



Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Mestrado Integrado em Medicina – Trabalho Final

Ana Beatriz Oliveira Teixeira

Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido, a sua relação com os grupos sanguíneos minor e abordagem prática

Artigo de Revisão Narrativa

Área Científica de Pediatria

Trabalho realizado sob a orientação de:

Dra. Sofia de Seíça Ribeiro Dias da Costa

Dra. Teresa Sofia Seara Sevivas

2022/2023

Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido, a sua relação com os grupos sanguíneos minor e abordagem prática

Ana Beatriz Oliveira Teixeira¹,
Teresa Sofia Seara Sevivas²,
Sofia de Seíça Ribeiro Dias da Costa³

1. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal
2. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal
3. Maternidade Doutor Daniel de Matos, Coimbra, Portugal

Autor para correspondência:

Dra. Sofia de Seíça Ribeiro Dias da Costa

Maternidade Doutor Daniel de Matos

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Rua Miguel Torga 3030-165

Coimbra, Portugal

Endereço eletrónico: sofiacosta89@hotmail.com

1. Índice

2. Glossário de Siglas e Abreviaturas.....	2
3. Resumo.....	3
4. Introdução.....	5
5. Metodologia.....	5
6. Discussão.....	6
6.1. Etiologia.....	6
6.2. Patofisiologia.....	7
6.3. Prevalência e Grupos Étnicos.....	11
6.4. Os grupos sanguíneos: Antígenos e Anticorpos e a sua relação com a DHFRN.....	12
6.4.1. Grupos sanguíneos Major.....	12
6.4.2. Grupos sanguíneos Minor.....	13
6.4.3. A DHFRN por vários aloanticorpos em simultâneo.....	18
6.4.4. Antígenos de elevada e de baixa prevalência na população geral.....	18
6.5. Apresentação clínica e laboratorial.....	19
6.6. Complicações da DHFRN.....	20
6.7. Diagnóstico.....	21
6.7.1. Diagnóstico pré-natal.....	22
6.7.2. Diagnóstico pós-natal.....	23
6.8. Diagnóstico Diferencial.....	25
6.9. Abordagem prática.....	26
6.9.1. Abordagem prática pré-natal.....	26
6.9.2. Abordagem prática pós-natal.....	28
6.9.3. Circunstâncias especiais.....	33
6.10. Vigilância e Seguimento.....	34
6.11. Prognóstico.....	35
6.12. Perspetivas Futuras.....	35
7. Conclusões.....	35
8. Bibliografia.....	38

2. Glossário de Siglas e Abreviaturas

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DHFRN/HDFN – Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido

ESP – Esfregaço de Sangue Periférico

HFM – Hemorragia Fetomaterna

Ig – Imunoglobulina

IGIV – Imunoglobulina Intravenosa

MoM – Múltiplo da Mediana

PSV-ACM – Pico de velocidade sistólica da artéria cerebral média

Rh – Rhesus

SRE – Sistema reticuloendotelial

TAD/DAT – Teste de antiglobulina direta

TAI/IAT – Teste de antiglobulina indireta

TIU – Transfusão Intrauterina

3. Resumo

A Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido (DHFRN) imune é uma patologia na qual os eritrócitos fetais ou do recém-nascido são destruídos por anticorpos maternos que com eles entram em contato, quando existe mistura entre o sangue materno e o sangue fetal¹⁻². Este fenômeno conduz a hemólise, podendo o feto ou recém-nascido desenvolver anemia e hiperbilirrubinemia³.

Existem grupos sanguíneos major e minor. Com a introdução da imunoprofilaxia anti-D, a DHFRN devida à isoimunização Rhesus (Rh) D diminuiu, verificando-se uma incidência relativa aumentada da doença pelos grupos sanguíneos minor^{1,4-14}. Diversos antígenos pertencem a estes sistemas sanguíneos, alguns deles com os quais pode ocorrer aloimunização e, conseqüentemente, desenvolver-se DHFRN, enquanto com outros não¹⁵. A prevalência de alguns destes antígenos varia consoante a ascendência étnica individual¹⁴⁻¹⁵.

O diagnóstico pré-natal da DHFRN passa essencialmente pela determinação do grupo sanguíneo materno e realização de um teste de antiglobulina indireta (TAI), com posterior titulação de anticorpos¹. Após o diagnóstico estabelecido, a vigilância da gravidez é essencial, com titulações de anticorpos seriadas e monitorização da anemia fetal através de ecografia “doppler”¹. Para o diagnóstico pós-natal, para além do conhecimento do grupo sanguíneo materno e TAI, deve proceder-se à determinação do grupo sanguíneo, hemoglobina, bilirrubina do recém-nascido e realização de um teste de antiglobulina direto (TAD)¹¹. Deve atentar-se perante sintomatologia no recém-nascido e a complicações da doença, que podem ser graves e potencialmente fatais¹¹. Em casos graves, existe grande probabilidade de sequelas³. A abordagem prática pós-natal passa, essencialmente, pelo tratamento da anemia e da hiperbilirrubinemia¹⁵.

É necessária a identificação de grávidas com fatores de risco para o desenvolvimento da DHFRN, tendo em conta não só a isoimunização ABO e Rh, mas também antecedentes que possam potenciar o aparecimento da doença por grupos minor, tais como transfusões sanguíneas maternas prévias, gravidez ectópica ou abortamentos^{14,16}. Nestas, é importante a pesquisa de anticorpos dos grupos minor.

Apesar de casos graves de doença estarem reportados, o prognóstico da doença é geralmente bom¹⁴. Com a evolução das novas técnicas de abordagem da DHFRN, espera-se que seja cada vez melhor¹⁴.

Palavras chave: Doença Hemolítica, Feto, Recém-Nascido, Grupos sanguíneos minor, Aloimunização.

Abstract

The Hemolytic Disease of the Fetus and the Newborn (HDFN) is a disease in which occurs immunomediated destruction of the fetal or the newborn's red blood cells by antibodies from the maternal circulation that enter in contact with each other when the mother and the child's blood are mixed¹⁻². These phenomena leads to hemolysis, with development of anemia and hyperbilirubinemia in the affected child³.

There are major and minor blood groups. With the introduction of the immunoprophylaxis anti-D, the HDFN has decreased, with a relative increase in the disease by the minor blood groups^{1,4-14}. Many antigens belong to these blood systems, and alloimmunization can occur with some of them, thereafter leading to a capacity of HDFN development¹⁵. With other antigens, this does not happen¹⁵. The prevalence of these antigens may vary according to the individual ethnicity¹⁴⁻¹⁵.

The antenatal diagnosis of the HDFN is essentially made by determining the maternal blood group and with an indirect antiglobulin test (IAT), with posterior antibodies titulation¹. After the diagnosis has been established, monitorization of the pregnancy is mandatory, with seriated antibody title determinations and the use of the "doppler" ultrassound for the management of the fetal anemia¹. For the postnatal diagnosis, besides the maternal blood group and the IAT, the determination of the newborn's blood group, hemoglobin and bilirubin is required, and a direct antiglobulin test (DAT) should be made¹¹. Close attention must be paid to symptoms in the newborns and possible complications of the disease, which can be severe and potentially fatal¹¹. In severe cases, the probability of sequels rises³. The postnatal management involves, essentially, the treatment of the anemia and the hyperbilirubinemia¹⁵.

The identification of pregnancies with risk factors for the development of HDFN is necessary, not only paying attention to the ABO and Rh isoimmunization, but also to a background that can empower the emergence of the disease by minor groups, such as previous maternal blood transfusions, ectopic pregnancy or miscarriages^{14,16}. In these cases, it is important to identify minor blood group antibodies.

Severe cases of the disease have been reported, nevertheless the prognosis is generally good¹⁴. With the evolution of new techniques for the management of the HDFN it is expected an improvement¹⁴.

Keywords: Hemolytic Disease, Fetus, Newborn, Minor Blood Group, Alloimmunization.

4. Introdução

A DHFRN engloba várias patologias que decorrem da destruição dos eritrócitos do feto e/ou recém-nascido⁶. Quando esta é de natureza imune, ocorre devido à presença de anticorpos do grupo sanguíneo da mãe que provocam destruição dos eritrócitos do feto e, eventualmente, supressão medular^{1,10,17-18}. Para que esta doença ocorra é necessário que o feto seja antigénio positivo para os anticorpos desenvolvidos pela mãe³.

O grupo sanguíneo é definido por vários sistemas⁹. Os grupos sanguíneos majoritariamente responsáveis por esta patologia são o AB0 e o antigénio RhD do grupo Rhesus¹¹. No entanto, os grupos minor, poderão estar também na origem desta patologia⁶. Estes, embora menos estudados, são relevantes no contexto desta doença por poderem associar-se a doença grave¹⁵.

Com o advento da imunoprofilaxia anti-D, assistimos a um avanço em termos de prevenção da DHFRN por incompatibilidade RhD, com um impacto notável na morbidade e mortalidade fetal e neonatal, para os quais contribuíram também avanços técnicos e novas terapêuticas^{4-8,10-11,13}. Por outro lado, a DHFRN por incompatibilidade de grupos minor, embora mantendo-se menos frequente, assume maior relevância na atualidade. A população de risco é cada vez mais abrangente, uma vez que assistimos a um maior número de sobreviventes de doença crónica na infância, como doença oncológica ou cardiopatia congénita (passíveis de terem sido submetidas a transfusões sanguíneas maternas prévias na infância, um dos fatores de risco para o desenvolvimento da doença)^{8,10,19}.

Este projeto pretende abordar, de forma sucinta e introdutória, os grupos sanguíneos major e a sua relação com a DHFRN e, de forma detalhada, os grupos sanguíneos minor e a sua relação com a patologia, nomeadamente em grávidas com fatores de risco para o seu desenvolvimento. É de salientar a importância do conhecimento sobre este tema para uma atempada deteção da doença aquando da sua instalação, ressaltando a importância de Programas de Rastreio Nacional como o que existe no nosso país.

Para o cumprimento do principal objetivo do trabalho, foi elaborado um artigo de revisão narrativa da literatura disponível sobre a temática, retirando conclusões sobre o tema que poderão ser úteis para uma melhor abordagem da grávida e deteção precoce desta doença de modo a programar e atuar multidisciplinarmente, reduzindo a mortalidade e morbidade associadas à mesma.

5. Metodologia

Esta revisão narrativa da literatura foi realizada através da pesquisa de artigos científicos para este efeito, em bases de dados como o *PubMed*, o *Medscape*, o *SciELO* e o

UptoDate. A pesquisa decorreu entre dezembro de 2022 e março de 2023, sendo o material bibliográfico datado, maioritariamente, entre os anos 2012 e 2023. Vários termos MeSH foram utilizados para a pesquisa, tais como: doença hemolítica, feto, recém-nascido, grupos sanguíneos minor, aloimunização. Da pesquisa foram excluídos os artigos aos quais não tivemos acesso na totalidade. Foram ainda consultadas *guidelines*, como as do *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*, jornais oficiais de academias e institutos, como o *NeoReviews*, e protocolos dos serviços de Neonatologia e Obstetrícia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Recorreu-se também a capítulos de obras de relevo relacionadas com a DHFRN, com o objetivo de obter uma quantidade considerável de informação de modo a permitir a viabilidade do trabalho, comparar divergências de informação entre diversos autores e identificar lacunas de conhecimento.

Após essa etapa, foi realizada a leitura do material disponível para consulta, tentando obter conclusões sobre o tema que possam ser importantes para o seu uso na prática clínica e como futura referência bibliográfica. Obtido o conhecimento, procedeu-se à elaboração desta revisão narrativa.

6. Discussão

6.1. Etiologia

A DHFRN, conhecida no passado como eritroblastose fetal, é o resultado de uma destruição imunomediada ou não imunomediada dos eritrócitos do feto ou do recém-nascido^{6,8,10-11,14-16}. Na imunomediada, quando há exposição materna a eritrócitos fetais que contêm antígenos que não estão presentes no sangue materno (herdados do pai), ocorre incompatibilidade entre sistemas de antígenos sanguíneos da mãe e o feto, conduzindo a uma sensibilização materna e à produção de aloanticorpos^{1,3,6,8,10,14,19}. Para que ocorra sensibilização materna, é necessário um fenómeno precipitante, como hemorragia feto-materna (HFM) ou transfusão materna prévia, com consequente aloimunização e produção de anticorpos^{6,10-11,14,19}. Os aloanticorpos maternos com capacidade de atravessar a placenta são apenas os do subtipo IgG, provocando a subsequente destruição eritrocitária fetal e/ou suprimindo a eritropoiese medular^{1,6,11,14,20-21}. O sistema imune materno adquire, com esta exposição, memória imunológica e, como resultado, a DHFRN tem maior probabilidade de ocorrer numa próxima gestação¹¹. A exceção é a incompatibilidade AB0, na qual anticorpos, isohemaglutininas, dirigidos aos antígenos A e B, estão naturalmente presentes em mães com sangue do tipo 0, uma vez que estes são adquiridos precocemente na vida por provável exposição a fatores ambientais e microbianos^{3,6,9-10}.

Mais de 70 antígenos eritrocitários são passíveis de criar anticorpos²². O antígeno que mais comumente está associado à DHFRN é o D do sistema Rhesus (RhD)^{10,23}. Os antígenos Rh são imensamente imunogênicos^{5,11,20}. No entanto, a introdução da imunoprofilaxia com imunoglobulina anti-D teve um impacto muito positivo na redução da incidência e mortalidade associadas à doença pelo RhD, pelo que outros grupos sanguíneos, os minor, têm vindo a ganhar ênfase^{1,10,14}. Existem vários antígenos dos grupos minor descritos na literatura que se associam a DHFRN⁶. O espectro da doença vai depender do antígeno envolvido e do grau de hemólise correspondente⁵. O espectro da doença vai depender do antígeno envolvido e do grau de hemólise correspondente, podendo o quadro clínico ir desde assintomático até à hidrúpsia fetal^{4,5,8,14,24-25}. Nos fetos e recém-nascidos afetados podem ocorrer complicações, sendo muito importante excluir sinais sugestivos de doença grave³. É essencial realizar uma investigação completa da mãe e do feto ou recém-nascido com suspeita de DHFRN de modo a permitir a melhor abordagem possível¹⁴.

