

AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA DOENÇA HEMOLÍTICA DO FETO E DO RECÉM-NASCIDO

ADVANCES IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF HEMOLYTIC DISEASE OF THE FETAL AND NEWBORN

DAYANE FERREIRA SILVA¹; FABIANA RODRIGUES DE ALMEIDA²; MARIA RITTA DE BARROS PERES³; SAMUEL DE FRANÇA SILVA⁴; DANIELLE SILVA ARAÚJO⁵.

Resumo

O objetivo principal deste estudo é compreender as análises diagnósticas utilizadas na detecção da doença hemolítica do feto e do recém-nascido. É importante ressaltar a relevância do farmacêutico na área de análise clínica para realizar o diagnóstico da doença. Os farmacêuticos são responsáveis por utilizar técnicas quantitativas e qualitativas para que métodos, como de aplicação de imunoglobulina, sejam administrados na dosagem correta, sempre verificando a hipótese de desenvolvimento da doença nas formas mais graves. Trata-se de um estudo exploratório e descritivo, tendo como metodologia a revisão literária, sendo consultadas as seguintes bases de dados: *Publication Medical* (PubMed) e *Google Acadêmico* no período de 2017 a 2022, e utilizados termos como "doença", "hemolítico", "recém-nascido", "diagnóstico" e "tratamento". Foram selecionados 34 artigos para discutirem diversos aspectos importantes no diagnóstico da Doença Hemolítica do Feto e do recém-nascido e sua prevenção. Constata-se que exames laboratoriais, como o Teste de *Coombs* Indireto e a avaliação do sistema sanguíneo tem grande relevância para a detecção da Doença Hemolítica do Feto e do Recém-nascido. Assim, é possível identificar possíveis complicações para desenvolver uma imunoprofilaxia adequada. Em função de sua grande incidência e origem, a HDFN tem sido cada vez mais explorada e estudada para uma melhor compreensão da doença.

Palavras-chave: doença; hemolítica; recém-nascido; diagnóstico; tratamento;

Abstract

The main goal of this study is to understand the diagnostic analyses used in hemolytic disease of the fetus and newborn detection. It is important to emphasize the pharmacist relevance in the clinical analysis area in order to carry out the disease diagnoses. The pharmacists are responsible to use quantitative and qualitative techniques so that methods, such as of immunoglobulin application, are administered in the correct dosage, always verifying the disease development hypothesis in the most severe forms. This is an exploratory and descriptive study, using the literary review as a methodology, with the following databases being consulted: Medical Publication (PubMed) and Google Scholar within the time frame from 2017 to 2022, and using terms such as "disease", "hemolytic", "newborn", "diagnosis" and "treatment". 34 articles were selected because they discuss several important aspects in the Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn diagnosis and its prevention. We found that laboratory tests, such as the Indirect Coombs Test and as the blood system evaluation have a great relevance for the Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn detection. So, it is possible to identify possible

¹Graduanda de Farmácia – Faculdade Unida de Campinas – FACUNICAMPS. E-mail: daay_silva17@hotmail.com

²Graduanda de Farmácia – Faculdade Unida de Campinas – FACUNICAMPS. E-mail: fabianara06@gmail.com

³Graduanda de Farmácia – Faculdade Unida de Campinas – FACUNICAMPS. E-mail: mariarittaperes@gmail.com

⁴Graduando de Farmácia – Faculdade Unida de Campinas – FACUNICAMPS. E-mail: Samukq1405@gmail.com

⁵Orientadora. Dra. Danielle Silva Araújo. Biomédica. Doutora em Patologia Molecular. E-mail: danielle.araujo@facunicamps.edu.br

complications to develop an adequate immunoprophylaxis. Due to its high incidence and origin, HDFN has been increasingly explored and studied for a better disease understanding.

Keywords: *disease; hemolytic; newborn; treatment; diagnosis;*

1. INTRODUÇÃO

A Doença hemolítica do feto e do recém-nascido (HDFN), chamada também como eritroblastose fetal, é uma condição hemolítica que aflige normalmente fetos Rh-positivos, e recém-nascidos de mães Rh-negativas (MYLE; AL-KHATTABI, 2021). O processo patológico da doença hemolítica do feto e do recém-nascido ocorre devido à incompatibilidade entre anticorpos das hemácias maternas e antígenos fetais (REE, BESUDEN *et al.*, 2021).

Os anticorpos maternos, a imunoglobulina G (IgG), são os responsáveis pela destruição dos glóbulos vermelhos do feto ou recém-nascido. Isso ocorre devido à formação de anticorpos maternos em resposta aos antígenos fetais, processo conhecido como isoimunização (SIMÃO *et al.*, 2021).

Ao atravessar a placenta, anticorpos da Classe IgG destroem as células eritrocitárias fetais, que são expressas por antígenos envolvidos. Os antígenos D, C e Kell são os mais potentes, sendo encontrados entre 2% e 7% da população. Esses antígenos podem ser responsáveis pela HDFN. A incidência de HDFN é de 1 em cada 80 mulheres grávidas que possuem aloanticorpos eritrócitos relevantes clinicamente, sendo afetados 1/300 - 1/600 neonatos nascidos vivos na Europa (CASTLEMAN *et al.*, 2021).

Os anticorpos maternos em contato com as hemácias fetais podem levar a hemólise, liberação de bilirrubina e anemia (SIMÃO *et al.*, 2021). Em casos mais complexos, a HDFN pode ocasionar morte fetal, hiperbilirrubinemia neonatal grave e kernicterus (PEGORARO *et al.*, 2020). Além da mortalidade intrauterina, também pode ocorrer hidropisia período pré-natal (REE *et al.*, 2020).

