do TCLE.....	82
9.4 Termo de consentimento de utilização de dados.....	83
9.5 Formulário para coleta de informações.....	84
9.6 Teste de Coombs Direto (TAD).....	86
9.7 Pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.).....	87

1. INTRODUÇÃO

A incompatibilidade materno-fetal é a base etiológica de aspectos clínicos que cursam com anemia hemolítica fetal e icterícia pós-natal, agravo que ainda persiste no cenário mundial, principalmente em países subdesenvolvidos, apesar dos avanços ocorridos nas últimas décadas relacionados à identificação de antígenos de grupos sanguíneos, melhoria na assistência pré-natal e da introdução da terapia utilizando soro contendo anticorpos dirigidos contra o antígeno RhD^(1,2,3). É resultante da passagem de anticorpos maternos da classe IgG através da placenta, ligando-se aos antígenos eritrocitários do concepto, podendo desencadear anemia fetal grave e icterícia devido à hiperbilirrubinemia após o nascimento^(4,5).

A evidência desses achados nos recém-nascidos (RNs) incompatíveis foi inicialmente descrita no meio científico como Eritroblastose Fetal devido à presença de eritrócitos imaturos na circulação sanguínea do feto acometido, sendo posteriormente chamada de Doença Hemolítica Perinatal (DHPN)^(6,7).

A hemólise grave resultante da incompatibilidade materno-fetal pode resultar em manifestações clínicas severas tanto no período pré-natal, quanto após o nascimento. Na fase intra-uterina, a anemia não tratada, pode levar à hidropisia fetal, enquanto que a icterícia neonatal decorrente da bilirrubina não conjugada pode atingir níveis séricos muito elevados e impregnar os tecidos cerebrais causando o kernicterus⁽⁸⁾. Tais agravos podem rapidamente evoluir para o óbito ou sobrevivência com sequelas, comprometendo a qualidade de vida do binômio mãe e filho^(9,10).

Avanços na área da Imuno-hematologia e da fisiopatologia a partir da década de 40 possibilitaram maior compreensão dos agravos resultantes da incompatibilidade materno-fetal, viabilizando a utilização de intervenções terapêuticas como a exsanguineotransfusão (EXT), a transfusão intrauterina (TIU) e a introdução da profilaxia anti-RhD posteriormente. Tais condutas foram essenciais para o aumento da sobrevida e redução das taxas de mortalidade nos RNs^(11,12).

No passado, constituiu-se importante agravo à saúde dos fetos e RNs atingindo índices de morbimortalidade perinatal em torno de 50% ^(10,13). Um marco histórico para a diminuição de casos da doença foi a introdução da terapia utilizando soro contendo anticorpos dirigidos contra o antígeno RhD na década de 60 reduzindo a taxa de óbito para 1,3 por 100.000 nascidos vivos nos casos de DHPN ocasionada pelo antígeno RhD ^(14,15).

Na atualidade estima-se que a incidência de aloimunização nos países desenvolvidos seja de aproximadamente 1 a 6/1000 nascidos vivos ⁽¹⁶⁾. Em países como a França, a aloimunização pelo anti-RhD acomete cerca de 4/1000 nascidos vivos e destes, 1/1000 evoluirá com a anemia hemolítica grave ⁽¹⁷⁾. Nos EUA a prevalência da doença hemolítica fetal chegou a 7/1000 nascidos vivos ⁽¹⁵⁾, porém, estudos mais recentes informam que a incidência de aloimunização nesse país é de 80 casos em cada 100.000 gestantes por ano ⁽¹³⁾.

No Brasil, dados do Ministério da Saúde, 2012 apontavam que a aloimunização estava presente em 5 de cada 1000 gestações ⁽⁴⁾, porém a incidência dos eventos que culminam com a doença hemolítica nos neonatos brasileiros pode ser ainda maior, dada a possibilidade de sub notificação de casos e a falta de conclusão diagnóstica em muitos serviços de neonatologia ⁽¹⁸⁾.

Estudo sobre a carga de DHPN-RhD no Brasil com dados obtidos do Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM-DATASUS) utilizando o indicador números de anos de vida perdidos ajustados por incapacidade DALY (Disability Adjusted Life Years) concluiu que o risco de morte nestes casos é maior nas regiões norte e nordeste que nas regiões sul e sudeste brasileiro ⁽²⁾.

Nas Universidades localizadas nas regiões sul e sudeste do Brasil, especialmente no Rio de Janeiro no Instituto Fernandes Figueira e em Belo Horizonte na Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFGM) que conta com o Centro de Medicina Fetal (CEMEFE), a aloimunização é amplamente pesquisada há décadas, o que contribui com aos avanços científicos e ao manejo clínico da doença especialmente sobre sua prevenção, desde o período pré-natal até o nascimento do concepto. Muitas dissertações e teses dos programas de pós-

graduação destes serviços têm sido úteis no desenvolvimento de trabalhos e projetos sobre o assunto, auxiliando na implantação de protocolo e fluxograma de utilização e distribuição da imunoglobulina anti-RhD junto à Secretaria Estadual de Saúde, tornando-a acessível a todas as gestantes RhD negativo, desde que haja indicação ⁽¹⁴⁾.

No Estado do Amazonas, o Programa de Mães RhD negativo foi criado e implementado pela Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas - HEMOAM em 1995 e descentralizado para as maternidades da cidade de Manaus a partir de 2004. As unidades básicas de saúde do município atendem e encaminham as gestantes para o serviço de pré-natal das 07 maternidades distribuídas no município.

Esse programa funciona ativamente na Maternidade Balbina Mestrinho desde 2004 com atendimento ambulatorial e hospitalar, a qual é referência no Estado para realizar pré-natal de auto-risco. Durante todo o período gestacional, a mulher é submetida a exames clínicos e laboratoriais para a detecção de incompatibilidade entre mãe e concepto, o que favorece que as decisões e intervenções sejam tomadas precocemente.

Sabe-se que a história natural, etiologia, fisiopatologia e profilaxia nos casos de incompatibilidade materno-fetal estão bem definidas, entretanto, estima-se que a incidência dos agravos a ela relacionada ainda seja preocupante em nosso meio, em relação ao que se espera de uma condição clínica evitável e já em redução na maioria dos países desenvolvidos. Assim sendo, muitas lacunas ainda existem acerca da incompatibilidade materno-fetal no que tange aos aspectos clínicos e suas consequências em nosso Estado, tais questionamentos serviram de motivação para o desenvolvimento deste estudo.

1.1 Aspectos históricos

A descrição do conceito de hemólise no feto e de icterícia no neonato teve seu primeiro relato na literatura científica mundial em 1609 na França, através da descrição da

enfermeira Loyse Bourgeois sobre o nascimento de um casal de gemelares. Um natimorto do sexo feminino apresentou sinais clínicos de hidropisia fetal, ao passo que seu irmão, evoluiu com anemia e icterícia, chegando há poucos dias à morte por Kernicterus ^(6,13).

A partir do século XIX muitos estudos avançaram na área científica. O pesquisador francês Chauffard contribuiu imensamente para o conhecimento da Imuno-hematologia, especialidade que surgiu da união de duas ciências médicas, a Imunologia e a Hematologia dando início a outras descobertas ⁽¹⁹⁾. Tais avanços chegaram ao conhecimento humano em 1900 em Viena com a descrição do grupo ABO pelo pesquisador Karl Landstainer e, dois anos depois, os cientistas Von de Castello e Sturli identificaram através de experimento a existência de um quarto grupo sanguíneo muito menos frequente, o grupo AB ⁽¹⁹⁾.

A partir de 1908 se tornou possível identificar o grupo sanguíneo dos indivíduos, pertencentes à herança genética que cada um recebe de seus respectivos genitores ⁽⁵⁾. Em 1910, Epstein e Ottenberg descreveram aspectos importantes acerca da herança genética ABO, sendo esse conceito ampliado por Bernstein em 1924, comprovando que os indivíduos herdam um gene ABO de cada um de seus progenitores e que esses genes determinarão quais antígenos estarão presentes na membrana eritrocitária, em consonância com as leis de Mendel. A teoria de Bernstein é utilizada amplamente como prova conclusiva nos casos de paternidade duvidosa ainda nos dias atuais ⁽¹⁹⁾.

Em 1932, Diamond *et al* conseguiram descrever e relacionar a incompatibilidade materno-fetal aos achados clínicos de anemia, icterícia, hidropsia e a presença de eritroblastos na circulação fetal, o que viria posteriormente dar o nome à doença hemolítica ^(7,13).

Na década de 40 Landstainer, Weiner, Levine e Stetson descobriram o sistema Rh e definiram os anticorpos anti-RhD em mulheres grávidas RhD negativos como os responsáveis pela sensibilização ^(6,20). Esse foi o acontecimento que despertou o maior interesse na prática da Imuno-hematologia, desde a descoberta do sistema ABO por Landstainer, pois a partir desse conhecimento, novas pesquisas foram realizadas por Levine e Stetson acerca da

incompatibilidade materno-fetal, ampliando o conhecimento sobre a patogenia das reações imuno-hematológicas entre mãe e filho e Wiener e Peters estabeleceram o conceito de isoimunização nas reações pós-transfusionais intragrupos ⁽¹⁹⁾.

O conhecimento do grupo Rh também proporcionou a descoberta de anticorpos bloqueadores ou incompletos, de subtipos do Rh por Wiener e Race, e de novos grupos designados pelo sobrenome do seu portador, a saber: Kell, Cellano, Lutheran, Lewis, Duffy e outros ⁽¹⁹⁾.

Em 1945, houve a introdução da exsanguineotransusão (EXT) por Wallerstein e posteriormente, a transfusão intrauterina (TIU) proposta por Liley em 1965 e o início da utilização da imunoprofilaxia anti-D em 1968 ⁽¹⁰⁾. Entretanto, somente a partir da década de 60 surgiram os primeiros relatos de incompatibilidade materno-fetal ABO resultando em DHPN ⁽⁶⁾, e neste ano, um RN foi a óbito devido à doença por anti-A da mãe, mesmo após ter sido submetido à exsanguineotransusão (EXT) ⁽⁵⁾.

O uso da Imunoglobulina Humana anti-D específica a partir dessa data foi um grande avanço para a redução da taxa de óbitos, uma vez que sua administração correta reduziu drasticamente o risco de sensibilização entre gestantes RhD negativos e seus respectivos filhos RhD positivos ⁽²¹⁾.

No Brasil essa profilaxia teve sua eficácia comprovada em estudo realizado por Rezende e Coslouski (1972) em 60 gestantes na Santa Casa de Misericórdia no Rio de Janeiro ⁽¹⁰⁾. Seu uso associado a terapêuticas já existentes vem sendo recomendado pelo Guidelines da Academia Americana de Pediatria há décadas ^(22,23). Contudo, para os casos de incompatibilidade ABO ainda não se desenvolveu vacinas até o momento.

1.2 Aloimunização Materna

A aloimunização é definida como uma resposta imunológica contra antígenos eritrocitários não próprios, ocorrendo geralmente devido à sensibilização nos casos de transfusões de sangue e gestações, pela presença de anticorpos maternos dirigidos contra antígenos presentes nas hemácias do feto, herdados de seu genitor ^(16,24,25,26). A sensibilização materna é um evento raro e insidioso na primigesta, podendo manifestar-se em cerca de 0,8 a 1,5% dos casos ⁽¹⁶⁾ devido à micro sangramentos durante o processo gestacional entre mãe e filho incompatíveis, por transfusão de sangue anteriormente infundido ou no momento atual ^(3,26,27), abortamento prévio e procedimentos invasivos ^(10,14).

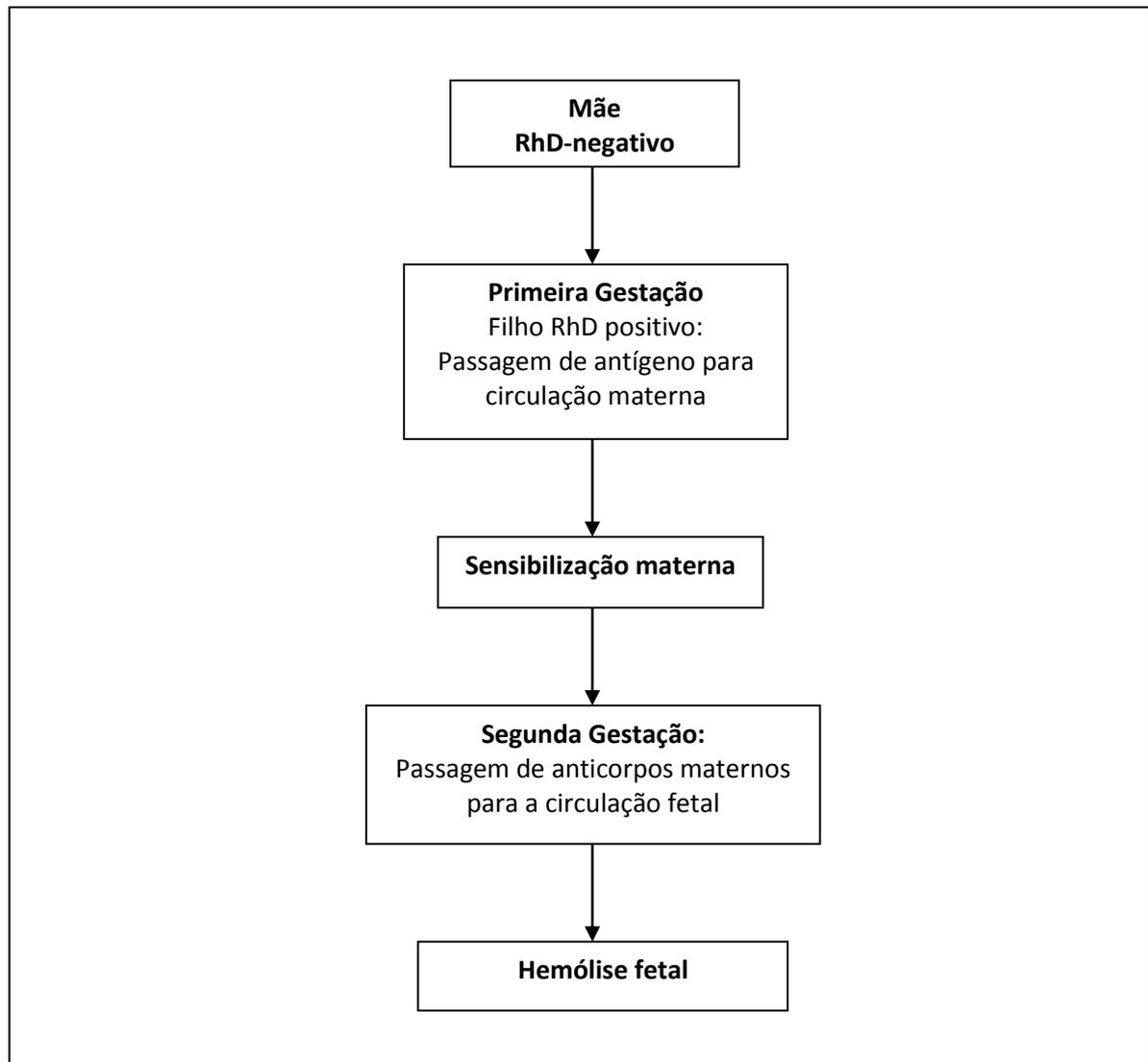
A aloimunização ocorre mais comumente no período pré-natal, principalmente no terceiro trimestre gestacional, período em que há possibilidade crescente de contato entre mãe e filho. Nessa fase, a gestante produz alo anticorpos que irão reagir contra antígenos eritrocitários fetais, herdado do fenótipo paterno e ausente nas hemácias maternas. ^(5,1). A mulher, uma vez sensibilizada, está em risco de desenvolver a doença hemolítica do feto e do neonato em gravidezes futuras ⁽¹⁾.

O protótipo da sensibilização materno-fetal é mais evidente nos casos de mãe do grupo sanguíneo O RhD negativo que concebe o primeiro filho O RhD positivo desencadeando a resposta imune primária, onde o principal antígeno eritrocitário implicado no processo de aloimunização é o anti-D ^(3,27,28). Na segunda exposição, isto é, na segunda gravidez, se a mulher já sensibilizada conceber outro filho O RhD positivo, seu organismo produzirá muitos anticorpos anti-RhD e estes ultrapassarão a barreira placentária chegando à circulação materna e conseqüentemente desencadeando a hemólise no RN ⁽¹³⁾.

No quadro abaixo é possível evidenciar o mecanismo de sensibilização materno-fetal durante o período gestacional entre uma mãe RhD negativo que concebeu um filho RhD positivo.

Figura 1. Mecanismo de sensibilização materna durante a gestação.

(Adaptado de Girelo, 2002)



A prevenção da aloimunização pelo anti-RhD deve ser realizada pela administração adequada da imunoglobulina anti-RhD. É desencadeada pela falha na administração da imunoprofilaxia, o que inclui desde a não administração, quanto o uso de dosagens inadequadas, transfusões de sangue e uso de drogas endovenosas ⁽⁴⁾.

O diagnóstico de aloimunização materna é realizado através da pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) no sangue da mãe, pelo método de Coombs indireto. Caso resultado seja positivo, os anticorpos devem ser identificados e titulados. A sensibilização materno-fetal em

gestantes do grupo sanguíneo ABO pode não ser desencadeada devido à proteção ABO, posteriormente descrita ⁽⁵⁾.

1.3 Fisiopatologia da hemólise no recém-nascido

A membrana eritrocitária é composta por uma dupla camada lipídica constituída por complexa mistura de fosfolípidos, colesterol não esterificado e glicolípidos, por onde se distribui inúmeras proteínas e radicais glican, na sua maioria canais protéicos e receptores, com capacidade de ligar-se a outras proteínas e lipídios. As proteínas da membrana são dos tipos: integrais e periféricas. As integrais, representadas pela banda 3, são glicoproteínas que atravessam ambas as camadas lipídicas, enquanto que as proteínas periféricas formam o citoesqueleto eritrocitário, localizado abaixo da camada lipídica. A capacidade da banda 3 em formar agregados define a senescência dos eritrócitos, pois possibilita sua ligação com anticorpos e remoção pelo baço ^(20,29).

Na primeira exposição, quando ocorre a passagem de eritrócitos do conceito para a circulação materna, o organismo pode identificar ou não estruturas da membrana eritrocitária como não próprias (non self) e desencadear a resposta imune primária, elevando a produção de anticorpos do tipo IgM ^(5,30).

A IgM é a imunoglobulina pentamérica encontrada principalmente no sangue e em menor quantidade na linfa na resposta imune primária (30). Sua estrutura favorece a ativação do sistema complemento até C9 levando à lise celular pelos seguintes mecanismos: hemólise intravascular com destruição das hemácias pela proteína C9 na circulação sanguínea e hemólise extra vascular através dos macrófagos do baço se as hemácias estiverem com a proteína C3b ligada à sua membrana, decorrente deste processo de ativação ⁽³¹⁾.

