



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ

LUCIANA MARIA DE BARROS CARLOS

QUANTIFICAÇÃO DA HEMORRAGIA FETOMATERNA
E PREVENÇÃO DA DOENÇA HEMOLÍTICA
PERINATAL EM GESTANTES ATENDIDAS EM
MATERNIDADES PÚBLICAS DO CEARÁ

FORTALEZA - CEARÁ

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LUCIANA MARIA DE BARROS CARLOS

QUANTIFICAÇÃO DA HEMORRAGIA FETOMATERNA E PREVENÇÃO DA
DOENÇA HÉMOLÍTICA PERINATAL EM GESTANTES ATENDIDAS EM
MATERNIDADES PÚBLICAS DO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado Profissional em Saúde da Criança
e do Adolescente do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Estadual do Ceará,
como requisito parcial para obtenção do
Grau de Mestre.

Área de Concentração Saúde da Criança e
Adolescência.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Anamaria Cavalcante e Silva

FORTALEZA – CEARÁ
2009

LUCIANA MARIA DE BARROS CARLOS

QUANTIFICAÇÃO DA HEMORRAGIA FETOMATERNA E PREVENÇÃO DA
DOENÇA HEMOLÍTICA PERINATAL EM GESTANTES ATENDIDAS EM
MATERNIDADES PÚBLICAS DO CEARÁ

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado Profissional em Saúde da
Criança e do Adolescente do Centro de
Ciências da Saúde, da Universidade
Estadual do Ceará, como requisito parcial
para obtenção do Grau de Mestre.

Aprovada em: 29/05/2009

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a Anamaria Cavalcante e Silva (Orientadora)
Escola de Saúde Pública do Ceará

Prof.^a Dr.^a Maria Helena da Silva Pitombeira
Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Herivaldo Ferreira da Silva
Universidade Estadual do Ceará

A minha família

Aos que não estão mais aqui, mas continuam vivos em meu peito.

Aos que estão longe, mas não deixaram de acompanhar e compartilhar o desafio desse caminho.

Aos que estão comigo, sempre ao meu lado, sempre por perto.

Não seria eu, não fossem eles.

A Dmitri, Pedro e Beatriz

Existem laços que não podem ser rompidos.

Os momentos de ausência e de angústia já passaram.

Outros virão, e continuaremos juntos...

Aos meus amigos

Sem vocês continuaria assim,
vagando sem ser nada,
fazer nada,
crescer nada.

Sem vocês não haveria chegada,
quem sabe nem mesmo começo.

Não os mereço!

Mas sempre a Deus agradeço,
por ter Ele me dado amigos,
por ter Ele me dado esse abrigo,
por ter Ele me dado essa paz.

AGRADECIMENTOS

Às pacientes e seus filhos, sua participação possibilitou a realização deste trabalho.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Anamaria Cavalcante e Silva pelas orientações e atenção dedicadas a mim durante a construção desse trabalho e pelos conselhos que me fizeram crescer e chegar ao final.

À direção e profissionais dos serviços de obstetrícia da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC) e Hospital Geral Dr. César Cals (HGCC) que permitiram a convivência e interferência em sua rotina de trabalho diária.

Ao grupo da Agência Transfusional do HGCC e Instituto Dr. José Frota (IJF), estiveram sempre ao meu lado no trabalho diário, dando-me tranquilidade para seguir em frente.

Às secretárias da Diretoria Geral do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Jeovany e Helenita e a Nazaré, sempre disponíveis a colaborar mesmo quando fora de suas atribuições profissionais.

A Dr. Ernani Ximenes e Solange Couto do Hospital Geral César Cals, que me acolheram e me deram à oportunidade de realizar esse trabalho.

À Dr.^a Rachel Petrola, Dr.^a Herene Barros Lucena e Andréa, do laboratório de Citometria de Fluxo do HEMOCE pela execução pioneira no Brasil dos testes e acompanhamento no desenrolar da pesquisa.

À Dr.^a Maria Helena da Silva Pitombeira, seu incentivo me ajudou a conquistar esse momento.

Ao Prof. Dr. Herivaldo Ferreira da Silva, pelo trabalho compartilhado no HGCC e no HEMOCE e pela amizade que se construiu a partir dele.

À Prof.^a Dr.^a Vânia Barreto pelo estímulo constante e pela confiança em minha possibilidade de realização.

A Dr. Ormando Rodrigues Campos por ter me feito hemoterapeuta.

Ao Prof. Dr. José Murilo Martins, grande mestre da Hematologia do Ceará.

A todos os amigos do HEMOCE pela colaboração, incentivo e confiança.

A técnica de laboratório Kátia pela colaboração e disponibilidade.

A Dra. Zélia Petrola, mestra e amiga incentivadora e Dr. João Evangelista pelos conselhos valiosos em momentos de crise.

Às amigas Márcia Bruno e Alana Montenegro de Castro pela retaguarda indispensável na conclusão de mais essa etapa em minha formação profissional.

À Ana Paula, Vitória, Juracy e Ana Cecília, grandes amigas, em todos os momentos.

A meu colaborador e companheiro de trabalho Vinicius que possibilitou, com sua perseverança e gosto pela descoberta, a conclusão desse estudo.

À bibliotecária da Universidade Federal do Ceará (UFC), Norma Linhares pela disponibilidade na formatação das referências

À equipe da Coordenação do Mestrado Profissional Saúde da Criança e do Adolescente Prof.^a Maria Veraci Oliveira Queiroz, Mary Anne Cavalcanti Saraiva Matos, professores e colegas de turma.

E, se alguém deseja a profundidade da ciência, ela é que sabe o passado, e que julga do futuro; penetra as sutilezas dos discursos e as soluções dos argumentos; conhece os sinais e os prodígios antes que eles apareçam, o que tem de acontecer no decurso dos tempos e dos séculos.

Livro do Eclesiastes 8,8

RESUMO

Foi realizado um estudo exploratório descritivo para quantificação da Hemorragia Fetomaterna (HFM) em 110 gestantes atendidas em maternidades públicas do Ceará, entre dezembro de 2008 e março de 2009. A transferência de sangue fetal para o compartimento intravascular materno é um fenômeno universal na gestação e no parto, reconhecido como a base da etiopatogenia da DHPN, sendo a aloimunização RhD mais frequente e associada a quadros mais graves. A prevenção da sensibilização materna baseia-se na administração de Imunoglobulina RhD em dose correlacionada ao volume de HFM, na proporção de 20 µg para cada 2 ml de sangue RhD positivo encontrado. A quantificação da HFM foi realizada em toda a amostra pelo método de Eluição Ácida (EA) e pela Citometria de Fluxo (CFM) em 95 pacientes. O volume médio de sangramento foi de $4,68 \pm 8,7$ ml de sangue fetal (0 - 70 ml) por EA e $0,98 \pm 4,2$ ml (0 - 15 ml) por CFM. Não foi evidenciada HFM em 57 pacientes (51,8%) por EA e duas (2,1%) por CFM. A HFM foi superior a 10 ml em 3/110 (2,7%) por EA e em 2/95 (2,1%) pela CFM. Não houve correlação entre parto vaginal ou cesareano e sangramento, ($\chi^2 = 0,017$; $P = 0,8964$ para EA e $\chi^2 = 0,154$; $P = 0,6946$ para CFM) bem como entre o volume de HFM e parto prematuro ou a termo ($\chi^2 = 2,443$; $p = 0,1181$ para EA; $\chi^2 = 0,081$, $p = 0,7763$ para CFM). A comparação entre as técnicas mostrou boa correlação estatística ($R^2 = 0,914$ e $p < 0,001$; $r = 0,8360$ $p < 0,0001$). Embora a EA tenha se mostrado eficaz para definir gestantes com HFM insignificante, superestimou volumes maiores o que tornou fundamental a aplicação da CFM nos casos de hemorragia de grande volume encontrados pela EA. Assim, seria possível excluir ou confirmar o resultado e orientar para a necessidade de adequação do uso de IgRh em pacientes com HFM > 30 ml, que necessitariam de dose mais alta que 300 µg, padrão usado em todas as gestantes RhD negativas no Brasil. Também foi possível identificar que mais de 60% das pacientes poderiam estar recebendo uma quantidade de IgRh superior ao necessário, em virtude do pequeno volume de HFM. A partir dos dados apresentados concluímos que a associação das técnicas de quantificação da HFM aplicadas no estudo mostrou-se clinicamente sensível, rápida, eficaz e de baixo custo, sendo recomendável sua implantação no âmbito do SUS, considerando que não existe conduta relacionada à quantificação de HFM no país.

Palavras – Chave: Gravidez – Complicações Hematológicas; Eritroblastose Fetal; Transfusão Fetomaterna.

ABSTRACT

This was a descriptive exploratory study to quantify the Fetomaternal Hemorrhage (HFM) in 110 pregnant women in public maternity hospitals of Ceará, between December 2008 and March 2009. The transfer of fetal blood to maternal intravascular compartment is a universal phenomenon in pregnancy and childbirth, recognized as the basis for the pathogenesis of DHPN, the alloimmunization RhD being more frequent and associated with the most severe clinical pictures. The prevention of maternal sensitization based on the administration of RhD immunoglobulin in dose correlated to the volume of HFM, the proportion of 20 g for every 2 ml of RhD positive blood found. Quantification of HFM was held in this study by the method of elution acid (EA) in 110 patients and by flow cytometry (FCM) in 95 patients. The average volume of bleeding was 4.68 ± 8.7 ml of fetal blood (0 to 70 ml) by EA and 0.98 ± 4.2 ml (0 to 15 ml) by CFM. HFM was not evident in 57 patients (51.8%) by EA and two (2.1%) by CFM. The HFM was over 10 ml at 3 / 110 (2.7%) by EA and in 2 / 95 (2.1%) in the CFM. There was no correlation between vaginal delivery and cesarean or bleeding, ($\chi^2 = 0.017$, $P = 0.8964$ for EA and $\chi^2 = 0.154$, $P = 0.6946$ for CFM) and between the volume of HFM and premature birth or the end ($\chi^2 = 2.443$, $p = 0.1181$ for EA, $\chi^2 = 0.081$, $P = 0.7763$ for CFM). The comparison between techniques showed good statistical correlation ($R^2 = 0.914$ and $p < 0.001$, $r = 0.8360$ $p < 0.0001$). Although the EA has been shown effective to define women with HFM minor, larger volumes overestimated the key that made the implementation of CFM in cases of large-volume bleeding found by EA. It would be possible to exclude or confirm the results and guide the need for appropriate use of IgRh higher in patients with HFM > 30 ml, which require higher dose than 300 mg, standard used in all RhD negative pregnant women in Brazil. It was identified that over 60% of patients could be receiving a quantity of IgRh than necessary because of the small volume of HFM. From the data presented we conclude that the combination of techniques for quantification of HFM applied in the study proved to be clinically sensitive, rapid, efficient and low cost, and recommended its implementation within the SUS, whereas there are not Guidelines related to the quantification of HFM in the country.

Key words: Pregnancy - Hematologic Complications; Erythroblastosis, Fetal; Postpartum Hemorrhage.

LISTA DE ABREVIATURAS

AABB	– American Association of Blood Banking
AMIS	– Imunossupressão mediada por anticorpos
BCSH	– British Committee for Standards in Haematology
CA	– Anidrase Carbônica
CFM	– Citometria de fluxo
DHPN	– Doença Hemolítica Perinatal
EA	– Teste de Eluição Ácida
EDTA	– Etilenodiaminotetracetato
HbA	– Hemoglobina A
HbF	– Hemoglobina Fetal
HFM	– Hemorragia Fetomaterna
HLA	– Antígeno de Histocompatibilidade Leucocitária Humana
Ig	– imunoglobulina
IgG	– Imunoglobulina G
IgM	– Imunoglobulina M
IgRh	– Imunoglobulina Rh
ISBT	– International Society of Blood Transfusion
KBT	– Teste de Kleihauer-Betke
NICE	– National Institute for Clinical excellence
PAI	– Pesquisa de Anticorpos Irregulares
RN	– Recém-nascido

LISTA DE FIGURAS

1	Esfregaço de sangue materno demonstrando a presença de células fetais (em rosa escuro) em pequeno volume.....	36
2	Esfregaço de sangue materno demonstrando a presença de células fetais (em rosa escuro) em grande volume.....	36
3	Histograma do teste de EA demonstrando a presença de células fetais em pequeno volume (quadrante superior esquerdo).....	39
4	Histograma do teste de EA demonstrando a presença de células fetais em grande volume (quadrante superior esquerdo).....	39

LISTA DE TABELAS

1	Distribuição das puérperas incluídas no estudo por raça	42
2	Distribuição da escolaridade das mulheres incluídas no estudo.....	43
3	Distribuição das mulheres incluídas no estudo por procedência.....	43
4	Distribuição das mulheres incluídas no estudo por município de origem.....	44
5	Distribuição das mulheres incluídas no estudo quanto à renda familiar mensal.....	45
6	Distribuição das mulheres incluídas no estudo por motivo de internamento.....	45
7	Distribuição das mulheres incluídas no estudo por tipo de parto....	46
8	Distribuição das mulheres incluídas no estudo quanto à realização de pré-natal	46
9	Distribuição das mulheres que fizeram pré-natal por número de consultas	47
10	Distribuição das mulheres que não fizeram o pré-natal segundo município de procedência.....	47
11	Distribuição das mulheres incluídas no estudo segundo a paridade.....	48
12	Distribuição das mulheres de acordo com o número de gestações anteriores e atuais.....	48
13	Distribuição das mulheres de acordo com a história de abortamentos prévios ao parto em estudo.....	49
14	Distribuição das mulheres incluídas no estudo segundo a classificação sanguínea.....	50
15	Volume de hemácias fetais encontradas por eluição ácida.....	52
16	Volume de HFM e Hemácias Fetais encontradas pelo método de Citometria de Fluxo.....	52
17	Média do volume de HFM (sangue total fetal) por método de Quantificação Aplicado.....	53
18	Volume de HFM encontrado (sangue fetal) por tipo de parto vaginal ou cesareano e método de Quantificação Empregado.....	53
19	Volume de HFM encontrado (sangue fetal) por tipo de parto a termo ou prematuro e método de Quantificação Empregado.....	54

LISTA DE GRÁFICOS

1	Distribuição das mulheres de acordo com a idade	42
2	Volume de HFM (sangue total fetal) por EA (n=110).....	51
3	Volume de HFM (sangue total fetal) por CFM (n=95).....	51
4	Comparação do volume de sangue fetal por EA e CFM utilizando o teste de regressão linear (n=95).....	55
5	Correlação entre as médias de volume de sangue fetal encontrado por CFM e EA na amostra estudada (n=95).....	55
6	Correlação entre volume de sangue total fetal encontrado utilizando as técnicas de EA e CFM (n=95).....	56
7	Comparação entre volume de sangue total fetal encontrado utilizando as técnicas de EA e CFM.....	56

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE GRÁFICOS	13
1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS.....	30
2.1. Geral	30
2.2 Específico	30
3 METODOLOGIA	32
3.1 Cenário do estudo	32
3.2 Critérios de inclusão	33
3.3 Critérios de exclusão	33
3.4 Método	34
3.4.1 Técnica da eluição ácida	34
3.4.2 Citometria de fluxo	37
3.5 Análise dos dados	40
3.6 Aspectos éticos	40
4 RESULTADOS	42
5 DISCUSSÃO	58
6 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	71
APÊNDICES A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	84
APÊNDICES B - QUESTIONÁRIO	86
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	89

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A aloimunização eritrocitária está relacionada à exposição de um indivíduo a antígenos eritrocitários estranhos às suas hemácias, resultando na formação de um ou mais anticorpos que permanecem latentes e são usualmente identificados apenas semanas ou meses após a ocorrência da sensibilização (MOLLISON, 1997). A formação de aloanticorpos de ocorrência imune está relacionada principalmente a transfusões incompatíveis para antígenos associados a anticorpos de ocorrência irregular e não natural, o que pode complicar uma em cada 100 transfusões (BRASIL, 2007), ou à exposição materna a antígenos fetais não compartilhados pelo binômio mãe-feto, de herança paterna (VENGERLEN-TYLER, 1999). A exposição a hemácias a partir de transplante de órgãos, tecidos ou enxertos também pode desencadear a formação de aloanticorpos (NOVARETTI, 2007).

O risco de aloimunização correlaciona-se com a distribuição gênica dos antígenos de grupos sanguíneos na população, de acordo com sua formação racial e étnica, com a forma e importância da exposição e com a predisposição do indivíduo para desencadear uma resposta imune (DEL PEÓN-HIDALGO, 2002; ROSSEF, 2006; NOVARETTI, 2007). A probabilidade de o feto herdar do pai um antígeno eritrocitário não compartilhado com as hemácias maternas varia de acordo com a frequência dos alelos dos grupos sanguíneos na população e pode ser maior ou menor em função da heterogeneidade de sua distribuição (ROSSEF, 2006). A exposição por transfusão representa maior risco de formação de anticorpos visto que, na gestação, o número de aloantígenos é limitado aos de herança paterna e o volume de hemácias transferidas do feto para a mãe é menor sendo, às vezes, insuficiente para desencadear uma resposta imune primária (MOLLISON, 1997). Não existem diferenças geneticamente determinadas para maior ou menor risco de aloimunização de acordo com o sexo, entretanto, há relatos de maior prevalência no sexo feminino (AMEEN, 2005).