6.2. Patofisiologia

Existem dois principais mecanismos de exposição materna a antígenos e que podem contribuir para o desenvolvimento da DHFRN: incompatibilidade AB0 e sensibilização prévia com consequente aloimunização, seja, por exemplo, por HFM ou por transfusão sanguínea materna prévia¹⁴.

A primeira é uma alteração que poderá ocorrer em cerca de 15 a 25% das gestações^{14,17}. Nesta, existem naturalmente anticorpos anti-A e anti-B no sangue materno de uma mulher cujo grupo sanguíneo é do tipo O^{10,14}. Se o feto tiver o seu grupo sanguíneo do tipo A, B ou AB, os anticorpos da mãe poderão dirigir-se aos seus eritrócitos, procedendo-se a sua hemólise¹⁴. Como os anticorpos do grupo sanguíneo AB0 estão presentes sem sensibilização prévia, a DHFRN poderá ocorrer numa primeira gravidez³. Além disso, tem uma taxa de recorrência de 87%³.

Quando se aborda a incompatibilidade AB0 como mecanismo de DHFRN, falamos em mulheres do grupo O com fetos do grupo A, B ou AB, uma vez que, nas grávidas com o grupo sanguíneo A ou B, os anticorpos são maioritariamente do tipo IgM e não atravessam a placenta, não ocorrendo hemólise^{3,14}. Este tipo de mecanismo geralmente causa um quadro menos grave de DHFRN do que a aloimunização por HFM, apesar de a incidência de doença moderada poder ir de 1:150 a 1:3000³. Pensa-se que na base deste fenómeno está o facto de os glóbulos vermelhos fetais e neonatais expressarem menos antígenos do grupo AB0 do que os glóbulos vermelhos de um adulto^{3,14}. Além do mais, no feto, vários tecidos possuem estes antígenos, pelo que os anticorpos maternos podem ser absorvidos por esses tecidos e

consequentemente haver menor probabilidade de afetar diretamente os glóbulos vermelhos fetais¹⁴.

Já na aloimunização por HFM, os anticorpos maternos desenvolvem-se, como o nome indica, após o contacto entre os sangues materno e fetal, quando os grupos sanguíneos são incompatíveis¹⁴. Quando os eritrócitos fetais entram na circulação materna, podem ser formados anticorpos contra determinados antígenios da superfície dos glóbulos vermelhos do feto¹⁴. O antígeno mais envolvido neste mecanismo é o Rhesus D, daí a importância da imunoprofilaxia contra o mesmo¹⁴. No entanto, outros antígenios podem estar envolvidos, os chamados dos grupos minor¹⁴. Apesar de, na maioria das vezes, não causarem doença hemolítica significativa, alguns deles poderão associar-se a quadros de anemia grave até com títulos baixos de anticorpos¹⁴. Os anticorpos que se desenvolvem através de aloimunização por HFM colocam em risco de DHFRN gestações subsequentes¹⁴. Isto ocorre porque, numa primeira gravidez, os anticorpos formados por aloimunização são do tipo IgM, sem capacidade de atravessar a barreira placentária^{11,26}. No entanto, em gravidezes subsequentes, quando existe contacto entre os sangues materno e fetal, rapidamente são desenvolvidos anticorpos do tipo IgG, com capacidade de atravessar essa barreira e atacar os eritrócitos fetais^{11,14,26}. À medida que vai ocorrendo a destruição dos mesmos, o feto ou recém-nascido desenvolve anemia hemolítica¹¹.

A partir do momento em que os anticorpos maternos se ligam aos antígenios eritrocitários fetais, estas células são fagocitadas por macrófagos do sistema reticuloendotelial (SRE) no baço ou no fígado, ocorrendo anemia fetal, denominando-se este fenómeno de hemólise extravascular²⁷. Em casos mais graves de DHFRN, pode ocorrer hemólise intravascular, dirigida aos eritrócitos na circulação fetal²⁷. Na maioria dos casos, a eritropoiese fetal estará estimulada para compensar estas perdas, no entanto, no caso da aloimunização Kell, isto não ocorre, uma vez que o anticorpo anti-K é capaz de suprimir a eritropoiese, pelo que, nestes casos, a anemia ocorre mais cedo e é mais grave^{2,7,27}.

A hemólise, ao levar à degradação do grupo heme do sangue, liberta hemoglobina livre que, por sua vez, é metabolizada em bilirrubina e esta, no feto, é transportada através da placenta e conjugada posteriormente pelo fígado materno^{11,27-28}. Após o nascimento, o fígado do recém-nascido começa a desenvolver-se para ser capaz de processar essa bilirrubina¹⁴. A bilirrubina indireta ou não conjugada, vai transformar-se em conjugada ou direta no fígado, com o auxílio da enzima uridina difosfo-glucuronosiltransferase (UDP-GT)¹⁴. Esta bilirrubina conjugada é excretada na bÍlis e, posteriormente, na urina e nas fezes¹⁴. Nos recém-nascidos, especialmente se pré-termo, a capacidade de processamento do fígado é menos eficiente pela imaturidade do mesmo, o que pode levar a icterícia fisiológica¹⁴. No entanto, com o

excesso de bilirrubina devido à degradação do heme na DHFRN, estes mecanismos de processamento imaturos podem conduzir a quadros mais graves, com hiperbilirrubinemia proeminente e icterícias prolongadas e patológicas¹⁴. A acumulação de bilirrubina não conjugada pode resultar em disfunção neurológica, uma vez que esta é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e depositar-se no cérebro ainda em desenvolvimento^{14,28}. Nos casos mais graves pode cursar com encefalopatia bilirrubínica aguda e kernicterus⁶. É necessária atenção neste aspeto e tratamento atempado de modo a evitar problemas futuros a nível do neurodesenvolvimento¹⁴.

As formas clinicamente significativas de DHFRN são causadas por aloanticorpos maternos do tipo IgG1 e IgG3, capazes de se associar a hemólise de forma mais eficaz³. São transportados, a partir do segundo trimestre de gravidez, através da placenta pelo recetor Fc (componente da molécula IgG e diferente nas imunoglobulinas IgM e IgA)^{3,6,15,27}. À medida que a gravidade da anemia progride, a hematopoiese é estimulada em compensação, motivo pelo qual inicialmente a patologia foi descrita como eritroblastose fetal³. Após o parto, a hemólise pode manter-se devido à persistência de anticorpos maternos na circulação fetal, sendo que estes níveis diminuem até às 12 semanas de vida^{3,9,27}.

Os antígenos no sangue fetal que não coincidem com os do sangue materno são herdados do pai^{1,3,14,19}. Como exemplo, temos uma mulher Rh negativa com um feto Rh positivo, uma vez que o progenitor também é Rh positivo¹⁴. Quando um anticorpo com significado clínico está presente na circulação materna, é recomendada a testagem paterna, de modo a calcular a probabilidade de o antígeno correspondente ter sido herdado pelo filho²⁷. Se o pai é heterozigoto para esse antígeno, a probabilidade de a descendência o herdar é da ordem dos 50%, enquanto se o pai é homozigoto, essa probabilidade sobe virtualmente para os 100%^{2-3,27}. Quando estão envolvidos anticorpos do grupo Rh, os cálculos são diferentes, na medida em que é necessário ter em conta o fenótipo e o genótipo do anticorpo envolvido, variáveis consoante o grupo étnico paterno². É sempre necessário questionar se estamos perante um pai presumível ou confirmado^{2,11,27}.

Existem fatores de risco para a ocorrência de sensibilização, seja por HFM, seja por transfusões maternas prévias, sendo cada vez mais prevalente numa população que na atualidade sobrevive mais a doenças crónicas na infância, atingindo a idade fértil com antecedentes pessoais passíveis de aumentar este risco¹⁰. É apenas necessário cerca de 0.1 mL de sangue fetal a entrar em contacto com sangue materno para ocorrer aloimunização^{3,14}. Cerca de 15 a 50% das gestações apresentam HFM suficiente para que a aloimunização ocorra e apenas 1 a 2% de todas as aloimunizações Rh ocorre devido a HFM anteparto¹⁴.

Além do histórico de transfusões sanguíneas maternas prévias, muitos outros fatores de risco existem para a imunização das grávidas¹⁰⁻¹¹, alguns dos quais estão listados na Tabela 1.

Fatores de risco para isoimunização
Hemorragia Feto-Materna, conhecida e presumível
Gravidez ectópica
DHFRN em gravidez prévia
Hidrópia fetal em gravidez prévia
Parto pré-termo prévio
Reações adversas a transfusão materna prévia
Patologia hematológica materna
Hemorragia documentada durante a gravidez
Abortamento induzido ou espontâneo
Parto por cesariana
Procriação medicamente assistida
Morte fetal
Lesões intrauterinas
Trauma abdominal materno
Procedimentos médicos invasivos (cordocentese, amniocentese, biópsia das vilosidades coriônicas)
Transfusões maternas prévias, conhecidas e presumíveis
Internamento prolongado durante a infância
Sobrevivência a cancro na infância
Antecedentes de cirurgia major
Correção cirúrgica de defeitos cardíacos congênitos
Produção natural de anticorpos sem exposição prévia (isoimunização ABO)

Tabela 1: Fatores de risco para isoimunização.

Qualquer perturbação física do feto ou da placenta aumenta o risco de ocorrer HFM, tal como trauma, lesões intrauterinas, abortamentos, gravidez ectópica, técnicas de diagnóstico pré-natal, como a amniocentese, cirurgia major prévia ou remoção cirúrgica da placenta, gravidez prévia com filho do sexo masculino, ou gravidez múltipla^{3,10-11,14,21,29}. É também necessário atentar aos casos de mães toxicodependentes que poderão utilizar agulhas contaminadas para o consumo de drogas ilícitas, constituindo este um fator de risco para isoimunização, semelhante ao que ocorre nas transfusões maternas prévias²⁷. Uma vez exposto, o sistema imune materno pode ou não responder aos antígenos estranhos ao seu organismo³.

6.3. Prevalência e Grupos Étnicos

Como referido anteriormente, a DHFRN por grupos minor tem vindo a ganhar terreno, devido ao desenvolvimento da imunoprofilaxia anti-D, embora o Rh continue a ser o antigénio mais frequentemente identificado como causa de incompatibilidade e DHFRN^{1,4-13}. A prevalência de outros anticorpos, além do anti-D, associados a doença é de cerca de 1 em cada 500 gravidezes e, excluídas as causas ligadas ao sistema ABO, será de cerca de 3 a 5% dos casos de DHFRN^{1,4}. Durante a gravidez, ocorre uma mistura espontânea de sangue materno com sangue fetal (HFM)³. Esta mistura ocorre com uma prevalência de 3% no primeiro trimestre, 12% no segundo e 45% no terceiro, sendo geralmente pouca a quantidade de sangue misturado³.

A DHFRN é capaz de conduzir a significativas morbidade e mortalidade, essencialmente em países com acessos limitados aos cuidados de saúde^{14,30}. A sua prevalência depende do tipo de sangue e do antigénio para o qual ocorre a aloimunização, cuja incidência varia consoante a ascendência e grupo étnico do indivíduo afetado^{9,11,14-15,31}.

A incompatibilidade ABO ocorre em cerca de 15 a 25% de todas as gravidezes, resultando em DHFRN em apenas 4% das mesmas^{14-15,17}. É mais comum em mulheres com o tipo sanguíneo O com filhos do tipo A (produção de anticorpos anti-A), no caso dos europeus, ou filhos do tipo B (produção de anticorpos anti-B), no caso dos africanos³. Por sua vez, a hemólise é mais frequente e pode ser pronunciada em recém-nascidos com ascendência africana do grupo B, nos quais o antigénio B parece estar mais desenvolvido ao nascimento do que em outras populações^{9,15,27}.

Relativamente aos grupos minor, o anticorpo anti-Kell é raro, encontrado em apenas 0.1% das mulheres grávidas, sendo que a maioria delas desenvolve o anticorpo devido à exposição a transfusões prévias^{10,27}. Felizmente, apenas 9% dos indivíduos de ascendência europeia e 2% dos de ascendência africana apresentam este antigénio¹⁰.

No que diz respeito ao aloanticorpo anti-U, este é mais prevalente em indivíduos de ascendência africana, é capaz de se associar a DHFRN grave, podendo ser um problema clínico, uma vez que muitos testes de deteção de anticorpos não incluem o anti-U^{9,32}. Existe ainda o grupo Knops, muito comumente encontrado em descendentes de etnia africana, mas que não se associa a DHFRN⁹.

No Este Asiático, a frequência relativa de DHFRN associada a anticorpos que não o anti-D é elevada, uma vez que a proporção de indivíduos RhD negativos é especialmente baixa^{10-11,14,27}. Nos estudos realizados relativamente à incompatibilidade MNS, verificou-se a prevalência aumentada do anti-Mur como causa de DHFRN em populações do Sudeste Asiático, nomeadamente chineses, taiwaneses e tailandeses^{9,27}. Existem, ainda,

variadíssimos outros casos reportados no continente asiático, essencialmente na Coreia, Taiwan e China, que descrevem a doença devida aos anti-C, anti-E e anti-M^{8,33}. O anti-Dia tem prevalência aumentada também em países asiáticos, nomeadamente na Mongólia³⁴.

Os anticorpos com incidência relativa aumentada em cada população estão ilustrados na Tabela 2.

Ascendência Étnica	Aloanticorpos com incidência relativa aumentada
Asiática	Anti-Mur, Anti-M, Anti-C, Anti-E, Anti-Dia
Africana	Anti-Knops, Anti-U, Anti-B
Caucasiana	Anti-K, Anti-A

Tabela 2: Aloanticorpos com incidência relativa aumentada de acordo com a ascendência étnica.

6.4. Os grupos sanguíneos: Antígenos e Anticorpos e a sua relação com a DHFRN

6.4.1. Grupos sanguíneos Major

Os antígenos envolvidos na DHFRN encontram-se na superfície dos eritrócitos fetais, possuindo a capacidade de incitar uma resposta imunitária^{9,32}. Estes antígenos vão pertencer a um determinado grupo ou sistema sanguíneo³². Os grupos sanguíneos são, assim, conjuntos de antígenos que estão sob o controlo de um gene ou um conjunto de genes⁹. São reconhecidos 43 grupos sanguíneos e 343 antígenos pela Sociedade Internacional de Transusão Sanguínea⁹. Cada eritrócito vai apresentar um fenótipo, isto é, a combinação de antígenos na sua superfície⁹.