Tal mecanismo não incide em ameaça para o feto nesse momento, uma vez que a IgM possui alto peso molecular e não consegue transpor a barreira placentária. Caso o eritrócito

seja rapidamente retirado da circulação, essas estruturas podem não ser reconhecidas e não ocorrerá a sensibilização materna, o que comumente acontece nos casos de mãe O e filho A ou B, onde ocorre a proteção ABO. Nessas situações, se uma gestante do grupo O RhD negativo gerar uma criança A RhD positivo e ocorrer a passagem de hemácias fetais para a circulação materna, serão imediatamente eliminadas por anticorpos IgM anti-A fixadores de complemento, impossibilitando o reconhecimento do antígeno RhD ^(9,14).

No segundo contato a esse antígeno, ao ser cruzada a placenta, pode ocorrer um swicht da classe de anticorpos produzidos por células de memória materna, ou seja, uma rápida e maciça produção de imunoglobulina gamma (IgG) ⁽⁹⁾. De todas as imunoglobulinas que o corpo humano produz IgM, IgG, IgA, IgD e IgE, somente as IgGs podem cruzar a barreira placentária, recobrir as hemácias fetais, acelerando sua destruição e causar a DHPN ⁽³¹⁾. Como são relativamente pequenas e possui baixo peso molecular, esse mecanismo ocorre facilmente por um processo de transporte ativo favorecido pelos receptores contidos nas células placentárias ^(5,3). O transporte seletivo de IgG da mãe para o feto é realizado por uma proteína transportadora de IgG na placenta-FcRn, que está intimamente relacionada em estrutura às moléculas do MHC de classe I ⁽³¹⁾.

As moléculas de IgG dividem-se em sub classes denominadas IgG 1, IgG 2, IgG 3 e IgG 4, com diferenças biológicas significativas e diferenças estruturais, principalmente no número de ligações bissulfeto das células pesadas e nas características da região das dobradiças ⁽³²⁾. Entretanto, nem todas possuem a mesma habilidade de atravessar a placenta. A IgG 3 possui maior capacidade de ativação do complemento, seguida por IgG 1 e em menor índice IgG 2, sendo que a IgG 4 é incapaz de ativá-lo. As células fetais recobertas por IgG 1 e IgG 3 fixam proteínas do complemento até C3, causando tão somente hemólise extra vascular (figura 1), quando estas hemácias sensibilizadas são fagocitadas por macrófagos no baço que possuem receptores para a porção Fc das cadeias gama. A ativação do sistema complemento por IgG, depende também da disposição espacial dos epítomos. No caso do sistema Rh, não ocorre fixação do complemento, mesmo que os anticorpos sejam IgG 3 ^(32,31).

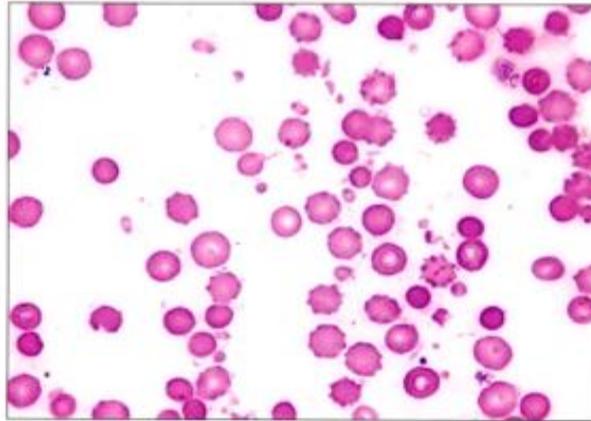


Figura 2. Anemia hemolítica (Anderson's Atlas of Hematology, 2001)

As IgGs podem ligar-se a antígenos existentes na superfície celular, sendo sua presença detectável *in vitro* pelo teste de aglutinação direta (TAD) método de Coombs direto, indicado para identificar a sensibilização dos eritrócitos fetais por IgG, o qual poderá apresentar-se positivo precocemente no concepto a partir da sexta à décima semana gestacional ⁽⁵⁾. Os anticorpos anti-eritrocitários de classe IgG, desenvolvidos pelo sistema imunológico materno, podem ser dirigidos contra qualquer um dos antígenos eritrocitários distribuídos nos 36 sistemas de grupos sanguíneos conhecidos e podem ser detectados através da técnica de Pesquisa de Anticorpos Irregulares (PAI) pelo método de Coombs indireto ⁽¹⁹⁾.

A migração de IgG 1 ocorre primeiro e culmina com o empobrecimento protéico fetal, levando ao edema, ascite e hidropisia ⁽³⁾. Quando a IgG 3 predomina, níveis menores de bilirrubina se elevam a partir da 28ª semana gestacional, porém a icterícia só se manifestará após o nascimento do bebê e se não for tratada evoluirá com o kernicterus e possibilidade de morte ⁽³²⁾.

Devido à hemólise exacerbada, a medula óssea se mostra excepcionalmente hiperplásica, aumentando cerca de seis a sete vezes mais a produção de hemácias. Quando a sobrevivência das hemácias for menor que vinte dias, provavelmente ocorrerá tal mecanismo compensatório, instalando-se a anemia. Devido à hiperatividade da medula óssea, os reticulócitos do sangue também estarão aumentados ⁽³³⁾.

1.4 A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN)

A DHPN é uma doença decorrente da incompatibilidade materno-fetal, sendo causada por anticorpos de classe IgG dirigidos contra antígenos de sistemas de grupos sanguíneos diversos tais como o sistema ABO, sistema Rh, sistemas Kidd, Duffy, Kell, MNS, Diego e outros, com níveis de gravidade e condições clínicas variadas. Comumente, está relacionada ao sistema ABO, porém, a maior imunogenicidade associa-se ao sistema Rh, principalmente ao antígeno anti-RhD ^(16,32,34).

A DHPN pode se manifestar nas formas clínicas anêmicas, ictericas e hidrópicas dependendo da intensidade da hemólise, estímulo eritropoético e predominância de IgG 1 ou IgG 3 no organismo fetal. O principal agravante à saúde do concepto no período intra-uterino é a anemia. Segundo ZAGO, 2013 “A anemia é um termo que se aplica ao mesmo tempo a uma síndrome clínica e a um quadro laboratorial caracterizado por diminuição do hematócrito, da concentração de hemoglobina no sangue, ou da concentração de hemácias por unidade de volumes” ⁽²⁹⁾.

A hemoglobina é um fator determinante para o diagnóstico de anemia e seus valores podem sofrer variação de acordo com a idade, sexo e localidades com altitudes elevadas. Contudo, em seres humanos normais seus níveis séricos podem oscilar entre: 15,9 g/dl em prematuros, 13,5 g/dl em RN a termo, 11 g/dl em crianças de seis meses até seis anos de idade, 12 g/dl em crianças de seis a quatorze anos de idade, 11 g/dl nas grávidas, 12 g/dl em mulher adulta e 13 g/dl em homens adultos ^(35,36).

A etiologia da anemia pode estar associada à perdas sanguíneas agudas (hemorragia aguda), menor produção de eritrócitos e diminuição da sobrevivência das hemácias, porém no período intra-uterino a principal causa de anemia no feto é a DHPN resultante da incompatibilidade materno-fetal ⁽³⁷⁾. A anemia hemolítica é caracterizada pelo encurtamento da sobrevivência dos eritrócitos, sendo de 120 dias para o adulto, 60 a 80 dias para o RN a termo e somente de 20 a 30 dias para os prematuros que nasceram entre 30 e 32 semanas gestacionais ⁽²⁹⁾.

Em condições fisiológicas a destruição das hemácias ocorre nos órgãos como fígado, baço e medula óssea no interior dos macrófagos. Na DHPN, a anemia resultante da hemólise exacerbada pode ser intravascular devido à fixação do fator complemento à membrana eritrocitária, contudo, pode ocorrer também a hemólise extra vascular ⁽³³⁾.

Estima-se que 20 a 25% dos conceptos apresentarão anemia grave ainda no período fetal por volta da 30ª semana gestacional, com possibilidade de hidropisia e morte. ⁽³⁸⁾. O acúmulo de produtos do catabolismo da hemoglobina, determinando o surgimento de mecanismos compensatórios que desencadeiam aumento da eritropoese medular e extra medular, tais como baço, fígado, placenta, rins e supra-renal levando a hepatomegalia, hipertensão portal, redução da pressão oncótica e hipoalbuminemia que induz a ascite, culminando com insuficiência hepática, falência cardíaca, efusão dos fluidos para a cavidade caracterizando a hidropisia ^(3,9,32).

Durante a hemólise ocorre a liberação do grupo heme e da bilirrubina indireta que será conjugada e eliminada pela placenta no período pré-natal. Tal mecanismo não incide em ameaça à saúde do feto neste momento, porém após o nascimento, o excesso de bilirrubina acarretará uma sobrecarga ao organismo do RN ^(39,40).

A bilirrubinemia neonatal é um problema comum que ocorre em cerca de 60% dos recém nascidos na primeira semana de vida ^(40,41). Devido à imaturidade hepática do RN, por não conseguir conjugar e excretar toda a bilirrubina resultante da hemólise, a hiperbilirrubinemia pode se instalar, manifestando-se clinicamente através da icterícia ⁽⁴⁰⁾. Este agravo representa maior perigo nesse momento que a anemia, que pode ser controlada mais facilmente. Entretanto, a forma não conjugada da bilirrubina que é a bilirrubina indireta, a qual é uma potente neurotoxina ⁽⁴²⁾ que poderá alojar-se nos gânglios e núcleos cerebrais levando a toxicidade, encefalopatia aguda e crônica também denominada Kernicterus ^(43,44,45). A transição da hiperbilirrubinemia progressiva à encefalopatia aguda é frequentemente rápida e imprevisível devido a uma estreita margem de segurança ⁽⁴²⁾.

Nos neonatos, a maioria dos casos de icterícia é devido à hiperbilirrubinemia indireta causada pelo processo de icterícia fisiológica do recém-nascido e também devido à incompatibilidades sanguínea ABO e Rh. A icterícia fisiológica reflete a adaptação do neonato ao metabolismo da bilirrubina, podendo ocorrer em 60% dos recém-nascidos a termos e 80% dos prematuros na primeira semana do nascimento ^(46,40) com pico médio de 6 mg/dl por volta de 72 horas e 11 mg/dl no 5º. dia de vida respectivamente ⁽³⁵⁾.

Outras causas de icterícia incluem: aleitamento materno exclusivo cuja mãe dispõe de pouco volume lácteo nos primeiros dias após o parto, presença de equimoses ou hematomas, infecções agudas, doenças respiratórias, história de asfixia e desidratação ⁽³⁵⁾. Na avaliação da icterícia do RN > 35 semanas de vida deve-se considerar também história de mãe diabética, deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6Pd), hipotireoidismo congênito e hereditariedade ^(40,43). Este agravo requer avaliação intensiva nos primeiros dias de vida e investigação quanto ao diagnóstico diferencial, e eventualmente a adoção de medidas profiláticas ou terapêuticas ⁽⁸⁾.

A icterícia clínica pode ser identificada durante o exame físico do neonato quando os níveis séricos de bilirrubina indireta se aproximam de 5 a 7mg %, podendo ser visualizada na face, evoluindo no sentido podal. Tais níveis apresentam-se entre 10 e 13 mg % se o tronco estiver comprometido e entre 15 a 20 mg % quando face, tronco e membros estão afetados ^(5,35).

A icterícia é considerada patológica quando o tempo de aparecimento, duração e nível de concentração atingem níveis séricos de bilirrubina superiores a 0,5 mg/dl/horas ou mais que 5mg/dl/ antes de 24 horas de vida em relação ao padrão considerado fisiológico, persistindo por 8 a 14 dias nos recém-nascidos a termo e prematuros respectivamente. Resultados de hiperbilirrubinemia significativa costumam apresentar BT>17mg/dl, costuma ser grave quando BT>25mg/dl e extrema BT>30mg/dl ⁽³⁹⁾.

Assim sendo, a encefalopatia bilirrubínica aguda pode se instalar evoluindo para o Kernicterus, evidenciando-se sinais de letargia, hipotonia, sucção débil, hipertonia, hiper extensão do pescoço, opistótomo, hipertermia, choro freqüente ^(35,47). Se não for tratada imediatamente, evoluirá para a forma crônica da doença trazendo sequelas permanentes como surdez, retardo no desenvolvimento mental, paralisia cerebral, deficiências motoras, podendo apresentar uma taxa global de comprometimento do desenvolvimento neurológico na população geral em torno de 10% ^(13,43).

1.5 Sistemas de Grupos Sanguíneos e os antígenos eritrocitários

Segundo classificação ISBT - International Society Blood Transfusion (2016) são conhecidos na atualidade, 304 antígenos eritrocitários reunidos em 36 sistemas de grupos sanguíneos no organismo humano, dos quais, cerca de 270 estão relacionados às reações transfusionais e doença hemolítica do neonato ^(48,49).

A DHPN está associada em 98% aos sistemas ABO e Rh, e 2%, aos demais sistemas de grupos sanguíneos como o Kell, Kidd, Duffy, MNS, Diego entre outros ^(32,16,34). Os casos de DHPN relacionados à incompatibilidade materno-fetal pelo sistema ABO são os mais comuns, porém com evolução clínica pouco significativa ⁽⁵⁰⁾. Todavia, quando associados ao sistema Rh apresentam clínica importante, com alto índice de mortalidade e comorbidade a ele implicados ^(49,51).

Os antígenos dos sistemas de grupos sanguíneos são estruturas macromoleculares formados por carboidratos, proteínas e glicoproteínas situados na superfície extracelular da membrana das hemácias. A identificação dos genes alelos dos grupos sanguíneos é útil para desvendar aspectos relacionados à função e importância da expressão das proteínas que apresentam antígenos na membrana eritrocitária ⁽⁵²⁾.

1.5.1 Incompatibilidade materno-fetal pelo Sistema ABO

A incompatibilidade materno-fetal ABO é descrita como a principal causa de anemia hemolítica nos RNs após a introdução da imunoprofilaxia anti-RhD, devido a significativa redução da incidência de icterícia grave resultante da incompatibilidade Rh ^(31,50).

A predominância do grupo ABO pode variar conforme a raça e população pesquisada, devido principalmente à migração dos povos e cruzamentos étnicos, como ocorre com os indígenas sul americanos, 100% do grupo O, e aborígenes australianos, 50% do grupo A e 50% do grupo O. Estudo realizado por Kirkman, citado por Girelo, 2002 também apontou uma associação entre DHPN e grupos étnicos, com uma frequência relativa da doença de 2 a 6 crianças negras para uma criança caucasiana. Outras pesquisas relacionaram uma frequência maior de DHPN em nigerianos, latino-americanos e árabes ^(5,50).

O locus ABO encontra-se no braço longo do cromossomo 9q34.1-34.2, autossômico. Os fenótipos eritrocitários desse sistema são classificados de acordo com a presença e/ou ausência do antígeno A e/ou B nas membranas das hemácias formando anticorpos contra os antígenos que não possuem. No caso da incompatibilidade materno-fetal, tais antígenos aderem-se às hemácias do RN, provocando a lise, enquanto ainda estão na circulação, desencadeando a hemólise intravascular ⁽⁴⁹⁾.

O sistema ABO é o mais importante na prática transfusional e de transplantes de órgãos ⁽⁹⁾, sua especificidade e distribuição sofre variação em todas as populações ao redor do mundo, sendo determinada pela presença de 03 alelos, A, B e O, em etnias distintas. Vale ressaltar que não é permitido transfundir sangue contendo um antígeno ABO ao receptor que não o possua, devido à presença de anticorpos naturais e regulares em seu plasma, os quais podem desencadear reação hemolítica intravascular, levando à alterações imunológicas, bioquímicas e culminar com a morte ⁽⁵²⁾. Os grupos sanguíneos ABO e Rh são úteis também em estudos genéticos da população, pesquisando padrões étnicos de migração, assim como na resolutividade de problemas médico legais e paternidade questionada ⁽¹³⁾.

Os anticorpos do sistema ABO, anti-A, anti-B e anti-A,B são chamados de regulares, pois normalmente são encontrados no soro/plasma de um indivíduo e direcionados a

antígenos que este não possui nas suas hemácias. Nos grupos sanguíneos A e B são encontrados anticorpos anti-B e anti-A respectivamente, os quais em sua maioria são de classe IgM e em pequena quantidade IgG. Já em indivíduos do grupo O há uma predominância de IgG e um anticorpo inseparável, o anti-AB, que reage tanto com hemácias A quanto B. Assim sendo, neonatos filhos de mães do grupo O, têm portanto maior chance de desenvolver a DHPN devido a presença de anticorpos anti-A e anti-B de classe IgG, ultrapassando facilmente a barreira placentária ^(13,50).

A proteção ABO ocorre no caso de gestante fenótipo O RhD negativo que concebe uma criança A ou B RhD positivo. Se eritrócitos do feto ultrapassarem a placenta chegando à circulação materna, serão imediatamente destruídos por anticorpos IgM anti-A ou anti-B, tornando a identificação do antígeno RhD pelo sistema imune impossível. Contudo, se a mesma mulher gerar um filho de fenótipo O RhD positivo, hemácias fetais presentes na circulação materna podem promover a sensibilização ⁽⁵⁾.

Quando a DHPN está relacionada ao sistema ABO, apresenta significância clínica mínima, pois raramente é grave e excepcionalmente provoca anemia, podendo passar despercebida, diferentemente do sistema Rh que pode apresentar elevada gravidade ^(9,32,34). A menor gravidade da doença hemolítica presente na incompatibilidade ABO é atribuída ao fato de que os antígenos A e B não estão bem desenvolvidos ao nascimento, e, que tais antígenos não são exclusivamente eritrocitários ⁽⁵⁾.

1.5.2 Incompatibilidade materno-fetal pelo Sistema Rh

Cerca que 85% da população mundial é constituída de indivíduos RhD positivo ^(5,19). Estima-se que a frequência entre europeus e caucasianos norte-americanos seja de 82 a 88%, em doadores de sangue do Estado do Amazonas o percentual sobe para 95% ⁽⁵³⁾, em negros africanos 92% e em algumas populações do extremo oriente chega a 99% ⁽⁴⁹⁾. Consequentemente os indivíduos RhD negativo compreendem um percentual muito inferior a este número e entre os brasileiros a estimativa é menor que 15% ⁽⁵⁴⁾.

A incidência do grupo Rh foi primeiramente descrita por Landstainer e Weiner entre os norte-americanos, os quais encontraram um percentual de 85% de RhD positivos e de 15% RhD negativos nos caucasianos. De acordo com Lima, 2001, essa estatística foi confirmada posteriormente por diversos autores nas Américas e na Europa com pequenas variações nesses percentuais entre diferentes raças ⁽¹⁹⁾.

O sistema Rh é muito complexo e altamente imunogênico e possui 50 antígenos a ele relacionados, todavia, apenas 05 sorotipos podem favorecer clinicamente o aparecimento da DHPN, a saber: D, C, E, c, e ^(6,32,51). Gestantes RhD negativo com filho RhD positivos são potencialmente capazes de produzir anti-D com volume inferior a 1 ml de sangue incompatível, os quais aderem-se aos eritrócitos, desencadeando a lise e anemia progressiva que pode levar ao óbito ⁽⁵⁾.