Os aloanticorpos, uma vez formados, persistem ao longo da vida e podem vir a desencadear hemólise intra ou extra-vascular, de maior ou menor gravidade,

caso o indivíduo seja novamente exposto ao mesmo antígeno. Em mulheres, além das complicações relacionadas à transfusão, os aloanticorpos podem também estar envolvidos na ocorrência da Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) em gestações futuras (VENGERLEN-TYLER, 1999).

A sensibilização materna, com formação de aloanticorpos, pode estar relacionada à exposição prévia a antígenos eritrocitários através de transfusões ou gestações anteriores, abortamento, amniocentese ou outros procedimentos invasivos e nem sempre está relacionada a distúrbios clínicos de maior importância (NICE, 2008). No entanto, quando os anticorpos são capazes de atravessar a barreira placentária podem desencadear hemólise de hemácias fetais em gestações futuras. O mecanismo da hemólise está relacionado à formação de imunocomplexos que são reconhecidos pelos macrófagos esplênicos fetais, responsáveis pela opsonização e destruição extra-vascular das hemácias sensibilizadas (NOVARETTI, 2001). Nessa situação há diminuição da meia-vida eritrocitária mediada imunologicamente, no período intra-útero e após o nascimento, com repercussões graves para o desenvolvimento fetal e comprometimento da sobrevivência do feto e do recém-nascido – RN. (MOLLISSON, 1997).

A DHPN complicou gestações durante séculos e a primeira descrição encontrada data de 1600 com o relato de uma francesa que deu à luz gêmeos, um dos quais saudável e o outro apresentando hidropsia, icterícia e morte por Kernicterus (WESTHOFF, 2006). Sua fisiopatologia foi descrita por Levine e Stetson em 1939, através da descrição do caso de uma paciente que desenvolveu grave reação transfusional hemolítica após receber o sangue do marido e que havia dado à luz uma criança com hidropsia fetal. O anticorpo envolvido na reação não foi evidenciado (ISSITT, 2005).

Em 1940, a partir de estudos com animais, Landsteiner e Wiener descreveram um anticorpo que foi chamado inicialmente de Fator Rhesus (Rh) e parecia estar implicado na DHPN (LANDSTEINER, 1940). Levine, por sua vez, descreveu e confirmou, em 1941, o envolvimento de anticorpo semelhante, mas diverso do fator Rh, implicado na fisiopatologia da doença e optou por manter a denominação anterior, já consagrada (LEVINE, 1941). O anticorpo inicialmente descrito por Landsteiner passou a ser chamado de antígeno Landsteiner Wiener

(LW). Atualmente está estabelecido que a base da DHPN depende da herança, no feto, de um alelo paterno ausente na mãe e que controla um antígeno capaz de causar aloimunização materna, durante a gestação (OWEN, 2000).

Na maioria dos casos, a pequena carga antigênica RhD nas hemácias e precursores hematopoéticos fetais, associada a pequenos volumes de HFM, é insuficiente para estimular o sistema imune materno (MOISE, 2002). No entanto, em uma mulher imunocompetente RhD negativa, o contacto com 0,1 ml de sangue fetal RhD positivo é suficiente para provocar a sensibilização (HARTWELL, 1998; VICENTE, 2003). O risco de aloimunização é, portanto, proporcional ao volume e à frequência da exposição antigênica (KUMPEL, 2006). O número de mulheres expostas ao risco de aloimunização anti-D depende do número de gestações, da distribuição dos antígenos RhD na população e do número de situações de risco para sensibilização, bem como do protocolo clínico utilizado para a profilaxia (BRANGER, 2006).

A aloimunização após exposição a antígenos eritrocitários depende de fatores genéticos e adquiridos do paciente, dose e via de administração, e da imunogenicidade do antígeno, porém a forma exata como ocorre ainda não está completamente elucidada (BORDIN, 2007). Fatores como sexo feminino, diabetes mellitus, neoplasias sólidas e transplante de células progenitoras hematopoéticas parecem aumentar o risco de aloimunização após exposição transfusional, enquanto doenças linfoproliferativas e aterosclerose sintomática protegem contra essa complicação (BAUER, 2007).

Na gestação, a compatibilidade ABO entre mãe e feto e o estado genético de homozigose RhD paterno aumentam o risco de aloimunização por possibilitar circulação das hemácias fetais RhD incompatíveis por tempo semelhante ao das próprias hemácias maternas (ZIZKA, 2001; DZIEGEL, 2005; WESTHOFF, 2007; ZIZKA 2008). Dessa forma, se uma mãe RhD negativa está grávida de um feto RhD positivo ABO compatível, seu risco de imunização é 16%. Se houver incompatibilidade ABO entre mãe e feto, o que ocorre em 20% dos casos, o risco de imunização é de apenas 2%. Portanto, o risco geral de imunização é de 13,2% (BOWMAN, 2006).

A DHPN caracteriza-se pela diminuição da meia-vida das hemácias fetais iniciada ainda na vida intra-útero e está relacionada à ação de anticorpos anti-eritrocitários maternos transplacentários. Nas formas mais leves, a DHPN é detectável apenas a partir de testes laboratoriais, enquanto as formas mais graves estão associadas com deficiência física ou retardo mental, chegando à morte intra-útero ou após o nascimento (URBANIÁK, 2000; JONES, 2004, NICE, 2008). Essa variação de gravidade está relacionada com a imunogenicidade do antígeno envolvido, ou seja, seu potencial para provocar a formação de um anticorpo correspondente e com a capacidade desse anticorpo em atravessar a barreira placentária e desencadear a hemólise (ARAÚJO, 2003).

A principal manifestação clínica é a hemólise extravascular que pode originar anemia, hiperbilirrubinemia, hepatoesplenomegalia (por aumento da eritropoese extramedular e congestão vascular) com hipoalbuminemia e ascite. A hidropsia fetal é o estágio final da insuficiência cardíaca hipervolêmica desencadeada pela anemia e associada à hipoalbuminemia (VICENTE, 2003). A destruição dos eritrócitos fetais começa na vida intra-útero e pode levar a anemia grave, hidropsia fetal e morte intra-uterina. Em nascidos vivos, a hemólise é mais severa ao nascimento, mas a anemia e icterícia se agravam nos primeiros dias. Quando não tratada, a hiperbilirrubinemia grave pode causar impregnação dos gânglios da base levando ao *kernicterus*, uma síndrome caracterizada por letargia, espasticidade, opistótono e que evolui para morte ou dano cerebral irreversível em 70% e 30% dos casos respectivamente (CONTRERAS, 1998). A icterícia neonatal deve ser tratada com fototerapia ou exsanguineotransfusão para evitar danos cerebrais irreversíveis (NICE, 2008).

A ocorrência da DHPN está associada à formação de anticorpos contra antígenos de vários sistemas de grupos sanguíneos (REID, 1997). Entre os 308 antígenos eritrocitários, distribuídos em 30 sistemas de grupos sanguíneos reconhecidos pela International Society of Blood Transfusion – ISBT, alguns apresentam importância clínica por sua capacidade em atravessar a barreira placentária e por desencadear quadros graves de hemólise (DANIELS, 2004; DANIELS, 2008). Em humanos, a única imunoglobulina capaz de se transferir da mãe para o feto é a imunoglobulina G (IgG), a partir da ligação com receptores Fc na membrana da placenta. Os antígenos eritrocitários associados à formação desses

anticorpos estão relacionados ao desencadeamento de DHPN (ARAÚJO, 2003). Portanto, nem sempre a aloimunização resulta em destruição de hemácias no feto ou no RN e a identificação do anticorpo envolvido, quando presente, é fundamental para direcionar os cuidados pré e perinatais na gestante aloimunizada (ROSSEF, 2006).

Na literatura médica há relatos de casos de DHPN associados principalmente a antígenos dos sistemas ABO, Rh, Kell, Duffy e MNSs, além de antígenos menos comuns, como Ge, Vel, e U (ROSSEF, 2006; VUCINOVIC, 2004; TO, 2003; NOVARETTI, 2003). A incompatibilidade feto-materna para o sistema ABO é a mais freqüente, no entanto, não representa papel relevante na DHPN, por estar associada a quadros leves e sem maior importância para o RN (COZAC, 2007). O sistema Rh, por outro lado, é o mais comumente envolvido na fisiopatologia da DHPN entre aqueles não relacionados a anticorpos de ocorrência natural, como o ABO, sendo os antígenos D, e, E, c, C, C^w, e RH29 os que podem ser associados a sua ocorrência (MOLLISON, 1997). O antígeno D é o mais imunogênico e clinicamente significativo antígeno eritrocitário humano depois dos antígenos do Sistema ABO (DANIELS, 1995; PASHA, 2008), sendo o mais frequentemente envolvido na DHPN. Está associado a 98% dos casos de aloimunização materna, enquanto a sensibilização pelos demais antígenos de grupos sanguíneos ocorre em cerca de 2% dos casos (BRASIL, 2000).

O sistema Rh é o segundo em importância na prática transfusional e conhecido como o maior e mais complexo sistema de grupos sanguíneos humano com 57 antígenos definidos por anticorpos específicos (DANIELS, 2004, DANIELS, 2008). Estudos funcionais evidenciaram que as proteínas do sistema Rh são membros ancestrais de uma família de proteínas envolvidas no transporte de amônia e proteínas Rh não eritróides foram encontradas em rins, fígado, cérebro e pele, ou seja, tecidos associados à produção e eliminação de amônia (WESTHOFF, 2006). Achados recentes indicam que os antígenos Rh são mediadores da interação proteína 4.2 e anquirina no citoesqueleto das hemácias, conferindo estabilidade à membrana eritrocitária (WESTHOFF, 2007). Sua alta imunogenicidade, em pequenas doses, faz de seus anticorpos as especificidades mais comumente estimuladas por transfusão e gravidez (CARMA, 1996). Além disso, esses antígenos estão completamente formados por volta de 6 semanas de vida intra-útero, o que

aumenta o risco de aloimunização materna durante o período gestacional (URBANIÁK, 1998; VICENTE, 2003).

Os antígenos do sistema Rh, de forma geral, estão associados à formação de anticorpos da classe IgG, capazes de atravessar a barreira placentária, e são expressos nas hemácias fetais a partir de seis semanas de vida intra-uterina (REID, 1997). Sabe-se que a passagem de hemácias do feto para a mãe através da barreira placentária é capaz de estimular a formação de anticorpos eritrocitários nessa idade gestacional, a partir de volumes tão pequenos de hemácias quanto 0,1ml (HARTWELL, 1998; VICENTE, 2003). Além de mais frequente, a aloimunização RhD está associada a estados de maior gravidade clínica para o feto e RN, levando, em alguns casos, à hidropisia e ao óbito e permanece como causa de elevada morbi-mortalidade perinatal (CABRAL, 2001; CASTILHO, 2008). Por isso, exige ações eficazes que possam rastrear pacientes de risco e estabelecer condutas adequadas à sua prevenção.

A Hemorragia Fetomaterna (HFM), definida como a transferência de sangue fetal para o compartimento intravascular materno, devido à ruptura na membrana vículo-sincicial da placenta, é um fenômeno universal e constitui a base da etiopatogenia da DHPN, entre outras afecções como a Trombocitopenia Neonatal Aloimune, a Neutropenia Tardia no RN e a transmissão vertical de vírus (MEDEARIS, 1984; OHTO, 2004; ZUPPA, 2008; DE VRIES, 2008). Apesar de relativamente freqüente, segundo Sebring e Polesky, em 90% dos casos o volume envolvido no sangramento durante a gestação é menor que 0,1 ml. No parto, os mesmos autores descreveram sangramentos menores que 0,05 ml em 74% dos casos, menos de 1 ml em 96%, menos de 6 ml em 99,0% e menos de 30 ml em 99,6% dos casos (SEBRING, 1990).

De acordo com a literatura, sangramentos acima de 30 ml podem ser encontrados em 0,2 a 3,0% dos casos (BAIOCHI, 2005). Hemorragias maciças são raras, não obstante casos de sangramentos maiores que 100 ml tenham sido descritos na literatura (ISHIHARA, 1990; BOUDIER, 1999; FONG, 2000). Estudo realizado no Canadá, na província de Manitoba, analisou 30.944 puérperas Rh negativas pelo método de Kleihauer, no período de outubro de 1970 a dezembro de 1992. Os autores encontraram 27 pacientes com HFM maior que 80 ml de hemácias

fetais (1 em cada 1.146 gestações) sendo que em 11 delas (1 em cada 2.813 gestações) o volume de hemorragia foi de 150 ml ou mais (DE ALMEIDA, 1994).

As manifestações clínicas e prognóstico de HFM são variáveis e dependem do volume perdido pelo feto e da velocidade com que o sangramento ocorre, podendo estar associadas a quadros leves de palidez após o nascimento com elevação do número de eritroblastos e reticulócitos no sangue periférico, hipóxia perinatal e morte intra-uterina ou anemia severa e hipoxemia ao nascimento (MARIONS, 1991; BOUDIER, 1999; BALDERSTON, 2003; THOMAS, 2003; ZUPPA, 2008).

A formação de anti-D em indivíduos RhD negativos expostos ao antígeno D por via transfusional ocorre em cerca de 80% dos casos (SCHIMIDT, 1988, DANIELS, 1995). No entanto, exposição a pequenos volumes também é capaz de desencadear a formação de anticorpos em indivíduos com boa resposta imune, havendo uma correlação direta entre o tamanho da exposição e a possibilidade de formação de anticorpo (NOVARETTI, 2007). Além do volume envolvido na exposição, outros fatores como o número de sítios antigênicos presentes nas células incompatíveis e a capacidade de resposta imune da paciente, podem interferir (LEFRÈRE, 2006).

Alguns eventos podem estar associados a maior risco de grandes hemorragias. Por isso, é recomendado estabelecer o volume de HFM após trauma abdominal fechado, descolamento de placenta, cordocentese e placenta prévia com sangramento (FUNG, 2003). A ocorrência de hidropsia fetal inexplicada, gestação múltipla, morte intra-uterina, parto cesareano ou com auxílio de instrumentos e remoção manual da placenta também são considerados critérios para realização da quantificação da HFM (DORNAN, 2000). O sangramento do terceiro trimestre não está associado a um maior risco de HFM e, nesses casos, a profilaxia da aloimunização deve ser correlacionada ao volume do sangramento (BALDERSTON, 2003). No entanto, a importância da hemorragia, resultando em maior ou menor exposição materna, é um fenômeno imprevisível e sangramentos de volumes acima de 30 ml podem ocorrer mesmo na ausência dos fatores de risco relacionados (BAIOCHI, 2005).

As diferentes manifestações clínicas evidenciadas pelo neonato em decorrência de grandes volumes de HFM se devem, provavelmente, à forma como o sangramento ocorreu e à gravidade da anemia resultante no feto (BOURDIER, 1999). Hemorragias agudas, com rápida perda de sangue, estão associadas com hipóxia perinatal e morte intra-uterina ou anemia severa e hipoxemia ao nascimento (THOMAS, 2003). Por outro lado, quando a hemorragia ocorre cronicamente ou de forma repetida durante a gestação, a anemia se instala lentamente dando ao feto condições de reagir utilizando mecanismos compensatórios com aumento acentuado da eritropoese evidenciado por elevação do número de eritroblastos e reticulócitos no sangue periférico e apenas palidez após o nascimento (ZUPPA, 2008). Em todas as formas, é fundamental o diagnóstico precoce da HFM excessiva que permite o tratamento adequado ainda na vida intra-útero, quando necessário (ISHIHARA, 1990).

De acordo com recomendações estabelecidas em protocolos clínicos internacionais, a quantificação da HFM deve ser realizada em todas as gestantes RhD negativas que deram à luz RN RhD positivos, ou em situações em que não é possível determinar a classificação sanguínea das hemácias fetais ou do RN. Além disso, após a vigésima semana eventos potencialmente sensibilizantes devem ser seguidos de avaliação da HFM, em mulheres RhD negativas. Consideram-se eventos sensibilizantes a interrupção terapêutica da gestação, abortamento espontâneo completo ou incompleto, amniocentese, coleta de amostra coriônica e de sangue fetal, colocação de *shunts*, redução embrionária, hemorragia anteparto, versão cefálica externa, trauma abdominal fechado, gravidez ectópica e morte intrauterina. Mulheres RhD negativas que já formaram anti-D não estão incluídas nessas recomendações (CHAPMAN, 2001).