Para diagnóstico e tratamento é necessária uma análise laboratorial e de imagem. Essa doença possui como sinais clínicos, a hiperbilirrubinemia rápida e grave, e a hemólise nos resultados do esfregaço sanguíneo. Um teste sorológico é realizado para determinar a quantidade de anticorpos da mãe presente no bebê e identificar a positividade da doença hemolítica do feto e do recém-nascido. Os resultados podem mostrar se o bebê é afetado direta ou indiretamente pela variação de *Coombs* e anticorpos da mãe (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

Para que se possa identificar supostas gestações em risco para HDFN grave, define-se a necessidade de terapia fetal, sendo por parto prematuro ou tratamento neonatal intensivo. Recomenda-se que testes laboratoriais sejam repetidos durante a gravidez. A anemia fetal pode ser diagnosticada com alta sensibilidade e especificidade por ultrassonografia, avaliando-se a velocidade do fluxo sanguíneo da artéria cerebral média (ACM) através do Doppler (KOELEWIJIN *et al.*, 2020).

Para que ocorra o diagnóstico de HDFN são necessários: análises extensas, exames físicos, estudos de imagens com Ultrassonografia pélvica e estudos sorológicos. Para prevenir a doença é administrada precocemente a imunoglobulina intravenosa (IGIV) em gestantes Rh negativo que não foram sensibilizadas. É importante entender as perspectivas de complicações, como hiperbilirrubinemia grave, sendo necessário desenvolver medicamentos apropriados (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

Portanto, este trabalho tem como objetivo compreender as análises diagnósticas, utilizadas na detecção da doença hemolítica do feto e do recém-nascido. Ressaltando a importância do farmacêutico na área de análises clínicas para a realização de diagnósticos da doença. Utilizando técnicas quantitativas e qualitativas para que métodos como a imunoprofilaxia com a imunoglobulina seja administrada na dosagem correta, verificando-se a hipótese de desenvolvimento da nas formas mais graves.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A doença hemolítica do feto e recém-nascido

A HDFN teve seu primeiro caso registrado na França em meados de 1609, em que uma enfermeira chamada Loyse Bourgeois, realizou um parto gemelar onde uma criança nasceu com características hidrópicas natimorta, e outra com icterícia grave. Ambas vieram a óbitos (SANTOS; PEREIRA; VILLARINHO, 2021).

Após estudos no ano de 1932, o pesquisador Diamond relatou que a anemia congênita, hidropsia fetal e icterícia possuem sintomas em comuns e pertencem ao mesmo tipo de patologia, pois são ocasionadas por um tipo de hemólise no feto que provocava a produção acelerada de eritroblastos no sistema sanguíneo. Porém, em 1939, esse estudo foi concluído através do descobrimento do sistema Rh (SANTOS; PEREIRA; VILLARINHO, 2021).

Uma das principais causas para desencadear a doença hemolítica é a passagem dos eritrócitos fetais por meio da barreira placentária para a circulação sanguínea da mãe e a isoimunização (CHEN; FENG; JIANG, 2021). Contudo, a HDFN não ocorre na primeira gestação, pois os anticorpos maternos da Classe IgM não ultrapassam a barreira placentária devido ao seu peso molecular e ocasionar consequências graves no feto (TYNDALL; CUZZILLA; KANE, 2020).

Os anticorpos IgG maternos, no segundo contato, atingem a circulação sanguínea da mãe ao atacar a membrana amino coriônica. Caso atinjam uma porção crítica de IgG, é perigoso ocorrer uma hemólise e desenvolver uma anemia fetal (TYNDALL; CUZZILLA; KANE, 2020).

Anticorpos como anti-Rh, anti-Rh-c, e anti-Kell (K1) são os principais responsáveis por originar o processo que acarreta a HDFN, O antígeno K1 é um dos mais imunogênicos no processo de isoimunização, sendo considerado o pior prognóstico, pois, a mãe passa diversas vezes pelo mesmo processo, mas não realiza o reconhecimento, e assim, precursores eritrocitários como Ferro, Vitamina B12 e Ácido fólico são atingidos (MIGUEL *et al.*, 2017).

Essa doença é bastante conhecida nas maternidades por ter alta incidência de mortes durante o período da gravidez, parto e puerpério, porque apresenta uma variedade de sinais clínicos, desde os mais leves e assintomáticos até os mais graves, com risco de morte (JACKSON; BAKER, 2021).

A anemia pós-natal, precoce e tardia, hiperbiremia e morte são exemplos de consequências acarretadas pela sensibilização dos anticorpos. Efeitos ocasionados pelo aumento da hiperbiremia podem trazer danos irreversíveis, como problemas no fígado, canais da bile, vesícula biliar, baço, rins, doenças do sangue e encefalopatia irreversível (JACKSON; BAKER, 2021).

2.2. Sistemas sanguíneos raros e a importância do fator Rh na HDFN

Além dos grupos sanguíneos A, B, O e Rhesus, existem alguns grupos sanguíneos raros encontrados na população em geral, com frequência inferior a 1/4.000. Um grupo sanguíneo é considerado raro quando há ausência de um antígeno que possui uma alta incidência na população geral ou na ausência de muitos antígenos que estão presentes de maneira predominante em casos do mesmo grupo. Uma mulher pode se tornar imune a um

dos sistemas sanguíneos durante uma transfusão sanguínea, ou durante a primeira gravidez (PYTEL *et al.*, 2020).

No entanto, uma transfusão posterior com um subgrupo diferente pode resultar em uma grande hemólise. Alguns anticorpos possuem maior predisposição para desenvolvimento de doença hemolítica e hidropisia fetal, sendo eles: anti-D, anti-C e anti-K (PYTEL *et al.*, 2020).

Com o descobrimento do DNA fetal livre de células (cffDNA) no plasma da mãe, foi aberta a hipótese de um exame não invasivo no feto. O método consiste na genotipagem do cffDNA de células isoladas do plasma materno e na detecção de alelos herdados de grupos sanguíneos paternos ausentes no genoma da mãe, sendo denominado testes pré-natais não invasivos (SØRENSEN *et al.*, 2018).

O teste proporcionou a identificação dos que se beneficiaram com a profilaxia pré-natal, salvando mulheres com fetos Rh-D negativo de um tratamento desnecessário com anti-D, correspondendo a cerca de 40% de todas as mulheres Rh-D negativo (SØRENSEN *et al.*, 2018).