Os antígenos do sistema Rh são expressos unicamente na membrana dos eritrócitos, por duas proteínas RHD e RHCE, produto de dois genes altamente homólogos, localizados no cromossomo 1 ^(52,49). Possui maior imunogenicidade que os demais em cerca de 50 vezes e está mais frequentemente associado aos casos de aloimunização ⁽³²⁾. Isso ocorre porque tais proteínas apresentam diferenças importantes na sequência de seus aminoácidos, com 34 a 37 pontos de polimorfismos, dependendo do genótipo que gerou a proteína, e no mínimo 10 pontos de troca de aminoácidos estão presentes em loops externos das duas proteínas, tornando o antígeno RhD bastante imunogênico ⁽¹⁶⁾.

A expressão do antígeno D pode sofrer variação quantitativa e qualitativa devido à mutação do gene RhD negativo. As variantes do antígeno D incluem os antígenos D fraco, D parcial e Del ⁽⁵¹⁾. Nos caucasianos é identificada a completa deleção do gene RhD no fenótipo Rh negativo, enquanto que nos afro descendentes observa-se a presença da pseudogênese RHD e do gene híbrido RHD-CE ⁽⁵¹⁾, sendo encontrada um percentual de RhD negativo em 15% de mulheres caucasianas e apenas em 5% das negras americanas, sendo menos comum ainda entre as asiáticas ⁽⁶⁾.

Estudo realizado por Tiblad na Suécia em 2013 evidenciou que um percentual de 51% de mulheres RhD negativos foram sensibilizadas na primeira gestação e 33% ocorreu durante a segunda gravidez, porém 73% dos anticorpos anti-RhD se desenvolveram na concepção do segundo e terceiro filho, culminando com a necessidade de tratamento para DHPN em 56% dos fetos e RN ⁽⁵⁵⁾.

Os casos de DHPN causada por anti-RhD comumente são citados como severos devido à imunogenicidade desse antígeno e também pela possibilidade de uma titulação elevada, promovendo a hiperbilirrubinemia consequente da hemólise, anemia profunda e hidropisia fetal, com grande possibilidade de óbito ^(11,56).

1.5.3 Incompatibilidade materno-fetal por outros sistemas de grupos sanguíneos

A hemólise decorrente da incompatibilidade materno-fetal causada por outros sistemas de grupos sanguíneos além do ABO e Rh costuma ser rara e com etiologia semelhante, cujos anticorpos mais comumente envolvidos são o anti-c, anti-K (K), anti-E, anti-Fy e anti-Jk, com manifestações clínicas e gravidades diferentes ^(16,57,58). Tais anticorpos são chamados de irregulares pois sua ocorrência não é esperada e surgem como resposta do sistema imune humoral de um indivíduo exposto a antígenos incomuns do seu organismo, como ocorre, por exemplo, em gestações ou transfusões incompatíveis ^(20,27,31).

O sistema Kell (K), com classificação ISBT 006, possui 31 antígenos a ele associados e foi o primeiro a ser descoberto através do teste de antiglobulina humana, pela demonstração do anticorpo anti-K (K1) em caso de reações hemolíticas. O gene *KEL* está localizado no cromossomo 7q 33, podendo apresentar alta imunogenicidade e ser clinicamente significativo por desencadear reações transfusionais e hemólise no neonato ⁽³⁴⁾. O antígeno K (K1) é mais imunogênico que o antígeno c e o E, e, cerca de vinte vezes mais imunogênico que os demais antígenos, porém menos significativo clinicamente que o anti-RhD e com menor severidade na DHPN. É, portanto essencial se realizar a genotipagem do feto para se avaliar o risco gestacional para a doença ^(52,58).

O sistema Duffy (Fy) conforme classificação ISBT 008 é composto por 06 antígenos e com locus situado no cromossomo 1q22-23 ⁽⁵²⁾. Os antígenos do sistema Duffy (Fy) são geralmente de classe IgG, podem fixar complemento e apresentar-se clinicamente significativos. São considerados moderadamente imunogênicos e podem causar reações hemolíticas imediatas ou tardias durante a transfusão e DHPN ^(5,49).

O sistema Kidd (Jk) com classificação ISBT 009, possui 03 antígenos a ele relacionados até o momento e localização cromossômica 18q12. Os anticorpos do sistema Kidd são fracamente reativos e de difícil detecção, contudo podem causar reações hemolíticas imediatas graves, podendo ser fatais. Também estão associados com reações hemolíticas severas tardiamente ⁽⁵⁾.

Os Antígenos Jk^a, Jk^b e Jk³ são bem desenvolvidos nas hemácias de RNs, porém raramente podem causar hemólise no RN. Poucos casos de severidade e fatalidade foram descritos até o momento associados a essa doença e quando se manifesta, a indicação de fototerapia apresenta evolução clínica favorável ⁽⁵⁾.

O sistema Lewis (Le) com classificação ISBT 007 é composto por 06 antígenos e está localizado no cromossomo 19p -13.3 ligado ao locus C3 (complemento). São geralmente IgM, não ocasionam hemólise, pois as hemácias fetais não apresentam antígenos Lewis ⁽⁴⁹⁾.

O sistemas MNS com classificação ISBT 002 é o segundo sistema em diversidade de antígenos depois do Rh, com 46 antígenos a ele relacionados. Localiza-se no cromossomo 4q28-q31.1 e seus antígenos são codificados por 02 genes *GYP A* e *GYP B* ⁽⁵²⁾. O anti-M é geralmente natural e irregular, raramente causam reações hemolíticas ⁽³⁴⁾.

O sistemas Diego (Di), com classificação ISBT 010, possui 21 antígenos a ele associados, com locus situado no cromossomo 17q 21-q22. É composto principalmente por dois antígenos Diego^a (Di^a) e Diego^b (Di^b). Localizam-se na banda 3, a mais importante e

abundante proteína integral na membrana dos eritrócitos ⁽⁵²⁾. Tais antígenos são de classe IgG e subclasses IgG1 e IgG3, bons fixadores de complemento e podem estar envolvidos em reações transfusionais imediatas, tardias e DHPN por incompatibilidade materno fetal, incluindo casos severos ⁽⁵⁹⁾. Outros sistemas de grupos sanguíneos como o Lutheran podem estar implicados no desenvolvimento da hemólise neonatal, porém em menor frequência que os demais ⁽⁹⁾.

Como a maioria dos casos de reações hemolíticas é proveniente de sensibilização por transfusão sanguínea, deve-se avaliar com cautela a necessidade desse procedimento em crianças do sexo feminino e em mulheres em idade fértil, procurando, sobretudo selecionar hemocomponente fenotipicamente semelhante, especialmente para os antígenos mais imunogênicos como os antígenos do sistema Rh, Kell, Kidd e Duffy, pois esse é o único meio profilático para tais eventos ⁽³⁴⁾.

1.6 Métodos laboratoriais de diagnóstico nas incompatibilidades

Os exames laboratoriais usados para detecção de hemólise na incompatibilidade materno-fetal são: pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.) e identificação de anticorpos irregulares (I.A.I.) através do método de Coombs indireto e dosagem de anticorpo anti-RhD da mãe, teste de antiglobulina direta (T.A.D.) pelo método de Coombs direto no bebê, fenotipagem ABO/RhD da mãe e do filho. Outros exames como bilirrubinas totais e frações, hemograma completo e contagem de reticulócitos são importantes para identificar alterações nos aspectos clínicos que podem estar relacionados às incompatibilidades ⁽⁹⁾.

A P.A.I. deve ser realizada por todas as grávidas na primeira consulta pré-natal (13) e repetido na 28ª semana gestacional ⁽⁹⁾. Se o primeiro exame da mãe for positivo, devem-se programar exames regulares para verificação da titulação de anticorpos, com intervalo de duas a quatro semanas a partir do terceiro mês gestacional, e, semanalmente, ou a cada duas semanas no último trimestre da gravidez ⁽¹⁴⁾, aplicando o teste sorológico para outros antígenos Rh (C, c, E, e) ⁽⁹⁾, pois a presença de anticorpos irregulares é um sinal de alerta para a DHPN ⁽⁹⁾. Esses anticorpos podem ser detectados no soro e/ou plasma da mãe e para

determinação do fenótipo ABO recomenda-se pesquisar antígenos através da prova direta e anticorpos utilizando-se a prova reversa ^(19,36).

A titulação é realizada a partir da 12^a. semana gestacional, através de um método semi quantitativo, contudo, a severidade da hemólise no feto não é confirmada com precisão pela titulação de anticorpos anti-RhD, uma vez que, *in vitro*, mensura-se apenas a quantidade de anticorpos que se fixaram sobre os eritrócitos testados, o que depende da constância de afinidade e não o quantitativo total do anticorpo ⁽⁶⁰⁾.

O T.A.D. pelo método de Coombs direto é um teste utilizado para estudo da doença hemolítica no neonato, nas reações hemolíticas pós-transfusionais, na anemia autoimune e na hemólise resultante do uso de fármacos. O T.A.D. de RNs acometidos de DHPN por incompatibilidade Rh, frequentemente apresentam-se positivos ⁽⁵⁾.

Os exames laboratoriais podem variar de acordo com a gravidade da doença. O hemograma pode apresentar células jovens da linhagem eritróide (eritroblastos) e se a hemoglobina estiver abaixo de 7 mg/dl, eritrócitos imaturos aparecem na circulação sanguínea do feto ⁽⁴⁴⁾. Pode se encontrar reticulocitose e níveis de bilirrubinas em torno de 15 a 20% quando todo o corpo do RN está icterício, desde a face, tronco, abdômen, membros superiores e inferiores ⁽⁵⁾.

Um método muito importante que vem sendo realizado principalmente em centros mais avançados de investigação diagnóstica é a coleta de DNA livre no sangue periférico materno para identificar o tipo sanguíneo fetal. Esse método é bastante eficaz e com uma finalidade muito importante, pois caso RhD do conceito seja negativo e sua mãe RhD negativo, pode-se encerrar a investigação diagnóstica, não havendo a necessidade de expor essa mãe ao estresse emocional até o final da gravidez, como ocorre na prática convencional ⁽⁵⁵⁾.

1.7 Imunoprofilaxia anti-RhD

O uso da Imunoglobulina Humana anti-RhD tem sido amplamente utilizada ao redor do mundo na prevenção da aloimunização materna ^(6,28) associada à incompatibilidade materno-fetal RhD, a qual confere proteção em 98 a 99% dos casos quando administrada adequadamente em até 72 horas após o parto ⁽⁸⁾.

No Brasil, o manual do Ministério da Saúde, 2012 preconiza o uso da profilaxia anti-RhD após os casos de interrupção da gestação por abortamento, gravidez ectópica ou mola hidatiforme; durante o pré-natal em gestantes RhD negativo não sensibilizada que foi submetida a procedimentos invasivos como biópsia de vilo corial, amniocentese e cordocentese; em puérperas com Coombs indireto negativo e RN RhD positivo; em mulheres grávidas com risco de hemorragia feto-materna devido à placenta prévia e outros, e nas gestantes entre 28 a 34 semanas com Coombs indireto negativo e parceiros RhD positivos ⁽⁴⁾.

Nos EUA a dose de Imunoglobulina anti-RhD a ser administrada no pós-parto é de 300 µg, enquanto que na maioria dos países europeus utilizam-se 200 a 250 µg ⁽¹⁰⁾. No Brasil a apresentação disponível para uso é de 250 e 330 µg (Partogama SDF – Baxter) ou 300 µg, (Matergan – ZLB/Behing) ⁽¹⁶⁾. Sua utilização durante o pré-natal é mais comumente recomendada na 28^a. semana em dose única de 300 µg ou dividida em duas doses menores de 100 µg na 28^a. e 32^a. semana gestacional, na mesma dose indicada no período pós-natal, para prevenir a sensibilização, não sendo indicado o uso da profilaxia no último trimestre devido ao alto risco de sangramento materno-fetal indetectáveis nesse momento ⁽⁶⁰⁾.

A administração passiva da imunização com imunoglobulina anti-RhD nas primeiras 72 horas após o parto previne a aloimunização de mulheres RhD negativo expostas ao contato com sangue do feto RhD positivo. Isso ocorre devido ao mecanismo de ação da Ig anti – D neutralizar o antígeno D presente na superfície das hemácias do feto RhD positivo que ultrapassaram a placenta e chegaram à circulação materna, bloqueando a resposta imunológica com produção de anticorpos anti-RhD. Sua utilização não é indicada para mulheres previamente sensibilizadas, pois suprime apenas a resposta primária. A Ig anti-RhD

não confere proteção de outros anticorpos que também são capazes de desencadear a DHPN (55).

A imunoglobulina anti-RhD é derivada do fracionamento do plasma humano de indivíduos previamente sensibilizados por gestação, transfusão ou espontaneamente, para produzir anticorpos anti-RhD, podendo causar efeitos adversos à mulher. Pode ser realizada por via intramuscular (IM) e endovenosa (EV) sem se observar diferença em sua eficácia, reduz o risco de alo imunização de 2 para 0,1% em mulheres Rh negativas (60).

Alguns fatores podem favorecer o não cumprimento das diretrizes preconizadas pelo Ministério da Saúde no que diz respeito às indicações da profilaxia anti-RhD tais como a não identificação precoce de situações de risco e exposição, seu alto custo e uso restrito ao ambiente hospitalar, contribuindo para a manutenção de taxas elevadas de DHPN evitáveis, por RhD (6,18).

A função da imunoglobulina humana anti-D é evitar a sensibilização prévia da mãe, contudo, se a gestante já está imunizada, não há mais indicação para realizá-la (5). A omissão da administração da imunoglobulina anti-D é considerada a causa mais importante da falência da profilaxia (3,61) outras causas estão relacionadas à dose insuficiente ou inoportuna, hemorragia materno-fetal não identificada, transfusão sanguínea incompatível e sensibilização espontânea (3,18).

1.8 Aspectos Terapêuticos

A grande maioria dos casos de hiperbilirrubinemia indireta decorrente da hemólise resultante da incompatibilidade materno-fetal é controlada com a utilização de fototerapia (40,62), porém os casos de anemia fetal grave podem necessitar de Transfusão Intra-uterina (TIU) no período gestacional e Exsanguíneotransfusão (EXT) imediatamente após o nascimento (8).

O uso da fototerapia está indicado quando há sinais clínicos de icterícia no neonato, bilirrubina total elevada relacionada à idade gestacional, horas de vida e fatores de risco associados ⁽³⁴⁾. Trata-se de uma terapia simples, porém eficaz no tratamento da hiperbilirrubinemia neonatal que consiste na aplicação direta de um banho de luz sobre a pele do RN despido ⁽⁶²⁾. Pode ser realizada no ambiente hospitalar ou domiciliar, desde que, no momento da alta do RN, os níveis de bilirrubina estejam controlados e descartados os riscos adicionais como febre, letargia significativa, acidose, sepse, hemólise isoimune, deficiência de G6PD e albumina sérica menor que 3 mg/dl ⁽³⁵⁾.

A eficácia da fototerapia depende em especial dos seguintes fatores: comprimento de onda da luz, sendo ideais as lâmpadas azuis; irradiância espectral e superfície corporal exposta à luz. Alguns cuidados são essenciais para que não ocorram danos à saúde do RN tais como, o controle da hidratação, da temperatura e uso da proteção ocular ^(8,62).

A fototerapia pode ser suspensa quando os níveis séricos de bilirrubina total atingem 2mg abaixo dos níveis que acusaram a indicação, consensualmente abaixo de 15 mg/dl até 72 horas após o nascimento e 14 mg/dl após o quarto dia de vida. Recomenda-se realizar um novo exame para dosagem dos níveis de bilirrubina após 24 horas para checar o efeito “rebote”^(8,35).

A TIU é a única terapêutica específica para a anemia severa no período intra-útero, indicada para a prevenção e tratamento da hidropisia fetal, melhorando significativamente o prognóstico, evitando a morte ^(3,63). Está indicada nos casos de prematuridade fetal e anemia moderada ou grave quando o valor do hematócrito é inferior a 30% ⁽¹⁰⁾.

A técnica vem sendo aprimorada nos últimos anos e consiste na infusão intravascular de concentrado de hemácias, guiada por USG em tempo real. Estudo de Cabral 2001 com 61 fetos submetidos à TIU registrou uma mortalidade de 16,3% para os fetos não hidrópicos e 58,3 para os hidrópicos ⁽⁶⁴⁾. As complicações da TIU mais comumente citadas na literatura

são: bradicardia, hemorragia fetal, hematoma do cordão umbilical, ruptura prematura da membrana, corioaminionite e piora na sensibilidade ^(10,63).

Em centros de excelência em medicina fetal, a sobrevida após a TIU atinge taxas superiores a 90%, e, nos fetos com manifestação de hidropisia fetal a sobrevida alcança 78 a 84%, com risco de complicações por procedimento variando em torno de 9% e risco de óbito entre 1,6 a 4% ^(9,63).

A EXT é uma terapia que vem sendo utilizada com sucesso há décadas para tratar icterícia neonatal grave com sinais sugestivos de encefalopatia bilirrubínica ⁽⁶³⁾. A técnica consiste em trocar duas vezes a volemia do neonato para remover anticorpos anti-Rh e eritrócitos sensibilizados de sua circulação sanguínea, substituindo-o por sangue O RhD negativo após prova cruzada das hemácias do RN com o soro materno ⁽⁴⁴⁾.

A EXT é um procedimento invasivo não isento de riscos, podendo incidir em índices de mortalidade entre 0,5 a 3,3%. Estudo realizado por Sá *et al*, no Instituto Fernandes Figueira em 2009 no Rio de Janeiro, concluiu que a frequência de eventos adversos relacionados à EXT é elevada. Antes de sua indicação, a equipe deve criteriosamente avaliar a condição clínica do doente, levando em conta os riscos e benefícios da conduta ⁽⁶³⁾.

2. JUSTIFICATIVA

A incompatibilidade materno-fetal é uma das principais causas de anemia hemolítica e icterícia severa induzida pela hiperbilirrubinemia, resultando em disfunção neurológica com sequelas e kernicterus, culminando em mortes fetais e neonatais. A real ocorrência e impacto desses agravos na população brasileira são desconhecidos. No Brasil, poucos estudos remetem aos casos de incompatibilidade materno-fetal que culminam com a doença hemolítica, e as estatísticas vigentes sugerem sub notificação desses agravos.

Dessa forma, este estudo justificou-se pela relevância do assunto e por seu pioneirismo em maternidade deste Estado, com vistas ao preenchimento da lacuna, fortalecendo a pesquisa no Programa de Mestrado da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas – HEMOAM/UEA sobre o tema, ampliando as publicações de dados imuno-hematológicos das incompatibilidades materno-fetais no Amazonas. Espera-se contribuir com a assistência aos neonatos e mães incompatíveis, com vistas à detecção e prevenção deste agravo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar os aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal em recém-nascidos na cidade de Manaus.

3.2 Objetivos Específicos

Descrever características demográficas das mães e recém-nascidos incluídos no estudo.

Descrever a frequência dos grupos sanguíneos ABO e Rh das mães e recém-nascidos do estudo.

Descrever os aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal ABO.