A HFM pode ser medida por várias técnicas a partir da marcação da Hemoglobina F, presente nas hemácias fetais ou o antígeno D, quando há incompatibilidade RhD entre mãe e feto. As técnicas disponíveis incluem o teste de Eluição Ácida (EA) ou técnica de Kleihauer-Betke (KBT), a Citometria de Fluxo, a técnica de Roseta e outras menos utilizadas como imunofluorescência de fase sólida, tecnologia de gel centrifugação e uso de fluorocromo conjugado com anti-D em contadores hematológicos (DAVID, 1999; CONTRERAS, 1998; GOMÉS-ARBONÉZ, 2002; LITTLE, 2005; AUSTIN, 2008).

A aplicação do método de Citometria de Fluxo (CFM) para análise e quantificação de populações celulares mistas como ocorre na HFM durante a gravidez e após o parto, está bem estabelecida (LLOYD-EVANS, 1999; NELSON, 1999). Sua principal vantagem está relacionada à precisão e objetividade do método que pode substituir a EA com segurança (KUMPEL, 2000; CHEN, 2002; LITTLE, 2005). No entanto, a CFM não está disponível em todos os serviços e o maior custo por teste, quando comparado ao da EA, não parece justificar a adoção dessa técnica como padrão universal de triagem (LITTLE, 2005). As hemácias fetais podem ser identificadas a partir da marcação por anticorpos contra o antígeno RhD ou HbF que permitem a identificação de hemácias fetais na presença ou não de incompatibilidade RhD entre mãe e feto (LLOYD-EVANS, 1999; KUMPEL, 2001; DAVIS, 1998; DZIEGEL, 2006).

A padronização e validação das técnicas são fundamentais para que resultados fidedignos sejam obtidos e a administração de subdoses de IgRh a pacientes não sensibilizadas seja evitada (LAND, 2009) e os resultados devem ser disponibilizados em um tempo suficiente para garantir que uma dose suplementar de IgRh seja prescrita, se for o caso (AUSTIN, 2008). e representa desperdício de utilização de um recurso terapêutico limitado e recursos financeiros que poderiam reverter em prol da otimização do uso da IgRh (BAIOCHI, 2004). A utilização de programas de controle de qualidade externos e interlaboratoriais foi estabelecida em alguns países com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade e segurança da técnica de EA em prever a necessidade de doses diferenciadas de IgRh (RAAFAT, 1997; RAMSEY, 2009).

A partir do conceito de que a imunização ativa a um antígeno pode ser prevenida na presença de anticorpos passivos para esse mesmo antígeno desenvolvido por volta de 1900 em experimento realizado pelo autor europeu Von Dungern, alguns centros em New York e Liverpool passaram a estudar a possibilidade de prevenir a aloimunização anti-D materna com uso de IgG anti-D passiva, na década de sessenta e, em 1968, a IgRh foi finalmente liberada para uso na Europa e EUA (BAIOCHI, 2005; BOWMAN, 2006). A partir de então, tornou-se possível prevenir a sensibilização ao antígeno D através da utilização de Imunoglobulina Rh (IgRh) em gestantes RhD negativas não sensibilizadas, após gestações de fetos RhD positivos (MOLLISON, 1997, VENGERLEN-TYLER, 1999,

ROSSEF, 2006). O mecanismo de ação da IgRh não está claro até o momento e envolve a remoção do antígeno, supressão de células B antígeno-específicas e alterações na resposta inflamatória (KUMPEL, 2002; KUMPEL, 2006; BRINC, 2008; BRINC, 2007; PASHA, 2008).

O estabelecimento da imunoprofilaxia como rotina nos serviços de atendimento à gestante diminuiu significativamente a ocorrência de DHPN em todo o mundo (ROBERTS, 2008). No Reino Unido, segundo Urbaniak, houve uma redução de cerca de 1.000 vezes no número de mortes neonatais relacionadas à aloimunização anti-D desde a introdução da profilaxia, em 1969 (URBANIAC, 1997). No entanto, o fenômeno permanece um problema clínico, em nossos dias, devido à participação de anticorpos contra outros antígenos do sistema Rh ou de outros sistemas de grupos sanguíneos, para os quais não há possibilidade de profilaxia. Da mesma forma, a ausência de imunização ou falha relacionada a doses de imunoglobulina inadequadas para o volume de HFM ocorrida, permitem a exposição materna ao antígeno D presente nas hemácias fetais (SAADE, 2000).

Não obstante a sensibilização ao antígeno RhD em puérperas Rh negativas ter diminuído desde a introdução da profilaxia com o anti-D, a ocorrência de novos casos ainda persiste (MIQUEL, 2005). Mollison relata que a incidência de aloimunização materna para o antígeno D, nos EUA e Inglaterra, caiu de um em cada 170 gestantes antes do início da imunoprofilaxia para um em 963 em uma região americana e um em 497 gestantes na Inglaterra, vinte anos depois (MOLLISON, 1997). De fato, de acordo com dados norte-americanos, a prevalência atual da DHPN é de apenas seis casos para cada 1.000 nascidos vivos (MOISE, 2002). Estudo recente realizado na Croácia evidenciou uma incidência de aloimunização de 0,138% associada, principalmente a prevenção inadequada (MATIJEVIC, 2005).

Estudo retrospectivo realizado em São Paulo com mais de 17.000 gestantes encontrou uma incidência de aloanticorpos de 0,24% e demonstrou que o antígeno RhD é o mais frequente entre as mulheres aloimunizadas, representando 64,61% dos casos (NOVARETTI, 2007). No Ceará, em 1.665 mulheres atendidas em Serviço de Urgência e Emergência, foi encontrada uma taxa de aloimunização de 3,6%, enquanto a taxa encontrada em homens foi de 1,4%, com o anticorpo anti-

D detectado em 16,9% dos pacientes (SANTOS, 2007). No ano de 2006, um estudo prospectivo para identificação de anticorpos irregulares em gestantes atendidas em um Serviço Público de referência estadual, envolvendo 270 gestantes RhD negativas, mostrou uma prevalência de 5,5% de sensibilização para antígenos eritrocitários, sendo a presença do anti-D observada em 93% dos casos (NEVES, 2006). Em outro estudo realizado no estado, avaliando 431 gestantes RhD negativas, encontrou-se uma prevalência de 3,9% de aloimunização com envolvimento do anti-D em 82% dos casos (LIMA, 1995).

Os fatores relacionados à falha em prevenir a aloimunização estão associados ao não reconhecimento dos eventos sensibilizantes, ausência de administração da imunoglobulina ou sensibilização por episódios de HFM silenciosos ao longo da gestação (URBANIÁK, 1997; VICENTE, 2003). A experiência internacional tem mostrado que entre os motivos mais frequentes para a sensibilização materna está à falta de aplicação da imunoglobulina nas gestações prévias ou o não cumprimento dos protocolos e guias propostos (JONES, 2004). Por outro lado, são menos frequentes as razões socioeconômicas, a baixa disponibilidade da imunoglobulina e as condições biológicas das pacientes (GONZALES, 2004).

A dose de 10 µg para cada ml de sangue RhD positivo é considerada eficaz na prevenção da sensibilização, por diminuição da exposição materna às hemácias fetais incompatíveis (VICENTE, 2003). Portanto, a definição da dose a ser utilizada, em uma gestante em particular, deve estar correlacionada ao volume de células fetais a que ela foi exposta. Em mulheres RhD negativas é, pois, importante quantificar a magnitude da HFM para que uma dose suficiente de IgRh seja utilizada logo após o parto (GOLDMAN, 1991).

A IgRh foi produzida inicialmente a partir do fracionamento de plasma com controle sorológico rigoroso dos doadores de hemácias e plasma para HIV, hepatite B e C e adoção de métodos que diminuam o risco de contaminação para agentes transmissíveis pelo sangue conhecidos e aqueles ainda não identificados (BOWMAN, 2006; MOISE, 2002). Estudos recentes identificaram linhagens celulares capazes de produzir anticorpos eficazes para remoção das células RhD positivas *in vitro* e apresentações de IgRh monoclonal e recombinante estão em

desenvolvimento, na tentativa de eliminar a necessidade de produção da IgRh a partir de plasma humano, (HADLEY, 1993; KUMPEL, 2002; CHAPMAN, 2007).

Em revisão sistemática da literatura, abrangendo o período de 1968 a 2001, Fung *et al.* identificaram recomendações para administração de 300 µg de IgRh por via intramuscular ou endovenosa até 72 horas após o parto, em gestantes RhD negativas. Para HFM maior que 15 ml, uma dose suplementar é recomendada, respeitando a proporção de 10 µg para cada 0,5 ml de HFM (FUNG, 2003). Alternativamente a essa conduta, autores europeus recomendam a administração de duas doses de 100 -120 µg na 28^a e 34^a semanas de gestação, com realização de quantificação da HFM após eventos reconhecidamente associados a maior risco de sangramento, como o trauma abdominal fechado (NICE, 2008, DORNAN, 2000, JONES, 2004).

No Brasil, embora o Ministério da Saúde recomende a imunoprofilaxia sistemática em mulheres RhD negativas, não há conduta padronizada no que se refere à dose de imunoglobulina a ser usada ou recomendações para quantificação da HFM em qualquer situação (BRASIL, 2000). A conduta mais frequente no país, é a administração de 300 µg de IgRh em mulheres RhD negativas não sensibilizadas até 72h após o parto, abortamentos ou procedimentos invasivos. Alguns serviços optaram por adotar a conduta europeia e utilizam duas doses da imunoglobulina, na 28^a semana da gestação e após o parto. Não existe, entretanto, rotina estabelecida para avaliação da HFM em qualquer situação. A utilização de doses padronizadas, sem avaliação da HFM pode significar uma prevenção ineficaz em mulheres que apresentem HFM excessiva, com volume superior a 30 ml. Por outro lado, pode resultar em uma dose excessiva em situações de hemorragias muito pequenas, acarretando desperdício de recursos financeiros e técnicos.

Em 2000, o número de nativos no país foi superior a 3,2 milhões (DATASUS, 2008). Considerando a incidência de HFM maior que 30 ml de 0,58% encontrada em seu estudo, Baiochi *et al.* estimaram que, a cada ano, cerca de 1.195 pacientes entre as puérperas de nativos sejam inadequadamente protegidas com subdoses de anti-D. Considerando que a formação de anti-D ocorre em 25% dos casos de HFM maior que 30 ml, foi estimado o risco de aproximadamente 300 mulheres serem aloimunizadas por doses insuficientes de anti-D anualmente em

todo o território nacional (BAIOCHI, 2005). Em estudo anterior, os mesmos autores questionam a utilização de doses superdimensionadas de IgRh em eventos que apresentam um volume de HFM muito inferior a 30 ml, como o abortamento, situação que se beneficiaria com a utilização de menos de 20% da dose praticada atualmente no país (BAIOCHI, 2004).

Sabe-se que a quantificação sistemática do volume de HFM, após o parto, e adequação da dose de IgRh é uma conduta necessária à prevenção da imunização materna e, conseqüentemente, de DHPN. Sem que seja feita a quantificação da HFM não é possível indicar a necessidade de doses diferenciadas de IgRh na profilaxia. A utilização da dose padronizada de 300 µg pode significar um desperdício de recursos por ultrapassar a necessidade relacionada ao sangramento feto-materno em mais de 90% dos casos. Daí a importância de estabelecer condutas para realizar a avaliação da HFM nas pacientes RhD negativas com risco de sensibilização para, dessa forma, utilizar uma dose realmente eficaz à prevenção da formação do anti-D (BAIOCHI, 2005). Atualmente, não há rotina estabelecida no estado do Ceará para a realização desse procedimento, o que pode estar relacionado à continuidade de sensibilização das gestantes cearenses.

Para definir a necessidade de implantação dessa conduta, foi realizado estudo transversal prospectivo para quantificar a HFM em mulheres gestantes atendidas em duas maternidades do estado do Ceará no período de dezembro de 2008 a fevereiro de 2009.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Determinar o volume de HFM em gestantes admitidas para atendimento obstétrico em dois serviços de referência em obstetrícia no estado do Ceará.

2.2 Específicos

- Identificar o volume de HFM nas gestantes envolvidas no estudo.
- Comparar métodos laboratoriais quantitativos disponíveis para a quantificação da HFM no que concerne a especificidade, sensibilidade e custo.
- Identificar a necessidade de adoção de medidas sistemáticas de quantificação de HFM para melhorar a eficácia das ações de prevenção da DHPN adotadas atualmente em nosso país.

METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo exploratório descritivo para quantificação da HFM em puérperas atendidas em duas maternidades públicas de referência para o estado do Ceará (Maternidade Escola Assis Chateaubriand e Hospital Geral César Cals de Oliveira), em Fortaleza, no período de dezembro de 2008 a março de 2009.

3.1 Cenário do estudo

As maternidades escolhidas para realização do estudo são unidades hospitalares públicas ligadas ao SUS de referência para atendimento à gestação de risco.

Integrante da rede de hospitais pertencentes ao Governo do Estado do Ceará, o Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCC) possui um corpo de 1.431 profissionais, dos quais 381 médicos de diversas especialidades, 670 profissionais das demais áreas da saúde (fisioterapeutas, nutricionistas, assistentes sociais, psicólogos, enfermeiros, terapeutas ocupacionais, farmacêuticos, bioquímicos e funcionários de nível médio), 314 profissionais da área administrativa de nível médio e superior. A capacidade física instalada é de 276 leitos distribuídos nas diversas clínicas, dos quais 70 são destinados à Obstetrícia, perfazendo uma taxa de 5,1 funcionário/leito. Possui duas salas de parto e uma unidade de atenção à mulher com serviços de Neonatologia, Casa da Gestante, Projeto Canguru e Banco de Leite Humano e recebeu o título da UNICEF de Hospital Amigo da Criança. De referência estadual para atendimento em Ginecologia e Obstetrícia, tem um número médio mensal de 600 partos.

Desde 1952 a Instituição vem mantendo estágio teórico-prático para o Internato da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, e em 1967 foi criada oficialmente a Residência Médica, reconhecida pelo MEC, nas áreas de Medicina Interna, Cirurgia Geral e Obstetrícia-Ginecologia (HGCC, 2008).

A Maternidade Escola Assis Chateaubriand – MEAC, instituição pública ligada à Universidade Federal do Ceará – UFC é uma unidade de referência na assistência terciária em Ginecologia e Obstetrícia, responsável por ações de média e alta complexidade. Consolidada como hospital de referência no estado, vem cumprindo sua missão institucional de promover a formação de recursos humanos em ações de aprendizado, ensino, pesquisa e extensão. A partir da busca pela excelência no atendimento humanizado à saúde da mulher e do RN, tornou-se hospital dedicado à formação de profissionais da área da saúde nos níveis de graduação e pós-graduação.

Sua estrutura física de 10.842 m² de área construída abriga seis salas cirúrgicas, um centro de parto natural e 38 ambulatórios. Conta com 124 leitos para pacientes obstétricas e 52 leitos para atendimento neonatal de alto e médio risco. Em 2006, realizou 77.374 atendimentos ambulatoriais e 5.024 partos (UFC, 2008).

3.2 Critérios de inclusão

Gestantes admitidas nas salas de parto dos hospitais participantes do estudo, para atendimento obstétrico relacionado a partos a termo ou prematuros e abortamentos.

Consentimento na participação no estudo, através da assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido proposto (APÊNDICE A).

3.3 Critérios de exclusão

Gestantes admitidas nas salas de parto dos hospitais participantes do estudo para atendimento obstétrico não relacionado a partos e abortamentos.

Gestantes que se recusarem a participar do estudo.

3.4 Método

Todas as pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram abordadas em um prazo máximo de 48h após o procedimento obstétrico realizado para aplicação de um questionário (APÊNDICE B) a fim de obter levantamento de dados demográficos e história clínica obstétrica. O questionário foi validado em um grupo de 20 gestantes antes do início da aplicação na pesquisa, com adoção das mudanças que se fizeram necessárias.

Após o preenchimento dos dados, procedeu-se à coleta de amostra de cinco ml de sangue venoso em tubo a vácuo contendo 0,1ml de EDTA utilizando técnica asséptica. As amostras foram identificadas com nome completo da paciente, registro hospitalar, serviço de atendimento, data da coleta e técnico responsável. As coletas ocorreram sempre entre 11 e 14 horas e as amostras foram encaminhadas ao Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE, Hemocentro Coordenador de Fortaleza, para realização de testes para quantificação da HFM. Os testes realizados no estudo foram o método de Eluição Ácida (EA) ou Kleihauer-Betke (KBT), segundo descrição do *British Committee for Standards in Haematology* – BCSH (AUSTIN, 2008) e avaliação da HFM pela técnica de Citometria de Fluxo, através da marcação da HbF.

Após a chegada do material o teste de EA foi realizado em até duas horas e as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Citometria de Fluxo do Hemocentro para quantificação da HFM por CFM.

3.4.1 Técnica da eluição ácida

Antes do início da realização dos testes foi realizado um piloto com doze pacientes para validar o processo de coloração, observando-se que a estabilidade das soluções A e B era de aproximadamente um mês quando estocadas à temperatura ambiente. Por isso, foram preparadas sempre em um volume máximo de 250 ml e desprezadas a cada três semanas se atingissem esse intervalo de tempo. A solução eluente mostrou-se instável quando armazenada e foi preparada a

cada nova bateria de colorações, sendo desprezada após cada coloração. Seu pH é determinante e foi monitorado a cada sete dias ou sempre que necessário.