A incompatibilidade RhD é a melhor descrita na literatura como causa de DHFRN e também a mais comum¹⁰. A segunda causa da doença é a incompatibilidade AB0, ocorrendo quase exclusivamente quando a mãe apresenta o tipo 0¹⁰. Neste segundo caso, a hemólise é mais comum com o anticorpo anti-A, quando comparado com o anti-B¹⁰.

O grupo sanguíneo AB0 resulta da presença ou ausência de antígeno A e/ou B na superfície do eritrócito (grupo sanguíneo) e da presença ou ausência dos anticorpos complementares aos antígenos de superfície, as isohemaglutininas, que ocorrem naturalmente (grupo sérico)⁹⁻¹⁰. Os anticorpos deste grupo aparecem no sangue do recém-nascido entre os quatro e os seis meses de idade, momento em que há exposição a bactérias intestinais com estrutura semelhante aos antígenos A e B^{9,20}. Por este motivo, a DHFRN por imunização AB0 pode ocorrer numa primeira gravidez³. Após uma gravidez, é possível que os títulos de anti-A e anti-B se encontrem elevados, assim como após uma vacinação ou tratamentos com probióticos que proporcionam uma ingestão de bactérias vivas em doses elevadas⁹. Este grupo é um dos mais importantes na DHFRN. Apesar disso, a doença é

normalmente moderada ou pouco grave, uma vez que os antígenos A e B não se encontram bem desenvolvidos na altura do nascimento^{3,9,32,35}. Anticorpos que ocorrem naturalmente, do tipo IgM, contra os antígenos A e B podem desenvolver-se cedo no período neonatal^{9,27}. Em contraste com outros aloanticorpos do tipo IgG, hemólise grave por incompatibilidade AB0 é usualmente um problema para o recém-nascido, raramente afetando o feto²⁷.

6.4.2. Grupos sanguíneos Minor

Dentro dos grupos minor, alguns anticorpos estão associados a doença grave, outros apenas a doença ligeira e outros não se associam a doença¹⁵. Aqueles que mais vezes são encontrados em casos graves de DHFRN são os do sistema Rhesus e do sistema Kell²⁷. É importante ter conhecimentos dos sistemas sanguíneos que podemos identificar como causa de DHFRN, podendo-se, deste modo, excluir os que não são responsáveis pela doença^{9,15}.

A DHFRN pode classificar-se, consoante a sua gravidade, em leve, moderada ou grave¹⁵. Na Tabela 3 estão resumidos vários sistemas sanguíneos, com os seus respetivos antígenos possíveis de estarem associados DHFRN de diferentes graus de gravidade. Foram excluídos os antígenos que não estão associados à doença, incluindo sistemas sanguíneos inteiros¹⁵.

Sistema Sanguíneo	Gravidade da DHFRN consoante o antígeno envolvido		
	Leve	Moderada	Grave
AB0	A, B		
Colton	Cob, Co3	Coa	
Diego		Dia, Dib, Wra, ELO	
Duffy	Fyb	Fya	
Gerbich		Ge3	Ge3
Globoside			PP1Pk
H		H	
Junior	Jra		Jra
Kell	Kpa, Jsa, Ula	Kpb	K, k, Ku, Jsb
Kidd	Jka, Jkb, Jk3		Jka, Jkb
Langereis	Lan	Lan	
Lutheran	Lua		
Mittenberger			Mia
MNS	M, N, Hil, Or	U, S, s, Mta, Mv	Vw, Mur, MUT, U, M
Rhesus	e, Cx, VS, CE, Bea, JAL, C, G	EW, hrs, Tar, Rh32, HrB, E, Hro, C	D, c, f, Ce, Cw, cE, E, Hro, G
Scianna	Rd, SC2	Rd	
Vel	Vel		Vel

Xg	Xga		
----	-----	--	--

Tabela 3: Gravidade da DHFRN consoante o antígeno envolvido.

Vários anticorpos, como, por exemplo, os dos sistemas Lewis ou P1Pk são maioritariamente do tipo IgM, sem capacidade de atravessar a placenta^{1-2,27}. Os anticorpos do grupo Lewis são bastante prevalentes durante a gestação, pelo que o conhecimento da sua irrelevância clínica permite evitar erros de diagnóstico^{2,9}. Apesar disso, podem ocasionalmente ser do tipo IgG, mas não existe DHFRN associada a este grupo que se encontre reportada². Já outros anticorpos são capazes de levar a reações significativas à transfusão, com hemólise²⁰. No entanto, os seus antígenos correspondentes, como, por exemplo, o Lub ou o Yta não se desenvolvem adequadamente ao nascimento, pelo que, mesmo sendo o anticorpo correspondente do tipo IgG e com títulos elevados, não é capaz, mesmo atravessando a placenta, de destruir os eritrócitos fetais, uma vez que não vai ocorrer aglutinação entre o antígeno e o anticorpo^{2,27}.

Apesar da variadíssima diversidade de antígenos que pertencem a diferentes grupos sanguíneos minor, alguns são reportados com mais regularidade em casos clínicos de DHFRN, razão pela qual merecem especial atenção.

6.4.2.1 Sistema Rhesus

No grupo Rhesus podemos encontrar cerca de 49 antígenos diferentes, sendo os mais relevantes o D, E, e, c e C, não existindo nenhum antígeno d^{1,9}. Estes antígenos são codificados pelos genes RHD e RHCE^{4-5,9,22,36-38}. O anti-c é usualmente descrito como o segundo maior causador de DHFRN grave, após o RhD^{5,8}.

Neste grupo, é de salientar o antígeno RhG^{2,9,27}. Este expressa-se em células que não apresentam na sua superfície os antígenos C ou D, e os anticorpos contra o RhG (anti-G) vão aparecer como sendo uma combinação de anti-D e anti-C^{9,27}. É necessário fazer a distinção do anti-G com esta combinação, uma vez que pode ser clinicamente relevante em grávidas de modo a assegurar a monitorização pré-natal adequada e a administração adequada da imunoglobulina D, se o anti-G estiver presente^{2,9,27,39}. Em mulheres RhD negativas em que se apresente a combinação entre anticorpos D e C, os laboratórios de referência de imunohematologia devem ser contactados para distinguir prontamente esta combinação do anti-G, uma vez que a grávida pode ser RhD negativa, mas não se encontrar devidamente aloimunizada contra o RhD, pelo que é candidata à administração de anti-D^{2,9,27,39}.

Anticorpos dirigidos ao C, E e e são usualmente encontrados em títulos mais baixos, em conjunto com o anti-D, podendo a sua presença ser contributiva para a hemólise²⁷. A

maioria das vezes que neste grupo ocorre aloimunização, esta é devida à exposição a sangue de outro indivíduo, seja por transfusões sanguíneas maternas prévias ou gravidez⁹.

O anti-c está presente em cerca de 0.07% de todas as gravidezes²². Podem, associadas a este anticorpo, ocorrer reações hemolíticas agudas ou tardias, sendo conhecido por estar associado aos quadros mais marcados de hemólise na DHFRN^{22,26}. O anti-c pode ser difícil de detetar, na medida em que o teste de Coombs apenas positiva em cerca de um terço destes casos de incompatibilidade²².

É de salientar ainda o antigénio E, associado a quadros clínicos de gravidades distintas²⁶. Estão reportados casos de incompatibilidade do subgrupo E com hiperbilirrubinémias graves e hemólise com necessidade de transfusão ou de imunoglobulina intravenosa (IGIV) e, noutros casos, verificam-se quadros clínicos muito ligeiros, o que vem dificultar muito o bom prognóstico da doença quando associada ao anticorpo anti-E²⁶. O anti-E pode estar presente em 1 em cada 300 grávidas, ocorrendo a doença associada a este anticorpo em cerca de 1 em cada 500 casos¹⁹. Este anticorpo está normalmente associado a doença pouco grave pela sua fraca imunogenicidade, à semelhança do Jka¹⁹. Os títulos de anticorpos anti-E são menos sensíveis na determinação da gravidade da hemólise em gravidezes subsequentes, pelo que, mesmo com baixos títulos, deve-se suspeitar da doença e proceder-se a estudos complementares¹⁹.

Apesar da introdução da administração da profilaxia anti-D, esta não protege contra a formação de anticorpos dirigidos a outros antigénios do grupo Rhesus, além do RhD¹.

6.4.2.2. Sistema Kell

Um tipo de DHFRN é a relacionada com o antigénio K²⁷. É o primeiro antigénio eritroide-específico conhecido como sendo expresso durante o desenvolvimento eritroide^{1,10,20}. Clinicamente, a DHFRN relacionada com o anti-K manifesta-se com anemia grave e reticulocitopenia, sendo a hiperbilirrubinémia menos grave quando comparada com a doença relacionada com outros antigénios eritrocitários¹⁰. O anti-K é o mais comum como causa de DHFRN depois dos grupos major e do antigénio c salientado²⁰. Em caso de serem necessárias transfusões, faz parte de uma boa prática clínica administrar concentrados eritrocitários Kell negativos sempre que a mãe tenha sofrido aloimunização contra outros antigénios sanguíneos, quaisquer que sejam^{20,40}.

Dentro do sistema Kell, codificado pelo gene KEL, encontram-se diversos antigénios, nomeadamente o K, k, Kpa, Kpb, Ku, Jsa, Jsb e o Ula^{9,27,32}. O anti-K está associado a DHFRN, sendo responsável por cerca de 10% dos casos reportados de doença grave^{2,9,27}. O antigénio K é produzido numa fase precoce da gestação e expressa-se nas células progenitoras eritroides da medula óssea, pelo que o anticorpo correspondente tem a capacidade de

suprimir a eritropoiese, além de hemolisar os eritrócitos maduros^{7,9,27,32,41-42}. Existe um estudo no qual foi reportado um caso de DHFRN grave por anti-Ge3, tendo o quadro clínico sido muito semelhante ao da isoimunização Kell, com expressão precoce nas células progenitoras eritróides, pensando-se que este anticorpo é capaz, também, de suprimir a eritropoiese⁴³. Os outros antígenos mencionados raramente estão associados a incompatibilidade Kell^{9,27}. A sensibilização neste grupo ocorre majoritariamente devido a transfusões sanguíneas maternas em idade reprodutiva²⁷. Além disso, os títulos de anticorpo neste caso têm pouca relação com a probabilidade de anemia fetal, sendo que a anemia pode modificar-se rapidamente no decurso de uma só semana^{2,27}. A hidrúpsia fetal pode ocorrer nestes fetos, mesmo antes do terceiro trimestre de gestação²⁷. Assim sendo, a monitorização de uma gravidez sensibilizada contra o antígeno K requer a utilização de valores de referência inferiores para os títulos de anticorpos^{10,27}.

A isoimunização Kell, apresenta algumas particularidades, isto porque os antígenos Kell estão presentes nos precursores eritrocitários na medula óssea e SRE^{1,6}. Assim, os anticorpos anti-Kell respetivos vão atuar no sentido da sua destruição no fígado fetal⁶. Uma vez que estes precursores eritrocitários não possuem hemoglobina, não será verificada a presença no feto ou no recém-nascido de hiperbilirrubinémia marcada^{1,6}. Ao invés disso, veremos supressão da eritropoiese, reticulocitopenia e hemólise grave, levando com frequência à necessidade de intervir in útero^{1,6}.

6.4.2.3. Sistema Kidd

O sistema Kidd apresenta a sua significância clínica na medida em que é capaz de se associar a DHFRN e a reações transfusionais agudas ou de instalação tardia³³. Os anticorpos do sistema Kidd são do tipo IgG, capazes de atravessar a placenta e ligar-se a complementos de modo a induzir hemólise tanto intravascular como extravascular³³. A anemia e a hiperbilirrubinémia, nestes casos, podem ser ligeiras ou graves, com quadros de hidrúpsia fetal³³. Em todo o mundo, foram reportados até à data 15 casos de DHFRN por anti-Jkb³³.

Os antígenos Jka e Jkb fazem parte do sistema Kidd, codificados pelo gene KIDD⁹. O antígeno Jka encontra-se bem desenvolvido nos recém-nascidos, podendo ser detetado muito precocemente na gravidez (11 semanas)¹⁹. Os anticorpos correspondentes são, usualmente, de difícil deteção, uma vez que rapidamente são capazes de atingir níveis indetetáveis no plasma^{9,32-33}. São capazes de provocar hemólise, no entanto a DHFRN é rara e habitualmente leve, devido à sua fraca imunogenicidade^{9,19,32}. Apesar disso, casos graves já foram reportados⁹.

Anti-Jka e anti-Jkb, podem ser potenciais causadores de reações adversas graves e tardias às transfusões sanguíneas, essencialmente o anti-Jka^{20,33}. O anti-Jka associa-se a

anemias prolongadas, que podem demorar até cerca de 7 semanas a resolver completamente¹⁹. Está reportado em vários estudos que baixos valores de hemoglobina se associam à presença da incompatibilidade Jka, pelo que, na sua presença, os valores de hemoglobina devem ser monitorizados¹⁹.

6.4.2.4. Sistema MNS

Dentro do sistema MNS encontramos vários antigénios, sendo os de maior relevância os M, N, S, s, U e Mur^{9,15,27,32}. Se afetado pela DHFRN por incompatibilidade MNS, o feto ou recém-nascido pode ter anemia hipoproliferativa sem correlação direta com os títulos de anticorpos, à semelhança do que ocorre com o anti-K²⁷. A anemia pode entrar numa fase hipoproliferativa devido à supressão da eritropoiese³.

Apesar de não se associarem a DHFRN, alguns anticorpos podem surgir naturalmente sem ser necessária exposição a nenhum mecanismo que ative o sistema imunitário, quando os antigénios em questão se assemelham a epítomos presentes em determinados microorganismos, mais usualmente em bactérias que constituem o microbioma intestinal^{9,27,44}. Esta ocorrência natural verifica-se para os anti-M e anti-N em 2 a 3% da população geral, apesar de, neste caso, poderem ser responsáveis pela doença^{9,27,44}.

Relativamente ao anti-M que, na maioria das vezes, é do tipo IgM e não atravessa a placenta, a DHFRN foi raramente reportada e é geralmente leve, apesar de ter incidência aumentada em populações asiáticas^{2,9,27,32,44}. O mesmo se sucede com o anti-N^{9,32}. No entanto, a DHFRN pode ocorrer por anti-M se o anticorpo em questão estiver em títulos elevados e for do tipo IgG, reativo a 37°C²⁷.

