



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA

Fundada em 18 de Fevereiro de 1808



Isoimunização Rh materna. Profilaxia, diagnóstico e tratamento: Aspectos atuais.

Pâmela do Carmo Mesquita Pereira

Salvador (Bahia)

Junho, 2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA

Fundada em 18 de Fevereiro de 1808



Isoimunização Rh materna. Profilaxia, diagnóstico e tratamento: aspectos atuais.

Pâmela do Carmo Mesquita Pereira

Professor-orientador: Manoel Alfredo Curvelo Sarno

Monografia de conclusão do componente curricular MED-B60, do currículo médico da Faculdade de Medicina da Bahia (FMB) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), apresentada ao Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da FMB-UFBA.

Salvador (Bahia)

Junho, 2012

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde,
SIBI - UFBA.

P436 Pereira, Pâmela do Carmo Mesquita
Isoimunização Rh materna. Profilaxia, diagnóstico e
tratamento: aspectos atuais.
16 f.
Orientadora: Manoel Alfredo Curvelo Sarno

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da
Bahia, 2012.

1. Pediatria. 2. Neonatologia. 3. Recém-nascidos. 4. Saúde. I.
Sarno, Manoel Alfredo Curvelo II. Universidade Federal da
Bahia. III. Título.

CDU 616-053.2

Monografia: Isoimunização Rh materna. Profilaxia, diagnóstico e tratamento: Aspectos atuais.

Pâmela do Carmo Mesquita Pereira

Professor-orientador: Manoel Alfredo Curvelo Sarno

COMISSÃO EXAMINADORA

Membros Titulares:

- Manoel Alfredo Curvelo Sarno, Professor da FMB-UFBA, DGORH.
- Carlos Menezes, Professor da FMB-UFBA, DGORH.
- Marcelo Aquino, Professor da FMB-UFBA, DGORH.

Salvador (Bahia)

Junho, 2012

AGRADECIMENTOS

À Deus,

Pelo dom da vida.

À minha mãe,

Pelo amor, apoio, companheirismo e dedicação.

À minha família,

Por acreditar em mim.

Aos meus amigos e colegas de curso,

Pela amizade e riso de cada dia.

Ao professor Manoel Sarno,

Pelo apoio e compreensão.

SUMÁRIO

1 RESUMO.....	2
2 INTRODUÇÃO.....	3
3 OBJETIVOS.....	5
4 METODOLOGIA.....	6
5 DESENVOLVIMENTO.....	7
5.1 DIAGNÓSTICO	7
5.2 PROFILAXIA.....	9
5.2.1 PROFILAXIA NO ANTEPARTO.....	9
5.2.2 PROFILAXIA NO PÓS PARTO.....	10
5.3 TRATAMENTO.....	10
6 CONCLUSÃO.....	12
7 SUMMARY.....	13
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14

RESUMO

O sistema Rh é de grande importância clínica, pois seus anticorpos estão envolvidos em destruição eritrocitária imunomediada. O antígeno D é o mais imunogênico do sistema Rh, por isso, a grande maioria das pessoas produzem anticorpos anti-D após o primeiro contato, levando à isoimunização. A isoimunização é decorrente da exposição do indivíduo a antígenos não próprios, levando a formação de anticorpos. Este fenômeno pode ocorrer durante a gestação quando os fetos produzem antígenos paternos que podem chegar à circulação materna. Os anticorpos Rh anti-D (RhD) correspondem à principal causa de Doença Hemolítica Perinatal (DHPN). A DHPN pode ser evitada com uso da profilaxia com imunoglobulina anti-D. Apesar dos avanços nessa área, a isoimunização continua a ser um problema de saúde pública.

Palavras-chave: isoimunização Rh, doença hemolítica perinatal, anemia fetal.

INTRODUÇÃO

O sistema Rh é de grande importância clínica, pois seus anticorpos estão envolvidos em destruição eritrocitária imunomediada, representada pela Reação Transfusional Hemolítica (RTH) e Doença Hemolítica Perinatal (DHPN). É o sistema mais polimórfico e imunogênico dos sistemas de grupos sanguíneos (1). Já foram identificados mais de 49 antígenos sendo o D, C, E, c, e os mais importantes. Walker *e col.*, estimou que anticorpos anti-D ocorrem em cerca 0,66% dos pacientes transfundidos, em comparação com todos os anticorpos Rh não-D (anti-c,-E,-e, - C), com 0,22% (33). O antígeno D é o mais imunogênico do sistema Rh e mais potente que o C e, por isso, a grande maioria das pessoas produzem anticorpos anti-D após o primeiro contato, levando à isoimunização (1).