As extensões foram feitas em um prazo máximo de seis horas após a coleta em lâminas de vidro com a amostra de sangue materno diluída com salina na proporção de 1:2 e homogeneizada imediatamente antes da execução do esfregaço que deve ser fino sendo sua espessura determinante para a leitura. Todas as colorações foram acompanhadas de controles positivo e negativo preparados da mesma forma e cada vez que as amostras em estudo eram coradas. Como controle negativo foi utilizado sangue fresco colhido com EDTA de indivíduos adultos do sexo masculino. Como controle positivo, sangue fresco de cordão umbilical colhido com EDTA adicionado do sangue usado no controle negativo em diluição 1:100. As amostras do cordão e do paciente adulto eram obrigatoriamente ABO compatíveis.

Os esfregaços foram então fixados em etanol a 80% por cinco minutos e colocados para secar, após o que foram completamente imersos completamente em solução eluente com pH de 1,5 e à temperatura ambiente, por 20 segundos. A solução eluente foi preparada sempre antes de iniciar a coloração utilizando duas partes de solução A (hematoxilina diluída na proporção de 7,5 g para 1000 ml de etanol a 100%), uma parte de solução B (24 g de cloreto férrico, 20 ml ácido clorídrico 2,5 mol/l e água destilada para 1000 ml) e uma parte de etanol a 80%. Após a imersão, foram lavadas abundantemente com água destilada e colocadas para secar em pé. Após secas as lâminas foram contra-coradas com eosina a 1% (eosina amarela 10 g/l em água destilada) por dois minutos, lavadas com água corrente e colocadas para secar em pé, novamente. Todos os reagentes estavam à temperatura ambiente e, uma vez iniciado, o processo de coloração não foi interrompido.

Após o término da coloração procedeu-se ao exame microscópico das amostras. Os controles foram analisados inicialmente para verificar se a preparação e coloração das amostras foram satisfatórias. Com o condensador baixo e a luz com intensidade máxima, foi selecionada uma área da lâmina em que as células estavam bem distribuídas, geralmente no terço distal do esfregaço. Um total de 25 campos foi examinado com a objetiva de 10x. Na objetiva de 40x foram contadas as células fetais encontradas em 2.000 células maternas (FIGURAS 1 e 2).

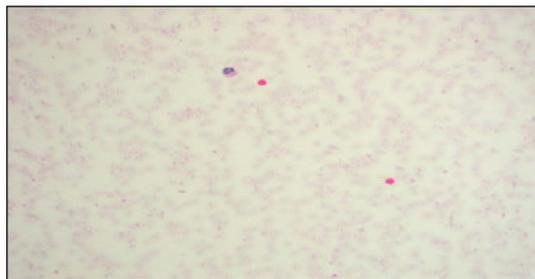


FIGURA 1 – Esfregaço de sangue materno demonstrando a presença de células fetais (rosa escuro) em pequeno número (aumento 10x)

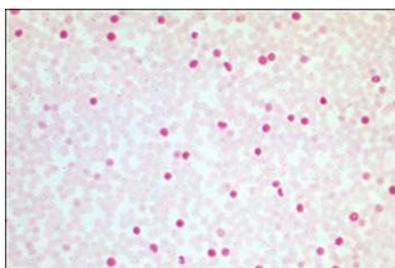


FIGURA 2 – Esfregaço de sangue materno demonstrando a presença de células fetais (em rosa escuro) em grande número (aumento 10x)

O cálculo do volume de HFM foi feito de acordo com a *American Association of Blood Banking – AABB* (KENNEDY, 2006) que considera o volume sanguíneo materno arbitrariamente em 5000 ml e recomenda a fórmula abaixo:

$$\text{Sangue total fetal (ml)} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de hemácias fetais encontradas}}{2000 \text{ hemácias maternas}} \times 5000$$

Para um cálculo mais apurado, Mollison, propôs em 1972, que o volume eritrocitário materno seja considerado arbitrariamente em 1800 ml e estabeleceu a necessidade de correção de 22% correspondente ao maior volume celular fetal e de 92%, relativo à eficiência de coloração da técnica (MOLLISON, 1972), resultando na seguinte fórmula:

$$\text{Hemácias fetais em ml} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hemácias fetais encontradas}}{\text{N}^\circ \text{ de hemácias maternas}} \times 1800\text{ml} \times 1,22 \times 1,09$$

3.4.2 Citometria de fluxo

Os testes foram realizados no Citômetro da marca *Beckman Coulter*, modelo *Epics XL-MCL*. O *Kit* utilizado foi o *Fetal Count Cell*® (IQProducts) comercializado por DPM Diagnóstica e que utiliza a combinação de dois anticorpos para identificação das células fetais em circulação materna. Um anticorpo é direcionado para a HbF e outro contra a enzima Anidrase Carbônica (CA), presente apenas em hemácias adultas. Tal combinação de anticorpos permite a diferenciação rápida e precisa das hemácias fetais e maternas com HbF. As amostras maternas foram às mesmas utilizadas para os testes de EA, sendo examinadas em no máximo 72 h após a coleta. O processamento foi feito em três etapas.

Etapa 1 – Fixação e permeabilização

Em tubo de hemólise comum foram colocados 100 µl do reagente A e adicionados 10 µl de sangue total colhido com EDTA, submetendo-se a mistura a agitação no Vortex e adicionando-se 100 µl do reagente B com nova agitação. A mistura foi incubada à temperatura ambiente por 30 minutos com agitações manuais leves a cada 10 minutos e adição posterior de dois ml do reagente D, misturado por inversão. Após esse procedimento, a amostra foi centrifugada por três minutos a 300g e o sobrenadante foi descartado por inversão, adicionando-se 100 µl do reagente D com suspensão do *pellet* e agitação leve no Vortex. Após adição de 100 µl do reagente C, a amostra foi ressuspensa no Vortex e as células foram incubadas por quatro minutos. O reagente D foi adicionado novamente (dois ml) com mistura

por inversão, nova centrifugação e descarte do sobrenadante por inversão. Esse procedimento foi realizado duas vezes. O *pellet* foi ressuspenso em um ml de reagente D e a amostra agitada gentilmente no Vortex.

Etapa 2 – Marcação

Em tubo próprio para análise no Citômetro de Fluxo, foram adicionados 50 µl do reagente E (anti-human CA-FITC), 50 µl do reagente F (anti-human HbF-R-PE) e 50 µl da suspensão de eritrócitos obtida na etapa anterior. A mistura foi incubada à temperatura ambiente por 15 minutos protegida da luz. Após a adição de dois ml de reagente D a amostra foi centrifugada a 300g por três minutos e o sobrenadante foi descartado por inversão. O *pellet* foi então ressuspenso em 500 µl de reagente D e o teste foi realizado em 30 minutos no máximo.

Etapa 3 – Aquisição dos dados

As amostras foram analisadas no Citômetro de Fluxo com aquisição de 100.000 eventos e adquiridas juntamente com os controles em um protocolo com o *Forward light scatter* (FSC), *slide scatter* (SSC) e anticorpos monoclonais conjugados aos fluorocromos na escala logarítmica (*log*). O *gate* foi definido ao redor dos eritrócitos, confirmado com o uso do anticorpo monoclonal Glicoforina A, no histograma FSC/SSC na escala logarítmica. O controle usado foi sangue de cordão umbilical e, para excluir autofluorescência, foi usado um tubo sem anticorpos monoclonais (não marcado).

O posicionamento dos *gates* é fundamental para definição dos resultados, principalmente o das células CA FITC considerando que as células fetais são positivas para HbF e não para a CA. As células maternas não apresentam nenhum sinal para HbF combinada com alta expressão da CA. Algumas células maternas apresentam baixo sinal para HbF e alta expressão para a CA. Os resultados da análise são liberados através de histogramas com análise quantitativa (FIGURA 3).

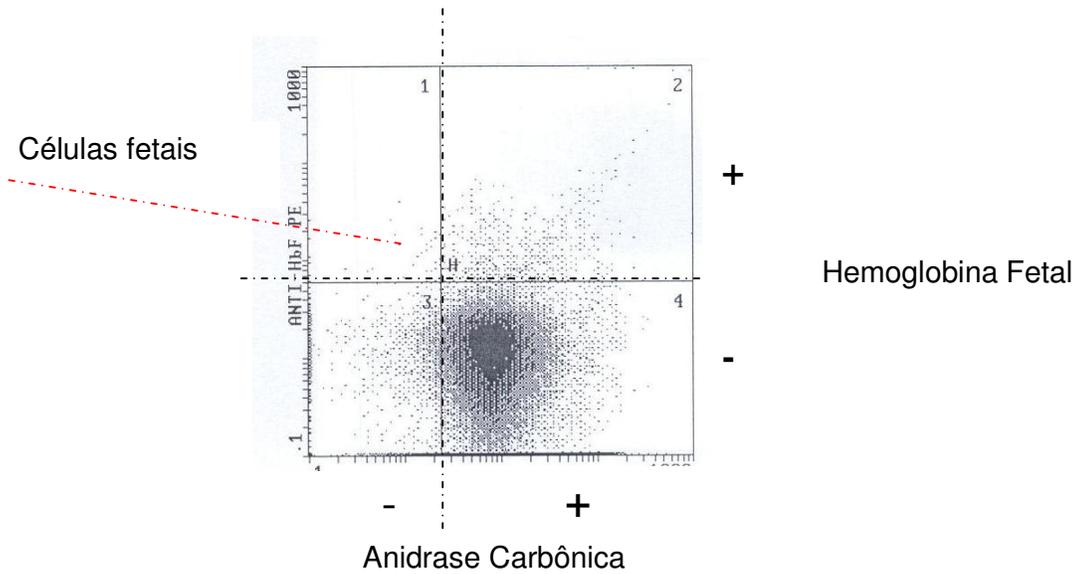


FIGURA 3 – Histograma do teste de EA demonstrando a presença de células fetais em pequeno volume (quadrante superior esquerdo)

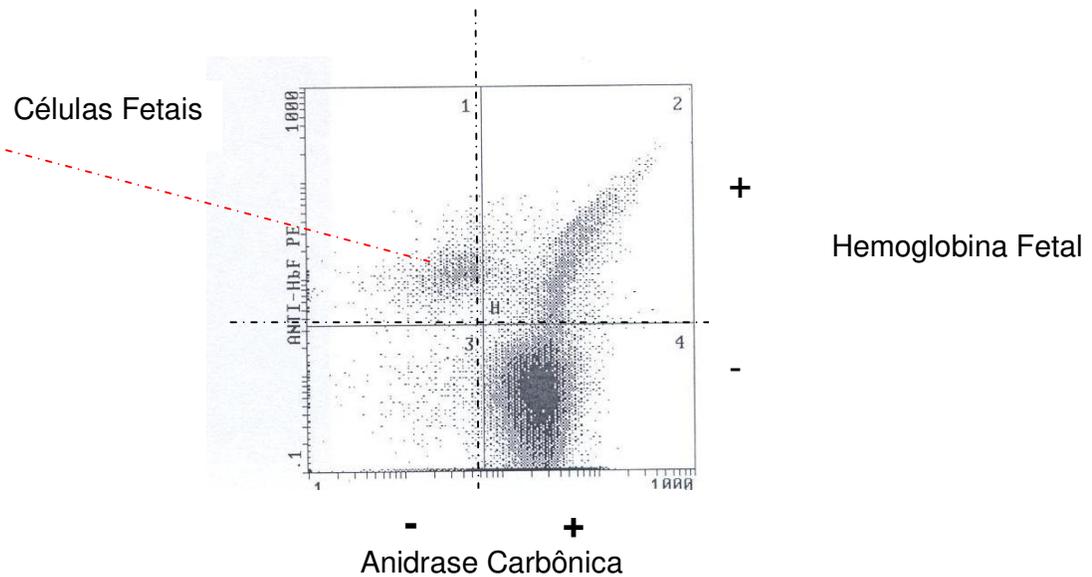


FIGURA 4 – Histograma do teste de EA demonstrando a presença de células fetais em grande volume (quadrante superior esquerdo)

O cálculo do volume de HFM utilizou fórmula semelhante ao proposto pela AABB para a EA, considerando o volume sanguíneo materno arbitrariamente em 5000, de acordo com recomendações do fabricante do teste, que recomendou o cálculo abaixo:

$$\text{Sangue total fetal (ml)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hemácias fetais encontradas}}{\text{N}^\circ \text{ de hemácias maternas}} \times 5000$$

O cálculo do volume de hemácias fetais foi feito de acordo com o British Committee for Standards in Haematology – BCSH (AUSTIN, 2008) que considera o volume de hemácias materno arbitrariamente em 1800 ml e utiliza a correção de 22% correspondente ao maior volume celular fetal proposta por Mollison (MOLLISON, 1972), resultando na seguinte fórmula:

$$\text{Hemácias fetais em ml} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hemácias fetais encontradas}}{\text{N}^\circ \text{ de hemácias maternas}} \times 1800\text{ml} \times 1,22$$

Em ambos os cálculos, as variações individuais relativas a peso e volume de hemácias maternas não são consideradas.

3.5 Análise dos dados

Ao final da coleta, os dados foram consolidados e analisados utilizando o programa estatístico Epi-info, versão 3.5.1. Foi definido como significativo valor de $p \leq 0,05$.

3.6 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Geral César Cals de Oliveira e Maternidade Escola Assis Chateaubriand, de acordo com a Resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

Foram estudadas 110 mulheres que preencheram os critérios de inclusão no período do estudo, sendo 39 delas provenientes do HGCC e 71 da MEAC. De acordo com os dados coletados, 81 (73,6%) pacientes declararam cor parda, que foi predominante na amostra, seguida da cor branca em 18,2% (n=20) e negra em 8,2% (n=9) (TABELA 1, GRÁFICO 1).

TABELA 1 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo por raça

RAÇA	FREQUÊNCIA	%	% ACUMULADO
Parda	81	73,6	73,6
Negra	9	8,2	81,8
Branca	20	18,2	100,0
Total	110	100,0	100,0

Fonte: Pesquisa própria

A média da idade das mães foi de $24,16 \pm 6,29$ anos (intervalo 14 - 38 anos) (GRÁFICO 1), com 42,7% delas com idade inferior a 21 anos. Quanto ao peso, a distribuição variou de 46 a 93 Kg, com média de 63,3 Kg.

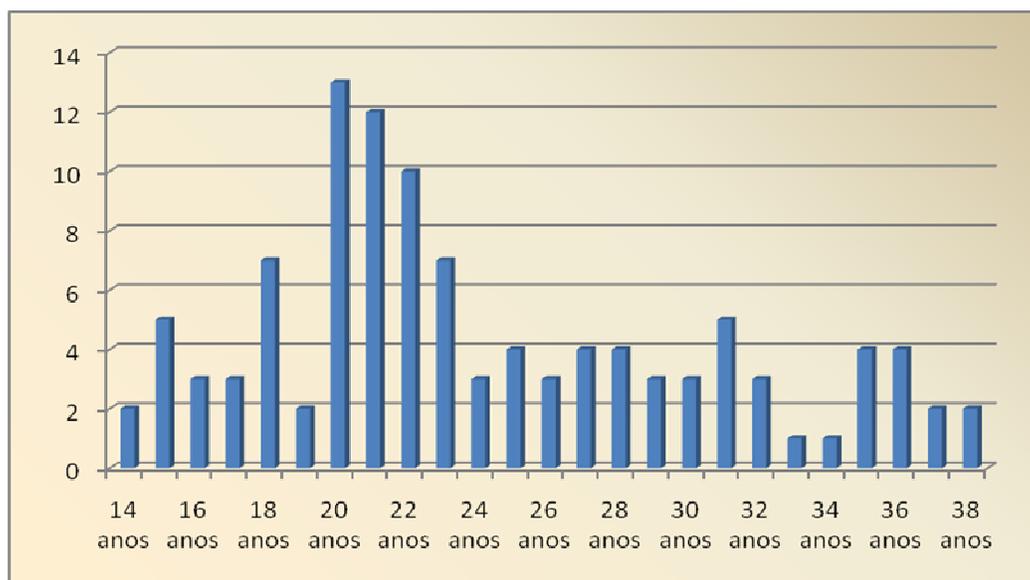


GRÁFICO 1 – Distribuição das mulheres de acordo com a idade

Com relação ao nível de escolaridade, o ensino médio completo foi o predominante na amostra, declarado por 37 (33,6%) pacientes, seguido de ensino fundamental completo em 32 (29,1%), ensino fundamental incompleto em 24 (21,8%) e ensino médio incompleto em 15 (13,6%). Uma paciente declarou-se analfabeta (0,9%) e uma informou nível superior completo (TABELA 2).