2.3. Processo de isoimunização causada pela imunoglobulina da Classe IgG

A isoimunização é a sensibilização dos anticorpos maternos com antígenos derivados paternalmente que ocorre na corrente sanguínea devido a um sangramento da placenta durante a segunda exposição gestacional. Após essa exposição, as células de defesa da mãe do tipo IgG são produzidas rapidamente para que uma resposta imune seja ativada. Esse fenômeno é equivalente ao nível de hemácias Rh Positiva presente no fluxo sanguíneo e pode ser desencadeado mais frequentemente nos receptores da transfusão sanguínea do que durante o período gestacional (XAVIER; SILVA, 2019).

Durante a gravidez, a exposição materna aos aloantígenos e células fetais é menor comparada com a da transfusão sanguínea. Em alguns casos, a isoimunização pode ser desencadeada por hemorragias no momento do parto (XAVIER; SILVA, 2019).

2.4. Tipos de anticorpos responsáveis pelo desenvolvimento da doença

A patogenia tem início com a entrada das hemácias fetais por anticorpos maternos, com a incompatibilidade do sangue materno e fetal relacionado com os sistemas de antígenos

Rhesus e ABO (MYLE; AL-KHATTABI, 2021). Na primeira gestação, o filho obtém o antígeno D paterno, que tem um padrão autossômico dominante, e ao acontecer a combinação de sangue materno e fetal, a mãe gera anticorpos anti-D pela aloimunização, pois não contém o antígeno D (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

A secreção de anticorpos tem início com IgM, que não conseguem ultrapassar a barreira placentária, porém possui troca de isotipos, que geram anticorpos IgG. Estes atravessam a barreira placentária, e na segunda gestação atacam as hemácias fetais ocasionando a hemólise, hidropisia fetal e icterícia. Esses anticorpos IgG também podem entrar na circulação fetal através da hemorragia feto-materna (MYLE; AL-KHATTABI, 2021). A Tabela 1 apresenta a classificação dos anticorpos de acordo com os grupos de risco segundo as diretrizes suecas.

Tabela 1: Tipos de anticorpos de célula de sangue vermelho conforme descrito pelas diretrizes nacionais Suecas.

Tipos de anticorpos	
Anticorpo com alto risco de HDFN grave	Anti-D
	Anti-K
	Anti-c
Anticorpo com risco moderado de HDFN	Anti-C
	Anti-e
	Anti-E
	Anti-k
	Anti-Fya
	Anti-U
Anticorpo com risco baixo de HDFN	Anti-Cw
	Anti-f
	Anti-Jka
	Anti-Jkb
	Anti-M
	Anti-S

	Anti-s
	Anti-Fyb
	Anti-Lua
	Anti-Lub
	Anti-Kpa
	Anti-Kpb
	Anti-Yta
	Anti-Coa
	Anti-Cob
	Anti-Ge2.3

Fonte: Tabela adaptada (LIU *et al.*, 2021).

Tabela 2: Títulos críticos encontrados nos anticorpos conforme descrito pelas diretrizes nacionais suecas.

Título	
1-8	Não crítico para o feto, mas com indicação de monitoramento continuado com titulação de anticorpos. Exceção é anti-K onde o monitoramento com interrogação Doppler de MCA PSV possa começar com título ≥ 8 .
16-32	Baixo risco de severo HDFN, mas a hiperbilirrubinemia neonatal requerendo fototerapia é possível.
≥ 64	Monitoramento contínuo, incluindo avaliação com interrogação Doppler de MCA PSV. Risco de necessitar de transfusão neonatal.
≥ 128	Monitoramento contínuo, incluindo interrogação Doppler de MCA PSV. Transfusão de sangue intrauterina, ou transfusão neonatal pode ser necessária.

Abreviações: MCA (Artéria Cerebral Média); PSV (Velocidade Sistólica de Pico).

Fonte: Tabela adaptada (LIU *et al.*, 2021).

Já no Brasil, as internações através dos dados estatísticos variaram de 2.242 em 2011 a 3.114, em 2020, totalizando 28.204. Entre as regiões brasileiras que tiveram maior destaque

foi á região Sudeste, que totalizou 13.449 (47,7%), em seguida da Nordeste, 7.701 (27,3%), Centro-Oeste, 3.618 (12,8%), Norte, com 1.869 (6,6%) e Sul, 1.567 (5,6%) Em relação aos óbitos foram de 10 em 2011 a 14, em 2020, totalizando 113. Em relação às regiões, temos: Sudeste, com 60 (53,1%), Nordeste, 27 (23,9%), Norte, 13 (11,5%), Centro-Oeste, 7 (6,2%) e Sul, 6 (5,3%) (SCHUSTER; BASSANI; CEZAR, 2021).

Quanto ao sexo dos pacientes, temos que ocorreram mais internações e óbitos por parte do sexo masculino, 14.144 (50,1%) e 67 (59,3%), respectivamente. Foi possível observar em um maior numero de internações e óbitos no sexo masculino. Além disso, a região Sudeste, onde se concentra cerca de 42% da população do país, foi responsável por 47,7% das internações e 53,1% dos óbitos pela Doença hemolítica do feto e recém-nascido (SCHUSTER; BASSANI; CEZAR, 2021).

2.5. Fisiopatologia da doença hemolítica do recém-nascido

A doença hemolítica do feto e do recém-nascido ocorre quando eritrócitos fetais, onde os antígenos de superfície incompatíveis dos maternos atravessam a placenta. Devido a essa exposição inicial ao antígeno eritrocitário, o sistema imune materno irá produzir anticorpos da classe IgM. Imunoglobulina da classe M possui peso molecular elevado, portanto, não conseguem atravessar a barreira placentária (SIMÃO *et al.*, 2021).

Quando ocorre um segundo contato com antígenos eritrocitários incompatíveis, o sistema imunológico irá produzir anticorpos da classe IgG em grandes quantidades, sendo que esses anticorpos possuem pesos moleculares baixos. Com isto, consegue-se atravessar por translocação a barreira placentária, ligando-se aos eritrócitos fetais. Serão destruídos no retículo-endotelial do feto ou neonato, eritrócitos que possuem número suficiente de anticorpos IgG (SIMÃO *et al.*, 2021).