Descrever os aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal por outros sistemas de grupos sanguíneos.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Casuística

4.1.1 Área de Estudo

Cidade de Manaus no Estado do Amazonas, Brasil.

4.1.2 Local de Estudo

A Maternidade Estadual Balbina Mestrinho situada na zona sul de Manaus – AM é referência para a realização de pré-natal e parto de alto risco na Região Norte. Adquiriu o status através da Rede Cegonha, projeto do Governo Federal que preconiza assistência humanizada às mães e recém nascidos, o que lhe confere destaque no cenário nacional. Atende ao Programa de mães Rh negativo desde 2004, realizando atendimento ambulatorial e hospitalar. Sua estrutura atual compõe-se de enfermarias com alojamento conjunto, Unidade

de cuidado intensivo neonatal convencional (UCINCO), Unidade de Tratamento Intensivo Neonatal (UTIN), Unidade de Cuidado Intermediário Neonatal Canguru (UCINCA), Unidade de Tratamento Intensivo Materno, Centro Cirúrgico, salas de parto e pré-parto. Dos 115 leitos disponíveis na Maternidade, 10 leitos são destinados ao pré-parto, 53 maternos e 52 infantis.

4.1.3 Período do Estudo

O estudo foi realizado nos meses de maio a setembro de 2015.

4.1.4 População do Estudo

Mães e seus respectivos conceptos, internados na Maternidade Balbina Mestrinho durante o período do estudo.

4.1.5 Amostra

Utilizou-se uma amostra consecutiva de 1.557 RNs no local do estudo durante um período pré-estabelecido de 4 meses de recrutamento. Essa amostra baseou-se na média mensal de 480 nascimentos no local do estudo, de acordo com dados estatísticos do Serviço de Arquivo Médico (SAME) da Instituição. No entanto, 132 RNs necessitaram ser excluídos devido à falta de informações nos prontuários, restando 1.425 recém-nascidos para inclusão nas análises do estudo.

4.1.6 Critérios de Elegibilidade

RNs e suas respectivas mães, com ou sem incompatibilidade sanguínea, independente de cor, tipo de parto, idade gestacional ao nascimento, idade materna, procedência, e que se encontravam internados no local de estudo no período.

4.1.7 Critérios de Exclusão

Foram excluídos os sujeitos para os quais o resultado de teste de tipagem sanguínea da mãe e/ou do RN ou a pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.) da mãe não estavam disponíveis nos prontuários.

4.2 Métodos

4.2.1 Método do Estudo

Trata-se de um estudo descritivo tipo corte transversal.

4.2.2. Método de inclusão dos sujeitos

Foram incluídos no estudo todos os RNs e mães internadas na maternidade do estudo durante o período de recrutamento que atenderam aos critérios de elegibilidade. Estes RNs foram identificados a partir dos prontuários médicos.

4.2.3 Método de coleta de dados

Utilizou-se um formulário (Anexo 5) para coleta de dados dos prontuários dos sujeitos da pesquisa para identificar informações acerca do pré-natal, parto, evolução clínica e laboratorial do neonato, desde a admissão até o momento da alta hospitalar quando se deu o encerramento do caso, sendo posteriormente armazenadas em um banco eletrônico para análise.

Após a alta hospitalar dos recrutados, os prontuários foram encaminhados ao SAME, onde passaram por exaustiva revisão da pesquisadora e os que atenderam aos critérios de elegibilidade foram inseridos no estudo.

4.2.3 Métodos laboratoriais de rotina da Instituição do estudo

No período de internação da gestante na Maternidade do estudo, a coleta de exames laboratoriais seguiu a rotina institucional. Imediatamente após sua admissão na referida unidade de saúde, os exames maternos solicitados são tipagem sanguínea ABO/RhD,

hematócrito, hemoglobina, VDRL e sorologia para HIV. Ainda na sala de parto, depois do nascimento do RN são colhidos 03 a 04 ml de sangue do cordão umbilical em tubo com EDTA contendo anticoagulante para a realização da tipagem sanguínea.

Em caso de risco infeccioso no neonato, outras solicitações de exames laboratoriais podem ser feitas pelo pediatra da Maternidade de acordo com a necessidade e evolução clínica do menor após 18 horas de vida, sendo estes: hematócrito, hemoglobina, TGO, TGP, bilirrubina total e frações, uréia, creatinina, ácido úrico e outros, a critério médico.

No banco de sangue, além dos exames de verificação de incompatibilidade ABO/RhD, também são realizados o Teste de antiglobulina direto (TAD) pelo método de Coombs direto e a Pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.) pelo método de Coombs indireto utilizando-se hemácias-teste contendo antígenos de grupos sanguíneos Rh, Kell, Kidd, Lewis, Duffy, MNS e Lutheran, cujas técnicas encontram-se nos anexos 6 e 7. As amostras que apresentam o PAI positivo foram encaminhadas para a identificação de anticorpos irregulares no laboratório de Imuno hematologia da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM.

4. 3 Análise estatística

Os resultados estão apresentados por meio de gráficos e tabelas onde se calculou as frequências absolutas simples e relativas para os dados categóricos, assim como Intervalo de Confiança ao nível de 95% (IC 95%) para as principais frequências. Na análise dos dados quantitativos, quando aceita a hipótese de normalidade por meio do teste Shapiro-Wilk, foi calculada a média e o desvio-padrão (Dp). Na análise dos dados categorizados foi utilizado o Teste do qui-quadrado com correção de Yates. Na comparação de duas variáveis quantitativas foi aplicado o coeficiente de correlação de Pearson.

O software utilizado na análise foi o programa Epi Info versão 7.2, distribuído pelo Centro de Controle de Doenças norte-americano (CDC). O nível de significância fixado nos testes estatísticos foi de 5%.

4.4 Considerações éticas

Esta pesquisa teve início após aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) envolvendo seres humanos da Fundação HEMOAM e a anuência Institucional (Anexos 1 e 2). Após o exame de qualificação, a banca sugeriu a retirada do TCLE, por se tratar de um estudo descritivo com coleta de dados do prontuário, não havendo contato entre a pesquisadora e a população necessariamente, o que foi acatado pelo CEP (Anexos 3 e 4). A privacidade dos sujeitos e o sigilo dos dados coletados serão resguardados conforme determinação dos aspectos éticos da Resolução N° 196/96 da Comissão Nacional de Ética, Brasil – 1996 sobre pesquisa com seres humanos. Todos os dados coletados foram utilizados para fins desta pesquisa, podendo a mesma vir a ser submetida à publicação em forma de artigo em revistas e apresentação em Jornadas Científicas e Congressos.

5. RESULTADOS

Durante o período do estudo, o serviço de neonatologia da Maternidade Balbina Mestrinho registrou um total de 1.821 nascimentos, dos quais 1.557 RNs foram recrutados, porém 132 necessitaram ser excluídos devido à falta de informações nos prontuários, restando, portanto, 1.425 RNs para inclusão nas análises deste estudo. A exclusão mais comum deu-se pela ausência do resultado da pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.) de algumas mães e dos testes de tipagem sanguínea dos neonatos ou maternos.

Os participantes do estudo, em geral, nasceram em boas condições clínicas (tabela 3), não havendo relato de RN hidrópico ou com Kernicterus, assim como nenhuma gestante submetida à TIU durante o pré-natal ou a EXT após o parto e nenhum caso de óbito por incompatibilidade materno-fetal foi descrito.

Na tabela 1 encontram-se as variáveis relacionadas às características demográficas dos recém-nascidos incluídos no estudo.

Tabela 1. Distribuição segundo dados demográficos dos recém-nascidos incluídos no estudo.

<i>Variáveis</i>	<i>n.</i>	<i>%</i>
Idade gestacional em semanas (n = 1418)		
27 --- 31	9	0,6
31 --- 34	12	0,9
34 --- 37	72	5,1
37 -- 42	1325	93,4
Cor (n = 1407)		
Parda	1393	99,0
Branca	12	0,9
Preta	2	0,1
Gênero (n = 1420)		
Feminino	729	51,3
Masculino	691	48,7
Peso (n = 1418)		
1000 --- 1500	7	0,5
1500 --- 2000	20	1,4
2000 --- 2500	82	5,8
2500 --- 3000	280	19,8
3000 --- 3500	555	39,1
3500 --- 4000	377	26,6
4000 --- 4500	77	5,4
> 4500	20	1,4
Média ± Dp	3284,4 ± 544,6	
Mínimo – Máximo	1080 - 5648	

n.= número absoluto; Dp = desvio-padrão

As variáveis maternas referentes à distribuição segundo a idade da mãe bem como o número de gestações encontram-se descritos nos gráficos 1 e 2.

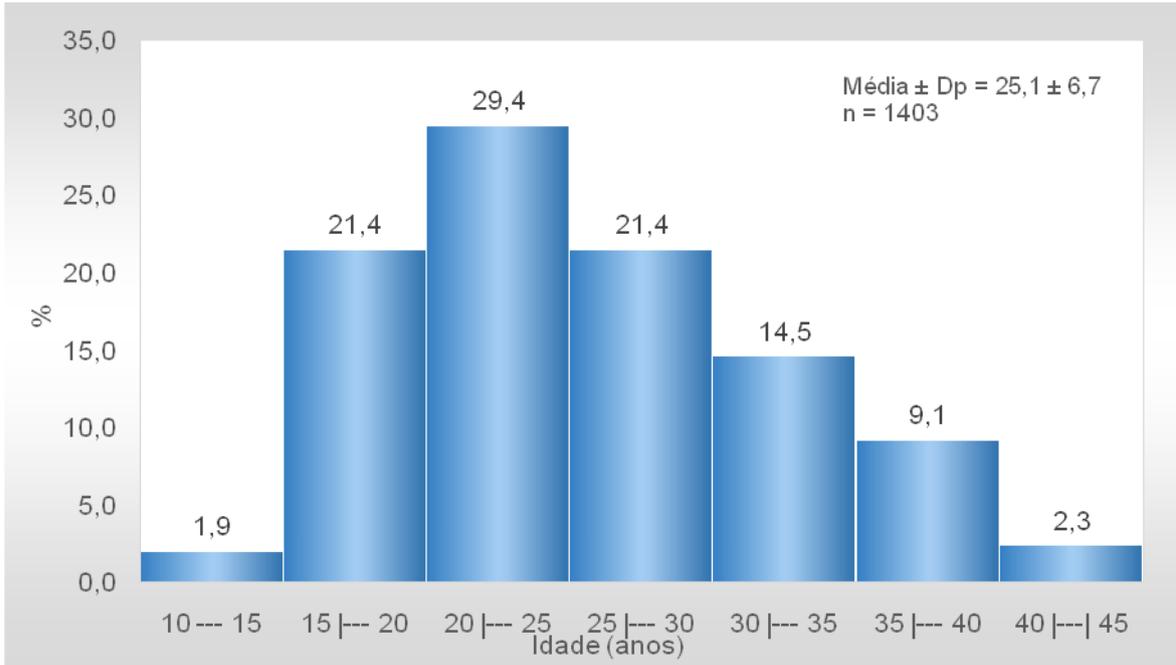


Gráfico 1. Distribuição segundo a idade das mães incluídas no estudo.

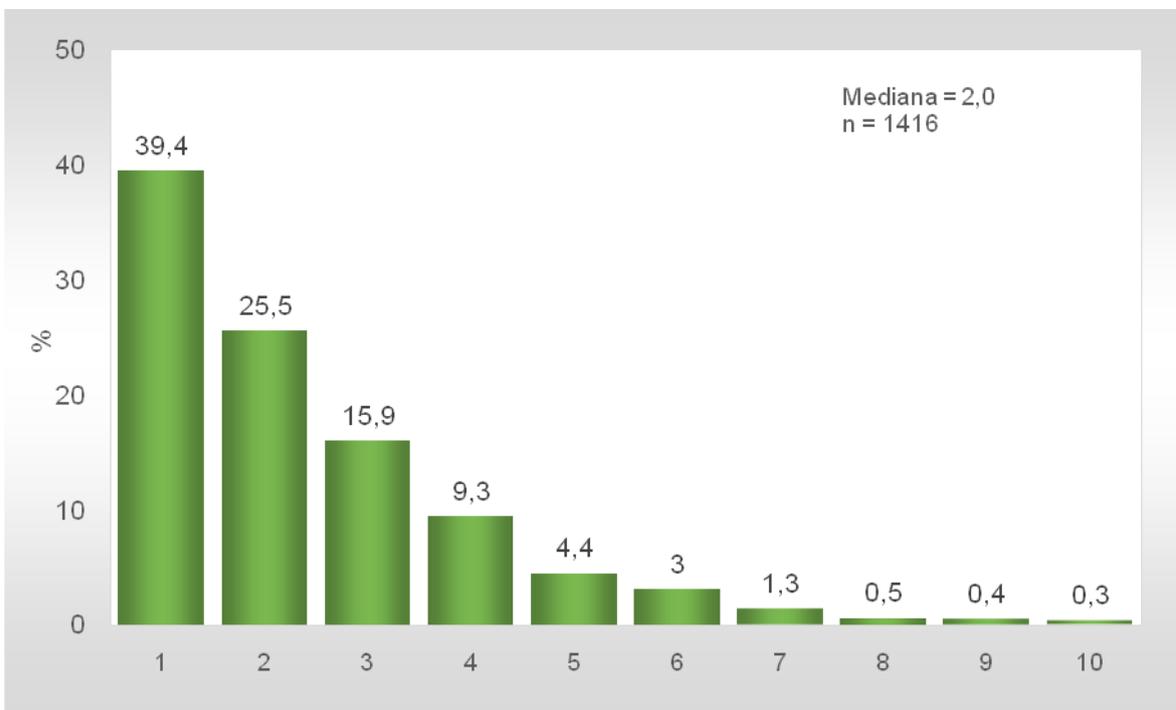


Gráfico 2. Distribuição segundo o número de gestações das mães incluídas no estudo.

Os grupo sanguíneos ABO das mães e recém-nascidos são demonstrados abaixo no gráfico 3. Encontrou-se um total de 1.349 (94,6%) mães RhD positivo, e 1.374 (96,4%) RNs RhD positivo, conforme se observa na tabela 2.

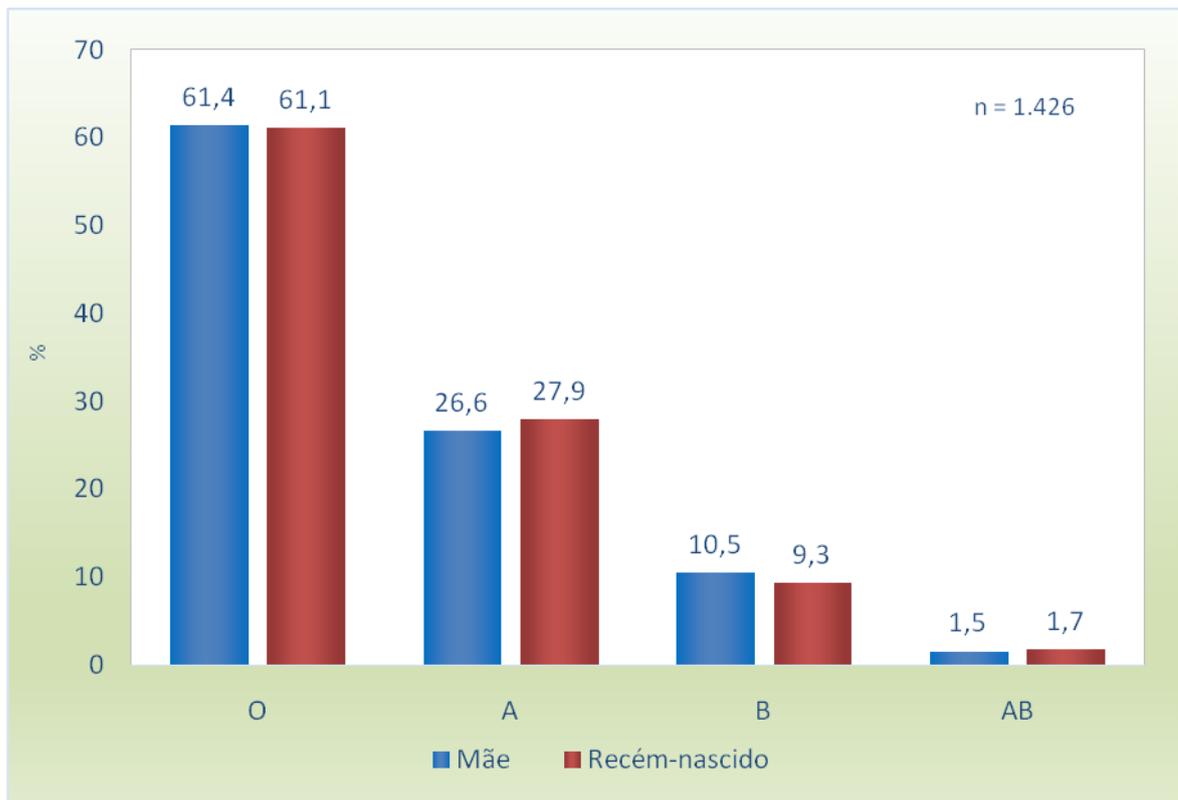


Gráfico 3. Distribuição segundo os grupos sanguíneos ABO das mães e recém-nascidos incluídos no estudo.

Conforme demonstrado na tabela 2, observa-se que o grupo O RhD positivo foi o mais frequente entre as mães, sendo 829 (58,1%) e recém-nascidos, 837 (58,7%), enquanto que a menor distribuição ocorreu entre os grupos AB RhD negativo entre as mães, sendo 4(0,3%) e B RhD negativo entre os recém-nascidos, 5 (0,4%).

Tabela 2. Distribuição segundo os grupos sanguíneos ABO e Rh das mães e recém-nascidos incluídos no estudo.

<i>ABO/Rh do Recém-nascido</i>	<i>ABO/Rh da Mãe</i>								<i>Total</i>
	<i>A/RhD+</i>	<i>A/RhD-</i>	<i>B/RhD+</i>	<i>B/RhD-</i>	<i>AB/Rh+</i>	<i>AB/Rh-</i>	<i>O/RhD+</i>	<i>O/RhD-</i>	
	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	<i>n.(%)</i>	
A/RhD+	201 (14,1)	9 (0,6)	20 (1,4)	1 (0,1)	8 (0,6)	2 (0,1)	139 (9,7)	6 (0,4)	386 (27,1)
A/RhD-	5 (0,4)	-	-	-	-	-	7 (0,5)	-	12 (0,8)
B/RhD+	8 (0,6)	1 (0,1)	60 (4,2)	6 (0,4)	7 (0,5)	-	44 (3,1)	1 (0,1)	127 (8,9)
B/RhD-	-	-	1 (0,1)	-	1 (0,1)	2 (0,1)	1 (0,1)	-	5 (0,4)
AB/Rh+	8 (0,6)	-	13 (0,9)	1 (0,1)	2 (0,1)	-	-	-	24 (1,7)
AB/Rh-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/RhD+	135 (9,5)	5 (0,4)	46 (3,2)	2 (0,1)	-	-	619 (43,4)	30 (2,1)	837 (58,7)
O/RhD-	5 (0,4)	2 (0,1)	-	-	-	-	18 (1,3)	9 (0,6)	34 (2,4)
Total	362 (25,4)	17 (1,2)	140 (9,8)	10 (0,7)	18 (1,3)	4 (0,3)	828 (58,1)	46 (3,2)	1425

n= número absoluto.