O anti-Mur é está associado a DHFRN grave e, pela sua prevalência aumentada em sul-asiáticos, deve ser pesquisado como causa da doença nestes doentes^{9,27}.

Os anticorpos anti-S e anti-s são maioritariamente do subtipo IgG, podendo atravessar a placenta e associar-se a DHFRN moderada^{9,32}.

Por fim, o anti-U, mais prevalente em indivíduos de ascendência africana, pode estar associado a DHFRN grave, devendo ser considerada a sua pesquisa se suspeita de DHFRN numa família com ascendência africana^{9,32}.

6.4.2.5. Sistema Colton

O grupo Colton apresenta como antigénios o Coa, o Cob e o Co3¹⁵. O anti-Coa pode associar-se a DHFRN moderada, enquanto que o anti-Cob e o anti-Co3 apenas estão associados a doença leve^{9,15}. O anti-Cob raramente é encontrado isoladamente⁹.

6.4.2.6. Sistema Diego

Dentro do sistema Diego, existem vários antígenos, codificados pelo gene SLC4A1, a maioria deles expressando-se raramente⁹. O Dia, o Dib e os antígenos Wright (Wra e Wrb) são os mais relevantes deste grupo⁹. O Wra é raro, pelo que o anti-Wra será muito comum na população e ocorre naturalmente, podendo causar DHFRN moderada⁹. Já o Wrb é muito comum, pelo que aloanticorpos anti-Wrb são raros, não havendo reportados casos de doença neste caso⁹. Os anti-Dia e anti-Dib estão associados a DHFRN moderada^{9,34}.

Relativamente ao sistema Diego, os casos reportados ocorreram maioritariamente em gestações gemelares, com história de abortamentos de repetição, partos distócicos, várias transfusões intrauterinas (TIU) durante a gestação ou grávidas de idades mais avançadas⁴⁴.

6.4.2.7. Sistema Duffy

O grupo sanguíneo Duffy, com os antígenos Fya e Fyb na sua constituição, pode-se associar a DHFRN²⁷. Estes antígenos são codificados por alelos codominantes²⁷. Apenas o anti-Fya foi associado a DHFRN moderada⁹. Geralmente, quando estamos perante a doença por anti-Fyb esta é mais leve e raramente ocorre⁹.

6.4.2.8. Sistema Vel

No grupo Vel, codificado pelo gene homónimo, encontramos o antígeno Vel, de elevada prevalência na população geral⁹. Está associado a DHFRN, no entanto esta é leve, uma vez que as células fetais não expressam valores elevados deste antígeno^{2,9}. Apesar disso, casos de DHFRN grave por incompatibilidade Vel já foram reportados¹⁵.

6.4.3. A DHFRN por vários aloanticorpos em simultâneo

A DHFRN pode ocorrer pela presença não só de um anticorpo contra um antígeno do grupo minor, mas vários em associação²⁹. Usualmente, associam-se os anticorpos anti-c ao anti-E, a combinação mais comum, e o anti-K ao anti-E^{22,29}. Vários anticorpos estão presentes em cerca de 8 a 14% dos casos de DHFRN²⁹. A coexistência do anti-c e do anti-E pode ser associada a doença grave^{5,24}. Outro exemplo de concomitância de anticorpos é entre o anti-Jka e o anti-E, na qual é raro ocorrer icterícia grave¹⁹.

6.4.4. Antígenos de elevada e de baixa prevalência na população geral

Existem anticorpos que são dirigidos a antígenos que se manifestam nos eritrócitos com muita frequência, como o K, o Kpb ou o Coa². Se o antígeno em causa é desenvolvido ao nascimento, há maior probabilidade de o anticorpo correspondente se associar a DHFRN moderada a grave². Esse anticorpo deve ser devidamente identificado e tratado de acordo e atempadamente, tendo sempre sangue de um dador compatível disponível para o caso de existir a necessidade de transfusão^{2,9}. Apesar desta necessidade, muitas vezes o sangue de

dador adequado não se encontra disponível, uma vez que estamos perante antigénios muito frequentemente presentes nos eritrócitos da população geral². Deste modo, poderão ser utilizadas alternativas, como doação de sangue por parte de parentes maternos, preferencialmente irmãos, que sejam compatíveis, ou ainda contactar um banco de doação de sangue questionando sobre a disponibilidade de sangue compatível para transfusão². No caso de nenhuma destas alternativas ser possível e a transfusão ser imperativa, utiliza-se sangue de dador universal com glóbulos vermelhos heterozigotos para o antigénio em questão².

Contrastando, existem anticorpos dirigidos a antigénios que raramente se manifestam nos eritrócitos, mas potencialmente associados a DHFRN^{2,27}. Nestes casos, a maioria dos testes utilizados na identificação dos mesmos falha, com grande probabilidade de falsos negativos²⁷. Assim, a doença pode passar despercebida e mesmo os anticorpos com capacidade de induzir hemólise poderão só ser detetados na altura do parto²⁷. Estes antigénios infrequentes são herdados do pai, pelo que, após o nascimento, pode realizar-se a testagem de modo a entender a etiologia, se até então desconhecida^{3,19}.

6.5. Apresentação clínica e laboratorial

A DHFRN por grupos minor tem uma apresentação clínica semelhante à provocada pela isoimunização RhD, podendo ir desde quadros ligeiros a graves consoante os antigénios envolvidos¹.

Nos recém-nascidos afetados pela DHFRN podem verificar-se sinais e sintomas como organomegalias, taquicardia ou bradicardia, letargia, palidez cutânea, edema, derrame pleural, ascite e icterícia^{14,24}.

A destruição dos eritrócitos do feto/recém-nascido é capaz de induzir quadros de anemia de diversas gravidades¹⁵. Quando grave, a anemia fetal tem a capacidade de evolução para hidrósia fetal, sendo muito importante a sua deteção atempada^{14,24,45}. Uma vez que os anticorpos maternos ficam na circulação neonatal nos primeiros meses, a anemia pode ser prolongada e, por isso, pode ser dividida em anemia neonatal precoce, nos primeiros 7 dias de vida, ou tardia^{3,15}. A maioria dos recém-nascidos são assintomáticos, no entanto, quando os mecanismos compensadores, como, por exemplo, o aumento do débito e da frequência cardíaca, não asseguram uma adequada oxigenação dos tecidos, podem apresentar palidez cutânea, taquicardia, aumento das necessidades de oxigénio, aumento dos episódios de apneia ou bradicardia e fraco aumento ponderal e, nos casos de hemorragia aguda, sinais de má perfusão periférica e choque^{14,24,46}.

É estimado que a doença por grupos minor seja responsável por cerca de 3 a 5% do total dos casos de icterícia neonatal²⁶. A hiperbilirrubinémia é uma das causas mais comuns

de morbidade neonatal requerendo admissão hospitalar e intervenção³³. Habitualmente a icterícia é precoce, aparecendo nas primeiras 24 horas de vida, ao contrário da icterícia fisiológica, que só surge depois das 24 horas e deverá estar resolvida até às duas semanas de vida⁷². A bilirrubina não conjugada é capaz de passar a barreira hematoencefálica e provocar neurotoxicidade, causando disfunção neurológica e, nos casos mais graves, encefalopatia (kernicterus)^{14,46}. Os sintomas podem ir desde letargia, dificuldades alimentares, choro gritado e hipotonia até quadros graves de hipertonia, apneia e convulsões^{14,46}.

Deve haver suspeita de DHFRN quando existe hiperbilirrubinémia precoce, grave ou persistente e hemólise³. É de salientar que a extensão da hematopoiese afeta a gravidade da doença^{11,36}. Alterações analíticas como reticulocitose, trombocitopenia e neutropenia ou neutrofilia são observadas habitualmente nestes doentes^{6,11,48-49}. No esfregaço de sangue periférico (ESP) podemos encontrar eritroblastos e macrocitose^{6,11}. A trombocitopenia pode ocorrer em cerca de ¼ dos casos de DHFRN, essencialmente se houve transfusão sanguínea prévia, seja por baixa formação de plaquetas ou por a sua produção ser suprimida em favor da eritropoiese^{11,15,48}. Por outro lado, a neutropenia verifica-se mais usualmente em casos em que foi necessária transfusão intrauterina (TIU)¹¹. Muitas vezes, a neutropenia está associada a um aumento das citocinas em circulação (como fator estimulante de colónias ou macrófago granulócito) e a reticulocitose, ocorrendo formação de eritrócitos nucleados e, conseqüentemente, a sua posterior destruição¹¹. Um outro achado laboratorial é a colestase, em 5 a 15% dos casos, pela elevação da bilirrubina direta, sendo usualmente necessária TIU nestes casos^{15,48}.

A exceção é a isoimunização anti-K, que pode levar a quadros de supressão da eritropoiese associada a anemia grave, com reticulocitopenia, sendo a hiperbilirrubinémia ligeira^{1,7}. Já em termos laboratoriais, verifica-se a presença de hemólise e anemia e no ESP de eritroblastos e/ou macrocitose¹.

6.6. Complicações da DHFRN

A DHFRN pode ter várias complicações, sendo as mais graves o kernicterus, que ocorre no recém-nascido, e a hidrósia fetal, esta última verificada no feto.

A incompatibilidade pelos grupos minor do sangue tem potencial de provocar hiperbilirrubinémia grave com as conseqüências que dela advêm, se permanecer sem diagnóstico e tratamento adequados¹¹. A maioria dos recém-nascidos apresenta um quadro clínico menos grave¹⁵. No entanto, quadros de kernicterus ocorrem em cerca de 25% dos recém-nascidos com hiperbilirrubinémia¹¹. O kernicterus é uma condição causada pela acumulação de bilirrubina no sistema nervoso central, ocorrendo usualmente poucos dias após o nascimento^{11,50}. É uma das complicações mais graves da DHFRN, podendo

manifestar-se por hipotonia ou reflexo da sucção fraco, progredindo para irritabilidade e hipertonia, convulsões, com *retrocollis* e *opistotonus*, podendo levar ao coma^{3,11,14-15,28-29,46,51}. Envolve habitualmente os gânglios da base, o cerebelo e vários núcleos do tronco cerebral⁵¹. Os recém-nascidos que sobrevivem nesta idade ao kernicterus, têm elevada probabilidade de ter no futuro alterações do neurodesenvolvimento, perda auditiva e paralisia cerebral, sendo o reconhecimento precoce e terapêutica adequada essenciais para prevenir o deterioramento generalizado e a progressão da DHFRN^{11,14,25,42,46,51}.

Já no feto, em casos mais graves, pode ocorrer hipertensão portal e síntese hepática de albumina reduzida, conduzindo a uma baixa pressão plasmática oncótica, com edema, derrame pleural e pericárdico e ascite associados, ocorrendo hidrôpsia fetal, com risco aumentado de mortalidade fetal^{15,24}. A hidrôpsia fetal é o quadro de anemia grave com hematopoiese extramedular, no fígado e baço, conduzindo a insuficiência cardíaca e edema generalizado²⁷. Estes recém-nascidos podem nascer em choque hipovolêmico e necessitar de transfusão sanguínea emergente^{1,6,15}.

Além desta anemia grave, com capacidade de evolução para hidrôpsia fetal, a anemia pode também ser leve ou moderada, com capacidade de afetar tanto o feto como o recém-nascido¹⁵.

Os recém-nascidos afetados pela DHFRN podem ainda desenvolver anemia hiporregenerativa, numa fase mais tardia, podendo durar este quadro semanas a meses após o nascimento, até ao desaparecimento total dos anticorpos maternos da circulação do recém-nascido³. Anticorpos dos sistemas Kell e Duffy podem associar-se este quadro clínico, e outros, mais raramente, como o c ou o C do sistema Rhesus^{15,24}. A combinação do anti-c e do anti-E também é uma potencial causa²⁴.

6.7. Diagnóstico

O diagnóstico de DHFRN fica completo quando existe incompatibilidade de grupos sanguíneos entre a mãe e o feto ou recém-nascido, existe evidência laboratorial de hemólise, temos um TAD ou TAI positivo e detetamos o mesmo anticorpo que foi detetado na mãe ligado à superfície do eritrócito do feto ou recém-nascido¹⁵. A evidência laboratorial de hemólise passa pela elevação de bilirrubina não conjugada, da desidrogenase láctica (LDH), anemia com contagem de reticulócitos alterada e achados consistentes com hemólise no ESP (diminuição do número de eritrócitos, reticulocitose, macrocitose, policromasia, eventualmente microesferocitose se incompatibilidade ABO)^{6,11,15}. No caso da isoimunização Kell, ao invés de reticulocitose, é verificada reticulocitopenia¹.

6.7.1. Diagnóstico pré-natal

O diagnóstico pré-natal da DHFRN assenta, inicialmente, numa história clínica materna completa e extensiva, colocando ênfase particularmente em eventos que predisõem a HFM^{10-11,14}.

Em todas as grávidas, com ou sem suspeita clínica de DHFRN, procede-se à determinação laboratorial do grupo AB0 e RhD, se não for previamente conhecido, além do TAI^{1,6}. Se o TAI for positivo deve realizar-se a titulação do anticorpo envolvido para saber se este está associado a doença^{1,6,15,27}. O valor de referência para a titulação da maioria dos anticorpos envolvidos é de 1:16, exceto para a isoimunização K, no qual a doença se pode manifestar com titulações na ordem dos 1:4^{6,11,27,42}. Se superior ou igual a este valor, deve repetir-se a titulação a cada quatro semanas, consoante a capacidade do anticorpo envolvido de aumentar a sua concentração num menor intervalo de tempo¹. Na imunização anti-K, não é necessária a repetição seriada de titulações de anticorpos até às 18 a 20 semanas de gestação, uma vez que o risco de anemia fetal grave é baixo antes dessa altura²⁷. No terceiro trimestre os testes devem ser repetidos em intervalos menores, uma vez que o risco de eritroblastose é maior²⁷. Os títulos de anticorpos, no entanto, podem não se relacionar diretamente com a gravidade da hemólise²⁷. Quando é inferior a estes valores padrão, repete-se a medição a cada trimestre^{1,6}. Esta monitorização deve ser seriada ao longo de toda a gravidez, individualizada consoante a gravidade do quadro⁵².