Os anticorpos da classe IgG são clinicamente importantes contra os antígenos dos grupos não ABO nos glóbulos vermelhos (ex: anti-Rh-D, anti-Rh-Kell etc), pois não há necessidade de exposição prévia por meio da gravidez, transplante ou transfusão (METCALF *et al.*, 2019).

Uma isohemaglutinina, chamada anti-A e anti-B, foi descoberta em indivíduos do grupo sanguíneo O, em 1952, onde reconhecem os antígenos A e B em um epítopo compartilhado e ainda indefinido. Apesar de frações consideráveis de anticorpos ABO serem do isotipo da classe IgM, podem ocorrer quantidades relevantes de IgG em mães do grupo O.

Quando anticorpos IgG atravessam a barreira placentária, se ligam a eritrócitos fetais expressando antígenos ABO e o complemento é ativado. A hemólise pode levar à anemia e hiperbilirrubinemia. Quando a bilirrubina atravessa a barreira hematoencefálica neonatal imatura e se liga aos gânglios da base e ao cerebelo, resultando em disfunção neurológica induzida pela bilirrubina (BIND). Ela abrange tanto a encefalopatia aguda por bilirrubina (ABE), quanto o Kernicterus (METCALF *et al.*, 2019).

2.6. Análises sorológicas e titulação dos anticorpos envolvidos nos processos patológicos

Durante a gestação é estabelecida uma rotina pré-natal cuja realização de exames é primordial para uma gravidez saudável livre de interferências (XAVIER; SILVA, 2019).

Logo no início da gravidez, é solicitado pelo médico o Teste de *Coombs* Indireto, que tem como o intuito analisar e titular a presença dos anticorpos distintos. Este teste deve ser realizado em todas as gestantes no começo do pré-natal, sendo repetido conforme o diagnóstico. A utilização do soro de antiglobulina humana na realização do teste de *Coombs* para o diagnóstico de HDFN é uma descoberta de grande relevância na medicina transfusional, pois ele é responsável por realizar a identificação dos anticorpos não aglutinantes através da sua aplicação nos eritroblastos fetais (XAVIER; SILVA, 2019).

Após a realização desse exame é possível saber se houve sensibilização. Em casos que a grávida seja de Rh Negativo, mas não foi sensibilizada, é recomendado realizar novamente o teste de *Coombs* a partir da vigésima sétima semana de gestação, devido à imunoglobulina anti-D ser aplicada após uma semana, ou seja, na vigésima oitava (XAVIER; SILVA, 2019).

Nos episódios de diagnóstico de sensibilização que não ocorre aplicação de imunoglobulina e há presença de hemorragia intrauterina, é feito uma investigação frequente dos anticorpos desproporcionais independente do tempo gestacional. Desse modo, é feito titulações de anti-D quando há sensibilização. Da quarta semana até a vigésima oitava semana gestacional, sendo realizada de quatro em quatro semanas no início e no final de duas em duas conforme a contagem do diagnóstico da gravidez (XAVIER; SILVA, 2019).

2.7. Diagnóstico diferencial

O diagnóstico está relacionado com uma ampla prática laboratorial e de imagem. A HDFN é caracterizada clinicamente pela hiperbilirrubinemia rápida e grave ou

hiperbilirrubinemia persistente; e hemólise nos resultados do esfregaço sanguíneo. Observa-se também que a extensão da hematopoiese afeta a gravidade dos distúrbios (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

Entre os sintomas mais comuns, destacam-se a anemia, que pode ser válida usando amostras de arteríolas em vez de sangue capilar; a trombocitopenia, relacionada pelas transfusões de troca, devido à anomalia de plaquetas sanguíneas e quando a produção é interrompida em benefício da eritropoiese e a neutropenia, analisada após transfusão intrauterina, que é referente ao aumento de citocinas circulantes e reticulocitose. Tem também os esfregaços de sangue periférico Rh-HDN que identificam policromasia, anisocitose, eritroblastos e ausência de esferócitos (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

No período da gravidez, tem que investigar o feto para os aloanticorpos eritrocitários maternos. Nesse caso, a ultrassonografia é realizada para transfusão intravenosa. As amostras de sangue materno para ABO, grupo Rh e hemácias são analisadas nesta fase. Se identificados aloanticorpos que podem ocasionar HDFN, testes laboratoriais devem ser feitos para obter um diagnóstico (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

O fenótipo do pai deve ser identificado para estabelecer a chance de um recém-nascido apresentar o antígeno eritrocitário apropriado. Quando a positividade do Rh fetal é identificada, a análise fetal pode ser realizada por ultrassonografia pélvica materna seriada, Doppler da artéria umbilical e da artéria cerebral média (ACM) (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

Os dopplers MCA são mais realizados para identificar anemia em fetos Rh positivos, são feitos a cada 1 a 2 semanas a partir da 24^a semana de gestação. Esse monitoramento verifica o pico de velocidade sistólica (PSV), pois aumenta na anemia. A ultrassonografia fetal é utilizada para verificar ascite fetal, edema de partes moles, edema do couro cabeludo, derrame pleural, cardiomegalia e hepatomegalia com hipertensão portal se o feto for muito afetado (MYLE; AL-KHATTABI, 2021).

2.8. Processo de imunização e profilaxia

Desde 1960, a imunoglobulina tem sido testada em ensaios clínicos nos Estados Unidos e Reino Unido, a fim de reduzir a incidência de Doença Hemolítica do Recém-nascido e mortalidade entre neonatos e fetos. Desde então, ficou determinada a imunização passiva de mães Rh-D negativas com IgG anti-Rh-D que poderiam proteger as mulheres da

sensibilização contra Rh-D positivo logo após o parto. Em 1968, houve a aprovação regulatória e licenciamento de preparações de Imunoglobulina da classe IgG, anti-Rh-D, como rotina profilática pós-parto (PEGORARO *et al.*, 2020).