As variáveis relacionadas às condições clínicas dos recém-nascidos com incompatibilidade materno-fetal ABO/Rh estão dispostas a seguir na tabela 3.

Tabela 3. Distribuição segundo a incompatibilidade ABO e Rh entre as mães e recém-nascidos do estudo em relação a idade gestacional, peso ao nascer, apgar, necessidade de reanimação e UTI.

<i>Variáveis</i>	<i>Incompatibilidade ABO/Rh</i>				<i>P</i>
	<i>Sim</i>		<i>Não</i>		
	<i>n.</i>	<i>%</i>	<i>n.</i>	<i>%</i>	
Idade gestacional em semanas					0,280*
27 --- 31 (n=9)	1	11,1	8	88,9	
31 --- 34 (n=12)	6	40,0	6	50,0	
34 --- 37 (n=72)	19	26,4	53	73,6	
37 --- 42 (n=1325)	278	21,0	1047	79,0	
Média ± Dp	38,8 ± 1,7		38,9 ± 1,6		
Peso ao nascer					0,285*
1000 --- 1500 (n=7)	1	14,3	6	85,7	
1500 --- 2000 (n=20)	7	35,0	13	65,0	
2000 --- 2500 (n=82)	17	20,7	65	79,3	
2500 --- 3000 (n=280)	54	19,3	226	80,7	
3000 --- 3500 (n=555)	113	20,4	442	76,4	
3500 --- 4000 (n=377)	86	22,8	291	77,2	
4000 --- 4500 (n=77)	21	27,3	56	72,7	
> 4500 (n=20)	2	11,8	15	88,2	
Média ± Dp	3315 ± 578		3276 ± 535		
Apgar 1					0,179**
< 7 (n=44)	13	29,6	31	70,4	
≥ 7 (n=1369)	289	21,1	1080	78,9	
Apgar 5					0,999***
< 7 (n=5)	1	20,0	4	80,0	
≥ 7 (n=1413)	303	21,4	1110	78,6	
Necessidade de reanimação					0,829**
Sim (n=67)	15	22,4	52	77,6	
Não (n= 1358)	289	21,3	1069	78,7	
Necessidade de UTI					0,462**
Sim (n=77)	19	24,7	58	75,3	
Não (n=1348)	285	21,1	1063	78,9	

n. = número absoluto. * Teste *t-student*; ** Teste do qui-quadrado; *** Teste exato de *Fisher*

Não foi encontrada significância estatística entre as variáveis clínicas dos recém-nascidos e as incompatibilidades materno-fetais apresentadas na tabela 3.

No gráfico 4 é possível encontrar a distribuição dos grupo sanguíneo ABO das mães e recém-nascidos com a presença de icterícia , onde pode-se verificar que esse agravo clínico é mais frequente nas incompatibilidades entre as mães do grupo sanguíneo O que tiveram filhos A ou B, do que nas incompatibilidades entre mãe A com filho B ou mãe B com filho A.



Gráfico 4. Distribuição segundo o grupo sanguíneo ABO das mães e recém-nascidos incluídos no estudo, relacionado com a presença de icterícia.

A incompatibilidade materno-fetal ABO esteve presente em 250 (17,5%) do total de 1.425 RNs. Neste grupo, o relato de icterícia foi encontrado em 122/250 (48,8%) RNs, em comparação ao observado em 341/1175 (29,0%) dos RNs sem incompatibilidade ABO. Isto evidenciou uma relação estatisticamente significativa entre a incompatibilidade ABO e o desenvolvimento de icterícia (OR: 2,3; IC95% 1,76-3,1, $P < 0,0001$) de acordo com Tabela 4.

Tabela 4. Relação entre incompatibilidade ABO e relato de icterícia nos recém-nascidos do estudo.

<i>Incompatibilidade ABO</i>	<i>Relato icterícia (+)</i>		<i>Relato icterícia (-)</i>		<i>Total</i>		<i>P*</i>
	n	%	n	%	n	%	
Sim	122	48,8	128	51,2	250	100	<0,0001
Não	341	29,0	834	70,9	1.175	100	
Total	463	32,4	962	67,5	1.425	100	

*Teste do qui-quadrado.

Esta relação não foi encontrada nos casos de incompatibilidade Rh e relato de icterícia, como evidenciado pela falta de significância estatística, apenas evidenciado, uma fraca relação (OR: 1,01; IC95% 1,76-2,7, $P = 0,049$) quando comparada aos casos dos ABO incompatíveis.

Na Tabela 5 observou-se uma relação estatisticamente significativa entre a presença de incompatibilidade ABO e a necessidade de fototerapia em pacientes com relato de icterícia (OR 1,80; IC95% 1,13-2,89, $P = 0,01$).

Tabela 5. Relação entre incompatibilidade ABO e necessidade de fototerapia nos recém-nascidos do estudo.

<i>Incompatibilidade ABO</i>	<i>Fototerapia (+)</i>		<i>Fototerapia (-)</i>		<i>Total</i>		<i>P*</i>
	n	%	n	%	n	%	
Sim	89	72,9	33	27,0	122	100	<0,01
Não	191	59,8	128	40,1	319	100	
Total	280	63,4	161	36,5	441	100	

*Teste do qui-quadrado.

Em relação à incompatibilidade Rh e a necessidade de fototerapia, uma tendência à relação estatística foi observada (OR: 2,45; IC95% 0,97 – 5,92, P=0,05), conforme Tabela 6.

Tabela 6. Relação entre incompatibilidade Rh e necessidade de fototerapia nos recém-nascidos do estudo.

<i>Incompatibilidade Rh</i>	<i>Fototerapia (+)</i>		<i>Fototerapia (-)</i>		<i>Total</i>		<i>P*</i>
	n	%	n	%	n	%	
Sim	22	78,5	6	21,4	28	100	<0,05
Não	191	59,8	128	40,1	319	100	
Total	213	100	134	100	347	100	

*Teste do qui-quadrado.

Na tabela 7 encontra-se disposto o resultado da pesquisa de anticorpos irregulares maternos para a detecção de anticorpos de outros sistemas de grupos sanguíneos.

Tabela 7. Distribuição segundo a incompatibilidade ABO e Rh entre as mães e recém-nascidos do estudo e o resultado do PAI.

<i>Incompatibilidade ABO / Rh</i>	<i>PAI</i>				<i>Total</i>
	<i>Positivo</i>		<i>Negativo</i>		
	<i>n.</i>	<i>%</i>	<i>n.</i>	<i>%</i>	
Incompatibilidade ABO	-	-	240	100	240
Incompatibilidade Rh	3	5,5	51	94,4	54
	-	-	10	100	10
Compatível	-	-	1121	100	1121
Total	3	0,2	1422	99,8	1425

n = número absoluto. Não foi possível aplicar a estatística de teste devido as restrições do teste qui-quadrado.

Como demonstrado na tabela 7, 02,% do total de mães apresentaram PAI positivo, sendo o anti-RhD o único anticorpo irregular encontrado. Considerando apenas as incompatibilidades Rh, o percentual de P.A.I. positivo passa a ser 5,5%.

Obs: Os RN que apresentaram incompatibilidade ABO e Rh simultaneamente, foram somados a ambos os grupos isoladamente, justificando a soma final encontrada na tabela 4.

*Teste do qui-quadrado.

6. DISCUSSÃO

Características demográficas e clínicas das mães e RNs

As características demográficas evidenciaram uma predominância do gênero feminino 729 (51,3%) e da cor parda 1.393 (99%) nos RNs do estudo. Tais características são compatíveis com as divulgadas pelo IBGE em 2010 onde se destacou que a população de Manaus alcançou um contingente de 1.802.014, das quais 51,2% foram identificadas como mulheres e um índice de 74,2% do total declarou-se pardo ⁽⁶⁵⁾. As características cor/raça não se mostraram relacionadas a agravos neste estudo e nem na Pesquisa Nascer no Brasil realizada por Lansky, *et al*, 2014 ⁽⁶⁶⁾, provavelmente porque tais características demográficas não estiveram relacionadas a nenhuma doença específica nesses neonatos.

O peso dos neonatos variou entre 1.080 e 5.648 kg, dos quais, a grande maioria 1.309 (92,3%) dos conceptos apresentou peso superior a 2.500 ao nascer, e como não houve casos de hidropsia confirmada ao nascimento, tal resultado pode estar relacionado ao crescimento fetal esperado. Estudo realizado por Alencar em 1999 na cidade de Manaus com 371 mães e seus recém-nascidos vivos na Maternidade Balbina Mestrinho, a mesma desde estudo, constatou a ocorrência de déficit ponderal ao nascimento de 30,5% entre os RNs sendo estes de baixo peso e peso insuficiente, tendo como fatores determinantes a gravidez em adolescentes, baixa estatura materna e baixa escolaridade ⁽⁶⁷⁾, porém não foi avaliado se havia casos de incompatibilidade sanguínea ou doença associada ao estado geral desses RNs.

Essa diferença encontrada entre ambos os estudos provavelmente deu-se pelo perfil da população assistida pela referida maternidade naquela época, sendo de baixo poder aquisitivo da área metropolitana e rural do Estado do Amazonas ⁽⁶⁷⁾. Contudo, na atualidade, essa Instituição faz parte da Rede Cegonha, projeto do Governo Federal que lhe confere destaque no cenário nacional, elevando o seu status, atendendo pessoas de classes sociais diversas, isto sem citar os avanços ocorridos na população amazonense.

Foi encontrado um baixo índice de prematuridade entre os recrutados, pois somente 16 (8,5%) dos recém-nascidos incompatíveis nasceram entre 27 a 36 semanas gestacionais e entre o total de RNs esse índice foi de 93 (6,6%), dessa forma não foi evidenciada relação de

significância estatística entre a idade do neonato em semanas ao nascimento e incompatibilidade materno-fetal. A idade gestacional ao nascimento, em semanas, foi calculada pela data da última menstruação (DUM) ou determinada pela USG realizada até a primeira semana de gravidez.

Segundo a OMS, anualmente, um número estimado de 15 milhões de bebês nascem prematuros ao redor do mundo, sendo esta, a principal causa de morte entre crianças menores de 5 anos de idade, dos quais três quartos deles poderiam ser salvos com intervenções já preconizadas e de baixo custo ⁽⁷⁴⁾. De acordo com os dados do Ministério da Saúde, 2012, a taxa de mortalidade neonatal no Brasil é considerada elevada, 11,2 óbitos por 1.000 nascidos vivos, quando comparada com outros países, atingindo maior proporção de óbitos nas regiões norte e nordeste ⁽⁷⁴⁾. Neste estudo não foram agregados os RNs natimortos, uma vez que estes não atenderiam os critérios de inclusão, porém, dentre os recrutados não se notificou nenhum caso de óbito.

Contudo, a hemólise grave no RN que cursa com hiperbilirrubinemia significativa e icterícia resultante da incompatibilidade materno-fetal pelo anti-RhD pode incluir-se entre as causas de mortalidade na região Norte, corroborando com os estudos de Pacheco, 2015, uma vez que esse agravo dispõe de profilaxia bem definida há décadas, porém devido a falhas no processo de utilização, ainda persiste ⁽²⁾.

Neste estudo, essa falha pode ter ocorrido na atenção básica à saúde da mulher durante o pré-natal, quando se deveria realizar o encaminhamento da gestante exposta ao risco de aloimunização para o serviço de referência de alto risco, isto é, para a Maternidade do estudo, uma vez que o caso de DHPN ocorreu na segunda gestação. Assim sendo, é imprescindível que medidas preventivas vigentes sejam reforçadas, proporcionando a melhoria na qualidade e o acesso aos serviços de saúde de maior complexidade.

A idade materna apresentou variação entre 13 e 45 anos, com média de 25,1 anos, sendo que do total de mães, 28,1% possuía idade inferior à 20 anos. Essa variável foi importante para identificar se havia relação entre a idade materna e a condição clínica do concepto após o parto, sobretudo nos neonatos incompatíveis, pois alguns estudos afirmam que a menor idade materna, pode estar relacionada com situações de maior vulnerabilidade,

riscos físicos, psicológicos e sociais ⁽⁶⁸⁾, elevando o índice de prematuridade ⁽⁶⁹⁾, baixo peso e pior condição clínica do recém-nascido ao nascimento ^(69,70).

Apesar do elevado percentual de gestantes abaixo de 20 anos (28,1%) neste estudo, sendo esta uma característica marcante na população amazonense, não foi possível afirmar que a pior condição de vitalidade ocorreu entre os RNs das respectivas mulheres, entretanto pode-se dizer que a maioria dos RNs estava em condições clínicas favoráveis ao nascimento, conforme se verifica nas tabelas 1 e 3. Estudos futuros poderiam considerar indicadores e análise mais sensível para captar possíveis associações entre tais características demográficas e as condições clínicas dos RNs.

O número de paridade variou entre 1,0 e 10 filhos, com mediana de 2,0 filhos. A mulher com mais de uma gestação, em uma relação de incompatibilidade com seu filho, está mais exposta a situações em que ocorra a sensibilização e conseqüentemente, a aloimunização. Essa informação tem grande importância na etiologia da DHPN, pois segundo Baiocchi, 2009, a sensibilização é um evento pouco comum nas primigestas, ocorrendo em cerca de 0,8 a 1,5 das vezes, correspondendo a um total de 5 a 6% dos casos de aloimunização (9). Porém, estudo retrospectivo na Nova Zelândia realizado por Badami, 2014, encontrou uma taxa de aloimunização mais elevada, com estimativa de 13,3% para as primigestas e 86,6% para as mulheres com gestação prévia ⁽⁷⁷⁾.

Tal evidência chama atenção para a necessidade de políticas públicas mais efetivas com vistas à prevenção das aloimunizações tanto na atenção primária durante o pré-natal, quanto na secundária e terciária no âmbito hospitalar, uma vez que esta é uma condição irreversível para a mulher.

Frequência de grupos sanguíneos ABO e Rh das mães e RNs

Neste estudo, a distribuição do grupo O foi de 61,4% para as mães e de 61,1% para os RNs; do grupo A, 26,6% para as mães e 27,9% para os RNs; do grupo B, 10,5% para as mães e 9,3% para os RNs e do grupo AB, 1,5% para as mães e 1,7% para os RNs. Tais achados foram muito semelhantes aos dados do HEMOSYS - Sistema de Informação da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas – HEMOAM no ano de 2015, onde 95.689 bolsas de sangue foram coletadas entre os doadores de sangue desse Estado, das quais 59.405 (62%)

foram do grupo sanguíneo O, 26.064 (27,2%) do grupo A, 8.226 (8,59%) do grupo B e 1.994 (2%) do grupo AB ⁽⁵³⁾.

Uma vez que nosso estudo foi realizado na cidade de Manaus – AM, podem-se explicar resultados quase que idênticos para ambos os seguimentos e os encontrados pelo HEMOSYS – HEMOAM ⁽⁵³⁾. Porém, vale ressaltar que percentuais do grupo O acima de 60%, não são comuns entre os povos ao redor do mundo, e nem mesmo no Brasil, evidenciando uma peculiaridade singular de nossa população. Estudo realizado por Bier, 1982 em populações brasileiras, identificou uma frequência aproximada para os grupos sanguíneos do sistema ABO de 45% para o grupo O, 41% para o grupo A, 10% para o grupo B e 4% para o grupo AB ⁽⁷⁸⁾. Coelho, 2010 e Silva, 2011 confirmam os dados acima descritos em seus estudos nos Estados de Minas Gerais e Mato Grosso respectivamente ^(71,72). A singularidade observada em nossa amostra e nos dados do HEMOSYS-HEMOAM ainda necessita de maior investigação, porém tal evento pode explicar-se devido a elevada miscigenação entre a população amazonense.

Quanto ao grupo Rh, foi encontrado um percentual em torno de 95% para o RhD positivo e 5% para o RhD negativo nas mães e RNs deste estudo. Estudo de Agarwal *et al* na Índia, com 10.000 doadores de sangue em cinco regiões geográficas daquele país em um estudo multicêntrico, com os seguintes resultados: grupo O 37,12%, grupo B 32,26%, grupo A 22,88% e AB 7,74%, sendo o grupo O RhD positivo o mais prevalente (94,61%) ⁽⁷⁹⁾. Em ambos os estudos identificou-se uma semelhança quanto ao percentual do grupo Rh. Tal situação pode estar ocorrendo devido a uma possível relação de ancestralidade entre características genéticas de povos amazônicos e os povos orientais.

Pesquisa realizada pelo Instituto de Antropologia Evolutiva Max Planck de Leipzig, na Alemanha, e da Academia Chinesa de Ciências em 2003 sobre a análise genética do DNA de um fóssil mostrou semelhanças com os perfis genéticos dos asiáticos e dos ameríndios (termo utilizado para denominar os indígenas das Américas) da atualidade, sugerindo que os dois têm um ancestral em comum, justificando algumas semelhanças entre ambos os povos. Acredita-se que os ameríndios iniciaram a ocupação humana da Amazônia, o que explicaria tal semelhança.

Nos EUA, em pesquisa realizada a partir de banco de dados demográficos que continham informações fenotípicas raciais ou étnicas ABO/RhD em 05 bancos de sangue no país ao longo de 10 anos, identificou o maior percentual do grupo O (56,5%) ocorrido entre os hispânicos (indivíduos de origem mexicana, porto-riquenhos e cubanos) ⁽⁷³⁾, o que também pode estar relacionado à situação de ancestralidade como no caso anteriormente citado.

O conhecimento da frequência fenotípica de grupos sanguíneos é um importante mecanismo para a prevenção das aloimunizações e o melhor planejamento para uma gestão eficaz do estoque de bancos de sangue e estimar as demandas de hemoderivados, levando-se em conta as necessidades dos indivíduos.

Aspectos clínicos na incompatibilidade materno-fetal

Neste estudo foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a incompatibilidade materno-fetal ABO e a presença de icterícia (Tabela 4). Isso evidencia a necessidade de maior investigação quanto os aspectos clínicos nas incompatibilidades ABO, pois dos 463 (32,4%) relatos de icterícia nos RNs do estudo, 122 (26,3%) eram incompatíveis com suas respectivas mães, o que evidenciou uma relação estatisticamente significativa entre a incompatibilidade e o desenvolvimento desse agravo, levando a crer que os recém-nascidos com incompatibilidade ABO tem maior chance de desenvolver icterícia. Entre estes, 16 (13,1%) dos RNs apresentaram icterícia nas primeiras 24 a 48 horas de vida e todos evoluíram com necessidade de tratamento com fototerapia. Destes, 03 (2,4%) evoluíram com necessidade de UTI, apresentando bilirrubina indireta superior a 16 mg/dl. Observou-se um caso em que houve indicação de EXT, contudo, o procedimento foi suspenso posteriormente. Tais achados corroboram com autores citados neste estudo, pois os casos de incompatibilidade ABO são os mais frequentes, porém com clínica pouco significativa ^(5,9). Todavia, estes casos necessitam de um acompanhamento minucioso, pois não se descarta a possibilidade de evolução com piora com necessidade de UTI.