TABELA 2 – Distribuição da escolaridade das mulheres incluídas no estudo

ESCOLARIDADE	FREQUÊNCIA	%
Analfabeto	1	0,9
Ensino fundamental incompleto	24	21,8
Ensino médio incompleto	15	13,6
Ensino fundamental completo	32	29,1
Ensino médio completo	37	33,6
Nível superior completo	1	0,9
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

Com relação à procedência, encontramos 95 (86,4%) pacientes do município de Fortaleza, enquanto 7 (6,4%) foram de municípios da região metropolitana e 8 (7,3%) do interior do estado do Ceará (Tabelas 3 e 4). Não houve pacientes provenientes de outros estados da federação.

TABELA 3 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo por procedência

PROCEDÊNCIA	FREQUÊNCIA	%
Fortaleza	95	86,4
Região Metropolitana	7	6,4
Interior do estado	8	7,3
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

TABELA 4 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo por município de origem

MUNICÍPIO	FREQUÊNCIA	%
Aracati	1	0,9
Baturité	1	0,9
Cascavel	1	0,9
Fortaleza	95	86,4
Guaiúba	1	0,9
Horizonte	1	0,9
Itaitinga	2	1,8
Itapiúna	1	0,9
Jaguaruana	1	0,9
Maracanaú	1	0,9
Mucambo	1	0,9
Ocara	1	0,9
Pacajus	1	0,9
Paraipaba	1	0,9
Tauá	1	0,9
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

De acordo com a renda familiar mensal, 69,1% (n=76) das mulheres apresentaram rendimentos entre um e três salários mínimos, sendo que 28,2% (n=31) declararam uma renda inferior a um salário mínimo (Tabela 5),

TABELA 5 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo quanto à renda familiar mensal

RENDA/ SALÁRIOS MÍNIMOS	FREQUÊNCIA	%
< 1	31	28,2
1 a 3	76	69,1
3 a 5	3	2,7
> 5	0	0
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

Entre os motivos de internamento 93 (84,5%) pacientes foram admitidas nos serviços participantes do estudo por parto a termo, com um caso associado à placenta prévia, 13 (11,8%) pacientes foram internadas por parto prematuro, e duas por pós-datismo (1,8%). Duas pacientes foram internadas por abortamento (1,8%) (TABELA 6).

TABELA 6 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo por motivo de internamento

MOTIVO DE INTERNAMENTO	FREQUÊNCIA	%
Abortamento	2	1,8
Parto a termo	93	84,5
Parto prematuro*	13	11,8
Pós-datismo	2	1,8
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

*Um caso de parto prematuro foi gemelar, um foi complicado por apresentação pélvica e dois por amniorrexe.

Na amostra estudada, o parto vaginal correspondeu a 81 (73,6%) casos, enquanto que o parto cesareano ocorreu em 28 (25,4%) casos, estabelecendo uma relação de 2,8:1 (TABELA 7).

TABELA 7 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo por tipo de parto

TIPO DE PARTO	FREQUÊNCIA	%
Cesareano	27	25,6
Vaginal	81	74,3
Total*	108	100,0

Fonte: Pesquisa própria

*Dois casos de abortamento

Os dados relativos ao atendimento pré-natal realizado pelas pacientes evidenciaram que 101 mulheres compareceram a pelo menos uma consulta de pré-natal, com 47,5% delas tendo comparecido a oito consultas (Tabelas 8 e 9).

TABELA 8 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo quanto à realização de pré-natal

PRÉ-NATAL	FREQUÊNCIA	%
Não	9	8,2
Sim	101	91,8
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

A análise do número de consultas de pré-natal nas pacientes estudadas evidenciou que 78 mulheres, correspondendo a 63,5%, cumpriram a recomendação do Ministério da Saúde de comparecimento a pelo menos seis consultas de pré-natal durante a gestação, havendo predominado no grupo estudado o comparecimento a oito consultas em 48 (47,5%) pacientes. Entre as nove (8,1%) pacientes que não compareceram ao atendimento pré-natal, sete eram procedentes do município de Fortaleza e duas de municípios do litoral leste do estado (TABELA 10).

TABELA 9 – Distribuição das mulheres que fizeram pré-natal por número de consultas

NÚMERO DE CONSULTAS	FREQUÊNCIA	%
1	2	2,0
3	4	4,0
4	5	5,0
5	12	11,9
6	12	11,9
7	6	5,9
8	48	47,5
9	3	3,0
10	9	8,9
Total	101	100,0

Fonte: Pesquisa própria

TABELA 10 – Distribuição das mulheres que não fizeram o pré-natal segundo município de procedência

MUNICÍPIO	FREQUENCIA	%
Fortaleza	7	77,8
Cascavel	1	11,1
Aracati	1	11,1
Total	9	100,0

Fonte: Pesquisa própria

Com relação à história de gestações e abortamentos, 59 (53,6%) pacientes eram primigestas. Entre as pacientes internadas em segunda ou mais gestações o número médio de partos foi de $1,94 \pm 1,45$ (intervalo 1-10) (Tabelas 11 e 12). O número de gestações na população estudada foi ≤ 3 em 97 (88,1%) pacientes com 13 (5,4%) delas apresentando 4 ou mais gestações.

TABELA 11 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo segundo a paridade

NÚMERO DE GESTACOES	FREQUÊNCIA	%
1	59	53,6
2 - 3	38	34,5
4 - 10	13	5,4
Total	110	100

Fonte: Pesquisa própria

TABELA 12 – Distribuição das mulheres de acordo com o número de gestações anteriores e atuais

NÚMERO DE GESTAÇÕES	FREQUENCIA	%
1	59	53,6
2	25	22,7
3	13	11,8
4	7	6,4
5	2	1,8
6	3	2,7
10	1	0,9
Total	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

No tocante à história prévia de abortamentos, a média encontrada na amostra foi 0,18. Em 15 pacientes o número de abortamentos declarado foi um e em duas pacientes havia história de dois abortamentos anteriores à gestação que motivou o internamento durante o estudo (TABELA 13).

TABELA 13 – Distribuição das mulheres de acordo com a história de abortamentos 14 prévios ao parto em estudo

NÚMERO DE ABORTAMENTOS	FREQUÊNCIA	%
0	93	84,5%
1	15	13,6%
2	2	1,8%
Total	110	100,0%

Fonte: Pesquisa própria

As pacientes foram analisadas também de acordo com o grupo sanguíneo ABO e Rh e foi possível obter essa informação em 93 (84,5%) mulheres. Entre as pacientes sem classificação sanguínea estavam aquelas que não realizaram pré-natal e que não portavam esse tipo de documentação no momento da abordagem para entrevista de inclusão no estudo. De acordo com a classificação sanguínea ABO, 47/93 (42,8%) pacientes foram classificadas como do grupo O, 34/93 do grupo A (36,5%), 10/93 (10,7%) do grupo B e 2/93 (2,1%) do grupo AB.

Com relação à classificação para o antígeno D do sistema Rh 11/93 (11,8%) mulheres foram classificadas como RhD negativas, sendo seis do grupo O negativo, três A negativo e dois B negativo (TABELA 14). Esses resultados se sobrepõem aos resultados encontrados em doadores de sangue.

TABELA 14 – Distribuição das mulheres incluídas no estudo segundo a classificação sanguínea

CLASSIFICAÇÃO ABO	CLASSIFICAÇÃO Rh(D)	FREQUÊNCIA	%
A	POSITIVO	31	33,3
	NEGATIVO	3	3,2
B	POSITIVO	8	8,6
	NEGATIVO	2	2,1
AB	POSITIVO	2	2,1
	NEGATIVO	0	0
O	POSITIVO	41	44,0
	NEGATIVO	6	6,4
Total*		93	100,0

Fonte: Pesquisa própria

*17 pacientes não tiveram classificação ABO e RhD disponível

O estudo da HFM foi realizado em todas as gestantes da amostra pelo método de EA e pela CFM em 95 pacientes. O volume médio de sangramento encontrado correspondeu a $4,68 \pm 8,7$ ml de sangue fetal (0 - 70 ml) por EA (GRÁFICO 2) e $0,98 \pm 4,2$ ml de sangue fetal (0 - 15 ml) por CFM (GRÁFICO 3).

Foi possível evidenciar HFM em 537 (48,2%) pacientes por EA e duas (2,1%) por CFM. O número de pacientes com HFM superior a 10 ml foi 3/110 (2,7%) no método de EA e 2/95 (2,1%) pela CFM (Tabelas 15 e 16). A comparação das médias de sangue total fetal demonstrou a maior precisão da CFM (TABELA 17).

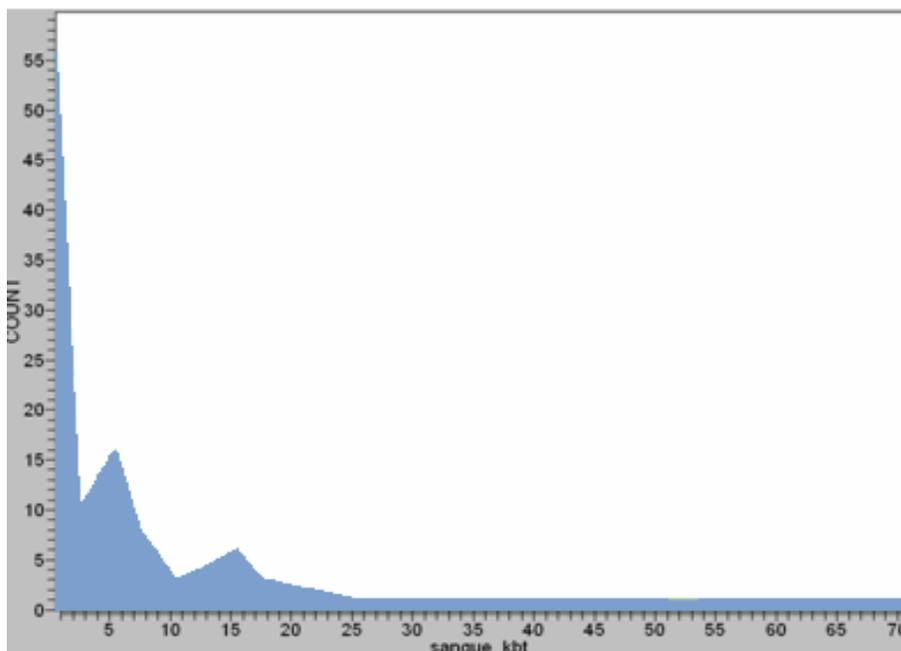


GRÁFICO 2 – Volume de HFM (sangue total fetal) por EA (n=110)

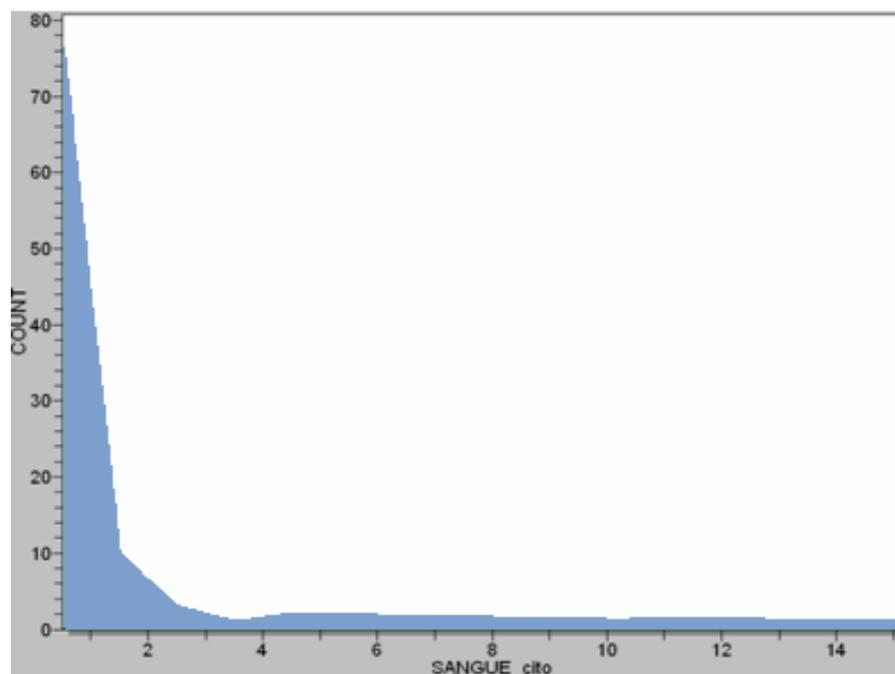


GRÁFICO 3 – Volume de HFM (sangue total fetal) por CFM (n=95)

TABELA 15 – Volume de Hemácias Fetais encontradas por Eluição Ácida

VOLUME (ml)	HEMÁCIAS FETAIS*		SANGUE TOTAL FETAL**	
	n	%	n	%
Indetectável	57	51,82	57	51,8
< 4	34	30,91	10	9,1
4 ≥ HFM > 10	16	14,55	27	24,5
10 ≥ HFM > 30	2	1,82	14	12,7
HFM > 30	1	0,91	2	1,8
TOTAL	110	100	110	100,0

Fonte: Pesquisa própria

HFM: Hemorragia fetomaterna

* Volume de hemácias fetais (ml) = $\frac{\text{N}^{\circ} \text{ de hemácias fetais encontradas}}{\text{N}^{\circ} \text{ de hemácias maternas}} \times 1800\text{ml} \times 1,22 \times 1,09$

** Volume de sangue total fetal (ml) = $\frac{\text{N}^{\circ} \text{ de hemácias fetais encontradas}}{2000 \text{ hemácias maternas}} \times 5000$

TABELA 16 – Volume de HFM e Hemácias Fetais encontradas pelo método de Citometria de Fluxo

VOLUME (ml)	HEMÁCIAS FETAIS*		SANGUE TOTAL FETAL**	
	n	%	n	%
Indetectável	2	2,1	2	2,1
0,1 > HFM > 0,5	12	12,6	52	54,7
0,5 ≥ HFM > 4,0	65	68,4	37	38,9
4,0 ≥ HFM > 10	14	14,7	2	2,1
10 ≥ HFM > 30	2	2,1	2	2,1
TOTAL	95	100,00	95	100,0

Fonte: Pesquisa própria

HFM: Hemorragia fetomaterna

$$* \text{ Volume de hemácias fetais (ml)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hemácias fetais encontradas}}{\text{N}^\circ \text{ de hemácias maternas}} \times 1800\text{ml} \times 1,22$$

$$** \text{ Volume de sangue total fetal (ml)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de hemácias fetais encontradas}}{\text{N}^\circ \text{ hemácias maternas}} \times 5000$$

TABELA 17 – Média do volume de HFM (sangue total fetal) por método de quantificação aplicado

VOLUME (ml)	CITOMETRIA FLUXO		ELUIÇÃO ACIDA	
	n	MÉDIA*	n	MÉDIA*
<4	91	0,627±0,06248	67	0,373±0,1097
≥4 e <10	2	4,369±0,1868	24	5,833±,02457
≥10 e <30	2	13,927±1,1324	17	14,559±0,8900
≥30	0	----	2	51,250±18,75

*Expresso como média ± desvio padrão da média

Fonte: Pesquisa própria

Na tentativa de correlacionar tipo de parto e HFM, não foi possível demonstrar relação entre HFM e parto vaginal ou cesareano, a partir da aplicação do teste do Qui-quadrado com correção de Yates ($\chi^2 = 0,017$; $P = 0,8964$ para EA e $\chi^2 = 0,154$; $P = 0,6946$ para CFM) (Tabela 18). Também não houve correlação significativa entre volume de HFM e parto prematuro e a termo ($\chi^2 = 2,443$; $P = 0,1181$ para EA; $\chi^2 = 0,081$, $P = 0,7763$ para CFM).

TABELA 18 – Volume de HFM encontrado (sangue fetal) por tipo de parto vaginal ou cesareano e método de quantificação empregado

TIPO DE PARTO	> 4 ml		< 4 ml		Total	
	EA	CFM	EA	CFM	EA	CFM
Cesareano	18	1	10	18	28 (25,7%)	19 (20,2%)
Vaginal	49	3	32	73	81 (74,3%)	75 (79,8%)
Total	57 (61,5%)	4 (4,3%)	42 (38,5%)	90 (95,7%)	109	94

Fonte: Pesquisa própria

TABELA 19 – Volume de HFM encontrado (sangue fetal) por tipo de parto a termo ou prematuro e método de quantificação empregado

TIPO DE PARTO	> 4 ml		< 4 ml		Total	
	EA	CFM	EA	CFM	EA	CFM
Parto a termo	3	3	82	82	95 (88,0%)	85 (91,4%)
Parto prematuro	1	1	7	7	13 (12,0%)	8 (8,6%)
Total	41 (38,0%)	89 (95,7%)	67 (62,0%)	4 (4,3%)	108	93

Fonte: Pesquisa própria

O volume de HFM estimado pelas técnicas de EA e CFM mostrou boa correlação pelo coeficiente de Pearson ($R^2= 0,914$ e $P<0,001$) e também quando avaliado pela técnica de regressão linear ($r=0,8360$ $p<0,0001$) (Gráfico 4).