A isoimunização é decorrente da exposição do indivíduo a antígenos não próprios, levando a formação de anticorpos. Este fenômeno pode acontecer em decorrência de transfusão sanguínea não compatível ou durante a gestação, quando feto produz antígenos paternos que chegam à circulação materna durante a gestação (2). A frequência de ocorrência de anticorpos é maior em receptores de transfusão do que durante a gravidez. Isso ocorre porque, durante a gravidez, as mães estão expostas a um menor volume de células fetais e há menos exposição a aloantígenos (3).

Os anticorpos Rh anti-D (RhD) correspondem à principal causa de Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) e as gestantes Rh-D negativo, que tem feto Rh positivo, podem apresentar sensibilização durante o parto, o que corresponde a 14% dos casos de isoimunização (1). Aloanticorpos são anticorpos produzidos contra antígenos que provém de indivíduos geneticamente diferentes, mas da mesma espécie. Aloanticorpos anti-D são vistos com mais frequência que qualquer outro anticorpo do grupo sanguíneo pela triagem pré-transfusional (3).

Normalmente, os sistemas sanguíneos materno e fetal não se misturam, mas pode ocorrer uma hemorragia materno-fetal transplacentária. Essa hemorragia ocorre na maioria das vezes durante o parto, mas pode ocorrer espontaneamente durante a gravidez, principalmente do terceiro trimestre ou após procedimentos invasivos ou abortos (4, 5).

A resposta imunitária primária decorrente da exposição materna ao sangue Rh-D positivo do feto leva a uma resposta imune lenta com formação de anticorpos IgM, que podem não ser detectáveis por pelo menos quatro semanas e, devido ao seu tamanho, não são capazes de atravessar a barreira placentária. A exposição subsequente ao antígeno leva a uma resposta secundária que é mais rápida e produz anticorpos IgG, que podem ser detectados 48

horas após exposição e são pequenos o suficiente para atravessar a placenta e levar à hemólise das hemácias fetais (3, 4).

O grau de hemólise das hemácias fetais vai depender da quantidade de anticorpos maternos produzidos. Os efeitos da destruição de hemácias podem ser mínimos e não demonstrados ou pode ser notada uma hiperbilirrubinemia no recém-nascido. Os fetos acometidos mais severamente podem apresentar anemia leve à moderada no útero, exigindo transfusões sanguíneas após o nascimento. O aumento das destruições de células vermelhas e a anemia fetal subsequente podem exceder a capacidade da medula óssea de produzir novas células vermelhas. Quando a medula não for mais capaz de produzir quantidades suficientes de novas células, a hematopoiese é estimulada em outros sítios, como fígado e baço. A hipóxia fetal é resultado da anemia grave. A diminuição da produção de albumina pelo fígado leva a uma diminuição da pressão oncótica, o que permite saída de fluido para o espaço extravascular, levando a edema generalizado com ascite, derrame pleural e pericárdico e edema de placenta (4). Além da hidropsia, os fetos podem apresentar insuficiência cardíaca, óbito intra-útero ou neonatal e parto prematuro, kernicterus etc. O kernicterus é decorrente de uma icterícia grave no neonato, o que pode causar danos irreversíveis ao sistema nervoso central (6).

OBJETIVO

Discutir sobre o tema isoimunização Rh, de forma a apresentar as características da doença, diagnóstico, profilaxia e tratamento, buscando aprimorar o conhecimento.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado sob o formato de monografia, baseado em revisão de literatura a respeito do tema isoimunização Rh materna. Foi realizada busca por artigos que fossem pertinentes ao tema nas bases de dados Medline/PubMed, Scopus e Scielo. Os artigos foram selecionados com base na leitura dos respectivos artigos, sendo incluídos aqueles que abordassem o tema referido anteriormente. Para a realização da pesquisa dos artigos, utilizou-se os descritores: “isoimunização Rh”, “doença hemolítica perinatal”, “anemia fetal” e “Eritroblastose fetal” ou “*isoimmunization rh*”, “*Hemolytic Disease of the Newborn*”, “*Fetal Anemia*” e “*Erythroblastosis Fetal*”. Foram utilizados, também, como fonte de dados o UpToDate, versão 19.1, e livros-texto não indexados considerados importante pelo autor.