Quanto ao Escore de APGAR no primeiro minuto de vida, 96,9% dos recém-nascidos apresentaram resultado superior a 7 e quase 100% evoluíram no quinto minuto de vida com pontuação maior que 7. O Escore de APGAR é o mais empregado para avaliar as condições de vitalidade do recém-nascido e seu ajuste imediato à vida extra-útero. Nos casos de

incompatibilidade materno-fetal que cursam com DHPN, resultados ruins são esperados pela grave condição clínica em que os fetos encontram-se no período intra-útero.

Em seu estudo realizado no CEMEFÉ-HC/UFMG, Villaschi, 2012 verificou que 20% dos recém-nascidos com DHPN apresentam piores índices de APGAR ao nascimento, porém, em nosso estudo não foi evidenciado tal relação com os recém nascidos incompatíveis, mesmo naqueles que evoluíram posteriormente com DHPN ⁽¹⁰⁾. Isso se deve ao fato que, no estudo de Villaschi, 100% de sua população constituiu-se de RNs com diagnósticos já confirmados de DHPN, critério este que não fez parte da inclusão em nosso estudo, o que pode justificar as boas condições clínicas dos conceptos ao nascimento.

A necessidade de reanimação na sala de parto foi indicada para 67 (4,7%) RNs, os quais precisaram de algumas manobras, tais como: ventilação por pressão positiva (VPP), uso de máscaras de oxigênio, intubação endotraqueal, massagem cardíaca e uso de medicamentos. Contudo, a maioria dos prontuários não relatava exatamente quais foram os procedimentos realizados durante a reanimação e em alguns prontuários foi assinalada a opção SIM para o critério de reanimação, porém sem especificar quais manobras foram utilizadas. Os registros incompletos constituíram-se uma das limitações em nosso estudo e pode se estender a outros estudos onde não se encontram prontuários eletrônicos e protocolos bem definidos nas instituições estudadas.

A icterícia que surge nas primeiras 72 horas de vida do RN associada à incompatibilidade materno-fetal e hiperbilirrubinemia significativa, isto é, BT > 17mg/dl pode sugerir presença de icterícia relacionada ao Kernícterus, segundo Almeida, 2010 ⁽³⁹⁾. Assim sendo, os casos acima relatados poderiam estar desenvolvendo hemólise nos neonatos, uma vez que apresentaram clínica importante e necessidade de tratamento com fototerapia, sem, contudo terem sido notificados como tal, o que aponta para a possibilidade de sub registro da DHPN, corroborando com estudo de Pacheco, 2015 ⁽²⁾.

Isso se constitui um problema de saúde pública importante no Brasil, uma vez que as taxas de frequência de determinadas doenças apresentam-se muito inferiores que sua verdadeira condição e mais baixas que as encontradas em países desenvolvidos. Conhecer a real situação epidemiológica é um importante mecanismo para a elaboração de estratégias preventivas, mas se isso não ocorre, o problema é toma dimensões incalculáveis.

Segundo o Ministério da Saúde, na década de 2000, a icterícia, também denominada doença hemolítica ou Kernícterus foi notificada anualmente como a causa básica de 200 a 280 RNs, dos quais 50% eram nascidos na região nordeste e um terço na região norte ⁽⁷⁴⁾. Em nosso estudo não houve relato de óbito neonatal, porém, verificou-se a necessidade de maior investigação para se identificar o real motivo desse agravo uma vez que a icterícia é a causa mais frequente de reinternações em Maternidades e em hospitais pediátricos no primeiro mês de vida, elevando os custos no âmbito da saúde pública.

A relação entre incompatibilidade ABO/Rh e necessidade de fototerapia apresentou um $P=0,01$ e $P=0,05$ respectivamente, evidenciando que os RNs ABO incompatíveis apresentaram maior necessidade de fototerapia que os incompatíveis Rh. Isto ocorreu porque os RNs ABO incompatíveis já possuem os anticorpos em sua estrutura, sendo em sua maioria IgG.

O critério médico para a indicação de fototerapia baseou-se na avaliação visual através do exame físico do neonato, associadas ao peso, idade pós-natal e valores de bilirrubinas totais e frações. Segundo o manual do Ministério da Saúde sobre a atenção à saúde do recém-nascido, 2013, não há consenso quanto aos níveis séricos de BT para indicação de fototerapia e EXT em RNs pré-termos e a termos ⁽⁸⁾. Conforme evidências limitadas, avalia-se periodicamente a BT, idade gestacional e pós-natal, além de fatores indicativos de lesão bilirrubínica neuronal, critério que também foi seguido na maternidade do estudo. A falta de definições claras e protocolos bem definidos leva à condutas diversificadas entre os profissionais, o que pode comprometer a vida do neonato, porém essa prática ainda é muito comum nos serviços de saúde brasileiros.

A avaliação visual utilizadas pelos pediatras nos países em desenvolvimento tem sido alvo de questionamento em muitos estudos, pois métodos mais precisos como a estimativa de bilirrubina não invasiva por bilirrubinometria transcutânea não está disponível em todos os serviços de saúde, o que também foi evidenciado na maternidade do estudo.

Pesquisa no sul da Índia em 2013 realizada por Girish et al, identificou que a icterícia era 3,0 vezes mais frequentes nos recém-nascidos de múltiparas Rh negativo, apresentando um $p=0,020$. Essa frequência aumentou para 3,97 vezes nos neonatos de mães múltiparas que

não receberam a imunoglobulina anti-D. Nestes recém-nascidos, houve maior necessidade de tratamento da icterícia em cerca de 2,75 vezes que nos demais ⁽⁷⁵⁾. Ainda nesse estudo, a presença de icterícia com necessidade de fototerapia foi 2,75 vezes mais evidente nos casos de incompatibilidade Rh cujas mães eram múltíparas e não haviam recebido a terapia anti-RhD, do que naquelas mães que haviam recebido a imunoprofilaxia, evidenciando a eficácia da gestão da isoimunização RhD ⁽⁷⁵⁾.

O uso de fototerapia intensiva foi a prática terapêutica mais usada para reversão da icterícia nos neonatos incompatíveis neste estudo, reduzindo o resultado da bilirrubina indireta. Rasul et al, 2010 ⁽⁴⁵⁾ relatou uma observação semelhante na unidade neonatal de um hospital terciário em Bangladesh, onde 62,6% dos recém-nascidos ictericos utilizaram a fototerapia. Estudo de caso controle realizado por Vilaschi, 2012 também identificou um elevado uso de fototerapia em RNs com DHPN submetidos ou não à TIU ⁽¹⁰⁾. Isso corrobora com a literatura vigente quando afirma que a fototerapia é um método simples e eficaz na reversão da icterícia, contudo, deve-se buscar a elaboração de protocolos para sua utilização.

Incompatibilidade materno-fetal pelo sistema ABO

A ocorrência de incompatibilidade materno-fetal ABO neste estudo foi mais frequente nos casos onde a mãe era do grupo sanguíneo O e o recém-nascido A ou B, sendo esta a incompatibilidade comumente encontrada e com maior repercussão clínica segundo a literatura científica, como os achados de Akgül, 2013 na Turquia ⁽⁷⁶⁾ e conseqüentemente com maior probabilidade de desenvolver doença hemolítica no neonato nos casos de incompatibilidade ABO.

Isso se deve ao fato de que essas mães do grupo sanguíneo O produzem anticorpos anti-A, anti-B, cujas classes de antiglobulina são IgG e que devido ao seu baixo peso molecular atravessam facilmente a via placentária. Além disso, nessas mães encontram-se também um anticorpo complexo, inseparável, anti-A, B que reage tanto com hemácias A quanto B. Enquanto que, os anticorpos anti-B e anti-A, produzidos pelas mães de grupo sanguíneo A e B respectivamente, em sua maioria de classe IgM e não conseguem transpor a barreira placentária.

O estudo retrospectivo conduzido por Akgul, na Universidade de Hacettepe, no İhsan Dogramaci Hospital Infantil, Neonatologia Unit cobriu um período de 10 anos, de 2000 a 2010, o qual verificou que a incompatibilidade com mãe do grupo O e filhos A ou B ocorreram em 15 a 20% de todas as gestantes de sua pesquisa⁽⁷⁶⁾. Semelhantemente em nosso estudo verificou-se um percentual de 22,7% dessas incompatibilidades. Porém, os critérios utilizados pelo referido autor eram bem mais restritos em relação ao nosso incluindo somente RNs > de 36 semanas, presença de icterícia requerendo fototerapia e EXT, enquanto que nós recrutamos todos os RNs na maternidade no período do estudo, sem distinção. Assim sendo, justificam-se os elevados casos de EXT realizados em seu estudo (17,1%), o que chama atenção para o fato que, apesar da doença hemolítica ocasionada pelo ABO frequentemente ser descrita com um evento raro e benigno, eventualmente, pode apresentar agressividade hemolítica com clínica importante, evidenciando que tais descrições não são extensivas a todos os indivíduos, como por exemplo, na população negra devido a títulos de anticorpos anti-A e anti-B serem mais elevados.

Vale ressaltar que, dos 1.425 participantes deste estudo, apenas 01 neonato foi notificado com diagnóstico de DHPN pela equipe de neonatologistas da Maternidade referenciada, porém, foram encontrados 250 casos de incompatibilidade materno-fetal ABO, dos quais 48,6% (122) cursaram com icterícia, evidenciando uma relação estatisticamente significativa entre a incompatibilidade ABO e o desenvolvimento desse agravo.

Tais resultados podem sugerir uma subnotificação de casos de DHPN, corroborando com os achados de Lobato, 2008, em estudo comparativo entre as informações geradas no banco de dados do SIH-SUS e as disponibilizadas pelo Departamento de Neonatologia do Instituto Fernandes Figueiras – FIOCRUZ, onde se constatou que 46 casos de DHPN não foram notificados no período de cinco anos de investigação⁽¹⁸⁾.

Soma-se a isto o fato de que muitos neonatos com leve expressão clínica da DHPN que não necessitam de propedêutica mais complexa e conseqüentemente são acompanhados pela equipe médica em alojamento conjunto (ALCON), eventualmente não geram uma AIH própria para esse diagnóstico, a qual se destina, em sua grande maioria, aos casos assistidos em unidades de média e alta complexidade. Sem citar o fato de que muitos profissionais privilegiam o CID – 10 relacionado à prematuridade. Tal fato deve-se pela lógica administrativa do SIH-SUS voltada para o reembolso da assistência hospitalar, utilizando-se

um código com maior valor agregado. A prematuridade também é apontada pelo Serviço de informações sobre mortalidade SIM-SUS como um dos diagnósticos mais relacionados à mortalidade infantil, o que abre margem para questionamentos, que agregado a esses, pode haver outros diagnósticos que também levam à óbito, sem contudo obterem um diagnóstico específico.

É perceptível que muitos casos de incompatibilidade materno-fetal com quadros hemolíticos e hiperbilirrubinemia significativa, na maioria dos serviços, ficam sem diagnóstico próprio. Isso se deve, em parte, à difícil documentação da hemólise, uma vez que o ocorrido é frequente nos recém-nascidos devido sua imaturidade hepática e os níveis de hemoglobina estáveis durante a primeira semana de vida. Sabe-se que, entre as causas de hemólise que cursam com icterícia, a doença ocasionada por incompatibilidade materno-fetal pelo antígeno D é a mais comum, entretanto outras causas também precisam ser investigadas como a deficiência de G6PD, hipotireoidismo congênito, céfalo-hematoma e fatores étnicorraciais, porém em RNs prematuros, outras causas são raras. Contudo, não houve suspeita clínica relacionadas à estas causas entre os RNs do estudo.

O resultado do TAD positivo foi de 0,8%, o que evidencia que a positividade do TAD não apresenta associação com o estado clínico dos recém-nascidos com incompatibilidade materno-fetal e com a possibilidade de desenvolver a hemólise neonatal⁽⁵⁾. Tal conclusão se deve ao fato evidenciado na significância estatística encontrada entre a incompatibilidade ABO e o desenvolvimento de icterícia ($P < 0,0001$) conforme o tabela 4. Assim sendo, não foi encontrada associação entre o TAD positivo e o estado clínico dos recém-nascidos com incompatibilidade materno-fetal e com possibilidade de desenvolver a DHPN.

Girelo, 2002 afirma que os achados sorológicos na DHPN por incompatibilidade materno-fetal ABO e Rh podem apresentar diferença significativa quanto ao resultado do TAD⁽⁵⁾. Nos casos de incompatibilidade Rh, o TAD pode ser fortemente positivo, sem ser observado sinal clínico da doença, porém, nas incompatibilidades ABO, o referido teste pode ser fracamente positivo ou até negativo em neonatos afetados, isto é, com sinais clínicos de DHPN. Isso pode ocorrer devido à fraca expressão dos antígenos A e B nas hemácias dos RNs e ao nível relativamente baixo de complemento no soro assim sendo, sugere-se que o TAD não é um teste conclusivo para o diagnóstico de DHPN.

Diante do exposto, muitas lacunas ainda precisam ser preenchidas acerca da DHPN. Estudos futuros sobre a doença são necessários, preferencialmente realizados em Instituições com presença de protocolos e critérios bem definidos, sobre indicação de TIU, EXT, Imunoglobulina Humana anti-RhD e de Fototerapia, com vistas a avaliar as melhores condutas dispensadas ao neonato, podendo sugerir mudanças na conduta terapêutica dos menores.

Incompatibilidade materno-fetal pelo anti-RhD

Dentre os grupos sanguíneos, o sistema Rh destaca-se por sua imunogenicidade e polimorfismo, com grande importância clínica uma vez que seus antígenos estão envolvidos nas reações hemolíticas transfusionais e hereditárias, o que foi evidenciado em nosso estudo, uma vez que de todos os RNs investigados, a notificação de DHPN deu-se pelo anti-RhD.

Entre as incompatibilidades Rh foram encontrados possíveis casos subnotificados no local do estudo, onde o anticorpo anti-RhD foi detectado em 0,2% do total de gestações RhD, 03 recém nascidos com clínica importante e resultado do PAI positivo, dos quais, 02 RNs apresentaram resultado do TAD positivo e evolução clínica com piora ao longo dos dias, havendo necessidade de hemotransfusão e cuidados em UTI, todavia, apenas um RN foi notificado como DHPN. Estudo realizado por Pacheco para estimar a carga de DHPN no Brasil verificou que a incidência da doença era de 0,18 casos por 1000 nascidos vivos quando se utilizava apenas os CIDs específicos para a mesma, porém, quando outros CIDs eram usados, a incidência chegava a 5 por 1000 nascidos vivos, sugerindo sub registro ⁽²⁾.

O recém nascido com diagnóstico de DHPN pelo anti-RhD neste estudo, tratou-se de um caso clássico de incompatibilidade materno fetal, cuja mãe do grupo sanguíneo O RhD negativo gerou um conceito do grupo O RhD positivo na segunda gestação. Nasceu a termo, com 41 semanas gestacionais, gênero masculino, cor parda, peso ideal para a idade igual a 3.948 Kg, Escore de APGAR do primeiro e do quinto minuto igual a 9 e 10 respectivamente, com boas condições clínicas e sem necessidade de reanimação na sala de parto.

Os exames imuno-hematológicos do menor acometido de DHPN apresentaram: PAI, pelo método de Coombs indireto e o TAD pelo método de Coombs direto, positivos. Esse RN apresentou icterícia nas primeiras 24 horas de vida, com pico de bilirrubina total: 14,09 mg %,

bilirrubina indireta: 13,51mg % e bilirrubina direta de: 0,58 mg %. Os exames laboratoriais evidenciaram presença de anemia (hematócrito 33mg/dl, hemoglobina 10,9 mg/dl) e indicação de transfusão sanguínea com 1UI de concentrado de hemácias. Esse RN necessitou de cuidados em Unidade de Terapia Intensivos (UCINCO) e permaneceu internado durante 15 dias. Após esse período, evoluiu com melhora do estado clínico e alta hospitalar sem sequelas.

Os avanços na assistência obstétrica e neonatal nas últimas décadas vêm mudando o perfil da aloimunização Rh, evidenciando uma drástica queda na incidência da aloimunização no cenário mundial. Porém, casos de DHPN ainda persistem no cenário mundial mesmo em países desenvolvidos. Nas pesquisas de DajaK, 2014, um índice de 1,2% de anti-RhD foi encontrado o que evidencia que, a pesar de a imunoprofilaxia estar em uso há quase 50 anos, a ocorrência da doença pelo anti-RhD ainda é elevada, podendo resultar em morbidade ⁽²⁸⁾.

Após dezenove anos de estudos na Suécia, Tiblad, 2013 concluiu que pelo menos metade dos casos de DHPN ocasionadas pelo anti- RhD poderiam potencialmente ter sido evitadas com o uso da profilaxia anti-D no início do terceiro trimestre do pré-natal ⁽⁵⁵⁾. A recomendação combinada de uso da imunoglobulina anti-D na 28^a. semana e em até 72 horas após o parto vem sendo recomendada desde o final da década de 90, apresentando resultados satisfatórios e redução da aloimunização.

Estudo de Pacheco, 2015 afirma que a DHPN por RhD possui elevado risco de morte principalmente nas regiões do norte e nordeste, o que demonstra claramente as desigualdades regionais e sociais existentes no Brasil, a despeito do progresso e das transformações oriundas do SUS ⁽²⁾. Entretanto neste estudo não foi evidente um taxa elevada deste agravo, contudo, mais pesquisas são necessárias para melhor elucidação acerca deste diagnóstico dado a possibilidade de sub notificação e também pela ausência de protocolos bem definidos sobre o assunto. Vale destacar que no Brasil, os neonatos em situação de incompatibilidade sanguínea com sua mãe, também estão expostos a riscos diversos em decorrência de características geográficas, econômicas e sociais.

Casos de DHPN ocasionada pelo antígeno anti-RhD já deveriam ter sido erradicados, pois se sabe que a imunoprofilaxia anti-RHD é efetiva e teve sua eficácia comprovada há décadas. Portanto, é vital que políticas públicas mais exigentes sejam instituídas, livre de entraves, com acesso irrestrito, visando à prevenção da aloimunização, reduzindo de

sobretudo os casos de uma doença evitável, não fossem as falhas em sua utilização. É triste ressaltar que em países de baixa condição econômica como a Bósnia, a imunoprofilaxia não é disponibilizada gratuitamente, o que implica em risco de falha no processo. A prevenção da aloimunização é essencial, pois a mãe uma vez imunizada permanecerá imunizada por toda a vida.

O conhecimento e identificação da incompatibilidade materno-fetal consiste em uma oportunidade única junto aos serviços de neonatologia e suas equipes com vistas à prevenção e implantação da aloimunização RhD, identificando antecipadamente o diagnóstico e prevenindo a DHPN, pois o monitoramento constante e a prevenção são vitais para a redução dos agravos.