Ao comparar as técnicas de EA e CFM foi evidenciada uma reprodutibilidade razoável (GRÁFICO 5), decorrente das limitações de sensibilidade da EA em estimar volumes de HFM que se encontram inferiores a 0,4 ml. Nessa faixa de valores a CFM revelou-se mais sensível em estimar a HFM que a EA. Na medida de grandes volumes a EA tende a se distanciar da CFM.

Apesar de boa correlação linear e de boa reprodutibilidade, a diferença estatística entre as duas técnicas foi significativa, conforme o teste T aplicado ($t = 5,433$, $P < 0,0001$) revelando a tendência da técnica da EA em superestimar os valores de HFM (GRÁFICOS 6 e 7).

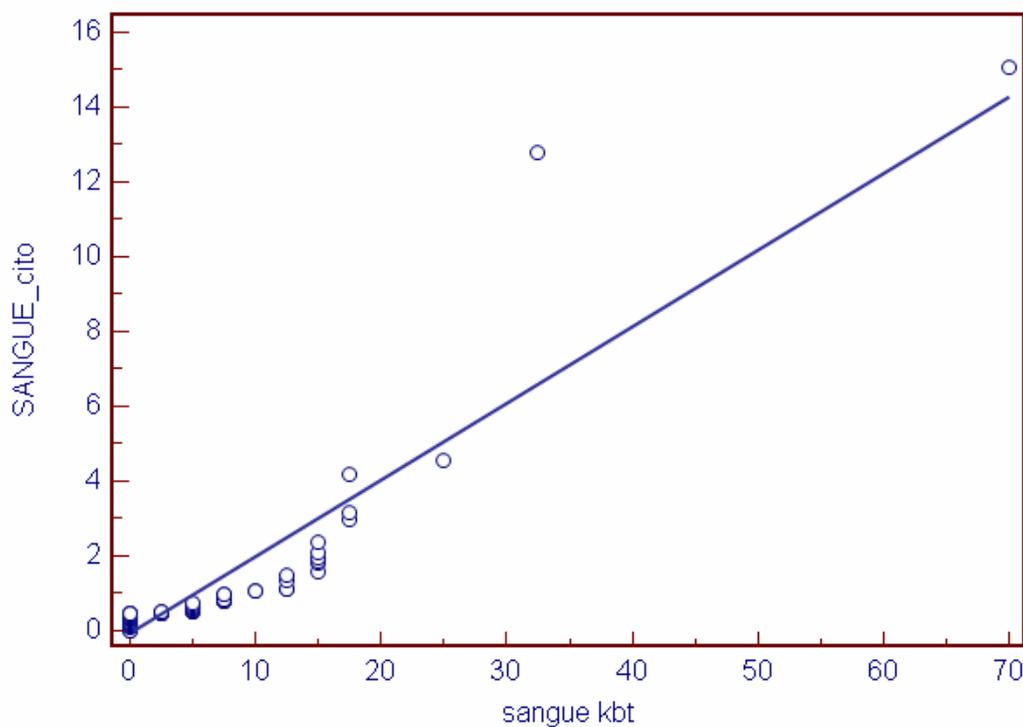


GRÁFICO 4 – Comparação do volume de sangue fetal por EA e CFM utilizando o teste de regressão linear (n=95).

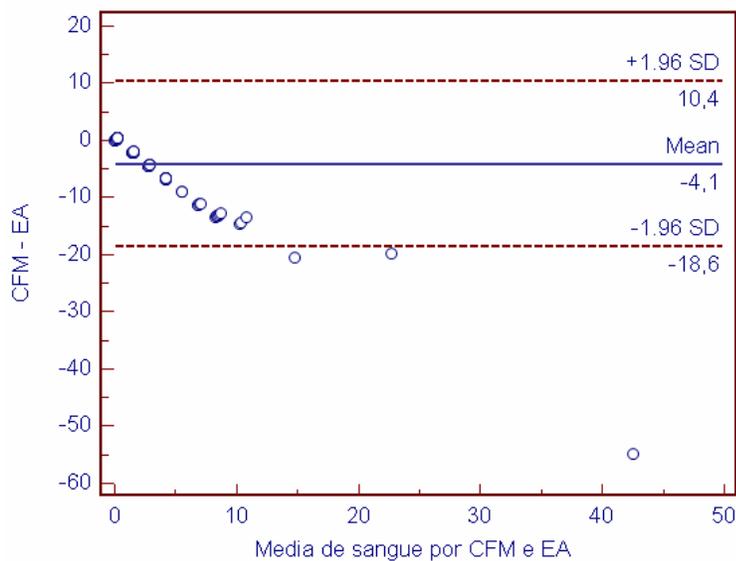


GRÁFICO 5 – Correlação entre as médias de volume de sangue fetal encontrado por CFM e EA na amostra estudada (n=95).

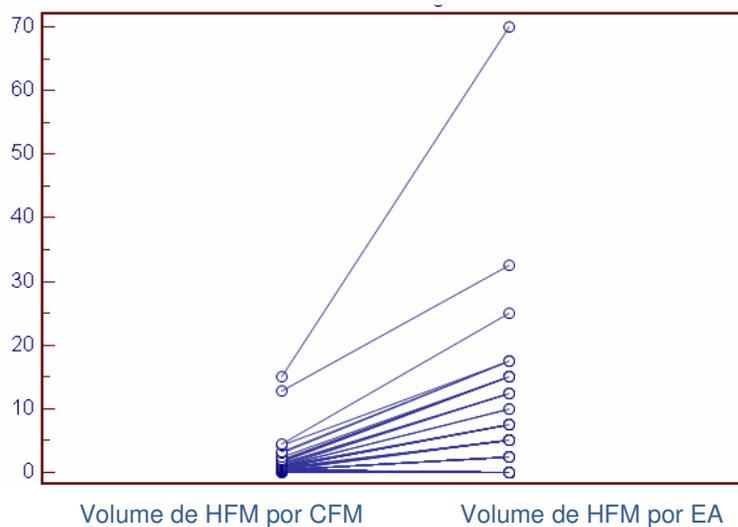


GRÁFICO 6 – Correlação entre volume de sangue total fetal encontrado utilizando as técnicas de EA e CFM (n=95)

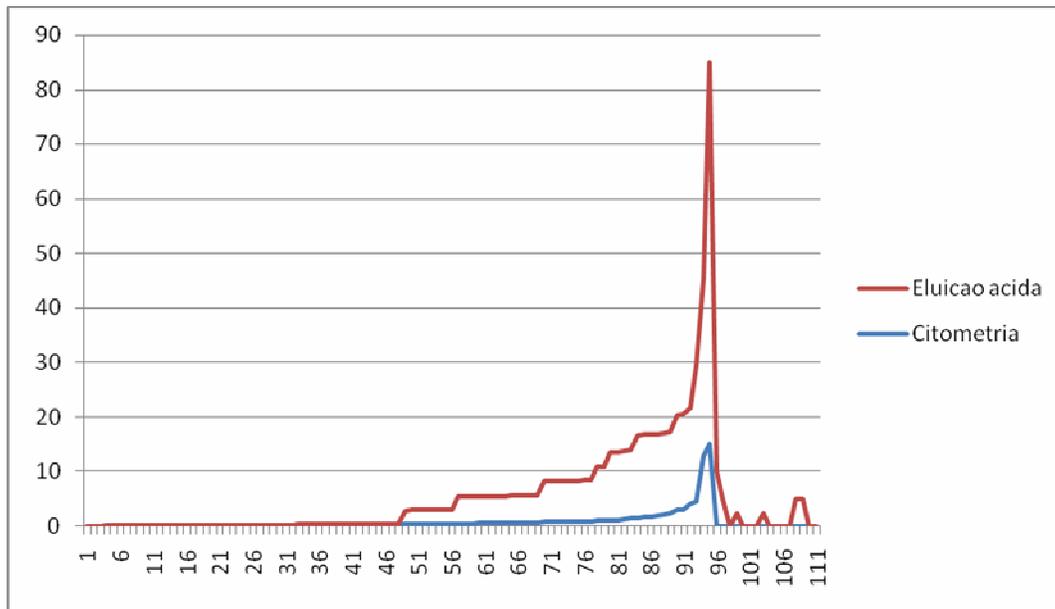


GRÁFICO 7 – Comparação entre volume de sangue total fetal encontrado utilizando as técnicas de EA e CFM.

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) é uma condição clínica que pode comprometer a vida do RN em suas formas mais graves. Está associada à presença de anticorpos maternos contra antígenos eritrocitários do feto ou RN em sua circulação, causando hemólise imunomediada de gravidade variável (ARAÚJO, 2003). A menos que tratada está associada ao desenvolvimento de Kernicterus ou hidropsia fetal em 25% dos casos (BOWMAN, 1997).

A introdução da profilaxia com a utilização sistemática da Imunoglobulina Rh (IgRh) no período pós-parto em mulheres RhD negativas não sensibilizadas representou um impacto positivo na redução da afecção (CONTRERAS, 1998; JAMES, 1998; LEE, 1998; MACKENZIE, 1999). Atualmente, a incompatibilidade ABO é a causa mais freqüente de DHPN no mundo ocidental, embora raramente associada a casos com grandes repercussões clínicas. (ROBERTS, 2008).

No entanto, dados publicados nos EUA em 2002 indicam que cerca de 6,8 gestações por 1000 nascidos vivos foram complicadas pela aloimunização para o antígeno D, na última década (MOISE, 2002). No Reino Unido, em 1990 a incidência de morte neonatal relacionada à aloimunização RhD na primeira semana após o parto foi cerca de 50 casos/ano (JAMES, 1998). No Canadá, a DHPN ainda estava associada a um caso de morte perinatal a cada três anos em algumas regiões do país, na década de noventa (BOWMAN, 1997). Em estudo realizado em 1998, 22.264 gestantes foram triadas para a presença de aloanticorpos eritrocitários clinicamente significantes e em 244 casos identificados, 100 foram relacionados à presença do anti-D, que permanece como anticorpo eritrocitário de maior importância clínica gestacional, principalmente por estar associado a maior morbidade e mortalidade fetais (HOWARD, 1998), embora outros anticorpos dos sistemas Rh (principalmente anti-c), Kell, Duffy, Kidd e MNSs também tenham sido correlacionados em outros estudos (HUGHES, 2007; GARIOD, 2004; VUCINOVIC, 2004; HIROSE, 2004; TO, 2003; HOWARD, 1998; BOWMAN, 1993; BOWMAN, 1992).

Em estudo realizado por Joseph e Kramer em 1998, foi analisada a contribuição da introdução da profilaxia com IgRh na redução dos casos de DHPN entre 1963 e 1988. Quando a sensibilização para o sistema Rh foi considerada como evento final, a profilaxia anti-D foi associada com uma proteção de 61% ao passo que ao se considerar a sensibilização apenas para o antígeno D como evento final, o fator de proteção representado pela imunoprofilaxia foi de 84%. Os autores concluíram, então, que a introdução da imunoprofilaxia foi determinante para a redução de casos ao longo das décadas analisadas, mas que fatores associados a uma melhor assistência pré-natal e durante o parto tiveram grande importância na redução da DHPN e sua morbi-mortalidade (JOSEPH, 1998). A introdução de novos métodos terapêuticos como amniocentese, transfusão intrauterina, interrupção prematura da gestação e exsanguíneotransfusão também teve grande impacto no manuseio de gestantes alo sensibilizadas e seus fetos reduzindo a mortalidade pré e pós-natal (URBANIÁK, 2000).

Apesar de estar associada à redução da morbi-mortalidade da DHPN, a utilização de doses padronizadas de IgRh no pós-parto e no último trimestre da gestação pode não ser suficiente para a prevenção eficaz da DHPN. Alguns estudos demonstraram que a aloimunização residual, em países industrializados, correlaciona-se à não administração de quantidade suficiente de IgRh após eventos sensibilizantes durante a gestação e o parto e eventos de HFM não detectáveis, além da não aderência aos protocolos propostos (URBANIÁK, 1998; JAMES, 1998; BOWMAN, 2006). Causas sócio-econômicas, relacionadas às dificuldades de disponibilização da imunoglobulina também podem estar implicadas (GONZÁLES, 2004). Em países que não utilizam o monitoramento do volume de HFM para orientar a dose de IgRh a ser utilizada, como o Brasil, a falha na identificação de HFM volumosa impossibilita o ajuste de dose necessário para a prevenção da sensibilização (BAIOCHI, 2004; BAIOCHI, 2005).

A passagem de hemácias fetais para a circulação materna foi demonstrada inicialmente por Chown em 1954, a partir de sangramentos na placenta, vasos umbilicais ou anormalidades vasculares do feto (GODALL, 1958). Com o desenvolvimento do método de Eluição Ácida (EA) para coloração de hemácias fetais por Kleihauer e colaboradores em 1957, foi possível documentar a

passagem de hemácias fetais para a circulação materna e quantificar seu volume (BAIOCHI, 2005).

Esse é o teste mais utilizado para quantificação da HFM e recomendado como padrão pelo *British Committee for Standards in Haematology - BCSH*, *National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE*, *American Association of Blood Banking - AABB* e *American Society of Clinical Pathologists - ASCP* (HARTWELL, 1998; KENNEDY, 2006; AUSTIN, 2008; PARKER, 2008; NICE, 2008; RAMSEY, 2009). Tem por princípio a maior resistência da hemoglobina Fetal (HbF) à desnaturação alcalina em eluição ácida comparada à hemoglobina A (HbA) presente nas células adultas (HOWARTH, 2002). Quando lâminas secas de esfregaço sanguíneo materno são fixadas e imersas em uma solução de tampão ácido a HbA é desnaturada e eluída, deixando sombras de hemácias. O conteúdo das hemácias com HbF, é resistente e a célula pode ser corada, quando presente, tornando-se visível entre as células com HbA parcialmente coradas que formam o esfregaço (AUSTIN, 2008).

A quantificação da HFM realizada no presente estudo utilizando o método da EA não detectou sangue fetal em 57/110 (51,8%) pacientes, e encontrou sangramento em 53/110 (48,2%) pacientes com uma variação de sangramento de 2,5 - 70 ml. A técnica de EA é capaz de detectar a presença de 0,5% de células fetais ou HFM em volumes maiores e as pacientes com hemorragia inferior a esse volume apresentam sangramento indetectável pelo método (HARTWELL, 1998). Em nossos resultados essa limitação ficou evidente, visto que entre as 95 pacientes em que foi realizada a quantificação por CFM foi possível detectar HFM em 97,9% das mulheres (93/95) com volumes de hemácias fetais variando de 0,1 - 0,45 ml, ou seja, em apenas duas pacientes com HFM indetectável pela EA não foi possível detectar algum sangramento pela CFM.

De fato, com a utilização da EA alguns autores encontraram um percentual de HFM detectável em 50% e 60% em suas pacientes, semelhante aos resultados encontrados em nossa amostra (PAI, 1975; MANNESSIER, 2000). No entanto, a partir da utilização da CFM em 16 puérperas, Medearis *et al.* relataram a presença de hemácias fetais em todas as pacientes concluindo que a HFM é um fenômeno universal e comum durante a gestação e o parto (MEDEARIS, 1984). O

método apresenta, portanto, uma maior sensibilidade que a EA, podendo detectar volumes muito pequenos de hemácias fetais e definir a presença de sangramento mesmo em volumes indetectáveis pela EA, como demonstrado no presente estudo.

O volume de HFM detectado pela EA em 53 pacientes foi inferior a quatro ml em 10/110 (9,1%), entre 4ml e 10 ml em 27/110 (24,5%), entre 10ml e 30 ml em 14/110 pacientes (12,7 %) com volume de HFM superior a 10 ml, sendo duas delas (1,8%) com sangramento maior que 30 ml. Em 343 puérperas estudadas pelos métodos de Roseta e Kleihauer-Betke foram encontrados 16 pacientes (4,6%) com HFM superior a quatro ml, sendo oito casos (2,3%) de HFM menor que 10 ml, seis casos (1,7%) com HFM entre 10 e 30 ml e dois casos (0,58%) de HFM maior que 30 ml (BAIOCHI, 2005). Vale ressaltar que os autores realizaram o teste de quantificação apenas nas pacientes com triagem positiva e apenas as pacientes com HFM superior a 4 ml foram relatadas como positivas, sem que volumes abaixo de 4 ml fossem considerados. Em nosso estudo o método quantitativo foi realizado na totalidade da amostra, permitindo identificar sangramento menor que 4 ml em 95,7% da amostra por CFM e 82,7% pela EA.

Segundo relato, em 90% dos casos de HFM durante a gestação, o volume envolvido no sangramento é menor que 0,1 ml enquanto 0,4% das mulheres apresentam sangramento maior que 30 ml durante o parto (SEBRING, 1990). Entre 1997 a 2001 foram analisadas por Citometria de Fluxo amostras de 1.248 pacientes em três centros de referência americanos para o diagnóstico de HFM. Na população estudada 5,5% das pacientes (69 de 1.248) apresentaram volume maior que 0,1% de hemácias fetais, 3,8% das pacientes (48 de 1.248) apresentaram sangramento menor do que 30 ml e 1,7% (21 de 1.248) tiveram HFM maior que 30 ml (CHEN, 2002).