Quando se confirma a aglutinação, procede-se à identificação do anticorpo envolvido e à sua devida titulação²⁷. Os anticorpos que se pretendem identificar são os associados a DHFRN²⁰.

Para podermos determinar que existe uma incompatibilidade de grupos sanguíneos, estes têm que ser conhecidos. A identificação do grupo sanguíneo fetal pode ser realizada através de técnicas invasivas, como a cordocentese ou a amniocentese, mas também por técnicas como o teste *cell-free* DNA, preferível por ser não invasiva^{1-2,6,23,49}. Esta última técnica tem vindo a ser aplicada com sucesso na determinação da presença dos antígenos K, C, e, c e E no feto⁶. Devem-se utilizar estas técnicas quando estamos perante heterozigotia paterna ou quando a paternidade é incerta, de modo a esclarecer a probabilidade de herança do antígeno envolvido na doença por parte da descendência²⁷. Quando o pai, confirmado, é homozigoto para o antígeno em questão, o feto ou recém-nascido herdou o mesmo com 100% de probabilidade, pelo que não é necessário recorrer a estas técnicas²⁷.

A partir do momento em que existe confirmação do aloanticorpo envolvido na DHFRN, o fenótipo antigénico eritrocitário paterno deve ser estabelecido e documentado, de modo a calcular a probabilidade de o antígeno correspondente ser herdado para a descendência,

tendo sempre em consideração o grupo étnico e a probabilidade de estarmos perante um pai biológico não confirmado^{11,14,27}. Estes testes não se podem realizar em casos em que o DNA paterno não se encontra disponível². Técnicas de DNA polimerase ou monitorização por técnicas de fluorescência utilizando o líquido amniótico são muito úteis nestes casos ou quando as células do pai são conhecidas como sendo heterozigóticas para o antigénio em questão². A tecnologia molecular com análise de DNA permite prever que o feto não está em risco de DHFRN, poupando a família a intervenções desnecessárias e, por vezes, agressivas².

O RhD fetal deve ser determinado de modo a perceber a necessidade de administração de anti-D, mesmo em mulheres que sofreram sensibilização contra antigénios como o K ou o E². Uma vez que estas técnicas se podem realizar cedo na gravidez, sem demora podemos auxiliar o diagnóstico ou excluir a doença². Outra razão a favor do uso destas técnicas é na determinação dos antigénios fetais em grávidas com anti-K ou anti-Ge3². Em ambos os casos, a força do anticorpo materno é um mau indicador da anemia fetal e baixas titulações de anticorpos maternos podem resultar na mesma em fetos afetados². Por este motivo, e por a técnicas de diagnóstico pré-natal serem potenciais fontes de contaminação do sangue materno com células fetais, na generalidade dos casos, a tecnologia molecular é preferível².

Se a grávida tiver grupo sanguíneo 0, devem realizar-se um teste de citometria de fluxo para excluir potencial DHFRN¹¹.

6.7.2. Diagnóstico pós-natal

A apresentação clínica que na maioria dos casos alerta os profissionais de saúde para a presença de DHFRN é a icterícia de instalação precoce⁷.

Após o nascimento, procede-se à identificação dos grupos sanguíneos materno (se ainda não conhecido) e do recém-nascido e à realização do TAD¹¹. A determinação do grupo sanguíneo do recém-nascido, com fenotipagem do antigénio correspondente ao anticorpo que está associado a doença, poder-se-á efetuar através de sangue do cordão umbilical, que é apenas viável para análise até cerca de 7 dias depois do nascimento^{1,15}.

Perante uma grávida com TAI positivo e suspeita de DHFRN, ou cujo grupo sanguíneo é Rh negativo, habitualmente realiza-se na sala de partos colheita do sangue do cordão umbilical para determinação de grupo sanguíneo do recém-nascido e realização de TAD¹. Se, por outro lado, a suspeita clínica de DHFRN surge posteriormente, colhe-se sangue ao recém-nascido com hemograma, reticulócitos, bilirrubinas total e direta, lactato e desidrogenase láctica e procede-se à realização de TAD e observação do ESP^{1,7,40}.

A positividade do TAD confirma a presença de imunoglobulinas ligadas à superfície dos eritrócitos do recém-nascido⁶. Este teste tem a particularidade de poder induzir a erros, uma vez que, por exemplo, quando a profilaxia materna com anti-D foi administrada às 28 semanas de gestação, poderá o teste ser positivo em 15% dos casos, visto que os IgG atravessam a placenta^{1,6}. No entanto, neste caso não haverá evidência de hemólise, na ausência de doença^{1,6}. Perante um TAD positivo, deve ser solicitada a realização do eluado, no qual são quebradas as ligações dos anticorpos à superfície dos eritrócitos de forma a “libertar” os anticorpos¹. Com a suspensão resultante, efetua-se um TAI para a identificação do anticorpo em causa^{15,27}.

A interpretação do TAD e do TAI é de extrema relevância para o diagnóstico da DHFRN. No TAD pesquisa-se a presença de anticorpos ligados à superfície do eritrócito, sendo que este teste utiliza eritrócitos do feto, permitindo verificar se estes anticorpos estão presentes ou não e se são do tipo IgM ou IgG^{7,15,53-54}. Um TAD negativo não exclui a doença, essencialmente na incompatibilidade ABO, uma vez que os antígenos A e B encontram-se menos desenvolvidos nos recém-nascidos^{3,15,29,55}. Em 33% dos casos de incompatibilidade por grupos minor, o TAD pode ser positivo²⁹. A isoimunização ABO é pouco provável quando o TAD for fortemente positivo, sendo neste caso de considerar isoimunização a outros sistemas¹. Para a realização do TAI, o soro do feto ou recém-nascido é incubado com eritrócitos que expressem na sua superfície antígenos específicos conhecidos (painel), a 37°C, lavado e suspenso, adicionando-se o reagente de Coombs ao soro (antiglobulina humana) e procedendo-se à centrifugação^{11,15,20,27}. Um TAI positivo indica aglutinação dos eritrócitos com os anticorpos do soro, demonstrando a presença de anticorpos IgG maternos no sangue fetal/neonatal, comprovando que estes anticorpos atravessaram a placenta, além de identificar o anticorpo em causa^{11,15}. Este teste tem uma sensibilidade de cerca de 86% e um valor preditivo positivo de 23%¹¹. Se ambos os testes forem negativos, devemos excluir outras causas de DHFRN, no entanto, ter sempre em conta a suspeita clínica, uma vez que, por exemplo, o TAD e o TAI poderão ser negativos em casos de isoimunização K¹⁵.

Para clarificar a abordagem diagnóstica da DHFRN, apresenta-se um fluxograma na figura 1.

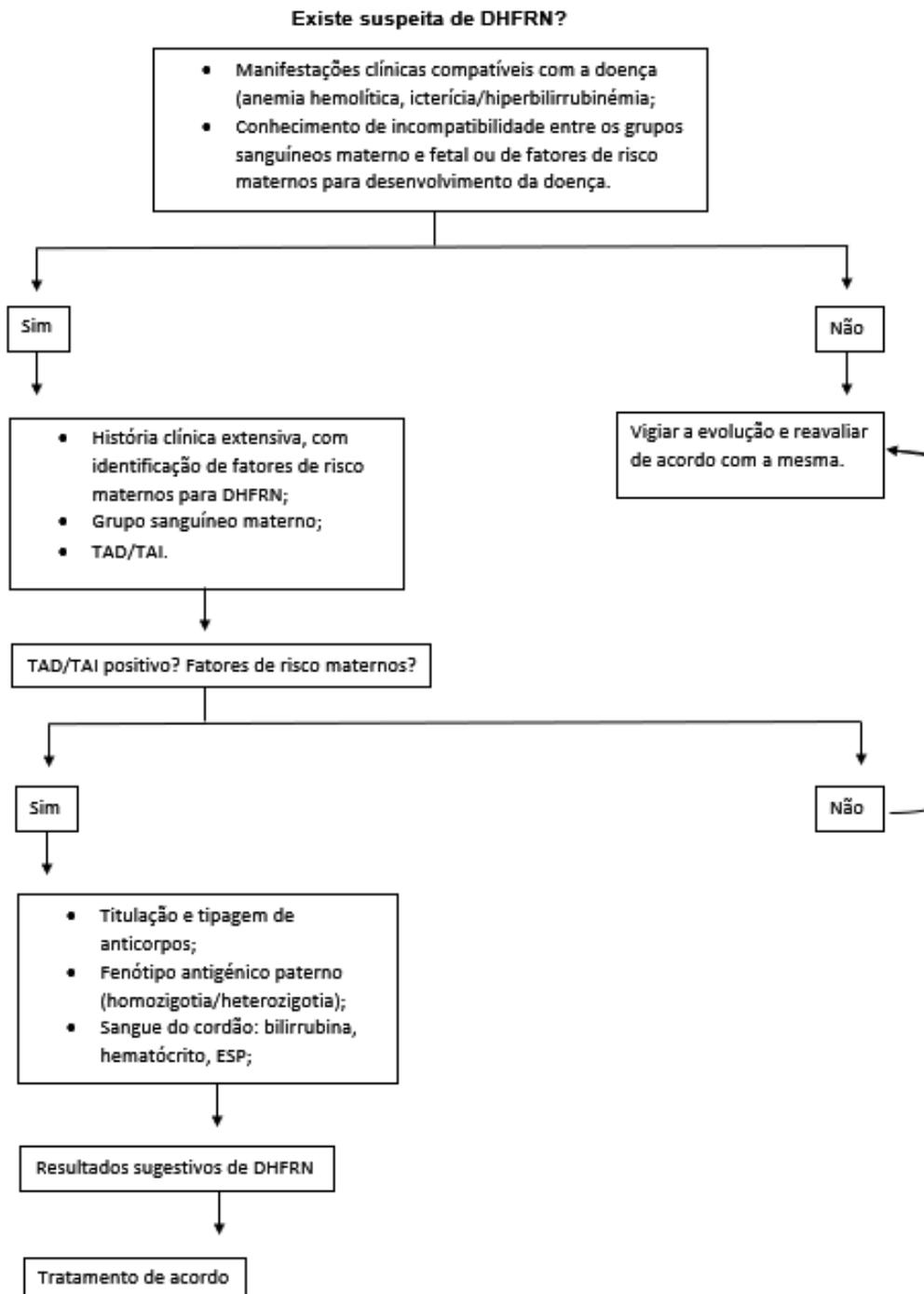


Figura 1: Fluxograma resumindo a abordagem diagnóstica da DHFRN.

6.8. Diagnóstico Diferencial

O diagnóstico diferencial da DHFRN inclui outras causas de icterícia ou hiperbilirrubinémia e anemia hemolítica, podendo, por vezes, ser distinguidas pelo TAD ou TAI positivo^{10-11,14-15}. Apesar disso, em vários casos de DHFRN estes testes dão resultados falsos negativos, pelo que, se existe elevada suspeita clínica de DHFRN, depois de excluídos os diagnósticos diferenciais possíveis, deve proceder-se com a investigação da doença e tratamento correspondente¹⁵. É necessário perceber que um doente pode ter várias doenças

e mais do que uma causa poderá estar por detrás de uma icterícia e de uma anemia, podendo o quadro ser mais grave pela concomitância de etiologias¹⁵.

Dentro do diagnóstico diferencial, devem fazer parte as doenças congénitas do eritrócito, essencialmente defeitos enzimáticos ou de membrana^{14-15,44,56-57}. Os defeitos da membrana eritrocitária podem ser distinguidos pelo TAD ou TAI negativos e pela visualização de ESP, que mostrará alterações celulares compatíveis com, por exemplo, esferocitose ou eliptocitose hereditárias^{15,56}. Será de suspeitar de um destes defeitos membranares se existirem antecedentes familiares de icterícia intermitente ou escleral recorrente, assim como episódios de urina escura sem outra explicação, em contexto, geralmente, de doença aguda¹⁰. História pessoal de esplenectomia não relacionada com trauma ou com patologia vesicular é sugestiva de defeitos hereditários da membrana eritrocitária¹⁰.

Já nos defeitos enzimáticos, como o da glicose-6-fosfato-desidrogenase ou da piruvato quinase, deve-se realizar, além do ESP, análises bioquímicas dirigidas à deteção dos níveis séricos da enzima que se pretende detetar¹⁵.

Outra situação relevante no diagnóstico diferencial da DHFRN é a Síndrome de Gilbert, na qual existem alterações na glucoronidação da bilirrubina, conduzindo a hiperbilirrubinémia não conjugada¹⁴⁻¹⁵. Um hematócrito, contagem de reticulócitos e ESP normais distinguem esta síndrome da DHFRN¹⁵.

Outras etiologias que justificam icterícia e hiperbilirrubinémia incluem a icterícia fisiológica, prematuridade, aleitamento materno, hemoglobinopatias, talassémias, sépsis, trauma no parto e hipotiroidismo^{10,14,24,50}. A história clínica completa e o exame físico e objetivo são essenciais na exclusão de várias destas etiologias¹¹.

6.9. Abordagem prática

6.9.1. Abordagem prática pré-natal

A abordagem prática pré-natal de grávidas com imunização para antigénios pertencentes a grupos minor deve seguir as recomendações utilizadas para a imunização RhD, com possível exceção para o antigénio K^{1,5,27}. O protocolo de vigilância da gravidez deve ser cumprido adequadamente, com o número de ecografias e rastreios bioquímicos estipulados, além de outras medidas adicionais. A ecografia fetal tem a particularidade de pesquisar ascite, edema, derrames pleurais e pericárdicos e organomegalias^{3,11}.

Se é identificada DHFRN ou há suspeita da mesma in útero, deve referenciar-se a grávida para uma consulta de medicina materno-fetal o mais cedo possível¹⁴. Em caso de DHFRN, a gravidez deve ser vigiada com monitorização de títulos de anticorpos e medição do pico de velocidade sistólica da artéria cerebral média (PSV-ACM). Pode ser necessária a

realização de TIU e, possivelmente, parto pré-termo induzido, em caso de a gravidade da anemia ser tal que o feto não suporte o parto de termo adequadamente^{11,14}.