DESENVOLVIMENTO

DIAGNÓSTICO

No início da gravidez recomenda-se a identificação do tipo sanguíneo materno para o sistema ABO e RhD, além disso, uma triagem para anticorpos anti-eritrocitários irregulares é realizada (7). O diagnóstico de isoimunização Rh é feito baseado na detecção de anticorpos anti-D no soro materno. O teste de Coombs indireto é o teste de escolha para fins diagnósticos, pois é o mais preciso para determinar a titulação de anticorpos (5).

Deve-se fazer o teste paterno para o tipo RhD, se positivo, a zigosidade deve ser avaliada. Pais homozigotos sempre passam o antígeno RhD para sua prole, enquanto os heterozigotos tem uma chance de passar de 50%. É preciso ter certeza da paternidade (8).

Na ausência de anticorpos no início da gestação, nova pesquisa de anticorpos anti-eritrocitários deve ser feita na 28ª semana de gestação em todas as mulheres grávidas Rh negativas. Não há confirmação de eficácia para a triagem de anticorpos na 28ª semana, porém esta é feita em muitos países. A incidência de isoimunização antecedendo o parto é de 1 a 2%, sendo que em 90% dos casos ocorre após a 28ª semana. Esses casos de isoimunização materna não colocam o feto em risco de doença hemolítica grave na gravidez atual, portanto, não há necessidade de tratamento nessa gestação (7).

Até algum tempo o único método de determinar o tipo Rh fetal era através de métodos invasivos como a amniocentese e biópsia de vilo corial, para a avaliação genética das células fetais. Além disso, esses procedimentos podem levar a um risco de perdas em aproximadamente 1% e até mesmo de isoimunização. Por isso, ficam reservados para casos de gravidez de alto risco de DHPN, gravidez anteriormente afetada e títulos de anticorpos se elevando (9).

Células fetais podem ser encontradas no sangue materno periférico logo no primeiro trimestre da gestação, porém, estas estão em pouca quantidade, são de difícil isolamento e podem permanecer na circulação materna após a gestação. DNA fetal livre de células também pode ser encontrado no sangue materno, com a vantagem de estar em maior quantidade e desaparecer rapidamente no pós parto (10). Assim, vislumbra-se em futuro próximo, a viabilidade comercial do diagnóstico pré-natal do tipo Rh do feto, que poderá ser determinado pela detecção de DNA fetal livre no soro materno através de técnicas de PCR. Este procedimento tem grande chance de se tornar rotina no pré-natal de mulheres RhD negativas. Esta técnica permitirá que mulheres isoimunizadas não sejam submetidas a procedimentos

invasivos e evitará o uso desnecessário de profilaxia pré-natal com imunoglobulina anti-D (11).

É extremamente necessário determinar o grau da anemia fetal, durante o acompanhamento de gestantes isoimunizadas, pois isto permite identificar a necessidade de intervenção, seja através do tratamento intra-útero ou antecipação do parto, o que possibilita maior sobrevivência perinatal e melhoria de vida do feto comprometido após o nascimento (12). Em 1957, Kleihauer e colaboradores descreveram um teste sensível para diferenciar hemácias do adulto e as de origem fetal (13). O teste de Kleihauer ou Teste de Kleihauer-Betke é geralmente usado na quantificação da hemorragia feto-materna e consiste na medição da proporção de hemácias contendo hemoglobina fetal numa amostra, e é baseada na instabilidade da hemoglobina A (adulto) ao pH ácido. Após a destruição ácida da hemoglobina A da amostra, a hemoglobina F (fetal) é marcada com uma solução de hematoxilina e quantificada, calculando-se a proporção de hemoglobina fetal em cada 10000 hemácias avaliadas microscopicamente (14). Este teste deve ser utilizado no manejo da anemia fetal, nos casos onde há indicação de transfusão intra-uterina, pois ele informa o grau de pureza do sangue fetal obtido por cordocentese (13).