Limitações do estudo

É importante salientar as limitações quanto ao resultado dos exames laboratoriais dos recém-nascidos, pois como já citado no método, na rotina do local do estudo, os exames laboratoriais só foram solicitados aos RNs que apresentaram risco ou suspeita patológica. Devido a esse fato, o hemograma com valores de hemoglobina só foi realizado em 657 RNs. Isso impossibilitou a aplicação de alguns testes estatísticos.

Os poucos resultados de contagem de reticulócitos ao nascimento constituiu-se uma das limitações do estudo, uma vez que seus resultados podem refletir a recuperação medular frente ao processo de hemólise. Porém isso não pode aqui ser analisado uma vez que no serviço de neonatologia da Maternidade não se dispõe de um protocolo para os casos de incompatibilidade materno-fetal o que implica em condutas diferentes entre os profissionais. Assim sendo, a contagem de reticulócitos foi realizada em poucos RNs.

Os resultados encontrados nesta investigação científica de caráter descritivo devem ser analisados com uma visão crítica das limitações do método uma vez que foram utilizados registros clínicos e laboratoriais extraídos de fontes secundárias, isto é, dos prontuários dos sujeitos. Por não se dispor de serviço de prontuário eletrônico na Instituição pesquisada, em muitos casos, os dados foram registrados de forma inelegível e incompleta, o que demandou bastante esforço para compreensão e prejudicou a obtenção de algumas variáveis propostas no estudo.

Durante o estudo foi perceptível a falta de definições mais claras quanto à caracterização da doença no que tange ao valor limite de hemoglobina para definir anemia e valor de bilirrubina total ou mais especificamente de bilirrubina indireta para definir a icterícia para indicação de fototerapia, EXT e conseqüentemente de um diagnóstico específico. Segundo a Sociedade Brasileira de Pediatria ⁽⁴⁰⁾, os níveis séricos de BT para a indicação da fototerapia e EST em recém-nascidos não são considerados de maneira uniforme pelos autores e a falta de protocolos para a condução terapêutica dos RNs com incompatibilidade materno fetal no local do estudo acarretou dúvidas quanto à propedêutica adotada pelos profissionais.

Esses dados são fundamentais para o fechamento do diagnóstico da DHPN, pois muitos recém-nascidos são diagnosticados simplesmente como incompatibilidade materno fetal, prematuridade, anemia ou icterícia, o que corrobora com os estudos de Lobato *et al* (2008) que sugere que apenas um terço dos casos de DHPN foram notificados no SIH.

Estudo de Park *et al* em 2003, citado por Silva, 2004, demonstrou a importância da inclusão das hemácias de triagem contendo antígenos Di^a e também reagentes de hemácias de painel, com vistas a detecção e identificação de anticorpos para o sistema Diego em qualquer população nos exames de rotina transfusional e gestacional, uma vez que anticorpos irregulares podem ser encontrados com maior percentual em determinada raça e podem ser clinicamente significativos ⁽⁵⁹⁾. Destaca-se o fato de que no estudo acima citado, o autor verificou que a sensibilização ocorreu na segunda gestação, adquiridos por herança paterna cuja avó era de origem indígena.

Por se tratar de uma pesquisa descritiva com coleta de dados dos prontuários dos participantes, sentiu-se a necessidade de informações mais sólidas e claras a respeito da condução clínica e dos exames laboratoriais do menor. Tais dificuldades seriam amenizadas se a Instituição dispusesse de um programa de prontuário eletrônico.

7. CONCLUSÕES

1. Os aspectos demográficos apresentaram características próprias da população amazonense, com predominância do gênero feminino, cor parda e presença de elevado percentual de mães adolescentes.
2. A frequência do grupo O, superior a 60% nos RNs e mães é comum entre indivíduos amazonenses e rara em populações de outros países do mundo, inclusive em Estados brasileiros.
3. O percentual de RhD positivo maior que 95% entre os recrutados sugere uma relação de ancestralidade entre características genéticas comuns aos povos amazônicos e asiáticos, evento que vem sendo pesquisado pelo Instituto de Antropologia Evolutiva na Alemanha.
4. Casos de incompatibilidade materno-fetal pelo anti-RhD ainda são encontrados na atualidade a despeito da recomendação do uso da imunoprofilaxia anti-RhD pelo manual do Ministério da Saúde – Brasil (2012) para gestantes de alto risco, o que demanda maior vigilância dos profissionais e dos serviços de saúde quanto a sua indicação e utilização. Isso salienta a necessidade de aumentar os esforços preventivos e maior habilidade de gestão com vistas à prevenção da aloimunização.
5. A DHPN é uma doença que pode acarretar problemas clínicos sistêmicos com pior condição clínica quando relacionada ao anti-RhD, necessitando de cuidados e tratamento intensivo, podendo comprometer a vida do RN, expondo-o ao risco de morte. Assim sendo, intervenções precoces e efetivas são essenciais para uma assistência adequada ao concepto, o que exige um preparo abrangente de toda equipe de neonatologistas, obstetras e dos serviços de saúde.
6. A icterícia foi a manifestação clínica mais encontrada nos RNs do estudo, evidenciando que casos de incompatibilidade materno-fetal ABO com quadros hemolíticos e presença de icterícia detectados, podem ficar sem diagnóstico específico nas rotinas hospitalares, sugerindo subnotificação.
7. Incompatibilidades materno-fetal ABO, mesmo com PAI e TAD negativo, mostraram-se importantes, impactando na presença de elevada icterícia,

evidenciando uma relação estatisticamente significativa entre os RNs incompatíveis ABO e o desenvolvimento de icterícia ($P < 0,0001$).

8. As condições clínicas dos recém-nascidos devem ser criteriosamente avaliadas e acompanhadas desde a concepção até o nascimento, especialmente nos casos onde ocorre incompatibilidade sanguínea entre a mãe e seu filho, uma vez que tal condição pode levar à anemia no período fetal e icterícia pós-natal.

8. REFERÊNCIAS

1. Hendrickson JE DM. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn: Modern Practice and Future Investigations. *Transfus Med Rev* [Internet]. 2016;159–64. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27397673>
2. Pacheco CAMS. Doença hemolítica perinatal RhD: um problema de saúde pública no Brasil [tese de doutorado] [Internet]. Rio de Janeiro (RJ): Fundação Osvaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca; 2015. Available from: <http://arca.icict.fiocruz.br/handle/icict/7929>
3. Machado IN BR. Doença hemolítica perinatal: aspectos atuais. *Rev Cienc Med, Campinas*. 2006;15(1):69–74.
4. Brasil - Ministério da Saúde. Aloimunização materno-fetal. In: Manual Técnico de Gestação de Alto Risco [Internet]. Brasília-DF; 2012. p. 94–8. Available from: <http://www.ebah.com.br/content/>
5. Girello AL kuhn T. Fundamentos da Imuno-hematologia eritrocitária. Senac. São Paulo; 2002. 57-116 p.
6. Izetbegovic S. Occurrence of ABO and RhD incompatibility with Rh negative mothers [Internet]. Vol. 25, *Mater Sociomed*. 2013. p. 255–8. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24511269
7. Diamond LK, Blackfan KD BJ. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. *J Pediatr* [Internet]. 1932 Sep [cited 2016 Sep 6];1(3):269–309. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347632800570>
8. Brasil: Ministério da Saude. Icterícia. In: Atenção   saúde do recém-nascido: guia para os profissionais de saúde. 2 ed. Brasília-DF; 2013. p. 59–75.
9. Baiocchi E NL. Aloimunização. *Rev Bras Ginecol Obstet* [Internet]. 2009 Jun;32(6):311–9. Available from: www.scielo.br/scielo
10. Villaschi JF. Avaliação da evolução dos rec m-nascidos com Doenç  Hemolítica Perinatal por aloimunização materna, submetidos e não   transfusão intrauterina [dissertação] [Internet]. Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte. Universidade Federal de Minas Gerais; 2012. Available from: www.bibliotecadigital.ufmg.br
11. Smits-Wintjens VE, Walther FJ LE. Rhesus haemolytic disease of the newborn: Postnatal management, associated morbidity and long-term outcome. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2008 Aug [cited 2016 Sep 5];13(4):265–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18387863>
12. Illanes S SP. Management of red cell alloimmunisation in pregnancy: the non-invasive monitoring of the disease. *Prenat Diagn* [Internet]. 2010 Jul [cited 2016 Sep 5];30(7):668–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20572110>
13. Wagle S. Hemolytic disease of newborn. *Medscape News & Perspective* [Internet]. 2016 Jan;1–10. Available from: emedicine.medscape.com/article/974349-overview
14. S  CAM. Doenç  hemolítica perinatal pelo fator Rh: experiência de 10 anos do Instituto Fernandes Figueira [dissertação]. Fundação Osvaldo Cruz: Instituto Fernandes Figueira, Rio de Janeiro,. Fundação Osvaldo Cruz: Instituto Fernandes Figueira; 2006.
15. Bowman J. The management of hemolytic disease in the fetus and newborn. *Semin Perinatol* [Internet]. 1997 Feb [cited 2016 Sep 5];21(1):39–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9190032>
16. Moise KJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2008 Jul [cited 2016 Sep 5];112(1):164–76. Available from:

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18591322>
17. Bricca P, Guinchard E, Guitton Bliem C. Management of feto-maternal red cell alloimmunizations. [Internet]. Vol. 18, *Transfus Clin Biol*. 2011 [cited 2016 Sep 5]. p. 269–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21397546>
 18. Lobato G, Reichenheim ME CC. Sistema de informações hospitalares do sistema único de saúde (SIH-SUS): uma avaliação preliminar do seu desempenho no monitoramento da doença hemolítica perinatal Rh(D). *Cadernos de Saúde Pública*. 2008 Mar;24(3):606–14.
 19. Lima AO, Soares BJ, Greco JB, Galizzi J CJ. Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação. 8 ed. Koogan G, editor. Rio de Janeiro; 2001. 22-1 a 22-99.
 20. Murador P DE. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29(2):168–78.
 21. Cianciarullo MA, Ceccon MEJ VF. 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.
 22. Varghese J, Chacko MP, Rajaiah M DD. Red cell alloimmunization among antenatal women attending a tertiary care hospital in south India. *Indian J Med Res* [Internet]. 2013 [cited 2016 Sep 5];138(1):68–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24056557>
 23. Vicente LF, Pinto G, Serrano F, Soares C AA. Profilaxia da isoimunização RhD: uma proposta de protocolo. *ACTA MÉDICA PORTUGUESA*. 2003;16:255–60.
 24. Lindenburg TI, Smits Wintjens VE, Van Klink JM, Verduin E VK IL, Walther et al. Long-term neurodevelopmental outcome after intrauterine transfusion for hemolytic disease of the fetus/newborn: the LOTUS study. *Am J Obstet Gynecol*. 206:141.e1–141.e8.
 25. Alves VM, Martins PRJ, Soares S, Araújo G, Schmidt LC et al. Pesquisa de aloimunização após transfusão de concentrados de hemácias em um estudo prospectivo. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2012;34(3):206–11.
 26. Baptista MWG, Nardin JM S ST. Aloimunização eritrocitária em pacientes de um hospital infantil atendido pelo Instituto Paranaense de Hemoterapia e Hematologia, de 2007 a 2010. *Cadernos da Escola de Saúde, Curitiba*. 2010;2:131–42.
 27. Castilho L. O futuro da aloimunização eritrocitária The future of red cell alloimmunization. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2008;30(4):261–2.
 28. Dajak S, Roje D, Hašpl ZH MP. The importance of antenatal prevention of RhD immunisation in the first pregnancy. *Blood Transfus* [Internet]. 2014;12:410–5. Available from: [www.ncbi.nlm.nih.gov ? PubMed Central \(PMC\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24056557)
 29. Zago MA, Falcão RP PR. *Tratado de hematologia*. 1 ed. Atheneu E, editor. São Paulo; 2013. 59-65 p.
 30. Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelan TTT SA, Cruvinel WM AL, NP S. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Revista Brasileira de Reumatologia*. 2010;50(11):552–80.
 31. Murphy K, Travers P WM. *Imunobiologia de Janeway*. 7^a ed. Artmed, editor. Porto Alegre; 2010. 160-162, 400-401, 743-745 p.
 32. Junqueira PC, Hamerschlak N RJ. *Hemoterapia clínica*. Ed. Roca. São Paulo; 2009. 330-342 p.
 33. Costa FF, Fertrin KY CN. Síndrome hemolítica. *Fisiopatologia e clínica. Classificação*. In: Atheneu E, editor. *Tratado de Hematologia*. 1 ed. São Paulo; 2013. p. 161–7.
 34. Fidlarczyk D FS. *Enfermagem em hemoterapia*. 1st ed. Medbook, editor. Rio de

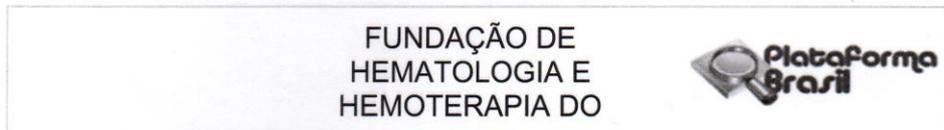
- Janeiro; 2008. 49-55 p.
35. Oliveira RG. Blackbook – pediatria. Black Book Editora, editor. Belo Horizonte; 2011. 617-20 p.
 36. Oliveira RAG. Hemograma: como fazer e interpretar. 2 ed. São Paulo; 2015.
 37. Chopard MRT, Magalhães M BP. Deficiência de ferro no feto e no recém-nascido Iron deficiency in the fetus and newborn. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010;32:32–7.
 38. Santiago MD, Rezende CAL, Cabral ACV, Leite HV, Osanan GC RZ. Determining the volume of blood required for the correction of foetal anaemia by intrauterine transfusion during pregnancies of Rh isoimmunised women [Internet]. Vol. 8, *Blood Transfus.* 2010 [cited 2016 Sep 5]. p. 271–7. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20967169
 39. Almeida MFB, Nader PJH DC. Icterícia neonatal. 2a. ed. Ma. Lopez FA, Campos Jr D E, editor. *Tratado de Pediatria.* São Paulo; 2010.
 40. Almeida MFB DC. Icterícia do recém-nascido com idade gestacional > 35 semanas [Internet]. Sociedade Brasileira de Pediatria Departamento de Neonatologia. Documento Científico (elaborado em 11/11/2012). São Paulo; 2012. Available from: www.sbp.com.br/src/uploads/
 41. Maisels MF MA. Phototherapy for neonatal jaundice. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Feb 28 [cited 2016 Sep 6];358(9):920–8. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMct0708376>
 42. Smitherman H, Stark AR BV. Early recognition of neonatal hyperbilirubinemia and its emergent management. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2006 Jun [cited 2016 Sep 5];11(3):214–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16603425>
 43. Lima GM, Porto MASC, Barbosa AP CA. Fatores de risco preditivos de hiperbilirrubinemia neonatal moderada a grave. *einstein.* 2007;5(4):352–7.
 44. Punaro E, Mezzacappa MA PF. Acompanhamento sistematizado da hiperbilirrubinemia em recém-nascidos com 35 a 37 semanas de idade gestacional. *Archivos de Pediatría del Uruguay.* 2013;87(4):146–53.
 45. Rasul CH, Hasan MA YF. Outcome of neonatal hyperbilirubinemia in a tertiary care hospital in bangladesh. *Malaysian J Med Sci* [Internet]. 2010;17(2):40–4. Available from: [www.ncbi.nlm.nih.gov ? PubMed Central \(PMC\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21950390)
 46. Najib KS, Saki F, Hemmati F IS. Incidence , risk factors and causes of severe neonatal hyperbilirubinemia in the south of Iran (Fars Province). *Iran Red Crescent Med J* [Internet]. 2013;15(3):1–4. Available from: [www.ncbi.nlm.nih.gov ? PubMed Central \(PMC\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21950390)
 47. Hansen TW. Prevention of neurodevelopmental sequelae of jaundice in the newborn. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. 2011 Sep [cited 2016 Sep 5];53 Suppl 4:24–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21950390>
 48. National Center for Biotechnology Information - NCBI. system blood group [Internet]. Internet. 2016 [cited 2016 Sep 18]. p. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov
 49. Dean L. Blood group antigens are surface markers on the red blood cell membrane [Internet]. NCBI Bookshelf. United States of America; 2005 [cited 2016 Sep 11]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>
 50. Akanmu AS, Oyedeji OA, Adeyemo TA OA. Estimating the risk of ABO hemolytic disease of the newborn in Lagos. *J Blood Transfus* [Internet]. 2015;2015:1–5. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jbt/2015/560738>
 51. Nardoza LMM, Szulman A, Barreto JA, Araújo Júnior E MA. Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional. *Rev Assoc Med Brasil.* 2010;56(6):724–8.

52. Bonifácio SL NM. Funções biológicas dos antígenos eritrocitários. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009;31(2):104–11.
53. HEMOSIS - HEMOAM. Estatística de bolsas por tipagem no período de 01/01/2015 a 31/12/2015. Manaus -AM; 2015.
54. Baiochi E, Camano L, Sass N CO. Frequencia de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO e RhD em puérperas e seus recém-nascidos. *Rev Assoc Med Bras.* 2007;53(1):44–6.
55. Tiblad E, Westgren M, Pasupathy D, Karlsson A WAT. Consequences of being Rhesus D immunized during pregnancy and how to optimize new prevention strategies. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica* [Internet]. 2013 Sep [cited 2016 Sep 5];92(9):1079–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23750781>
56. Zipursky A BV. Impact of Rhesus disease on the global problem of bilirubin-induced neurologic dysfunction. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2015 Feb [cited 2016 Sep 5];20(1):2–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25582277>
57. Karagol BS, Zenciroglu A, Okumus N, Karadag N, Dursun A HN. Hemolytic disease of the newborn caused by irregular blood subgroup (Kell, C, c, E, and e) incompatibilities: report of 106 cases at a tertiary-care centre. *Am J Perinatol* [Internet]. 2012 Jun [cited 2016 Sep 5];29(6):449–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22399212>
58. De Vrijer B, Harthoorn-Lasthuizen EJ OH. The incidence of irregular antibodies in pregnancy: a prospective study in the region of the's-Hertogenbosch. *Search worldwide, life-sciences literature* [Internet]. 1999;2523–7. Available from: <http://europepmc.org/abstract/med/10627755>
59. Silva CRG, Jorge AOC HI. Aloanticorpo anti-Diego (a) em gestante. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2004;26(4):285–7.
60. Valente M. Avaliação do impacto da determinação do grupo fetal RhD na profilaxia da aloimunização na gravidez [dissertação]. Universidade do Porto; 2009.
61. Assunção RA. Índice de performance miocárdica fetal na doença hemolítica perinatal [tese de doutorado]. Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo; 2015.
62. Araújo IRB, Lohanny L, Melo TM, Santos G, Dourado S. Nursing care of the newborns with neonatal jaundice : an integrative review. *Rev Enferm UFPI, Teresina.* 3(1):120–4.
63. Sá CAM, Santos MCP, Carvalho M MM. Eventos adversos associados à exsanguíneotransusão na doença hemolítica perinatal: experiência de dez anos Adverse events related to exchange transfusion in newborn infants with hemolytic disease: ten years of experience. *Rev Paul Pediatr.* 2009;27:168–72.
64. Cabral ACV, Taveira MR, Pereira APBMLAK LH. Transusão Intra-uterina na isoimunização materna pelo fator Rh. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* [Internet]. 2001 Jun [cited 2016 Sep 5];23(5):299–303. Available from: <http://www.scielo.br/scielo>
65. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Amazonas - IBGE Censo 2010 [Internet]. 2010. 2010 [cited 2016 Oct 9]. Available from: <http://cidades.ibge.gov.br/painel/populacao.php?codmun=130260>
66. Lansky S et al. Pesquisa Nascido no Brasil : perfil da mortalidade neonatal e avaliação da assistência à gestante e ao recém-nascido. *Cad Saúde Pública.* 2014;192–207.
67. Alencar FH FM. Análise de fatores sócio-econômico-culturais e ambientais relacionados com o déficit ponderal de crianças ao nascimento em 1999, em Manaus-Am, Brasil. *ACTA Amazônica.* 2003;33(1):33–9.