Deverão ser realizadas medições do PSV-ACM por ecografia “doppler”, para monitorização da anemia fetal quando os títulos de anticorpos excedem os valores de referência^{3,6,11,13,27}. A medição do PSV-ACM baseia-se no princípio de que, na anemia fetal, o aporte cerebral de oxigénio se mantém preservado por aumento do fluxo sanguíneo cerebral²⁷. Se for detetada anemia leve, devem continuar-se estas medições até à maturação pulmonar completa ou até ao termo da gravidez¹⁰. Na imunização anti-K ou em grávidas com antecedentes obstétricos de DHFRN, esta monitorização deve iniciar-se às 18 semanas de gestação²⁷. Caso isto não se verifique, poderá iniciar-se entre as 22 e as 24 semanas, a não ser que os títulos de anticorpos se encontrem muito elevados, na ordem dos 1:256^{11,27}. A ecografia deve repetir-se de 1 a 2 em 2 semanas^{3,11}. Se o PSV-ACM for superior a 1.5 MoM, procede-se à cordocentese para determinar o hematócrito, a hemoglobina fetal e o grupo sanguíneo fetal, se ainda não se realizou^{1,3,27}. Se a transfusão é necessária, realiza-se em simultâneo²⁷. A hidrósia fetal não ocorre até a hemoglobina baixar para níveis críticos²⁷. Apesar desta ecografia ter alta sensibilidade, a taxa de falsos positivos, quando não foi realizada determinação prévia do antigénio fetal envolvido, é da ordem dos 12%^{3,27,40}. Isto poderá levar a cordocentese desnecessária, com risco de 1 a 2% de morte fetal²⁷.

Quando há suspeita de anemia moderada pela cordocentese, com hematócrito inferior a 30%, poder-se-á proceder à TIU^{1,3,10}. É de ter em atenção que a TIU é uma potencial causa de formação de aloanticorpos maternos, pelo que, em vários centros, se utiliza sangue para transfusão que foi submetido a *crossmatching*, um teste de compatibilidade entre dador de sangue e recetor, para os antigénios C, c, e, E e K³. Apesar disso, continua a existir a possibilidade de formação de aloanticorpos contra outros antigénios, como o Fy, Jk e S³. Após uma ou diversas TIU, ocorre supressão da eritropoiese medular, pelo que predominam na circulação fetal os eritrócitos do dador, sendo os fetais destruídos³. A TIU tem um risco de aproximadamente 1 a 3% de eventos adversos, tais como infeção ou rutura de membranas³. É, ainda, de salientar que, no início segundo trimestre, esta técnica tem piores resultados.

Para a transfusão sanguínea é sempre utilizado sangue do grupo 0, Rh e citomegalovírus negativo, com hematócrito elevado (aproximadamente de 70%), sem o antigénio responsável pela DHFRN, submetidas a leucodepleção e irradiação^{2-3,5,9-11,14-15,20,24,40}.

A *American Association of Blood Banks* recomenda repetição da contagem de anticorpos após a imunoprofilaxia anti-D às 28 semanas de gestação, após o parto e caso ocorra HFM¹⁴. A dose recomendada de imunoglobulina anti-D é a de 300 µg nestas

ocasiões¹⁴. Se necessária no primeiro trimestre, recomenda-se a dose de 150 µg¹⁴. Caso se suspeite de HFM, deve realizar-se um teste de citometria de fluxo, permitindo quantificar a HFM para, posteriormente, determinar-se se são necessárias doses adicionais de anti-D^{3,11,14,20}.

6.9.2. Abordagem prática pós-natal

A abordagem prática pós-natal foca-se no tratamento da anemia e da hiperbilirrubinémia¹⁵.

Iniciando na sala de partos, devem existir recursos disponíveis, nomeadamente sangue compatível para transfusão^{10-11,14-15}. Deve-se confirmar sempre o grupo sanguíneo e o TAI da grávida e antecipar a possibilidade de choque no recém-nascido, em casos de hidrósia fetal^{1,15}. Tem-se demonstrado que a clampagem do cordão umbilical diferida 30 a 60 segundos poderá ser benéfica na população geral e, particularmente, na DHFRN, observando-se menor incidência de anemia e de necessidade de transfusões nestes casos^{15,58-59}. Se há suspeita de DHFRN ou esta está confirmada previamente, deve ser recolhido sangue do cordão aos recém-nascidos^{1,14-15}. Na isoimunização anti-K, à data do parto, os eritrócitos de cerca de 20% dos recém-nascidos gravemente afetados podem ser K negativos, devido à supressão do antígeno Kell por parte do anticorpo materno².

Em primeira instância, deve-se estabilizar hemodinamicamente o recém-nascido, monitorizar sinais vitais, avaliar a função respiratória e cardiovascular, além da gravidade da hemólise, procurando sinais de anemia (palidez, taquicardia, taquipneia) ou de colapso cardiovascular e monitorizando os sinais vitais^{1,6,15}. Na hidrósia fetal, com anemia de instalação precoce, sinais respiratórios poderão ser indicativos de derrame pleural e hipoplasia pulmonar¹⁵. Em caso de choque hipovolémico, é emergente a transfusão de concentrado eritrocitário, com volume inicial de 10 ml/Kg, uma vez que volumes maiores não serão tolerados, pois já existe edema e ascite prévios^{1,10}. Cerca de 3 mL/kg de eritrócitos transfundidos são necessários para aumentar a hemoglobina 1 g/dL ou o hematócrito 3%¹⁰. Poderá ser necessária toracocentese ou paracentese em casos de derrame pleural ou ascite¹⁵. Depois de estabilizados, estes doentes são habitualmente submetidos a exsanguíneo-transfusão precoce numa Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais, de modo a corrigir a anemia e erradicar a hemólise^{1,15}. Nos casos não emergentes, o tratamento é adequado ao grau de gravidade da hiperbilirrubinémia e da anemia¹⁵.

O tratamento de primeira linha para a hiperbilirrubinémia passa pela fototerapia intensiva, podendo haver necessidade, nos casos mais graves e refratários, de recorrer à exsanguíneo-transfusão⁶⁻⁷. Devem-se sempre associar ao tratamento medidas de hidratação oral, preferencialmente, ou intravenosa do recém-nascido^{6,15}.

A fototerapia causa isomerização da bilirrubina presente na pele em isômeros hidrossolúveis, que podem ser excretados na urina e nas fezes¹⁴. O início da fototerapia depende dos valores de referência da bilirrubina, existindo curvas desenvolvidas pela *American Association of Paediatrics*, tendo em conta os dias de vida do recém-nascido e a idade gestacional¹⁵. Esta deve ser iniciada com um limiar de bilirrubina mais baixo na icterícia por DHFRN, uma vez que o risco de neurotoxicidade está aumentado nestes recém-nascidos¹⁵. A eficácia da fototerapia depende de vários fatores, como da qualidade, intensidade e comprimento de onda da luz irradiada, este último que deve ser entre os 460 e os 490 nm^{7,11,14,28,60}. A fototerapia deve ser intensiva, com irradiância espectral igual ou superior a 30µW/cm²/nm, segundo a *American Association of Paediatrics*^{6,30,51}. Para a fototerapia ser considerada intensiva, cada raio de luz irradiado deve ter intensidade superior a 30µW/cm²/nm³⁰. Está ainda dependente da pigmentação da pele, da duração da exposição, da concentração inicial de bilirrubina total, da área corporal irradiada (que deve ser a maior possível) e da distância entre a luz e o corpo^{7,14,30,51}. A luz incidente deve estar a uma distância curta do corpo do recém-nascido, de cerca de 20 cm acima dele^{14,51}. Estudos indicam a maior eficácia da fototerapia dupla¹⁴. A mãe deve ser informada que pode amamentar mesmo estando o recém-nascido a realizar fototerapia¹⁴.

A exsanguíneo-transfusão, usada desde 1940, tem a capacidade de diminuir o nível da bilirrubina sérica e de remover os anticorpos maternos circulantes e os eritrócitos neonatais envolvidos pelos anticorpos, reduzindo a hemólise⁶. Com o aparecimento da fototerapia, com o início da imunoprofilaxia da isoimunização Rh e com a evolução dos cuidados de saúde, a exsanguíneo-transfusão passou a ser recomendada nos casos de hiperbilirrubinémia grave ou refratária⁶¹. Assim, na presença de sinais de encefalopatia aguda, se a bilirrubina subir mais do que 0,5mg/dl por hora ou se se mantiver acima do limite para a exsanguíneo-transfusão, apesar de fototerapia intensiva, está recomendado iniciar a terapêutica com exsanguíneo-transfusão⁶¹.

Na prática clínica, o volume do sangue total usado habitualmente para a exsanguíneo-transfusão é o equivalente a duas vezes a volémia do recém-nascido, calculando cerca de 160ml/kg para recém-nascidos de termo e 200ml/kg para pré-termo⁶¹. Esta técnica permite remover 90% dos eritrócitos do recém-nascido e 50% da bilirrubina intravascular⁶¹. Apesar dos seus benefícios terapêuticos, podem surgir problemas como infeção relacionada com o cateter, hipocalcemia, trombose, hemorragia, instabilidade cardiorrespiratória e enterocolite necrotizante, tendo uma mortalidade de cerca de 5%³⁰.

Uma modalidade de tratamento que tem vindo a ser utilizada de modo a evitar ou atrasar a necessidade de exsanguíneo-transfusão e diminuir a morbilidade neonatal é a

IGIV^{30,62}. Supõe-se que esta menor necessidade de exsanguineo-transfusão esteja relacionada com a capacidade de redução da hemólise pela IGIV⁶³⁻⁶⁴. A administração de IGIV poderá bloquear os recetores Fc nos macrófagos do SRE, diminuindo deste modo a hemólise^{14,24,64,65}. A sua eficácia é suportada por ensaios clínicos e meta-análises, não havendo atualmente recomendações nem consenso na sua utilização^{3,7,14-15,24,29,62-63,60,65,67-68}. Pode ser considerada nos casos em que a bilirrubina sérica sobe 0,5-1mg/dl/h ou se se mantém a 2-3mg/dl do nível de exsanguineo-transfusão, apesar da fototerapia intensiva^{1,15}. Apesar disso, não existem estudos com evidência científica suficiente para suportar qual é a melhor posologia de modo a reduzir esta necessidade de exsanguineo-transfusões em DHFRN por isoimunização AB0³⁰. A maioria dos estudos menciona os possíveis benefícios da IGIV em casos de isoimunização AB0 e RhD, no entanto, apesar de limitados, existem dados mencionando esta possibilidade em casos de isoimunização anti-C e anti-E⁶⁴. A dose maioritariamente utilizada nestes casos é a de 500-1000 mg/kg em infusão de 2h, podendo repetir-se 12h horas após a primeira administração^{6-7,15,64-66}.

Não se encontra esclarecida a razão pela qual alguns recém-nascidos melhoram com a sua administração, enquanto outros não⁶⁶. Pensa-se que esta resposta à IGIV está relacionada com a idade de admissão hospitalar, a duração e intensidade da fototerapia administrada e a posologia e momento da administração da IGIV⁶². Alguns estudos indicam que a IGIV se relaciona com menor risco de atingimento neurológico^{15,69}. Como todas as técnicas utilizadas para o tratamento da DHFRN, a IGIV tem efeitos secundários, quer tardios, quer imediatos, tais como febre, náusea, cefaleia, hemólise, meningite asséptica, taquicardia, apneia e enterocolite necrotizante^{15,18,30,64,66}. Por este motivo, aquando da administração, o recém-nascido deve ter os sinais vitais devidamente monitorizados⁶⁴. A sua utilização deve balancear os riscos e os benefícios³⁰.

No que diz respeito à anemia, a duração da mesma depende do momento da sua instalação e da sua gravidade¹⁵. A anemia pode ser leve, moderada ou grave e, ainda, de instalação precoce ou tardia¹⁵. Pode ainda ser hiperregenerativa ou hiporregenerativa, consoante a contagem de reticulócitos⁵¹. A anemia é considerada grave se o hematócrito se encontrar em valores inferiores a 25%, moderada entre 25 e 35% e leve quando superior a 35%¹⁵. A agressividade, o número e o tipo de transfusões sanguíneas necessárias irão depender desta classificação¹⁵. Normalmente em anemias graves é necessária a exsanguineo-transfusão, enquanto na anemia moderada poderá ser suficiente uma transfusão simples de concentrados eritrocitários e na leve, usualmente, não se transfunde^{15,70}.

Os recém-nascidos que foram tratados na fase pré-natal com TIU vão ter um curso de doença, no que diz respeito à hemólise, diferente⁷. A primeira TIU é aquela com semivida mais curta, no sentido em que o feto ainda mantém os anticorpos residuais, pois o sangue transfundido ainda não foi eliminado e substituído pelo sangue do recém-nascido⁶⁻⁷. Já em TIU subsequentes a hematopoiese acaba por ser suprimida, sendo a circulação fetal mantida pelas células do conteúdo transfundido, que não está sujeito ao processo hemolítico⁷. Quando são tratados até ao termo com este tipo de transfusões, a icterícia e a anemia neonatais não serão um problema grave na maioria dos casos, mas a anemia de instalação tardia é comum⁷. Habitualmente, as transfusões levam ao aparecimento de uma anemia hiporregenerativa, podendo ser mais prolongada³.

A suplementação com ferro oral e ácido fólico faz parte da abordagem da DHFRN, numa fase posterior, devido à possibilidade de anemia prolongada/tardia nestes doentes⁵¹. Pode ser necessária transfusão em casos mais graves, quando o recém-nascido tem um peso ao nascimento inferior a 1200g ou se tiver sido submetido a TIU^{1,6,15}. Normalmente, esta anemia ocorre em incompatibilidades Gerbich, Kell, Rh e ABO¹⁵.

Mesmos recém-nascidos com anemia leve podem ter risco de, com o decurso do tempo, ter uma anemia grave de instalação tardia, pelo que poderá optar-se pelo tratamento com um agente estimulador da eritropoiese, como a epoetina alfa ou a darbepoetina, esta última requerendo um menor número de injeções, de modo a evitar a necessidade futura de transfusão^{15,71}. No entanto, não existem indicações estabelecidas para este tratamento, sendo mais utilizado na incompatibilidade RhD e na Kell, ou em famílias que, por motivos religiosos, não aceitem o tratamento transfusional^{15,41}. Se se optar por esta terapêutica é necessária suplementação com ferro¹⁵. Ambas são administradas por injeção subcutânea, a epoetina em doses de 400 unidades/kg, 3 vezes por semana durante 2 semanas e a darbepoetina uma dose de 4 µg/kg, que pode ser repetida 2 semanas depois¹⁵. Normalmente o efeito destes agentes no hematócrito demora cerca de 5 dias a manifestar-se¹⁵.