Até pouco tempo, os métodos invasivos eram os únicos utilizados para a determinação do grau de anemia fetal. A amostragem de sangue fetal é considerada o exame padrão ouro, pois é capaz de quantificar exatamente o grau de anemia fetal, porém traz consigo os riscos inerentes aos procedimentos invasivos (15). A determinação da concentração de hemoglobina e do hematócrito é feita através de uma amostra de sangue do cordão umbilical coletada através de uma punção guiada por ultrassonografia, a cordocentese (12). A amniocentese, apesar de ser um procedimento também invasivo, também é utilizada na avaliação da anemia fetal (15), através do estudo da bilirrubina no líquido amniótico (16).

Devido aos riscos relacionados aos procedimentos invasivos, os métodos não invasivos vêm ganhando espaço na avaliação do grau de anemia fetal (12, 15, 17). Os métodos não invasivos que mais tem sido utilizados são a cardiocotografia e dopplervelocimetria (17). A dopplervelocimetria pode avaliar o fluxo da artéria cerebral média, aorta fetal e veia umbilical intra-hepática, enquanto a ultrassonografia avalia o perímetro do fígado e do baço, que são preditores de anemia fetal (18). A cardiocotografia tem importante papel na condução de gestantes isoimunizadas, porém tem seu valor reduzido antes da 28ª semana, devido à imaturidade da inervação do coração fetal (19).

Os testes não invasivos são capazes de avaliar a anemia fetal, pois esta está associada à diminuição da viscosidade e presença de hipóxia, o que leva a um aumento da velocidade sanguínea. O feto anêmico cursa com aumento do débito cardíaco secundário ao aumento da pré-carga e do volume de ejeção, apresentando pequenos aumentos na frequência cardíaca (12).

O vaso fetal que melhor atendeu aos pré-requisitos da avaliação com o doppler foi a artéria cerebral média (20). Por isso, o pico sistólico da artéria cerebral média tem sido o método não invasivo mais promissor na detecção da anemia fetal (21, 22). A avaliação da artéria cerebral média tem melhor desempenho nos casos onde a anemia fetal é clinicamente significativa (13).

PROFILAXIA

A imunoglobulina anti-D é derivada a partir do plasma humano (13, 23), contém elevado título de anticorpo contra antígeno Rh de células vermelhas do sangue e é eficaz na prevenção da isoimunização Rh (23). O processo de purificação inativa eficazmente o vírus do HIV, enquanto os vírus da hepatite B e C são mais resistentes (13, 23).

A imunoglobulina pode ser administrada por via intramuscular e intravenosa. A duração de ação da imunoglobulina é mesma, independente da via de administração. Após a administração intravenosa, os títulos de anticorpos são mais altos na primeira semana, mas após três meses se assemelha à administração intramuscular. Os altos níveis circulantes podem oferecer benefício quando se conhece o momento da hemorragia feto-materna (pós-parto, hemorragia no terceiro semestre), mas não na profilaxia até a 28ª semana. Após a administração um painel de anticorpo positivo é encontrado na mulher, mas os títulos de anticorpos são baixos e fracamente reagentes. A imunoglobulina anti-D atravessa a placenta e se liga às células vermelhas fetais, sem causar hemólise, icterícia ou anemia (23).

PROFILAXIA NO ANTEPARTO

Todas as gestantes devem ser submetidas a uma avaliação de anticorpos na primeira visita do pré-natal. As gestantes RhD positivas não possuem risco para desenvolver isoimunização por isso não precisam de profilaxia (13). No entanto, as grávidas RHD negativas que não tiverem evidência de isoimunização anti-D, devem receber uma dose de 250µg de imunoglobulina Rh (7) administrada no intramuscular na 28ª semana de gestação (7, 13, 23).

Os relatos de reação adversa após administração de Imunoglobulina anti-D são raros e geralmente leves, manifestando-se por edema local, cefaleia ou arrepios. A reação de hipersensibilidade é rara e se manifesta por urticária, prurido, erupção maculopapular e pode ser tratada com anti-histamínico. A anafilaxia ocorre raramente, mas a disponibilidade de epinefrina durante a administração da Imuglobulina anti-D é garantida (23).