A tipagem dos grupos sanguíneos ABO e Rh não é realizada com frequência em muitas regiões, pois o custo do IgG anti-Rh(D) pode ser 4 a 8 vezes maior do que em países de alta renda, devido à privatização de farmácias. Muitas vezes os suprimentos de IgG anti-Rh-D são insuficientes em países da América do Sul. Já na China a imunoglobulina IgG anti-Rh-D não está disponível. A necessidade de imunoprofilaxia IgG anti-Rh-D são constantemente esquecidas na Europa Oriental e na Rússia, nas condições de aborto espontâneo e sangramento anormal durante a gravidez. Não recebem os cuidados adequados por falta de informações dos profissionais de saúde, mesmo em países de alta renda (PEGORARO *et al.*, 2020).

O processo de imunização da HDFN é atualizado constantemente por meio de estudos de patologistas que buscam técnicas inovadoras para a prevenção e tratamento da doença hemolítica do feto e do recém-nascido (XAVIER; SILVA, 2019). Assim, durante a gravidez é importante realizar um pré-natal, composto por profissionais obstetras, hematologistas responsáveis por identificar possíveis patologias e estabelecer critérios de imunização conforme a necessidade de cada grávida (XAVIER; SILVA, 2019).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

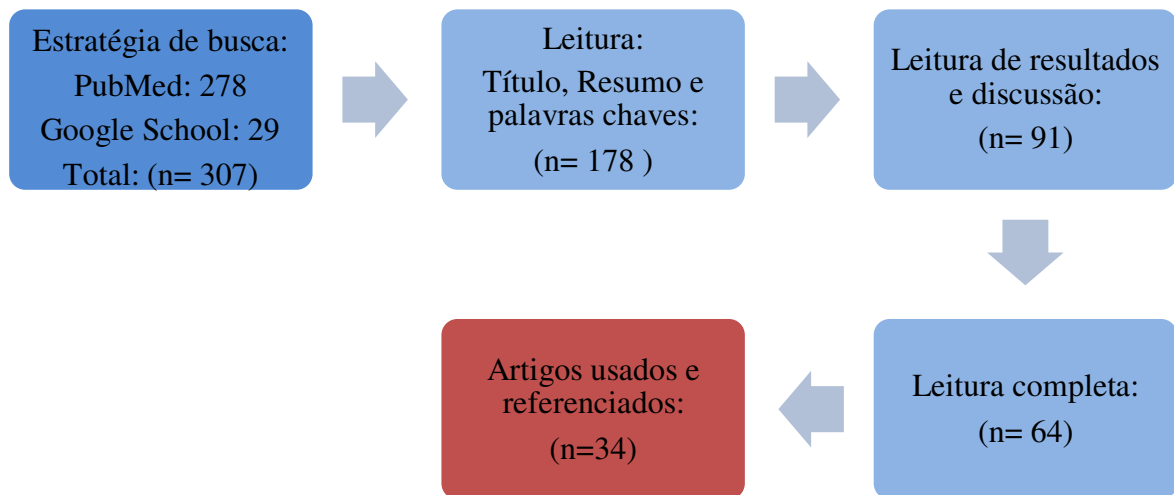
O presente estudo possui caráter exploratório e descritivo, utilizando como metodologia a revisão literária. Para a investigação dos dados bibliográficos, foram feitas buscas nas plataformas PubMed e *Google Acadêmico* entre os anos de 2017 e 2022, utilizando termos como: doença, hemolítica, recém-nascido, diagnóstico e tratamento. Além dos termos em inglês como: *disease, hemolytic, newborn, treatment e diagnosis*.

Nessa busca, foram encontrados 307 artigos para o estudo, como mostra a Figura 1. A pesquisa dos artigos eletrônicos ocorreu entre os meses de setembro a outubro de 2022. A seleção de artigos se deu a partir da busca pelas palavras chaves já citadas e leitura posterior. Primeiramente foi realizada a leitura do título, resumo e palavras chaves, sendo selecionados 178 artigos. Após a leitura dos resultados e discussões foram selecionados 91 artigos.

Com a leitura completa foram selecionados 64 artigos, dos quais apenas 34 artigos foram utilizados e referenciados. O método de exclusão utilizado foi retirar artigos que não

abordassem temas dentro do tema proposto, como por exemplos artigos sobre Síndrome Hemolítico-Urêmica, anemia hemolítica e artigos que não estivessem entre o período delimitado.

Figura 1: Fluxograma do método de pesquisa.



Fonte: Os autores.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através da realização de exames hematológicos que utilizam técnicas de aglutinação por meio do uso de reagentes para a identificação da tipagem sanguínea e presença dos anticorpos, é possível saber se a mãe vai ter uma sensibilização com o aloanticorpo anti-D, ou já teve (DAS; SHASTRY; BALIGA, 2019).

Segundo Julião, Sousa Júnior e Oliveira (2020), o Brasil apresenta destaque na saúde pública privada, devido ao empenho no diagnóstico da incompatibilidade materno fetal. Com as pesquisas das imunoglobulinas anti-eritrocitárias, encontradas no soro ou plasma, de maneira não natural, sendo um importante cursor para desenvolvimento da doença hemolítica do feto e recém-nascido.

O teste de *Coombs* indireto e avaliação dos sistemas sanguíneos são primordiais para o diagnóstico pré-natal, pois a partir destes a imunoprofilaxia podem ser realizadas, e assim, melhores condições de saúde são oferecidas aos pacientes portadores da HDFN (XIE *et al.*, 2020).

A fenotipagem do sistema ABO é baseada de acordo com a presença ou ausência de antígenos (aglutinogênios A e B) na membrana superficial das células sanguíneas humanas e dos anticorpos (aglutininas Anti-A e Anti-B) no plasma sanguíneo. Os grupos sanguíneos A, B, AB possuem aglutinogênios em sua membrana eritrocitária, em relação às aglutininas apenas o sistema AB não as possui em seu plasma. Ao misturar anticorpos do plasma sanguíneo com antígenos de grupos sanguíneos diferentes ocorrem aglutinações. No sistema Rhesus é necessária uma exposição prévia ao antígeno Rh de modo com que ocorra a formação de anticorpos, levando a isoimunização (SILVA FILHO *et al.*, 2022).