Em vários estudos tem-se testado a possibilidade de utilizar estes agentes estimuladores da eritropoiese na abordagem prática da DHFRN, essencialmente quando esta cursa com anemia de instalação tardia, de modo a evitar a necessidade de transfusões sanguíneas⁷². A anemia de instalação é uma entidade frequente em recém-nascidos ou fetos que sofreram de DHFRN⁷². Os dados publicados sobre os recém-nascidos tratados com estes agentes são pouco extensos⁷². No entanto, foi verificado o sucesso do tratamento da anemia e a diminuição da necessidade de transfusão após a administração de eritropoietina^{41,72}. Estudos indicam, ainda, que a suplementação com ferro oral tem, também, a capacidade de diminuir a necessidade de transfusões⁴¹. Apesar de a etiologia da anemia de instalação tardia

pós-DHFRN não se encontrar completamente esclarecida, pensa-se que poderá estar relacionada com a destruição de eritrócitos e das suas células precursoras, além da supressão da eritropoiese, pelo que a medula óssea se encontra incapaz de compensar a hemólise⁷². Esta inibição medular da eritropoiese poderá ocorrer também após transfusões sanguíneas, seja TIU ou transfusão pós-natal^{41,72}. O predomínio de alguns ou todos estes fatores, em conjunto ou não com a presença de aloanticorpos, poderá justificar maior gravidade do quadro clínico⁷². Além disso, sabe-se que valores baixos de eritropoietina se relacionam com maior gravidade da anemia, o que justifica o início de tentativas de utilização destes agentes estimuladores da eritropoiese no tratamento dos recém-nascidos com anemia tardia⁶¹. Mesmo com os estudos reportados até à data, continua a não existir unanimidade de critérios para a utilização destes agentes^{15,41,71-72}.

Vários agentes farmacoterapêuticos têm vindo a ser estudados recentemente, como alternativas ou adjuvantes no tratamento da DHFRN. Destes, fazem parte a albumina, o fenobarbital, as metaloporfirinas, o zinco, o clorofibrato, próbióticos e a vitamina E^{14-15,51}. Em nenhum dos estudos efetuados até à atualidade houve evidência clínica suficiente para a sua utilização, pelo que nenhum destes agentes está atualmente recomendado na abordagem prática da DHFRN⁵¹.

A fototerapia, se atempadamente instalada, permite reduzir a necessidade de transfusões⁷. Deve ser utilizada a fototerapia intensiva como primeira linha de tratamento da hiperbilirrubinémia e da icterícia, mesmo se necessária transfusão, quando não temos sangue disponível, o que poderá demorar 4 a 6 horas até se resolver^{6-7,11,14-15,30,68}. Neste período curto, os valores de bilirrubina são passíveis de diminuir consideravelmente com a fototerapia, podendo não ser necessária a transfusão que inicialmente se considerou⁷. É de salientar que se este sangue não for transfundido, o mais certo é ser descartado, o que é um grande problema em termos de recursos, pois são já escassos os doadores de sangue, relevando a necessidade de se proceder à identificação da DHFRN atempadamente e da antecipação da necessidade transfusional⁷.

Para melhor clarificar a abordagem prática da DHFRN, apresenta-se a Tabela 4.

Tratamento da DHFRN	
Pré-Natal	Pós-Natal
Vigiar a anemia através da medição dos PSV-ACM por ecografia “doppler”: <ul style="list-style-type: none"> • Iniciar às 18 semanas para o sistema Kell, com títulos de anticorpos $\geq 1:4$; 	Na sala de partos: <ul style="list-style-type: none"> • Estabilização hemodinâmica; material necessário disponível (sangue para transfusão);

<ul style="list-style-type: none"> • Iniciar entre as 22 e as 24 semanas para outros sistemas sanguíneos, com títulos de anticorpos \geq 1:16. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se necessária transfusão emergente, deve ser na dose inicial de 10 ml/Kg; • Clampagem diferida do cordão umbilical 30 a 60 segundos, com colheita de sangue do cordão.
Quando PSV-ACM é superior a 1,5 MoM, procede-se à cordocentese. Se a TIU é necessária, por anemia moderada a grave, deve realizar-se nesta altura.	Em caso de anemia, geralmente utiliza-se: <ul style="list-style-type: none"> • Ensanguíneo-transfusão na anemia grave; • Transfusão simples de concentrados eritrocitários na anemia moderada.
Realizar teste de citometria de fluxo (quantificar HFM), para determinar necessidade de imunoprofilaxia anti-D: <ul style="list-style-type: none"> • Dose de 300 μg; no primeiro trimestre 150 μg. 	O tratamento de primeira linha da icterícia/hiperbilirrubinemia é a fototerapia otimizada: <ul style="list-style-type: none"> • Comprimento de onda entre os 460 e os 490 nm; • Intensiva e dupla; • Irradiância \geq 30μW/cm²/nm; • Distância entre a luz incidente e o corpo do recém-nascido de cerca de 20 cm.
IGIV em coadjuvância com a transfusão e/ou com a fototerapia: <ul style="list-style-type: none"> • Dose de 500-1000 mg/kg em infusão de 2h, podendo repetir-se 12h horas após a primeira administração. 	
Eventualmente, utilizar um agente estimulador da eritropoiese no tratamento da anemia: <ul style="list-style-type: none"> • Epoetina: subcutânea, em doses de 400 unidades/kg, 3 vezes por semana durante 2 semanas; • Darbapoetina: subcutânea, uma dose de 4 μg/kg, pode ser repetida 2 semanas depois. <p>Ferro + ácido fólico (exceto nos doentes submetidos a transfusões).</p>	

Tabela 4: Tratamento da DHFRN nas fases pré-natal e pós-natal.

6.9.3. Circunstâncias especiais

Em casos específicos, a abordagem de uma gravidez com DHFRN ou em risco de a desenvolver poderá ser diferente²⁷. Nestes incluem-se antecedentes de anemia hemolítica autoimune, administração recente de imunoglobulina anti-D e antigénios de elevada frequência na população geral²⁷.

No que diz respeito à anemia hemolítica autoimune, convém salientar que a mesma poderá produzir autoanticorpos, à semelhança dos aloanticorpos da DHFRN, podendo levar a um teste de Coombs positivo²⁷. Em raros casos, os autoanticorpos podem atravessar a placenta e ocorrer um caso semelhante ao que ocorre na hemólise da DHFRN, podendo ser necessário intervir no feto de acordo²⁷.

No que diz respeito à imunoglobulina anti-D, o problema coloca-se consoante a altura da sua administração²⁷. À semelhança do que ocorre na anemia hemolítica autoimune, o anti-D poderá conter, raramente, anticorpos contra outros antígenos Rhesus, podendo aparentar como aloanticorpos no teste de Coombs, proporcionando falsos positivos, se a administração da profilaxia foi realizada recentemente^{7,27}.

Na presença de aloanticorpos dirigidos a antígenos de elevada prevalência na população geral, poderá ser difícil obter sangue de um dador compatível, que não possua o antígeno em questão, como ocorre com antígenos como o k, Kpb, U e Coa²⁷. Esta informação vem relevar a importância da determinação da especificidade do anticorpo de forma atempada e de modo a intervir adequadamente, caso seja necessária transfusão sanguínea²⁷.

6.10. Vigilância e Seguimento

Antes da alta hospitalar, deve avaliar-se de forma seriada o hemograma com reticulócitos, a bilirrubina e a progressão ponderal¹. Após a alta hospitalar, deve referenciar-se o recém-nascido para consulta de imunohemoterapia e de neurodesenvolvimento para verificar sequelas da doença¹. O rastreio auditivo é imperativo, para verificar se existiram sequelas neste âmbito²¹.

O recém-nascido deve ser medicado em ambulatório com ácido fólico na posologia de 125 µg/dia, três vezes por semana e ferro oral, se houve anemia, na posologia de 2mg/kg/dia, mantendo esta medicação até à consulta de imunohemoterapia¹. A exceção à regra são os recém-nascidos transfundidos, que não devem ser suplementados com ferro^{1,51}.

A mãe deve ser informada que a amamentação é segura, uma vez que poucos anticorpos presentes no leite materno são absorvidos, pelo que não atingem valores capazes de promover hemólise¹⁵.

Deve ser documentado o aloanticorpo que foi responsável pela DHFRN e as complicações da doença, se ocorreram.

A duração do quadro clínico depende de caso para caso, podendo o recém-nascido ter alta da consulta de seguimento quando os valores de bilirrubina e a hemoglobina normalizarem e não existirem sinais ou sintomas de doença¹⁵. Nos casos em que ocorre anemia de instalação tardia, a monitorização é mais demorada (semanas a meses)^{7,15}. A

concomitância de fatores poderá desencadear uma anemia exagerada que deve ser ativamente tratada¹⁵.

6.11. Prognóstico

Na generalidade dos casos, o prognóstico da DHFRN é bom, desde que identificada e tratada apropriadamente e prontamente¹⁴. Apesar de ser uma patologia passível de quadros graves, a vigilância adequada que se atualmente em vários locais do mundo e a evolução das técnicas de diagnóstico e tratamento, tal como a profilaxia instituída, têm vindo a tornar as graves consequências da patologia raras¹⁴.

O desenredo das gestações complicadas com aloimunização tem vindo a ser cada vez melhor, na medida em que existe atualmente uma grande variedade de métodos para monitorização fetal e neonatal adequadas¹⁴.

6.12. Perspetivas Futuras

Existe ainda uma vasta capacidade de melhorar os conhecimentos relativos à DHFRN e a sua abordagem prática, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento¹¹.

Como perspetivas futuras, será relevante promover a abordagem interdisciplinar da DHFRN, incluindo especialidades médicas de Obstetrícia e Ginecologia, Pediatria, além de equipa de Enfermagem, de modo a proporcionar uma colaboração entre entidades com rigor e excelência para o seguimento devido da grávida e do seu feto e/ou recém-nascido¹¹. O parto deve ser planeado, além de toda a gravidez vigiada adequadamente¹¹. Com esta colaboração entre profissionais e uma prática clínica de excelência, é previsível a diminuição das diversas consequências que advêm da patologia¹¹.

Com o desenvolvimento de novas técnicas auxiliares na abordagem prática da DHFRN, como a TIU, a IGIV e agentes estimuladores da eritropoiese, prevê-se uma capacidade crescente e variada de métodos que podem ser utilizados no tratamento destes fetos e recém-nascidos¹⁴. Ao longo da pesquisa foi percebida a importância de ensaios clínicos randomizados de modo a desvendar a utilidade e os benefícios do uso de agentes estimuladores da eritropoiese e de IGIV, sendo os resultados ainda muito controversos entre os diversos estudos, pelo que deve ser continuada a investigação neste âmbito de modo a atingir um consenso para utilização de novos métodos de abordagem da doença^{14-15,51}.

7. Conclusões

A incompatibilidade devida aos grupos sanguíneos minor continua até à data pouco reportada e subdiagnosticada. A sua apresentação pode ir desde um quadro subclínico a um com clínica aparente, de leve a grave, com anemia e/ou hiperbilirrubinémia^{8,26}. O RhD continua a ser o antigénio mais associado a DHFRN¹⁰. No entanto, a imunoprofilaxia anti-D

diminuiu drasticamente a mortalidade e incidência da doença associada a este antígeno^{4-8,10-11}. Infelizmente, até à data, esta profilaxia existe apenas para o RhD²⁴.

O diagnóstico antenatal da doença é um desafio para as equipas médicas envolvidas, devido à diversidade de manifestações e à individualidade associadas à patologia⁴⁴. A DHFRN e a sua abordagem atempada e correta implicam a cooperação entre neonatologistas, obstetras e hematologistas, de modo a assegurar a melhor prática médica possível⁷. A prática clínica e os protocolos existentes permitem uma abordagem de qualidade elevada no que diz respeito à DHFRN por incompatibilidade AB0 ou RhD, o que pode estar mais dificultado nos casos em que há envolvimento de grupos minor do sangue. Como a associação a DHFRN é rara, não é economicamente sustentável a pesquisa de aloanticorpos a grupos minor em todas as grávidas⁵.

Uma abordagem prática apropriada proporciona uma identificação precoce de gestações com fatores de risco para aloimunização e, conseqüentemente, para DHFRN¹¹. A deteção antenatal do anticorpo envolvido é essencial para a abordagem atempada e a adequada prevenção da mortalidade e morbidade associadas¹⁰. A deteção precoce permite um planeamento multidisciplinar adequado e conseqüentemente melhoria dos resultados no que diz respeito à abordagem desta doença¹¹.

À medida que a eficácia da fototerapia aumenta, a necessidade de transfusões sanguíneas tem vindo a diminuir drasticamente na abordagem prática da DHFRN⁷. Torna-se imperativa a necessidade de se proceder a uma utilização preferencial da fototerapia, tanto pela sua eficácia, como por ser um método menos invasivo e com menos riscos, em comparação com a transfusão¹¹. A administração de altas doses de IGIV tem vindo a ser estudada ao longo dos últimos anos, podendo ser, futuramente, uma outra alternativa ou adjuvância no tratamento de recém-nascidos com a doença¹¹. Os estimuladores da eritropoiese, assim como novos agentes farmacoterapêuticos, necessitam de mais estudos de modo a encontrar consenso na sua utilização no tratamento da doença^{14-15,41,51,71-72}. A suspeita clínica é essencial e o diagnóstico diferencial das causas de anemia e icterícia deve sempre incluir a DHFRN¹¹.

A pesquisa realizada para a elaboração deste trabalho permitiu perceber que existem erros de diagnóstico, sendo de elevada relevância pesquisar estes grupos minor aquando da suspeita clínica da doença, depois de excluídas a incompatibilidade RhD e AB0^{8,10,23}. Além de reforçar a necessidade de pesquisar estes grupos minor, torna-se pertinente a necessidade de criar protocolos para a abordagem da doença. Destes, deverá fazer parte a pesquisa de fatores de risco que poderão levar ao desenvolvimento da DHFRN, tais como os fatores de risco para HFM e as transfusões sanguíneas maternas prévias, de modo a aumentar a

suspeita da doença e proceder-se ao seu diagnóstico atempado¹⁰⁻¹¹. É de atentar o estado geral do feto ou recém-nascido, a sua idade gestacional ou neonatal, a história familiar e obstétrica materna^{7,24,29}. Mais estudos são necessários para melhor conhecimento da patologia⁵¹.