PROFILAXIA NO PÓS-PARTO

Como a meia vida da imunoglobulina é de 24 horas, a gestante que recebeu a dose na 28^a semana, terá baixos títulos anticorpos anti-D no dia da admissão do parto a termo. Se na avaliação do sangue do cordão umbilical for identificado bebê RhD positivo, deve-se fazer administração de 300µg de imunoglobulina Rh até uma semana pós-parto, idealmente até 72 horas, o que é suficiente para proteger da sensibilização causada pela hemorragia feto-materna de 30ml do sangue fetal (13). Para casos onde a hemorragia feto-materna é superior a 30 ml de sangue fetal, pode ser necessária uma dose complementar de imunoglobulina anti-D. Se a mãe for Rh negativa, com recém nascido Rh positivo, e não receber a imunoglobulina até 72 horas do pós parto a incidência de sensibilização durante a próxima gravidez é de 12 a 16% em comparação com mães que receberam profilaxia no pós parto que é de 1,6 a 1,9% (23). Se for afastada hemorragia feto-materna em excesso no parto e se uma dose completa Imunoglobulina anti-D for dada até 21 dias antes do parto, não há necessidade de repetir a dose após o nascimento (24).

TRATAMENTO

Por muito tempo, a transfusão intraperitoneal se manteve como base do tratamento da anemia fetal. Com o advento da ultrassonografia, que permite a visualização do acesso em tempo real, a técnica intravascular substituiu a transfusão intraperitoneal (13, 25).

Após o início das técnicas intravascular e ultrassonográfica, o tratamento passou a ser mais seguro e eficaz e houve grande melhoria dos resultados perinatais, principalmente devido à melhora da sobrevida dos fetos hidróticos (25, 26). A técnica transfusional intravascular com coleta de sangue foi descrita pela primeira vez por RODECK *e col.*, em 1981, guiado por fetoscopia (6, 27).

A transfusão intraperitoneal deve ser utilizada quando houver dificuldade na punção vascular pelo posicionamento da placenta, na punção do cordão umbilical devido ao posicionamento do feto ou em caso de feto hidrótico (25). Os fetos hidróticos possuem uma

absorção comprometida do sangue infundido na cavidade, por isso a transfusão intravascular é mais eficiente (13, 25).

A fonte de glóbulos vermelhos, normalmente usada para a transfusão é um sangue do tipo O negativo de um doador citomegalovirus negativo. O hematócrito tem que ser de 75 a 80% para evitar sobrecarga de volume e as unidades são irradiadas para evitar a reação enxerto versus hospedeiro, os testes para infecção tem que ser negativos. Sangue materno, lavado para a retirada de anticorpo anti-D, pode ser utilizado como fonte de células vermelhas com o objetivo de diminuir o risco de sensibilização a novos antígenos eritrocitários (13).

Para iniciar a transfusão, o hematócrito fetal tem de ser determinado através da punção do cordão umbilical perto da inserção da placenta. Um agente paralisante pode ser utilizado para a cessação do movimento fetal (13).

O volume de sangue a ser transfundido vai depender do valor do hematócrito fetal, idade gestacional e hematócrito do doador (13)(27). Se a unidade doadora tiver um hematócrito de aproximadamente 75%, multiplica-se o valor do peso fetal, estimado com ultrassom, por 0,02 para obter uma elevação de 10% no hematócrito fetal (28).

A meta final é um hematócrito de 40 a 50% (13). No feto extremamente anêmico, o hematócrito não pode ser aumentado em mais de quatro vezes, para permitir que o sistema cardiovascular seja capaz de compensar a mudança da viscosidade do sangue (29). O procedimento é repetido no intervalo de 48 horas. Após a transfusão, a hidropsia é revertida rapidamente. Para o feto sem anemia grave, o intervalo entre as transfusões é de aproximadamente 14 dias. Depois disso, o intervalo entre os procedimentos vai depender da taxa de declínio do hematócrito, mas geralmente se trata de um intervalo de 3 a 4 semanas (13).

Tratamentos como: administração de prometazina (30), dessensibilização oral com estroma de hemácias Rh positivas (31) e plasmaferese seriada (32) foram testados, mas não obtiveram sucesso. Estudos recentes mostraram que a administração materna de imunoglobulina intravenosa traz benefícios nos casos graves de DHPN, porem o mecanismo de ação ainda não é claro e tem alto custo (13).