Stetson, Scrape e Markham (2017), realizaram um estudo observacional que descreveram o Teste de Antiglobulina Indireta, como método de diagnóstico da Doença hemolítica do feto e do recém-nascido. Em que pretende reestruturar o manejo de grávidas aloimunizadas anti-M na localidade do estudo, com intuito de diminuir os procedimentos invasivos e testes desnecessários na maioria das grávidas com anticorpos anti-M. O teste de *Coombs* direto positivo auxilia no diagnóstico da doença hemolítica, pois demonstra que as células sanguíneas do feto estão revestidas de anticorpos maternos da classe IgG (LI *et al.*, 2017).

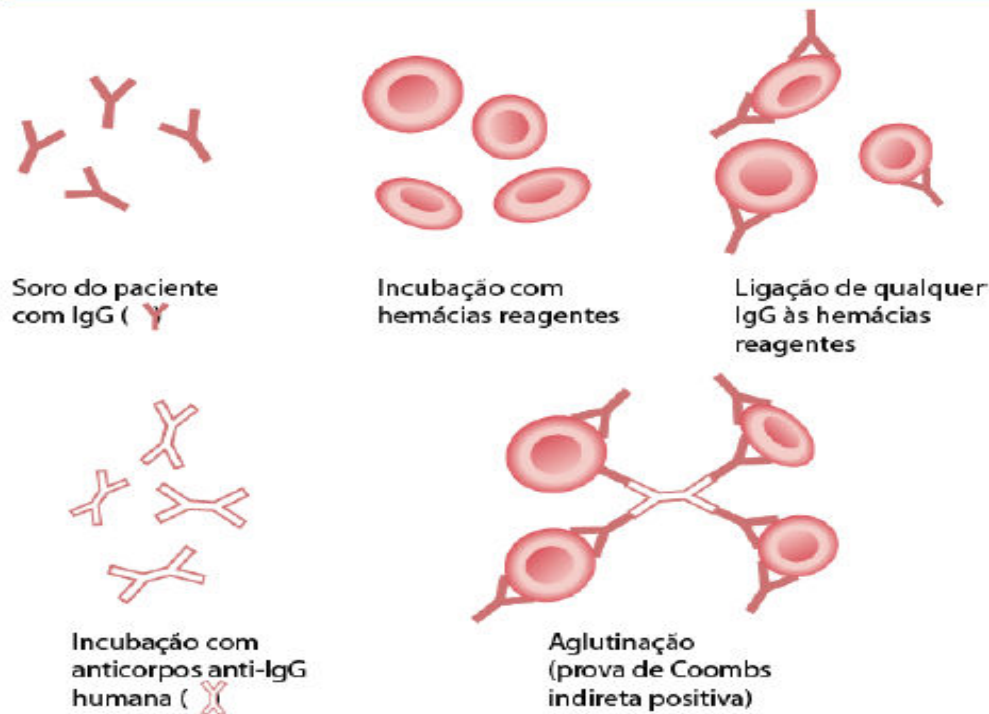
O teste de *Coombs* Indireto tem como finalidade a identificação de imunoglobulinas da classe IgG, que estão presentes no plasma da mãe. O teste deve ser feito em grávidas com fator Rh negativo e testado no primeiro trimestre da gravidez. Caso a sensibilização do teste seja positivo, são identificados anticorpos anti-Rh em mães que possuem o Rh negativo. Esses anticorpos estão relacionados diretamente com o desenvolvimento da HDFN. Caso o Teste de *Coombs* Indireto seja negativo deve-se repetir o teste mensalmente, para acompanhar a intensidade da hemólise provocada no feto. (SILVA FILHO *et al.*, 2022).

Atualmente, existem vários estudos a respeito da fenotipagem do tipo D fracos, parciais ou variantes. Por meio deles foi concluído que anticorpos anti-D são os principais responsáveis em ocasionar a HDFN (doença hemolítica imunomediada do feto e do recém-

nascido) (DAS; SHASTRY; BALIGA, 2019). O teste de *Coombs* Indireto demonstra o processo de aglutinação, conforme mostrado na Figura 2.

Figura 2: Teste de Coombs Indireto.

Teste indireto da antiglobulina (Coombs indireto)



Fonte: (SOUSA; MOTA, 2020).

Um estudo experimental de garantia de qualidade, realizado por Sorensen, Kejeldsen-Kragh e Akkok (2018) sobre aloimunização anti-D como profilaxia pré-natal, comparando com a administração pós-natal, descreveu a descoberta de cffDNA no plasma materno, como possibilidade de novo método de diagnóstico não invasivo. Esse teste se baseia na genotipagem de DNA fetal livre de células placentárias trofoblásticas apoptóticas no plasma materno. Além de evitar o tratamento desnecessário de fetos Rh-D negativos, o método pretende validar e estabelecer protocolo de rastreamento não invasivo Rh-D Digitado. Especula-se que a nova ferramenta irá melhorar o manejo de grávidas com aloimunização anti-D por diminuir a quantidade ou evitar profilaxia anti-D pré-natal desnecessária (SØRENSEN *et al.*, 2018).

De acordo com as Diretrizes Nacionais Suecas (2015), foram listados anticorpos responsáveis para o desenvolvimento da doença hemolítica do feto e recém-nascido. Ao analisar o anticorpo anti-D verificou-se que é capaz de desenvolver a doença na sua forma

mais grave (LIU *et al.*, 2021). Um estudo desenvolvido na Índia (2021) descreve que o anti-D é a principal causa de HDFN no país. Neste contexto, sentiram necessidade de descrever e desenvolver algoritmos para o diagnóstico de grávidas Rh-D negativo no pré-natal. Ao descobrir os resultados positivos da genotipagem fetal Rh-D não invasivo. Utilizaram dois exons Rh-D desde o início da 10ª semana de gestação, o resultado obtido foi 100% de precisão diagnosticada.