8. Bibliografia

1. Sampaio MC, Henriques R, Figueiredo S, Morais S, Sevivas T. Incompatibilidade AB0 e grupos minor. Protocolo do Serviço de Neonatologia Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra; 2022.
2. Cohen WD, Silvergleid AJ, Mahoney DH, Garcia-Prats JA, Lockwood CJ, Landaw SA. Hemolytic disease of the newborn: RBC alloantibodies in pregnancy and associated serologic issues 2012. Disponível em: www.uptodate.com.
3. Delaney M, Matthews DC. Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus, and newborn. *American Society of Hematology*. 2015;146-51.
4. Nithyalakshmi S, Kumar P, Anurekha V, Kumaravel KS, Gobinathan S, Sampathkumar P. A case report of minor blood group incompatibility (anti c) in a neonate - Is there a need for routine maternal antibody screening? *Pediatric Oncall Journal*. 2022;19(2).
5. Mina SS, Bhardwaj R, Gupta S. Hemolytic disease of newborn: Can think beyond Rh (D) and ABO incompatibilities. *J Clin Neonatol* 2017;6:37-9.
6. Baptista M, Nabais I, Carvalhosa G, Palaré MJ, Matona J, Cohen A. Doença Hemolítica do Feto e Recém-nascido. Consenso Clínico da Secção de Neonatologia SPP; 2014.
7. Murray NA, Roberts IAG. Haemolytic disease of the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007;92(2):F83-8.
8. Agrawal A, Hussain KS, Kumar A. Minor blood group incompatibility due to blood groups other than Rh(D) leading to hemolytic disease of fetus and newborn: a need for routine antibody screening during pregnancy. *Intractable and Rare Diseases Research* 2020;9(1):43-47.
9. Uhl L, Tobian A, Tirnauer JS. Red blood cell antigens and antibodies; 2022. Disponível em: www.uptodate.com
10. Ross MB, de Alarcón P. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. *NeoReviews* 2013;14(2);e83.
11. Myle AK, Al-Khattabi GH. Hemolytic Disease of the Newborn: A Review of Current Trends and Prospects. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics* 2021;12;491-498.
12. Healsmith S, Savoia H, Kane SC. How clinically importante are non-D Rh antibodies? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2019;98(7):877-884.

13. Jaiswal J, Dehariya KK, Nagraj D. A study of effect of delayed and early umbilical cord clamping on neonatal haemoglobin status. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* 2021;10(6):2268-2274.
14. Victoria Hall A, Darshini Avulakunta I. *Hemolytic Diseases Of The Newborn*. NCBI Bookshelf; 2021.
15. Calhoun DA, Weisman LE, Wilkie L. Alloimmune hemolytic disease of the newborn: Postnatal diagnosis and management; 2022. Disponível em: www.uptodate.com
16. Gupta GK, Balbuena-Merle R, Hendrickso JE, Tormey CA. Immunohematologic aspects of alloimmunization and alloantibody detection: a focus on pregnancy and hemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Apheresis Sci* 2020;10:102946.
17. James RM, McGuire W, Smith DP. The investigation of infants with RhD-negative mothers: can we safely omit the umbilical cord blood direct antiglobulin test? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2011;96(4):301-4.
18. Zwiers C, van der Bom JG, van Kamp IL, et al. Postponing Early intrauterine Transfusion with Intravenous Immunoglobulin Treatment: the PETIT study on the severe hemolytic disease of the fetus and newborn. *Am J Obstet Gynecol* 2018;219:291.e1-9.
19. Iberahim S, Aizuddin MJ, Kadir NA, Rameli N, Adzahar S, Noor, NHM, et al. Hemolytic disease of fetus and newborn in a primigravida with multiple alloantibodies involving anti-Jka and anti-E: A case report. *Oman Medical Journal* 2020;35(6):514–516.
20. Ah-Moye D, Davies C, Goody J, Hayward P, Frewin R. Introduction to haematology and transfusion science. In *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*: 3rd ed; 2014; p. 497–514 26.
21. Malono J, Nabais I, Cohen A, Fraga G, Gonçalves S. Doença Hemolítica do Recém-Nascido. *Consensos em Neonatologia* 2004.
22. Ozmeral Odabasi I, Uslu S, Kiray Bas E, Bulbul A, Turkoglu Unal E, Besnili Acar D, et al. Hemolytic Anemia due to anti-c Incompability in the Newborn Period: A Case Report. *Med Bull Sisli Etfal Hosp* 2020;54(4):502-504.
23. Fasano RM. Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2015.
24. Karagol BS, Zenciroglu A, Okumus N, Karadag N, Dursun A, Hakan N. Hemolytic disease of the newborn caused by irregular blood subgroup (Kell, C, c, E, and e) incompatibilities:

Report of 106 cases at a tertiary-care centre. *American Journal of Perinatology* 2012;29(6):449–454.

25. Pegoraro V, Urbinati D, Visser GH, et al. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to Rh (D) incompatibility: a preventable disease still produces significant morbidity and mortality in children. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235807.

26. Özcan M, Sevinç S, Boz Erkan, Yurdugül Y, & Sarici SÜ. Hyperbilirubinemia due to minor blood group (anti-E) incompatibility in a newborn: a case report. *Turk Pediatri Ars* 2017;52:162-4.

27. Moise KJ Jr, Ward D, Wilkins-Haug L, Uhl L, Tirnauer JS, Barss, VA. Management of non-RhD red blood cell alloantibodies during pregnancy; 2023. Disponível em: www.uptodate.com

28. Anderson NB, Calkins KL. Neonatal Indirect Hyperbilirubinemia. *NeoReviews* 2020;21:e749-760.

29. Ciftdemir N, Aslan M, Tandircioglu A, Duran R, Ozbek U, Acunas B. Hemolytic disease of the newborn due to minor blood group incompatibility: Sibling cases. *Annals of Medical Research* 2019;26(10):2481-3.

30. Lieberman L, Lopriore E, Baker JM, Bercovitz RS, Christensen RD, Crighton G, et al. International guidelines regarding the role of IVIG in the management of Rh- and ABO-mediated haemolytic disease of the newborn. *Br J Haematol* 2022;198:183-195.

31. Lamba DS, Kaur R, Basu S. Clinically Significant Minor Blood Group Antigens amongst North Indian Donor Population. *Adv Hematol* 2013:215454.

32. Quraishy N, Sapatnekar S. Advances in blood typing. *Adv Clin Chem*. 2016;77:221–269.

33. Kumer Dey S, Afroze S, Jahan I, Mannan M, Shahidullah M. Neonatal Hyperbilirubinemia associated with Minor Blood Group Incompatibility: Two Case Reports. *Bangladesh J Child Health* 2017;41(1):64-66.

34. Jethava A, Olivares E, Shariatmadar S. A case of Hemolytic Disease of the Newborn due to Dia Antibody. *Case Reports in Pediatrics* 2015;1-3.

35. Keir A, Agpalo M, Lieberman L, et al. How to use: the direct antiglobulin test in newborns. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2014;0:1-6.

36. Wagle, S, Aslam, M. Hemolytic Disease of the Newborn; 2017.

37. Ranasinghe E, Goodyear E, Burgess G. Anti-Ce complicating two consecutive pregnancies with increasing severity of haemolytic disease of the newborn. *Transfus Med* 2003;13(1):53-5.

38. Wagner T, Resch B, Legler TJ, Mossier C, Helmberg W, Köhler M, et al. Severe HDN due to anti-Ce that required Exchange transfusion. *Transfusion* 2000;40:571.
39. White J, Qureshi H, Massey E, Needs M, Byrne G, Daniels G, et al. Guideline for blood group and red cell antibody testing in pregnancy. *Transfus Med* 2016;26(4):246-263.
40. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The Management of Women with Red Blood Cell Antibodies during Pregnancy 2014; Guideline no.65.
41. Dhodapkar KM, Blei F. Treatment of hemolytic disease of the newborn caused by anti-Kell antibody with recombinante erythropoietin. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001;23:69.
42. Slootweg YM, Lindenburg IT, Koelewijn JM, et al. Predicting anti-Kell-mediated hemolytic disease of the fetus and newborn: diagnostic accuracy of laboratory management. *Am J Obstet Gynecol* 2018;219:393.e1-8.
43. Arndt PA, Garratty G, Daniels G, Green CA, Wilkes AM, Hunt P, et al. Late onset neonatal anemia due to maternal anti-Ge: possible association with destruction of erythroid progenitors. *Transfus Med* 2004;15:125.
44. Lin M, Liu M, Zhang S, Chen C, Wang J. Different types of minor blood group incompatibility causing haemolytic disease of neonates in one of the national children's medical centre in China. *Journal of Blood Medicine* 2021;12:497–504.
45. de Winter DP, Kaminski A, Tjoa ML, Oepkes D. Hemolytic disease of the fetus and newborn: systematic literature review of the antenatal landscape. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2023;23:12.
46. Usman F, Diala UM, Shapiro S, LePichon JB, Slusher TM. Acute bilirubin encephalopathy and its progression to kernicterus: current perspectives. *Res Rep Neonatol* 2018;8:33.
47. Oliveira G, Saraiva J. Lições de Pediatria Vol. I e II. Imprensa da Universidade de Coimbra 2017; p.141.
48. Rath ME, Smits-Wintjens VE, Oepkes D, van Zwet EW, van Kamp IL, Brand A, et al. Thrombocytopenia at birth in neonates with red cell alloimmune haemolytic disease. *Vox Sang* 2012;102:228-233.
49. Bussel JB, Vander Haar EL, Berkowitz RL. New developments in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Am J Obstet Gynecol* 2021;225:120–127.
50. Mitra S, Rennie J. Neonatal jaundice: aetiology, diagnosis, and treatment. *Br J Hosp Med* 2017;78(12):699–704.

51. Ree IMC, Smits-Wintjens VEJ, van der Bom JG, van Klink JMM, Oepkes D, Lopriore E. Neonatal management and outcome in alloimmune hemolytic disease. *Expert Rev Hematol* 2017;10(7):607-616.
52. Gooch A, Parker J, Wray J, Qureshi H. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. *British Committee for Standards in Haematology Blood Transfusion Task Force* 2016;17(4):252-262.
53. Zantek ND, Koepsell SA, Tharp DR Jr, Cohn CS. The direct antiglobulin test: a critical step in the evaluation of hemolysis. *Am J Hematol* 2012;87:707.
54. Valsami S, et al., Importance of Direct Antiglobulin Test (DAT) in Cord Blood: Causes of DAT (+) in a Cohort Study, *Pediatrics and Neonatology* 2015;56:256.
55. Chen C. Is direct antiglobulin test crucial in the evaluation of neonatal hyperbilirubinemia? *Pediatr Neonatol* 2015;56(4):207-8.
56. Christensen RD, Yaish HM. Hemolytic Disorders Causing Severe Neonatal Hyperbilirubinemia. *Clin Perinatol* 2015;42:515
57. Christensen RD, Yaish HM. Hemolysis in Preterm Neonates. *Clin Perinatol* 2016;42:233.
58. Garabedian C, Rakza T, Drumez E, et al. Benefits of Delayed Cord Clamping in Red Blood Cell Alloimmunization. *Pediatrics* 2016;137(3):e20153236.
59. Al-Lawama M, Badran E, Elrimawi A, Bani Mustafa A, Alkhatib H. Intravenous Immunoglobulins as Adjunct Treatment to Phototherapy in Isoimmune Hemolytic Disease of the Newborn: A Retrospective Case-Control Study. *J Clin Med Res* 2019;11(11):760-763.
60. Mundy CA. Intravenous immunoglobulin in the management of hemolytic disease of the newborn. *Neonatal Netw* 2005;24(6):17-24.
61. Bedside Clinical Guidelines Partnership and West Midlands Neonatal Operational Delivery Network. *Neonatal Guidelines* 2022.
62. Okulu E, Erdevi O, Kilic I, Olukman O, Calkavur S, Buyukkale G. Intravenous Immunoglobulin Use in Hemolytic Disease Due to ABO Incompatibility to Prevent Exchange Transfusion. *Frontiers in Pediatrics* 2022.
63. Zwiers C, Scheffer-Rath MEA, Lopriore E, de Haas M, Liley HG. Immunoglobulin for alloimmune hemolytic disease in neonates (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2018.

64. ACTS Practice Committee. Intravenous Immune Globulin (IVIG) Administration in Neonates. SickKids 2007.
65. El Fekey SWI, El-Sharkawy HM, Ahmed AAEE, Nassar MAE, Elgendy MM. Effect of intravenous immunoglobulin in reducing bilirubin levels in hemolytic disease of newborn. Egypt J Hospital Med 2019;74(5):957–968.
66. Vardar G, Okan MA, Karadag N, Topcuoglu S, Ozalkaya E, Karatepe HO, et al. Intravenous immunoglobulin in hemolytic disease of the newborn: A moving target in time. Niger J Clin Pract 2022;25:1262-8.
67. Maisonneuve E, Dugas A, Friszer S, et al. Effect of intravenous immunoglobulins to postpone the gestational age of first intrauterine transfusion in very severe red blood cell alloimmunization: a case-control study. J Gynecol Obstet Human Reprod 2021;50 (7):102119.
68. Elalfy MS, Elbarbary NS, Abaza HW. Early intravenous immunoglobulin (two-dose regimen) in the management of severe Rh hemolytic disease of newborn – a prospective randomized controlled trial. Eur J Pediatr 2011;170:461-467.
69. Corvaglia L, Legnani E, Galletti S, Arcuri S, Aceti A, Faldella G. Intravenous immunoglobulin to treat neonatal alloimmune haemolytic disease. J Matern Fetal Neonatal Med 2012;25:2782.
70. Bujandric N, Grujic J. Exchange transfusion for severe neonatal hyperbilirubinemia: 17 years experience from Vojvodina, Serbia. Indian J Hematol Blood Transfus. 2016;32(2):208–214.
71. Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoietin for preventing red blood cell transfusion in preterm and/or low birth weight infants. Cochrane Database Syst Ver 2006;19(3).
72. Domínguez EA, Fernández JMP, Aloy JF, Estrany XC. Tratamiento con eritropoyetina para la anemia tardía tras enfermedad hemolítica del recién nacido. Na Pediatr (Barc) 2010;73(6):334-339.