CONCLUSÃO

Apesar dos avanços no diagnóstico e tratamento, a isoimunização Rh continua a ser um problema de saúde pública. Os anticorpos RhD, produto da isoimunização RH, são a principal causa de doença hemolítica perinatal e são os anticorpos vistos com mais frequência durante a triagem pré-transfusional. O advento de procedimentos diagnósticos não invasivos como a detecção de DNA fetal no soro materno foi de grande importância no manejo da isoimunização, já que estes diminuem as taxas da doença, que são comuns após procedimentos invasivos como biópsia de vilo corial e amniocentese. Pode ser evitada com uso da profilaxia com imunoglobulina anti-D na 28ª semana, no pós-parto, após procedimentos invasivos como cordocentese e amniocentese ou em outras situações que predisõem a hemorragia feto-materna.

A doença hemolítica perinatal é a principal consequência da isoimunização. O grau de anemia fetal tem de ser determinado para se avaliar a necessidade de intervenção. O desenvolvimento de técnicas não invasivas para detecção de anemia fetal também foi fundamental para evitar complicações inerentes aos procedimentos invasivos. Os fetos detectados com anemia moderada a grave devem ser submetidos a tratamento para correção da DHPN. O tratamento de escolha é a transfusão sanguínea intravascular.

Esta revisão mostra que apesar de muitos estudos, ainda há muito a se pesquisar sobre a isoimunização, buscando-se reduzir ao mínimo os casos da doença. Para isso, diagnóstico precoce e profilaxia adequada são essenciais. Não obstante, os casos de DHPN devem ser adequadamente diagnosticados e tratados de forma a obter melhorias na qualidade de vida do recém-nascido.

SUMMARY

The Rh system has great clinical importance, because its antibodies are involved in immune-mediated erythrocyte destruction. The D antigen is the most immunogenic of the Rh system, therefore, the vast majority of individuals produce antibodies to D after the first contact, leading to the isoimmunization. The isoimmunization is due to exposure of the individual to non-self antigens, leading to antibody formation. This phenomenon can occur during pregnancy when the fetus produces paternal antigens that reach the maternal circulation. The antibodies Rh anti-D (RhD) are the main cause of Perinatal Hemolytic Disease (PND). The PND can be avoided with the use of prophylactic anti-D immunoglobulin. Despite advances in this area, isoimmunization still remains a public health problem.

Keywords: Rh isoimmunization, hemolytic diseases, fetal anemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nardoza LMM, Szulman A, Barreto JA, Araujo Junior E, Moron AF. Bases moleculares do sistema Rh e suas aplicações em obstetrícia e medicina transfusional. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2010;56:724-8.
2. Baiocchi E, Nardoza LMM. Aloimunização. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2009;31:311-9.
3. Urbaniak SJ. Alloimmunity to RhD in humans. *Transfusion clinique et biologique : journal de la Societe francaise de transfusion sanguine*. 2006;13(1-2):19-22. Epub 2006/04/01.
4. Shaver SM. Isoimmunization in pregnancy. *Critical care nursing clinics of North America*. 2004;16(2):205-9. Epub 2004/05/18.
5. Geaghan SM. Diagnostic laboratory technologies for the fetus and neonate with isoimmunization. *Seminars in perinatology*. 2011;35(3):148-54. Epub 2011/06/07.
6. Sarno MAC. Detecção da anemia fetal por diferentes padrões de dopplervelocimetria da artéria cerebral média em fetos isoimunizados: Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas; 2004.
7. Lubusky M. Prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2010;154(1):3-7. Epub 2010/05/07.
8. Pirelli K, Pietz B, Johnson S, Pinder H, Bellissimo D. Molecular determination of RHD zygosity. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006;195(6, Supplement):S172.
9. van der Schoot CE, Hahn S, Chitty LS. Non-invasive prenatal diagnosis and determination of fetal Rh status. *Seminars in fetal & neonatal medicine*. 2008;13(2):63-8. Epub 2008/02/06.
10. Ramos ES. Cell-free fetal DNA in maternal plasma and noninvasive prenatal diagnosis. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2006;14:964-7.
11. Geifman-Holtzman O, Grotegut CA, Gaughan JP. Diagnostic accuracy of noninvasive fetal Rh genotyping from maternal blood--a meta-analysis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006;195(4):1163-73. Epub 2006/09/27.
12. Hanan MZ, Cabral ACV, Pereira AK, Leite HV, Reis ZN. Correlação entre medidas ultrassonográficas do coração e o déficit de hemoglobina em fetos de gestantes aloimunizadas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2008;30:341-8.
13. Moise KJ, Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2002;100(3):600-11. Epub 2002/09/11.
14. Simonnet C, Brossard Y. [For a standardisation of the Kleihauer-Betke test]. *Annales de biologie clinique*. 2001;59(6):768-9. Epub 2001/11/20. Standardisation du test de Kleihauer.
15. Dukler D, Oepkes D, Seaward G, Windrim R, Ryan G. Noninvasive tests to predict fetal anemia: a study comparing Doppler and ultrasound parameters. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;188(5):1310-4. Epub 2003/05/16.
16. Cabral ACV, Barcelos TBd, Apocalipse IGM, Leite HV, Reis ZSN. Índice cárdio-femoral para avaliação da anemia de fetos de gestantes isoimunizadas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2005;27:450-5.
17. Taveira MR, Cabral ACV, Leite HV. Correlação entre os índices dopplervelocimétricos da veia cava inferior e ducto venoso e a concentração de hemoglobina do cordão em fetos de gestantes isoimunizadas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2003;25:577-83.
18. Illanes S, Soothill P. Management of red cell alloimmunisation in pregnancy: the non-invasive monitoring of the disease. *Prenatal diagnosis*. 2010;30(7):668-73. Epub 2010/06/24.
19. Divakaran TG, Waugh J, Clark TJ, Khan KS, Whittle MJ, Kilby MD. Noninvasive techniques to detect fetal anemia due to red blood cell alloimmunization: a systematic review. *Obstetrics and gynecology*. 2001;98(3):509-17. Epub 2001/09/01.
20. Carmo AV. Velocidade sistólica máxima do fluxo sanguíneo na artéria cerebral média na avaliação da anemia fetal: Universidade de São Paulo; 2001.