Nesse sentido, a genotipagem fetal Rh-D não invasivo demonstrar-se um alvo diagnóstico promissor a ser adotado na rotina, como benefício para grávidas em pré-natal que possuem Rh-D negativo (PARCHURE; MADKAIKAR; KULKARNI, 2022).

Com os avanços das pesquisas sobre a HDFN é possível detectar e prevenir essa doença de forma mais rápida e segura. Porém, alguns países sofrem com as limitações nas pesquisas, pois não possuem todas as informações necessárias sobre o IgG anti-Rh-D, por exemplo, a Holanda as informações sobre o IgG anti-Rh-D é cedida pelo programa de doação voluntária, pois o país não detém de um sistema de rastreamento dos dados estatísticos (PEGORARO *et al.*, 2020).

Um estudo de coorte retrospectivo foi realizado na população de todas as gestações únicas aloimunizadas, na região de Estocolmo (1990-2016), com o objetivo de relatar a frequência de anticorpos eritrocitários clinicamente significativos em nossa população grávida e visando analisar o risco de tratamento pré-natal e pós-natal para HDFN em relação ao nosso sistema nacional de classificação de risco e diretrizes de gerenciamento (LIU *et al.*, 2021). Detectou que 63% das 1.724 gestações analisadas estavam em risco de ter HDFN. Já em 492 (46%) foi detectado anti-D, seguido por anti-E em 161 (15%) e anti-c em 128 (12%). Oitenta e sete (8%) das gestações tiveram transfusão de sangue intrauterina, com maior risco nas gestações afetadas pelo anti-D combinado com outros anticorpos (LIU *et al.*, 2021).

O tratamento neonatal foi mais comum nos grupos anti-D isolado e anti-D combinado, com 136 (57%) e 21 (44%), respectivamente, tratados com fototerapia e 35 (15%) e 9 (20%) receberam troca de transfusões. Para gestações complicadas por anticorpos de risco moderado e baixo, a fototerapia foi menos frequente (32 [36%] e 21 [19%]) e a exsanguineotransfusão foi rara (5 [6%] e 3 [3%]) (LIU *et al.*, 2021).

Através dessa análise nas gestações aloimunizadas notou-se que o Anti-D, em combinação com outros anticorpos, manifesta o maior risco de HDFN grave. A classificação de RBC de anticorpos em grupos de risco pode ajudar os médicos a avaliar o risco de HDFN e

aconselhar mulheres grávidas aloimunizadas sobre o risco de tratamentos pré-natais e pós-natais (LIU *et al.*, 2021).

Segundo Pytel Shannon *et al.* (2019), após ser feito a análise do nível de hemoglobina e verem que a ferritina estava com baixos níveis o uso do ferro passou a ser prescrito com mais frequência para o tratamento de pacientes com grupo sanguíneo raro. O diagnóstico durante a gravidez exige tratamento para prevenir o risco de sangramento em uma paciente em situação de transfusão limitada, evitando o risco de doença hemolítica do recém-nascido.

A administração da terapia com IgG anti-Rh-D é disponibilizada, mas em alguns casos profissionais da saúde fazem sua administração em momentos inadequados. Fatores como a falta de infraestrutura, informação e administração incorreta podem refletir no aumento de casos de mulheres sensibilizadas com o Rh-D e assim afetando os padrões esperados mundialmente (PEGORARO *et al.*, 2020).

Mas mesmo com a realização de todo o procedimento estabelecido na rotina profilática da HDFN é possível em alguns casos as gestantes ter o anti-D, devido algumas questões que dificultam o trabalho do imunohematologista no momento da identificação sorológica (DAS; SHASTRY; BALIGA, 2019).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através deste estudo concluiu-se que a Doença Hemolítica do Feto e Recém-Nascido é uma doença de alta complexidade que pode ocasionar a destruição das hemácias, aumento da mortalidade perinatal e morbidade neonatal, devido à incompatibilidade do fator Rh-D ser o mais comum para o desenvolvimento da doença.

A fim de evitar, detectar e prevenir a HDFN o diagnóstico é de suma importância. Exames laboratoriais como o teste de *Coombs* indireto, avaliação do sistema sanguíneo são de grande relevância para a detecção da Doença Hemolítica do Feto e Recém-Nascido e servem de complemento para a imunoprofilaxia.

Os avanços no diagnóstico como a descoberta do cfDNA livre no plasma materno, o método não invasivo Rh-D digitado, evitando profilaxia anti-D desnecessárias e resultando em melhorias significativas na prevalência da aloimunização HDFN.

As pesquisas sobre o diagnóstico têm sido feitas qualitativamente com nitidez e resguardo por profissionais da saúde. Porém, a falta de infraestrutura, conscientização e investimentos têm sido os principais responsáveis pelo aumento da prevalência da HDFN mundialmente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTLEMAN, J. S.; MOISE, K. J.; KILBY, M. D. Medical therapy to attenuate fetal anaemia in severe maternal red cell alloimmunisation. **British Journal of Haematology** Blackwell Publishing Ltd, 1 fev. 2021.

CHEN, J.; LIU, F. A case of mild HDFN caused by anti-C, anti-D, and anti-G: Diagnostic strategy and clinical significance of distinguishing anti-G from anti-D and anti-C. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 59, n. 1, 1 fev. 2020.

CHEN, X.; FENG, J.; JIANG, Y. Abbreviations: HDFN, hemolytic disease of the fetus and newborn Case Study Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn Caused by Maternal Autoantibody with Mimicking Anti-E Specificity. **Laboratory Medicine**, v. 52, p. 399–402, 2021.

DAS, S.; SHASTRY, S.; BALIGA, P. B. Severe haemolytic disease of a newborn with variant D mimicking blocked-D phenomenon. **BMJ Case Reports**, v. 12, n. 12, 15 dez. 2019.

JACKSON, M. E.; BAKER, J. M. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 41, n. 1, p. 133–151, mar. 2021.