A EA apresenta limitações relacionadas à tendência em superestimar volumes maiores de HFM. As dificuldades em padronizar a coloração e contagem das células maternas parcialmente coradas, além da subjetividade de um avaliador humano interferem nos resultados (HOWARTH, 2002). Além disso, o aumento de HbF durante a gestação e/ou gestantes com persistência hereditária de HbF e outras hemoglobinopatias, como doença falciforme e β - talassemia, podem interferir na realização dos testes levando a resultados falsamente elevados (HARTWELL,

1998, AUSTIN, 2008). Em virtude dessas limitações, alguns autores julgam necessária a utilização de testes mais específicos quando grandes volumes de HFM são detectados para evitar doses suplementares inadequadas de IgRh (PATTON, 1990; KUMPEL, 2000; KUSH, 2005).

Quando correlacionados aos resultados obtidos pela CFM, observamos que a EA superestimou o sangramento em volumes superiores a 4 ml, com uma grande divergência em valores acima de 10 ml ($t = 5,433$, $P < 0,0001$). Na presente amostra 4/95 (4,2%) e 43/110 (39%) mulheres apresentaram sangramento acima de quatro ml pelas técnicas de CFM e EA. Os achados estão de acordo com Howarth *et al.* e evidenciam que embora haja concordância com pequenos volumes, houve uma grande divergência entre os dois métodos quando volumes maiores de 10 ml sangramento foram envolvidos (HOWARTH, 2002).

Os dados apresentados evidenciaram 2/110 pacientes com volume de HFM maior que 30 ml na EA que, portanto, necessitariam receber uma dose suplementar de IgRh para uma prevenção eficaz da alo sensibilização. Os resultados da CFM, no entanto, evidenciaram que, embora tenham apresentado sangramento acima de 10 ml, essas pacientes ainda estariam na faixa de segurança para utilização da dose padrão de 300 µg de IgRh. Estão de acordo com Lubenko *et al.*, que relataram a confirmação de 25/54 pacientes com HFM superior a quatro ml de HFM pela EA, quando as mesmas amostras foram submetidas à CFM, reforçando a necessidade de confirmação de grandes hemorragias encontradas pela EA com métodos mais precisos, em virtude da tendência do teste em superestimar o sangramento (LUBENKO, 1999).

A combinação dos dois métodos permitiria, portanto, evitar o uso desnecessário de doses maiores de IgRh nessas pacientes. Os achados corroboram a importância da quantificação da HFM nas pacientes de risco para aloimunização anti-D com um método simples, de baixo custo e eficaz em detectar volumes maiores de sangramento, ao tempo em que sinaliza para a necessidade de submeter às amostras a métodos mais específicos que possibilitem a confirmação dos casos de HFM superior a 30 ml, conduta adotada em alguns países (DZIEGEL, 2006).

O estudo demonstrou que houve correlação entre os dois métodos na detecção de valores críticos. Nos resultados apresentados nenhum valor obtido pela EA inferior a 4 ml de hemácias fetais correspondeu a um valor da CFM superior a quatro ml, ou seja, a EA foi eficaz em identificar pacientes com HFM insignificante do ponto de vista clínico, tendo um valor preditivo negativo de 100% nas pacientes estudadas. Da mesma forma, foi encontrada uma boa correlação entre os métodos realizados no estudo e os testes empregados evidenciaram uma alta significância estatística na comparação dos resultados ($p < 0,0001$; Coeficiente de Pearson = 0,914).

A necessidade de quantificar a HFM está embasada na natureza imprevisível desse fenômeno, como mostrou Giacoia, em revisão de 134 casos de HFM com volume superior a 50 ml relatadas na literatura entre 1966 e 1997, em que não havia causa demonstrável para o sangramento em 82% dos relatos (GIACOIA, 1997). Portanto, é necessário quantificar a HFM em todas as mulheres RhD negativas, especialmente após eventos reconhecidos como potencialmente sensibilizantes após a vigésima semana de gestação. Entre esses eventos estão amniocentese e cordocentese, hemorragia anteparto ou sangramento transvaginal durante a gestação, versão cefálica externa, quedas ou trauma abdominal, morte intrauterina ou natimorto, intervenções terapêuticas intra-útero (transfusão, cirurgia), abortamento ou interrupção terapêutica da gestação (HARTWELL, 1998; CORTEY, 2006; AUSTIN, 2008; PARKER, 2008).

No Brasil, embora o Ministério da Saúde recomende a imunoprofilaxia sistemática em mulheres RhD negativas, não há conduta padronizada no que se refere à dose de imunoglobulina a ser usada ou recomendações para quantificação da HFM em qualquer situação (BRASIL, 2000).

Diversos autores tentaram estabelecer fatores de risco para HFM de volume superior a 30 ml, com o intuito de identificar critérios para racionalizar o seguimento laboratorial da HFM (BAIOCHI, 2005). Múltiplas condições têm sido associadas a HFM incluindo trauma abdominal/politraumatismo, amniocentese, versão cefálica externa, tumores placentários, pré-eclâmpsia e outras desordens hipertensivas da gestação, descolamento prematuro de placenta, gêmeos

univitelinos, transfusão intra-uterina entre gêmeos, placenta prévia, malformações e morte fetal (SAMADI, 1999).

A fim de correlacionar volume de HFM e tipo de parto Ness *et al.* analisaram 789 mães RhD negativas com RNs RhD positivos em um período de 5 anos e não encontraram diferença significativa entre mulheres com parto vaginal e cesareano (NESS, 1987). Da mesma forma, Salim *et al.* estudaram 662 mulheres e não conseguiram estabelecer correlação entre volume de sangramento e tipo de parto (SALIM 2005). Ambos os estudos utilizaram apenas o método de EA. Os resultados descritos no presente estudo, obtidos por EA e por CFM, também demonstraram não haver correlação entre volume de HFM e parto vaginal e cesareano ($p= 0,8964$ para EA e $p = 0,6946$ para CFM), bem como parto prematuro e a termo ($p = 0,1181$ para EA; $p = 0,7763$ para CFM).

Em uma série de 319 natimortos com avaliação laboratorial de HFM, entre 1990 e 1994, Samadi *et al.* concluíram não ser possível prever HFM de maiores volumes a partir de eventos clínicos reconhecidos como fatores de risco, sendo impossível definir apenas a partir das características clínicas as pacientes com maior ou menor risco de apresentar sangramentos importantes (SAMADI, 1999). Da mesma forma, Balderston *et al.* não conseguiram demonstrar maior risco de HFM em 308 pacientes com gestação complicada por sangramento do terceiro trimestre, parto prematuro ou ruptura precoce das membranas. Descolamento prematuro e placenta prévia também não puderam ser correlacionados como fator de risco (BALDERSTON, 2003).

Por outro lado, compatibilidade ABO entre mãe e feto, coriocarcinoma e trauma abdominal parecem estar relacionados com o risco de HFM com maiores volumes (HARTWELL, 1998; KOIKE, 2006; ZIZKA, 2008; ASO, 2009) e situações como versão cefálica externa e procedimentos invasivos durante a gestação necessitam de acompanhamento em virtude da imprevisibilidade da HFM (SCHOLZ, 2009). No entanto, mesmo em situações que parecem não correlacionadas a risco de HFM excessiva como as complicações no primeiro trimestre da gravidez, aborto induzido ou gravidez ectópica, o acompanhamento deve ser feito pela impossibilidade de excluir completamente o risco de sangramento (JABARA, 2003).

Em todas as pacientes (6/110) que apresentaram intercorrências que poderiam favorecer HFM durante o parto (dois casos de parto gemelar, um caso de apresentação pélvica, dois de amniorrexe e um de placenta prévia) foi encontrado um volume de HFM inferior a quatro ml pela CFM.

O objetivo primordial da quantificação da HFM, embora usada no monitoramento de intercorrências na gravidez e parto (MUENCH, 2004), é a profilaxia eficaz da DHPN. Foi demonstrado que após administração de dose insuficiente de IgRh não é possível evidenciar o *clearance* da população de células RhD positivas (LARSEN, 2008) e a dose deve ser proporcional ao volume de HFM encontrado antes que a resposta imune primária ocorra e que sensibilização materna seja irreversível (PARKER, 2008).

Considerando que 20 µg de IgRh é suficiente para proteger contra sangramento de 1 ml de hemácias fetais ou 2 ml de sangue total, a dose de 300 µg (1500 UI) recomendada por autores americanos é o bastante para prevenir a aloimunização em casos de HFM de até 30 ml (HARTWELL, 1998, RAMSEY, 2009). Na Europa, doses diferenciadas de IgRh são correlacionadas a intercorrências na gravidez e parto e ao tamanho do sangramento após a quantificação (AUSTIN, 2008; PARKER, 2008; NICE, 2008) e, em pacientes após 20 semanas de gestação, a dose de 500 UI (100 µg) de IgRh é proposta para HFM inferior a quatro ml com doses adicionais quando a HFM é superior a 4 ml (PARKER, 2008), respeitando o intervalo de até 72 horas pós o parto (CONTRERAS, 1998).

As recomendações do Ministério da Saúde do Brasil em seu Manual Técnico para Atendimento de Gestação de Alto Risco preconizam evitar amniocentese nas gestantes RhD negativas não sensibilizadas e administrar IgRh dentro das primeiras 72 horas em mães RhD negativas não sensibilizadas com partos de recém-nascido RhD positivo, pós-abortamento, gravidez ectópica ou mola, pós-amniocentese, cordocentese ou biópsia de vilosidade corial, depois de sangramento durante a gestação. Recomenda ainda administração de IgRh durante a gestação de mulheres RhD negativas não sensibilizadas com marido RhD positivo entre 28^a e 34^a semanas. Não existem especificações, no entanto, relacionadas à dose a ser utilizada ou qualquer referência a respeito da necessidade de monitoramento do volume de HFM (BRASIL, 2000).

Na ausência de recomendações bem estabelecidas em nosso país, a dose utilizada segue a recomendação americana, sem que, no entanto, seja realizada a quantificação do volume de HFM (MIYADAHIRA, 2000; BAIOCHI, 2005).

A partir do percentual de pacientes com volume de HFM inferior a quatro ml em nosso estudo, de 95,7% por CFM e 61% pela EA, podemos concluir que a dose padronizada de 300 µg está 2/3 (dois terços) acima do necessário em mais de 60% das pacientes, o que representa desperdício de utilização de um recurso terapêutico limitado, além de recursos financeiros. Estudo publicado recentemente realizado na Austrália concluiu pela conveniência de utilizar doses reduzidas de IgRh para pacientes com HFM de pequenos volumes (AUGUSTSON, 2006).

O investimento por dose de 300 µg no estado variou de R\$ 103,57 a R\$ 170,00 no mercado local em abril de 2009, apenas para aquisição da IgRh, e os dados apresentados demonstram uma possibilidade real de redução de custos com a individualização da dose o que, por si só, justificaria a adoção da conduta de quantificação sistemática da HFM. Acrescente-se ainda, o benefício de permitir a utilização de doses adicionais e prevenir eficazmente a aloimunização em pacientes com HFM superior à faixa padronizada de proteção.

No Ceará, ocorreram 135.833 nascimentos vivos em 2006 (CEARÁ, 2009). Considerando a distribuição do fenótipo RhD negativo (9,09%) na população de doadores do estado descrita por Alves em 2005 (ALVES, 2005), o número de partos em mulheres RhD negativas, por ano, varia em torno de 12.347. Entre esses nascimentos, 11.224 podem ser de RNs RhD positivos, o que pode ser usado como uma estimativa de mulheres com potencial exposição à aloimunização. Considerando que 0,2 - 3 % das mulheres podem apresentar HFM superior a 30 ml de sangue fetal (BAIOCHI, 2005) a necessidade de dose suplementar de IgRh em nosso estado poderia vir a ocorrer em 22 a 336 pacientes/ano.

As complicações inerentes à formação do anti-D em mulheres em idade fértil, os desdobramentos relacionados ao atendimento de gestação de alto risco, abortamentos de repetição, prematuridade e os procedimentos especiais necessários ao manuseio de complicações obstétricas e neonatais correlacionadas, justificam o investimento necessário para identificar adequadamente essas

pacientes, a partir da realização de testes quantitativos e/ou semiquantitativos para todas as pacientes expostas ao risco.

O custo direto envolvido na realização do teste de EA e CFM em nosso estudo foi de R\$ 5,23 e R\$ 98,94, respectivamente. Embora a CFM represente um teste com maior acurácia, sensibilidade e reprodutibilidade, o alto custo envolvido em sua realização, a necessidade de equipamentos, reagentes e profissionais especializados, além da disponibilidade apenas na capital do estado, impedem sua aplicação em todas as pacientes RhD negativas. Por outro lado, as características do método permitem um resultado fidedigno e isento das imprecisões da EA. É, portanto, racional a combinação dos dois métodos nas gestantes RhD negativas não sensibilizadas, proporcionando a triagem de HFM maior que 30 ml em todas com a EA e a confirmação ou exclusão dos casos a partir da utilização da CFM. Ao lado disso, é preciso analisar o custo e logística para implantação de laboratórios de referência, capazes de realizar as técnicas com a presteza e segurança necessárias.

A combinação da quantificação da HFM com a disponibilização de IgRh em diferentes apresentações proporcionaria o uso racional da imunoglobulina com doses personalizadas, mais baixas em pacientes com pequeno volume de HFM e mais altas naquelas com volume superior a 30 ml de sangue fetal.

É conveniente, portanto, aprofundar a discussão do tema através de novos estudos na população de risco para definir uma estratégia de atenção adequada às gestantes, racionalizando o atendimento e prevenindo desperdício de recursos e falha na profilaxia da imunização materna. O investimento feito no atendimento à gestante e ao parto no Brasil já demonstrou um importante impacto positivo na redução da mortalidade materna e fetal no país e os dados ora apresentados apontam para um problema parcialmente equalizado que precisa ser melhor avaliado para que uma assistência de melhor qualidade seja prestada à população.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

- Os dados apresentados no estudo corroboram com resultados relatados na literatura no que concerne ao volume de HFM encontrado.
- Foi possível demonstrar uma boa correlação estatística entre os métodos laboratoriais aplicados.
- O teste de Eluição Ácida (EA) mostrou-se eficaz para definir a população de gestantes com hemorragia fetomaterna (HFM) insignificante e superestimou volumes maiores de sangramento. Por se tratar de um método de custo acessível, pode ser usado para triagem laboratorial em populações de risco, sendo necessária a confirmação de volumes de HFM superiores a 30 ml com a utilização de testes mais específicos.
- A aplicação do método de Citometria de Fluxo foi fundamental nos casos de HFM de maior volume encontrados pela EA.
- Considerando que a dose de IgRh padronizada nos serviços de atendimento obstétrico no país é de 300 µg, foi demonstrado que mais de 60% das gestantes poderiam estar recebendo uma dose de IgRh superior ao necessário, enquanto os casos que se beneficiariam de dose mais alta que a padronizada não são identificados.
- A associação das técnicas de EA e CFM para quantificação da HFM mostrou-se clinicamente sensível, rápida, eficaz e de baixo custo, sendo recomendável sua implantação no âmbito do SUS.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALVES, T. M. A **Grupos sanguíneos ABO e Rh**: perfil em 149.897 doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – Hemoce. 2005. Monografia (Especialização)- Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Ceará, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

AMEEN, R.; AL-EYAADI, O.; AL-SHEMMARI, S.; CHOWDHURY, R.; AL-BASHIR, A. Frequency of red blood cell alloantibody in Kuwaiti population. **Med. Princ. Pract.**, v. 14, p. 230-233, 2005.

ARAÚJO, M. A.; DEFFUNE, E.; CARLOS, L. M. B.; MAGALHÃES, S. M. M.; GOLIM, M. M.; CÂMARA, L. L. C. Avaliação das subclasses IgG1 e IgG3 na doença hemolítica perinatal. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 25, n. 4, p.201-206, 2003.

ASO, H.; TSUKMORI, K.; YUMOTO, Y.; HOJO, S.; FUKUSHIMA, K.; KOGA, T.; SUEISHI, K.; TAKAHATA, Y.; HARA, T.; WAKE, N. Prenatal Findings in a Case of Massive Fetomaternal Hemorrhage Associated with Intraplacental Choriocarcinoma. **Fetal Diagn. Ther.**, v. 25, n. 1, p. 158-162, 2009.

AUGUSTSON, M. A.; FONG, E. A.; GREY, D. E.; DAVIES, J. I.; ERBER, W.N. Postpartum anti-D: can we safely reduce the dose? **MJA**, v.184, n. 12, p. 611-613, 2006.

AUSTIN, E.; BATES, S.; DE SILVA, M.; HOWARTH, D.; LUBENKO, A.; ROWLEY, M.; SCOTT, M.; THOMAS, E.; WHITE, J.; WILLIAMS, M. **Guidelines for the estimation of fetomaternal haemorrhage**. Working party of the British Committee for Standards in Haematology. Transfusion Taskforce. Disponível em : <http://www.bcshguidelines.com/pdf/FMH_guideine_280409.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2009.