21. Harkness UF, Spinnato JA. Prevention and management of RhD isoimmunization. *Clinics in perinatology*. 2004;31(4):721-42, vi. Epub 2004/11/03.
22. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, Rahman F, Zimmerman R, Moise KJ, Jr., et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *The New England journal of medicine*. 2000;342(1):9-14. Epub 2000/01/06.
23. Fung Kee Fung K, Eason E, Crane J, Armson A, De La Ronde S, Farine D, et al. Prevention of Rh alloimmunization. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC*. 2003;25(9):765-73. Epub 2003/09/13.
24. Hartwell EA. Use of Rh immune globulin: ASCP practice parameter. *American Society of Clinical Pathologists. American journal of clinical pathology*. 1998;110(3):281-92. Epub 1998/09/05.
25. Cabral ACV, Taveira MR, Lopes APBM, Pereira AK, Leite HV. Transfusão Intra-uterina na Isoimunização Materna pelo Fator Rh. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2001;23:299-303.
26. Grab D, Paulus WE, Bommer A, Buck G, Terinde R. Treatment of fetal erythroblastosis by intravascular transfusions: outcome at 6 years. *Obstetrics and gynecology*. 1999;93(2):165-8. Epub 1999/02/05.
27. Rodeck CH, Kemp JR, Holman CA, Whitmore DN, Karnicki J, Austin MA. Direct intravascular fetal blood transfusion by fetoscopy in severe Rhesus isoimmunisation. *Lancet*. 1981;1(8221):625-7. Epub 1981/03/21.
28. Giannina G, Moise KJ, Jr., Dorman K. A simple method to estimate volume for fetal intravascular transfusions. *Fetal diagnosis and therapy*. 1998;13(2):94-7. Epub 1998/07/03.
29. Radunovic N, Lockwood CJ, Alvarez M, Plecas D, Chitkara U, Berkowitz RL. The severely anemic and hydropic isoimmune fetus: changes in fetal hematocrit associated with intrauterine death. *Obstetrics and gynecology*. 1992;79(3):390-3. Epub 1992/03/01.
30. Gusdon JP, Jr. The treatment of erythroblastosis with promethazine hydrochloride. *The Journal of reproductive medicine*. 1981;26(9):454-8. Epub 1981/09/01.
31. Gold WR, Jr., Queenan JT, Woody J, Sacher RA. Oral desensitization in Rh disease. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1983;146(8):980-1. Epub 1983/08/15.
32. Graham-Pole J, Barr W, Willoughby ML. Continuous-flow plasmapheresis in management of severe rhesus disease. *British medical journal*. 1977;1(6070):1185-8. Epub 1977/05/07.