68. Beretta MIR, Clápis CV, Oliveira Neto LA, Freitas MA, Dupas G RS et al. A contextualização da gravidez na adolescência em uma maternidade de São Carlos/SP. *Rev Eletr Enf [Internet]*. 2011 [cited 2016 Sep 14];90–8. Available from: https://www.fen.ufg.br/fen_revista/v13/n1/v13n1a10.htm
69. Suzuki CM, Ceccon MEJ, Falcão MC VF. Peso entre filhos de mães adolescentes e adultas comparative analysis of prematurity and low birth weight. *Rev Bras Crescimento Desenvolv Hum*. 2007;17(3):95–103.
70. Araujo SG SD. Relação entre a idade materna e o peso ao nascer: um estudo da gravidez na adolescência no município de Umuarama, PR, Brasil em 2001. *Ciênc cuid saúde*. 2003;2(2):155–60.
71. Coelho EAF, Diniz RS RJ, KB. G. Frequência de grupos sanguíneos dos sistemas ABO e Rh na população de Belo Horizonte - MG. *Rev bras anal clin*. 2010;42(4):245–7.
72. Silva RA, Mendes SO, Souza AVV LP, MO M. Mapeamento dos sistemas de grupos sanguíneos abo e rh dos doadores de sangue em Primavera do Leste – MT. *Biodiversidade*. 2011;9(1).
73. Garratty G, Glynn SA MR. ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ethnic groups in the United States. *Transfusion [Internet]*. 2004 May [cited 2016 Sep 11];44(5):703–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15104651>
74. Brasil: Ministério da Saúde –DATASUS. Informações de Saúde. Estatísticas Vitais. Mortalidade e Nascidos Vivos: nascidos vivos desde 1994. 2012. p. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sina>.
75. Girish N, Santosh S KS. Evolving trends: hyperbilirubinemia among newborns delivered to Rh negative mothers in Southern India. *J Clin Diagnostic Res [Internet]*. 2013;7(11):2508–10. Available from: [www.ncbi.nlm.nih.gov ? PubMed Central \(PMC\)](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24481385)
76. Akgül S, Korkmaz A, Yiğit S YM. Neonatal hyperbilirubinemia due to ABO incompatibility : does blood group matter ? *Turk J Pediatr*. 2013;55(5):506–9.
77. Badami KG, Parker J, Kenny A, Warrington S. Incidence of maternal sensitisation to Rh(D) in Christchurch, New Zealand and reasons for prophylaxis failures. *NZ Med J*. 2014, Jan 24; 127 (1388):40-6. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed 24481385](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24481385).
78. Bier OG, e cols. *Imunohematologia básica e aplicada*, 3^a.ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A., 1982.
79. Agrawal A, *et al*. ABO and Rh (D) group distribution and gene frequency; the first multicentric study in India. *Asian J Transfus Sci*. 2014 Jul-Dec; 8(2): 121–125. Available from: [http:// /www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4140055](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4140055).

9. ANEXOS

9.1 Parecer consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: "ASSOCIAÇÃO DA DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL COM SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS"

Pesquisador: ELIONE DOS SANTOS FERREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 42128315.1.0000.0009

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.053.916

Data da Relatoria: 08/05/2015

Apresentação do Projeto:

A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) por alo imunização constituiu se importante agravo à saúde dos fetos e recém-nascidos ao redor do mundo até a década de 70 com impacto na morbimortalidade perinatal em torno de 50% (3,6). Na atualidade, a melhoria na assistência pré-natal, a condução intraútero do feto anêmico e a introdução da terapia utilizando soro contendo anticorpos dirigidos contra a proteína RhD, tem mudado esse panorama. Entretanto, a doença ainda persiste principalmente nos países subdesenvolvidos, atingindo índices de mortalidade fetal em cerca de 10%, com manifestações clínicas desde uma leve icterícia e anemia branda até ao Kernicterus, podendo evoluir para o óbito. Avanços tecnológicos possibilitam a detecção de anticorpos com potencial hemolítico, porém, não existem dados disponíveis publicados que descrevam os sistemas de grupos sanguíneos envolvidos na gravidade da DHPN nos RNs amazonenses. A compreensão sobre o assunto é fundamental para uma conduta clínica adequada evitando complicações e óbito fetal e do RN. Objetivo: Investigar a associação da Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) com sistemas de grupos sanguíneos em recém-nascidos do Estado do Amazonas. Casuística e Métodos: A pesquisa será realizada Cidade de Manaus no Estado do Amazonas, Brasil, na Maternidade Balbina Mestrinho nos meses de abril a julho de 2015, cuja população abrangerá todas as mães e seus respectivos bebês nascidos na referida maternidade

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 Bl.D Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada **CEP:** 69.050-002
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 **Fax:** (92)3655-0112 **E-mail:** cep@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 1.053.916

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: -Investigar a associação da Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) com sistemas de grupos sanguíneos em recém-nascidos de uma maternidade de Manaus. Objetivo Secundário: -Identificar quais os sistemas de grupos sanguíneos que estão associados ou não com a incompatibilidade materna fetal relacionada à DHPN.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Não há. As informações serão coletadas do prontuário do paciente. Benefícios: Os benefícios acadêmicos: os dados publicados são bastante escassos acerca da DHPN no Amazonas. A compreensão da DHPN é fundamental para uma conduta clínica efetiva evitando complicações e óbitos fetais e neonatais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa relevante, interessante, cujo os dados serão importantes para a comunidade científica e também para tratamentos clínicos. A pesquisadora apresentou carta solicitando dispensa do TCLE.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou os termos de anuência solicitados.

Recomendações:

A pesquisadora acatou as recomendações fazendo alterações no projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram sanadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 Bl.D Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 1.053.916

MANAUS, 07 de Maio de 2015

Assinado por: Adriana Malheiro (Coordenador)

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

Número do Parecer: 1.053.916
Data da Realização: 08/05/2015

Página 03 de 03

Assunto do Projeto:

A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) por alo imunização é considerada a principal causa de anemia hemolítica no recém-nascido em todo o mundo até a década de 70, quando se tornou rara devido ao uso de Rh(D) (Rho(D)). Na atualidade, a maioria dos casos é provocada pela sensibilização da mãe utilizando soro contendo anticorpos anti-Rh(D) durante a gravidez ou parto. Entretanto, a doença ainda persiste principalmente nos países subdesenvolvidos, atingindo índices de mortalidade fetal em cerca de 10%, com manifestações clínicas desde o primeiro trimestre até ao Kernicterus, podendo evoluir para a morte. Anemia hemolítica neonatal é causada por anticorpos com potencial hemolítico, porém, não necessariamente especificamente ligados aos sistemas de grupos sanguíneos em relação ao sistema de DHPN, sendo necessária a compreensão sobre o assunto é fundamental para uma conduta adequada em relação ao diagnóstico e tratamento do RN. Objetivo: Investigar a prevalência da Doença Hemolítica perinatal (DHPN) nos sistemas de grupos sanguíneos em recém-nascidos do Estado do Amazonas, 1ª Região de Saúde. A pesquisa será realizada no Estado de Manaus no Estado do Amazonas, através do Hospital de Referência Municipal nos meses de abril a junho de 2015, cuja população abrangida inclui as mães e seus respectivos bebês nascidos no período supracitado.

Endereço: Av. Constantino Nery 4397 BLD Dir Ens Pesq
Bairro: Chapada CEP: 69.050-002
UF: AM Município: MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 Fax: (92)3655-0112 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

9.2 Carta de Anuência do HEMOAM



TERMO DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do Projeto de pesquisa intitulado “**Associação da Doença Hemolítica Perinatal com Sistemas de Grupos Sanguíneos**”, da aluna **Elione dos Santos Ferreira**, do Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas á Hematologia, sob a orientação e a responsabilidade do Professor Dr. Sérgio Roberto Lopes Albuquerque, da Universidade do Estado do Amazonas – UEA, o qual terá apoio desta instituição.

Manaus, 19 de fevereiro de 2015.


NELSON ABRAHIM FRAIJI
 Diretor Presidente

FUNDAÇÃO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO AMAZONAS – HEMOAM
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
 AV. CONSTANTINO NERY, 4397 – CHAPADA – CEP 69050-002 – MANAUS/AMAZONAS
 FONE (92) 3655-0113 FAX (92) 3655-0112
 E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

9.3 Termo de dispensa do TCLE

TERMO DE DISPENSA DO TCLE

Eu, Elione dos Santos Ferreira, aluna do Programa de Mestrado em Ciências aplicadas à hematologia da Universidade do Estado do Amazonas – UEA e da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas – FHEMOAM, responsável pelo Projeto de pesquisa intitulada “**Associação da Doença Hemolítica Perinatal com Sistemas de grupos sanguíneos**”, sob orientação do Dr. Sérgio Roberto Lopes Albuquerque, venho por meio deste solicitar a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido uma vez que neste trabalho não ocorrerá contato direto com os sujeitos da pesquisa (RNs e suas respectivas mães), apenas coleta de dados dos prontuários através de um formulário previamente elaborado para registrar os resultados dos exames laboratoriais e da evolução clínica desses indivíduos. Serão resguardados a privacidade dos sujeitos e o sigilo dos dados coletados conforme determinação dos aspectos éticos da Resolução N° 466/12 da Comissão Nacional de Ética, Brasil sobre pesquisa com seres humanos.

Na certeza de vossa compreensão agradeço antecipadamente.

Manaus, 17 de abril de 2015.


Elione dos Santos Ferreira
ELIONE DOS SANTOS FERREIRA

COREN-AM 98225

9.4 Termo de consentimento de utilização de dados

TERMO DE CONSENTIMENTO DE UTILIZAÇÃO DE DADOS

Eu, Elione dos Santos Ferreira, aluna do Programa de Mestrado em Ciências aplicadas à hematologia da Universidade do Estado do Amazonas – UEA e da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Amazonas – FHMOAM, responsável pelo Projeto de pesquisa intitulada “**Associação da Doença Hemolítica Perinatal com Sistemas de grupos sanguíneos**”, sob orientação do Dr. Sérgio Roberto Lopes Albuquerque, venho por meio deste solicitar o consentimento para utilização de dados dos prontuários através de um formulário previamente elaborado para registrar os resultados dos exames laboratoriais e da evolução clínica dos sujeitos da pesquisa (RNs e suas respectivas mães), Serão resguardados a privacidade dos sujeitos e o sigilo dos dados coletados conforme determinação dos aspectos éticos da Resolução Nº 466/12 da Comissão Nacional de Ética, Brasil sobre pesquisa com seres humanos.

Na certeza de vossa compreensão agradeço antecipadamente.

Manaus, 17 de abril de 2015.



ELIONE DOS SANTOS FERREIRA

COREN-AM 98225

9.5 Formulário para coleta de informações

FORMULÁRIO P/ COLETA DE INFORMAÇÕES

Local: Maternidade Balbina Mestrinho.

Amostra:.....

Data:.....

I. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DA MÃE E DO RN:

Nome do pai:

Nome da mãe:.....

Nome do RN (se já registrado):.....

Telefone de contato.....

Hipótese diagnóstica:.....

Gênero: M () F ()

Cor: branco () Pardo() Amarelo() preto()

II.VARIÁVEIS MATERNAS

1. Grupo sanguíneo ABO: O() A() B() AB()

2. Grupo sanguíneo Rh: RhD positivo() RhD negativo()

3. PAI (Pesquisa de anticorpos irregulares): Positivo() Negativo()

4. Se positivo, qual o alo anticorpo?

5. Número de filhos anteriores: 01() 02() 03() 04() 05() > 5()

6. Filhos anteriores acometidos de DHPN: 01() 02() 03() > 03()

7. Uso de profilaxia anti-D? Não () Sim() Quando?.....

8. Transfusão Intrauterina? Não () Sim() Quando?.....

9. Doença associada? Não() Sim() Qual?.....

III.VARIÁVEIS DO RN AO NASCIMENTO:

10. Idade gestacional ao nascer: < 28 semanas () >28 a 32 semanas () >32 a 36 semanas ()
> 36 semanas a 40 semanas() > 40 semanas() .

11.Peso ao nascer: < 2,5() > 2,5 a 3Kg() > 3 a 4Kg() >4 a 5Kg() >5Kg()

12. APGAR: < 5 () 6 () 7 () 8 () 9 () 10 ()

13. Necessidade de reanimação na sala de parto? Sim () Não ()

IV. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DO RN:

14. Grupo sanguíneo ABO: O () A () B () AB ()

15. Grupo sanguíneo Rh: RhD positivo () RhD negativo ()

16. TAD do RN: Positivo () Negativo ()

17. Presença de hidropsia fetal: Sim () Não ()

18. Presença de icterícia: Sim () Não ()

19. Indicação de exsanguíneotransfusão: Sim () Não ()

20. Indicação de fototerapia: Sim () Não ()

21. Hematócrito:

22. Hemoglobina:

23. Bilirrubinas total:.....Indireta:.....Direta:.....

24. Ureia:

25. Creatinina:

26. Ácido úrico:

27. TGO:

28. TGP:

V. CONDUTA TERAPÊUTICA

29. Fototerapia? Não () Sim () Quantos dias? 1 a 3 dias () 4 a 6 dias () 7 a 14 dias ()

30. Transfusão sanguínea? Não () Sim () Quantas? 01 () 02 () 03 () 04 () 05 () >05 ()

31. Hemocomponente: CH () Plasma () Plaquetas () Outros ()

32. Exsanguíneotransfusão? Sim () Não ()

9.6 Teste de Coombs Direto (TAD)

TESTE DE SORO COOMBS DIRETO

1. INDICAÇÕES

- A. Na detecção de anticorpos maternos fixados aos antígenos correspondentes em hemácias de cordão umbilical ou de recém-nascidos (Diagnóstico de Doença Hemolítica Peri-Natal por incompatibilidade materno-fetal).
- B. Na detecção de anticorpos eritrocitários nas hemácias de pacientes portadores de Doença Hemolítica adquirida do tipo Auto-imune.
- C. Na detecção de anticorpos eritrocitários responsáveis por reações hemolíticas pós-transfusionais.

2. TÉCNICA PARA TESTE DE SORO COOMBS DIRETO

1. Preparar uma suspensão de 3 a 5% das hemácias a serem testadas em solução salina fisiológica.
2. Colocar em um tubo de ensaio (12x75mm ou 10x75mm) 1 gota de suspensão das hemácias de 3 a 5% do sangue a testar.
3. Completar o tubo até 1 centímetro da borda da solução fisiológica.
4. Centrifugar em alta velocidade, decantar o sobrenadante por inversão do tubo, ressuspender o sedimento de hemácia e completar novamente o tubo até 1 cm da borda com solução fisiológica. Repetir esse procedimento de lavagem pelo menos 3 vezes.
5. Após a última lavagem, decantar completamente o sobrenadante, invertendo o tubo e enxugando a borda do mesmo com papel absorvente.
6. Adicionar ao sedimento de hemácia 2 gotas do SORO DE COOMBS BSA.
7. Agitar para homogeneizar e centrifugar, imediatamente.
8. Ressuspender o “botão” de hemácia, agitando delicadamente o tubo e observar a presença ou ausência de aglutinação.

3. INTERPRETAÇÃO

TESTE DE COOMBS DIRETO	TESTE DE COOMBS DIRETO
Presença de aglutinação	Positivo
Ausência de aglutinação	Negativo

Referências: Price TH, ed. Standards for blood Banks and transfusion services. 25^a ed. Betesda,MD:AABB,2008:44.

9.7 Pesquisa de anticorpos irregulares (P.A.I.)

PESQUISA DE ANTICORPOS IRREGULARES (P.A.I.)

1. INDICAÇÕES

- A. Na detecção da presença do antígeno D fraco em amostras que tenham apresentado resultado negativo na classificação Rh com SORO Anti-D BSA® para teste em tubo.
- B. Na fenotipagem de hemácias utilizando soros reativos pelo teste de Coombs indireto.
- C. Na utilização de anticorpos eritrocitários pelo teste de Coombs indireto.
- D. Na determinação da presença ou ausência da gamaglobulina humana em manchas de sangue (medicina legal).
- E. Na pesquisa e identificação de anticorpos eritrocitários irregulares que não dependem da fixação do complemento para sua detecção.
- F. Nos testes de compatibilidade em pacientes com anticorpos eritrocitários que não dependem da fixação do complemento para sua detecção.

2. TÉCNICA PARA O TESTE DE COOMBS INDIRETO

1. Preparar uma suspensão de 3 a 5% das hemácias para serem testadas em solução fisiológica.
2. Colocar em um tubo de ensaio (12x75 mm ou 10x75 mm) 1 gota* do soro classificador (ou duas gotas* do soro a ser testado, dependendo do caso).
3. Acrescentar 1 gota* da suspensão das hemácias de 3 a 5% da amostra a ser classificada (ou de hemácias humanas que contenham o(s) antígeno(s) correspondente(s) ao(s) anticorpo(s) que se deseja(m) testar).
4. Homogeneizar e incubar a 37°C durante 15 minutos (a incubação pode ser prolongada até 60 minutos, se desejado).
5. Retirar o tubo do banho-maria, completar até 1 centímetro da borda com solução salina fisiológica.
6. Centrifugar em alta velocidade, decantar o sobrenadante por inversão do tubo, ressuspender o sedimento de hemácias e completar novamente o tubo, até 1 centímetro da borda, com solução fisiológica. Repetir este procedimento (item 6) de lavagem pelo menos 3 vezes.
7. Após a última lavagem, decantar completamente o sobrenadante, invertendo o tubo e enxugando a borda do mesmo com papel absorvente.
8. Adicionar ao sedimento de hemácias, 2 gotas* de SORO DE COOMBS BSA®.
9. Homogeneizar e centrifugar**, imediatamente.
10. Ressuspender o “botão” de hemácias agitando delicadamente o tubo e observar a presença ou a ausência de aglutinação.

3. INTERPRETAÇÃO

Presença de aglutinação de 1 a 4+ no Imunocel I ou II ou III, significa a presença de alo(s) anticorpos(s) eritrocitários(s).

Referências: Price TH, ed. Standards for blood Banks and transfusion services. 25^a ed. Betesda,MD:AABB,2008:44.