JULIÃO, A. V. B. SOUSA JÚNIOR, E. M. OLIVEIRA, A. H. P. Prevalência e Fatores Associados aos Anticorpos Irregulares em Gestantes Rh-D Positivas no Agreste de Pernambuco. Pernambuco: **ASCES UNITA**, 2 set. 2020.

KOELEWIJN, J. M. *et al.* Diagnostic value of laboratory monitoring to predict severe hemolytic disease of the fetus and newborn in non-D and non-K-alloimmunized pregnancies. **Transfusion**, v. 60, n. 2, p. 391–399, 1 fev. 2020.

LI, L. *et al.* Prenatal treatment of severe fetal hemolytic disease due to anti-M alloimmunization by serial intrauterine transfusions. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 3, p. 379–381, 1 jun. 2017.

LIU, S. *et al.* Management and clinical consequences of red blood cell antibodies in pregnancy: A population-based cohort study. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 100, n. 12, p. 2216–2225, 1 dez. 2021.

METCALF, R. A. *et al.* Severe ABO Hemolytic Disease of the Newborn Requiring Exchange Transfusion CASE PRESENTATION. **J Pediatr Hematol Oncol**, v. 41, n. 8, 8 nov. 2019.

MIGUEL, C. B. *et al.* Antígeno Kell na Doença Hemolítica do Recém-Nascido. **Revista Saúde Multidisciplinar-FAMA Mineiros/GO**, v. IV, p. 20–36, 2017.

MYLE, A. K.; AL-KHATTABI, G. H. Hemolytic Disease of the Newborn: A Review of Current Trends and Prospects. **Pediatric Health, Medicine and Therapeutics**, v. Volume 12, p. 491–498, out. 2021.

PARCHURE, D.; MADKAIKAR, M.; KULKARNI, S. Algorithm development and diagnostic accuracy testing for non-invasive fetal RHD genotyping: an Indian experience. **Blood Transfus**, v. 20, p. 235–244, 2022.

PEGORARO, V. *et al.* Hemolytic disease of the fetus and newborn due to Rh(D) incompatibility: A preventable disease that still produces significant morbidity and mortality in children. **PLoS ONE**, v. 15, n. 7 July, 1 jul. 2020.

PYTEL, S. *et al.* Management of patients with rare blood groups in maternity. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 40, n. 4, p. 468–472, 18 maio. 2020.

REE, I. M. C. *et al.* Exchange transfusions in severe Rh-mediated alloimmune haemolytic disease of the fetus and newborn: a 20-year overview on the incidence, associated risks and outcome. **Vox Sanguinis**, v. 116, n. 9, p. 990–997, 1 out. 2021.

REE, I. M. C. *et al.* Suppression of compensatory erythropoiesis in hemolytic disease of the fetus and newborn due to intrauterine transfusions. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 223, n. 1, p. 119.e1-119.e10, 1 jul. 2020.

SANTOS, E. G.; PEREIRA, J. J.; VILLARINHO, A. C. A. Eritroblastose Fetal: Atuação do SUS. **Revista Episteme Transversalis**, v. 12, n. 2, p. 159–177, 2021.

SCHUSTER, A.; BASSANI, B.; CEZAR, J. Doença Hemolítica do Feto e Recém-Nascido: Epidemiologia Brasileira do Período 2011–2020. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 43, p. S283, 1 out. 2021.

SILVA FILHO, P. S. DA P. *et al.* Doença hemolítica do recém-nascido (eritroblastose fetal): do diagnóstico ao tratamento. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e25911427377, 17 mar. 2022.

SIMÃO, M. C. S. A. *et al.* Prognóstico de Eritroblastose Fetal em Crianças Prematuras / Prognosis of Fetal Erythroblastosis in Premature Children. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 4602–4618, 2021.

SØRENSEN, K. *et al.* Determination of fetal RHD type in plasma of RhD negative pregnant women. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, Taylor and Francis Ltd, 4 jul. 2018.

SOUSA, M.; MOTA, S. **Manual Prático de Imunohematologia**. (Repositório P.Porto, Ed.)Escola Superior de Saúde – P. Porto. **Anais**.2020.

STETSON, B.; SCRAPE, S.; MARKHAM, K. B. Anti-M Alloimmunization: Management and Outcome at a Single Institution. **Am J Perinatol Rep**, v. 7, p. 205–210, 2017.

TYNDALL, C.; CUZZILLA, R.; KANE, S. C. The rhesus incompatible pregnancy and its consequences for affected fetuses and neonates. **Transfusion and Apheresis Science** Elsevier Ltd, 16 set. 2020.

XAVIER, R.; SILVA, E. Assistência pré-natal prestada às gestantes Rh negativo isoimunizadas. Gama-DF: Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos - **UNICEPLAC**, 26 de nov. 2019.

XIE, X. *et al.* Clinical value of different anti-D immunoglobulin strategies for preventing Rh hemolytic disease of the fetus and newborn: A network meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 15, n. 3, 2020.

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu Sabrina Rodrigues de Almeida RA 45641

Declaro, com o aval de todos os componentes do grupo a:

AUTORIZAÇÃO (X)

NÃO AUTORIZAÇÃO ()

Da submissão e eventual publicação na íntegra e/ou em partes no Repositório Institucional da Faculdade Unida de Campinas – FACUNICAMPS e da Revista Científica da FacUnicamps, do artigo intitulado: Avanços no diagnóstico laboratorial da anemia hemolítica do feto e do recém-nascido

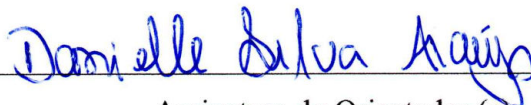
De autoria única e exclusivamente dos participantes do grupo constado em Ata com supervisão e orientação do (a) Prof. (a): Danielle Silva Araújo

O presente artigo apresenta dados validos e exclui-se de plágio.

Curso: Farmácia Modalidade afim Bacharelado



Assinatura do representante do grupo



Assinatura do Orientador (a):

Obs: O aval do orientador poderá ser representado pelo envio desta declaração pelo email institucional do mesmo.

Goiânia, 12 de Dezembro de 2022