BAIOCHI, E.; CAMANO, L.; BORDIN, J. O. Avaliação da hemorragia feto-materna em puérperas com indicação para ministração de imunoglobulina anti-D. **Cad. Saúde Pública**, v. 21, p.1357-1365, 2005.

BAIOCHI, E.; CAMANO, L.; BORDIN, J. O.; AVRITSCHER, A. P.; ANDRADE, C. M. A.; TRAINA, E. Por que usamos Imunoglobulina Anti-D em excesso no abortamento precoce? **RBGO Rev. Bras. Ginecol. Obstetr.**, v. 26, p. 363-367, 2004.

BALDERSTON, K. D.; TOWERS, C. V.; RUMNEY, R. N. C.; MONTGOMERY, D. Is the incidence of fetal-maternal hemorrhage increased in patients with third-trimester bleeding? **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 188, n. 6, p. 1615-1621, June 2003.

BAUER, M. P.; WIERSUM-OSSELTON, J.; SCHIPPERUS, M.; VANDENBROUCKE, J. P.; BRIET, E. Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion. **Transfusion**, v. 47, p. 2066-2071, 2007.

BORDIN, J. A. Aloimunização após transfusão de concentrado de hemácias em pacientes atendidos em um serviço de emergência. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 4, p. 339-340, 2007.

BOUDIER, E.; LANGER, B.; MARTINEZ, C.; SCHUMPP, M.; TREISSER, A.; SCHLAEDER, G. Massive feto-maternal transfusion. Report of 3 cases with review of the literature. **J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.**, v. 28, p. 456-461, 1999.

BOWMAN, J. The management of hemolytic disease in the fetus and newborn **Sem. Perinatol.**, v. 21, n. 1, p. 39-44, 1997.

BOWMAN, J. M.; POLLOCK, J.; MANNING, F. A.; HARMAN, C. R. Severe anti-C hemolytic disease of the newborn. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 166, n. 4, p. 1239-1243, 1992.

BOWMAN, J. M.; POLLOCK, J. Maternal CW alloimmunization. **Vox Sang.**, v. 64, n. 4, p. 226-230, 1993.

BOWMAN, J. Rh-immunoglobulin: Rh profylaxis. **Best Pract. Res. Clin. Haematol.**, v. 19, n. 1, p. 27-34, 2006.

BRANGER, B.; WINER, N. Recommandations pour la pratique clinique prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D foeto-maternelle épidémiologie de l'allo-immunisation anti-dependant la grossesse. **J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.**, v. 35, suppl. au n° 1, p. 1S87-1S92, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Gestação de alto risco**: Manual técnico. Brasília, 2000. 223 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Hemovigilância**: manual técnico para investigação das reações transfusionais imediatas e tardias não infecciosas. Brasília, 2007. 124 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sistema de informações sobre nascidos vivos**: número de nascidos vivos segundo UF de residência da mãe, Brasil 1996 a 2002. Disponível em : <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nascidos_totais_sinasc.pdf>. Acesso em : 20 jan. 2008.

BRINC, D.; LE-TIEN, H.; CROW, A. R.; FREEDMAN, J.; LAZARUS, A. H. IgG-mediated immunosuppression is not dependent on erythrocyte clearance or immunological evasion: implications for the mechanism of action of anti-D in the

prevention of haemolytic disease of the newborn? **Br. J. Haematol.**, v. 139, n. 2, p. 275-279, 2007.

BRINC, D.; LE-TIEN, H.; CROW, A. R.; FREEDMAN, J.; LAZARUS, A. H. Immunoglobulin G-mediated regulation of the murine immune response to transfused red blood cells occurs in the absence of active immune suppression: implications for the mechanism of action of anti-D in the prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn? **Immunology**, v. 124, n. 1, p. 141-146, 2008.

CABRAL, A. C. V.; TAVEIRA, M. R.; LOPES, A. P. M. B.; PEREIRA, A. K.; LEITE, H. V. Transfusão intra-uterina na Isoimunização Materna pelo Fator Rh. **RBGO**, Rev. Bras. Ginecol. Obstetr., v. 23, p. 299-303, 2001.

CARMA, L.; MYERS, J.; GINDY, L. Blood Groups. In: P. LAWRENCE D. PETZ. In: **Clinical practice of transfusion medicine**. 3. ed. New York: Churchill Livingstone, 1996. p. 71-151.

CASTILHO, L. O futuro da aloimunização eritrocitária. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 30, n. 4, p. 259-265, 2008.

CEARÁ. Secretaria Estadual da Saúde. **Informações demográficas e socioeconômicas 1997 – 2006**. Disponível em: <http://www.saude.ce.gov.br/site/index.php?option=com_content&view=article&id=15>. Acesso em: 12 mai. 2009.

CHAPMAN, G. E.; BALINGER, J. R.; NORTON, M. J.; PARRY-JONES, D. R.; BEHARRY, N. A.; COUSINS, C.; DASH, C. H.; PETERS, A. M. The clearance kinetics of autologous RhD-positive erythrocytes coated ex vivo with novel recombinant and monoclonal anti-D antibodies. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 150, p. 30-41, 2007.

CHAPMAN, J. F. ; BAIN, J. B. ; BATES, S. C. ; KNOWLES, S. M. ; SHWE, K. H. ; PARKER-WILLIAMS, J. ; ROBSON, L. ; ROBSON, L. C. The estimation of fetomaternal haemorrhage. **Transf. Med.**, v. 9, p. 87-92, 2001.

CHEN, J. C.; DAVIS, B. H.; WOOD, B.; WARZYNSKI, M. J. Multicenter clinical experience with flow cytometric method for fetomaternal hemorrhage detection. **Cytometry**, v. 50, p. 285–290, 2002.

CONTRERAS, M. The prevention of Rh haemolytic disease of the fetus and newborn – general background. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 105, p. 7-10, 1998.

CORTEY, A.; BROSSARD, Y. Prévention de l'allo-immunization Rhésus-D foeto-maternelle – Aspects pratiques. **J. Gynaecol. Obstet. Biol. Reprod.**, v. 35, 1 suppl., p. 1S123-1S130, 2006.

COZAC, A. P. C. N. C. Sistema de Grupo Sangüíneo ABO. In: COVAS, D.T.; LANGHI, J. D. M.; BORDIN, J. O. **Hemoterapia**: fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 125-136.

DANIELS, G. L.; FLETCHER, A.; GARRATTY, G.; HENRY, S.; JØRGENSEN, J.; JUDD, W. J. *et al.* Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. **Vox Sang.**, v. 87, p. 304-316, 2004.

DANIELS, G. Rh blood group system. In: DANIELS, G. Human blood groups. Oxford: Blackwell Science, 1995.

DANIELS, G.; CASTILHO, L.; FLEGEL, W. A.; FLETCHER, A.; GARRATTY, C.; LEVENE, C. LOMAS-FRANCS, C.; MOULDS, J. M.; MOULDS, J.J.; OLSSON, M. L.; OVERBEEKE, M.; POOLE, J.; REID, M. E.; ROUGER, P.; VAN DER SCHOOT, E.; SCOTT, M.; SISTONEN, P. SMART, E.; STORRY, J. R.; TANI, Y.; YU, L. -C.; WENDEL, S.; WHESTHOFF, C.; YAHALOM, V.; ZELINSKI, T. International Society of Blood Transfusion Committee on terminology for red blood cell surface antigens: Macao report. **Vox Sang.**, v. 96, p. 153-156, 2008.

DATASUS. **Sistemas e aplicativos**: eventos vitais. 2008. Disponível em : <http://w3.datasus.gov.br/datasus/datasus.php?area=361A3B368C7D0E0F361G12H011Jd7L47M0N&VInclude=../site/din_sist.php>. Acesso em: 22 fev. 2008.

DAVID, M.; STELTZER, A.; WITTMANN, G.; DUDENHAUSEN, J. W.; SALAMA, A. Gel agglutination test – a new test system for semiquantitative detection of fetomaternal transfusion in Rhesus incompatibility. **Z. Geburtshilfe Neonatol.**, v. 203, n. 6, p. 241-245, 1999.

DAVIS, B. H.; OLSEN, S.; BIGELOW, N. C.; CHEN, J. C. Detection of fetal red cells in fetomaternal hemorrhage using a fetal hemoglobin monoclonal antibody by flow cytometry. **Transfusion**, v. 38, p. 749-756, 1998.

DE ALMEIDA, V.; BOWMAN, J. M. Massive fetomaternal hemorrhage: Manitoba experience. **Obstetr. Gynecol.**, v. 83, n. 3, p. 323-328, 1994.

DE VRIES, B. S.; COSSART, Y. E.; MURRAY, H.; PEEK, M. J. Transplacental haemorrhage may explain the intrapartum transmission of HIV. A pilot study uses flow cytometry to quantify maternal red blood cells in infants born vaginally or by caesarean section. **Aust. N Z J. Obstet Gynaecol.**, v. 48, n. 6, p. 575-579, 2008.

DEL PEON-HIDALGO, L.; PACHECO-CANO, M. G.; ZAVALA-RUIZ, M.; MADUEÑO-LÓPEZ, A.; GARCÍA-GONZÁLEZ, A. Blood group ABO and RhD frequencies and incompatibilities in La Paz, Baja California Sur, Mexico. **Salud Pública Méx.**, v. 44, n. 5, p. 406-412, 2002 .

DORNAN, J. ; BOYLE, M. ; FOSTER, E. ; HARPER, A. ; KENNEDY, F. ; MILLAR, E. ; MORRIS, K. ; O'HARE, M. **Guidelines for the use of anti-D immunoglobulin for Rhesus (Rh) Prophylaxis**. 2000. Disponível em: <http://www.crestni.org.uk/publications/GUIDELINES_FOR_THE_USE_OF_ANTI-D.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2007.

DZIEGEL, M. H.; KOLDKJOER, O.; BERKOWICZ, A. detecting fetomaternal hemorrhage by flow cytometry. **Curr. Opin. Hematol.**, v. 13, p. 490-495, 2006.

DZIEGEL, M. H.; KOLDKJOER, O.; BERKOWICZ, A. Massive antenatal fetomaternal hemorrhage: evidence for long survival of fetal red blood cells. **Transfusion**, v. 45, p. 539-544, 2005.

FONG, E. A.; DAVIES, J. I.; GREY, D. E.; REID, P. J.; ERBER, W. N. Detection of massive transplacental haemorrhage by flow cytometry. **Clin. Lab. Haematol.**, v. 22, p. 325-332, 2000.

FUNG KEE FUNG, K.; EASON, E.; CRANE, J.; ARMSON, A.; DE LA RONDE, S.; FARINE, D.; KEENAN-LINDSAY, L.; LEDUC, L.; REID, G. J.; AERDE, J. V.; WILSON, R. D.; DAVIES, G.; DÉSILETS, V. A.; SUMMERS, A.; WYATT, P.; YOUNG, D. C. Maternal-Fetal Medicine Committee, Genetics Committee. Prevention of Rh alloimmunization. **J. Obstet. Gynaecol. Can.**, v. 25, n. 9, p. 765-773, 2003.

GARIOD, S.; BROSSARD, Y.; POISSONIE, M. H.; VUILLIEZ, B.; DEUTSCH, V. JOUK, P. S.; PONS, J. C. Kell alloimmunization in pregnancy. **J. Gynaecol. Obstet. Biol. Reprod.**, v. 33, n. 7, p. 637-648, 2004.

GIACOIA, G. P. Severe fetomaternal hemorrhage: a review. **Obstet. Gynecol. Surv.**, v. 52, n. 6, p. 372-380, 1997.

GODALL, H. B.; GRAHAM, F. S.; MILLER, M. C.; CAMERON, C. Transplacental bleeding from the foetus. **J. Clin. Pathol.**, v. 11, n. 3, p. 251-260, 1958.

GOLDMAN, M.; BLAJCHMAN, M. A.; ALI, M. A. Overestimation of fetomaternal haemorrhage by the acid-elution technique in mothers with beta-talassaemia minor. **Transfus. Med.**, v. 1, n. 2, p. 129-132, 1991.

GÓMEZ-ARBONÉS, X.; PINACHO, A.; ORTIZ, P.; MACIA, J.; GALLART, M.; ARAGUAS, C.; SANCHEZ, J. M.; TEIXIDO, M. Quantification of haemorrhage. An analysis of two citometric techniques and a semiquantitative gel agglutination test. **Clin. Lab. Haematol.**, v. 24, n. 1, p. 47-53, 2002.

GONZALES, B. H. Prevencion de la isoimmunizacion maternal al antígeno RhD. **Salud Publica Mex.**, v. 46, n. 3, p. 3-4, 2004.

HADLEY, A. G.; KUMPEL, B. M. The role of Rh antibodies in haemolytic disease of the newborn. **Baillieres Clin. Haematol.**, v. 6, n. 2, p. 423-444, 1993.

HARTWELL, E. A. Use of Rh immune globulin. ASCP Practice Parameter. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 110, p. 281-292, 1998.

HIROSE, M.; NAKANISHI, K.; KAKU, S.; MORO, H.; HODOHARA, K.; AOTANI, H.; TAKEBAYASHI, K.; NODA, Y. Fetal hemolytic disease due to anti-Rh-17 alloimmunization. **Fetal Diagn. Ther.**, v. 19, n. 2, p. 182-186, 2004.

HOSPITAL GERAL DR. CÉSAR CALS – HGCC. **Portal do HGCC**. Disponível em: < <http://www.hgcc.ce.gov.br/index.htm> > . Acesso em: 3 mar. 2008.

HOWARD, H.; MARTLEW, V.; MCFADYEN, I.; CLARKE, C.; DUGUID, J.; BROMILOW, I.; EGGINGTON, J. Consequences for fetus and neonate of maternal red cell allo-immunisation. **Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal.**, v. 78, n. 1, p. F62-66, 1998.

HOWARTH, D. J.; ROBINSON, F. M.; WILLIAMS, M.; NORFOLK, D. R. A modified Kleihauer technique for the quantification of foetomaternal haemorrhage. **Transfus. Med.**, v. 12, p. 373-378, 2002.

HUGHES, L. H.; ROSSI, K. Q.; KRUGH, D. W.; O'SHAUGHNESSY, R. W. Management of pregnancies complicated by anti-Fy^a alloimmunization. **Transfusion**, v. 47, p. 1858-1861, 2007.

ISHIHARA, H.; TAKAHASHI, H.; TAKEUCHI, Y.; KIGAWA, J.; SAWAZUMI, K.; ITO, T.; MAEDA, K. Massive fetomaternal hemorrhage: case report. **Asia Oceania J. Obstet. Gynaecol.**, v. 16, n. 3, p. 225-228, 1990.

ISSITT, P. D. Review: the Rh blood group system: an historical calendar. **Immunohematology**, v. 21, p. 141-145, 2005.

JABARA, S.; BARNHART, K. T. Is Rh immune globulin needed in early first-trimester abortion? A review. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 188, n. 3, p. 623-627, 2003.

JAMES, D. Anti-D prophylaxis in 1997: The Edinburg Consensus Statement. **Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal. Ed.**, v. 78, n. 3, p. F161-163, 1998.

JONES, M. L.; WRAY, J.; WIGHT, J.; CHILCOTT, J.; FORMAN, K.; TAPPENDEN, P.; BEVERLEY, C. A review of the clinical effectiveness of routine antenatal anti-D prophylaxis for rhesus-negative women who are pregnant. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 111, p. 892-902, 2004.

JOSEPH, K. S.; KRAMER, M. S. The decline in Rh hemolytic disease: should Rh prophylaxis get all the credit? **Am. J. Public Health**, v. 88, n. 2, p. 209-215, 1998.

KENNEDY, M. S. Perinatal issues in transfusion practice. In: AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS (AABB). **Technical manual**. 16rd ed. Bethesda, Maryland, 2006. cap. 22, p. 625-637.

KOIKE, Y.; WAKAMATSU, H.; KUROKI, Y.; ISOZAKI, A.; ISHII, S.; FUJITSUKA, S. Fetomaternal hemorrhage caused by an intraplacental choriocarcinoma: a case report and review of literature in Japan. **Am. J. Perinatol.**, v. 23, n. 1, p. 49-52, 2006.

KUMPEL, B. M. Analysis of factors affecting quantification of fetomaternal hemorrhage by flow cytometry. **Transfusion**, v. 40, p. 1376-1382, 2000.

_____. On the mechanism of tolerance to the RhD antigen mediated by passive anti-D (Rh D profilaxis). **Immunol Lett.**, v. 82, n. 1-2, p. 67-73, 2002.

_____. On the immunologic basis of Rh immune globulin (anti-D) prophylaxis. **Transfusion**, v. 46, p. 1652-1656, 2006.

_____. Monoclonal anti-D development programme. **Transpl. Immunol.**, v. 10, n. 2-3, p. 199-204, 2002.

KUMPEL, B. M. Labeling D+ RBCs for flow cytometric quantification of fetomaternal hemorrhage after the RBCs have been coated with anti-D. **Transfusion**, v. 41, n. 8, p. 1059-1063, 2001.

KUSH, M. L.; MUENCH, M. V.; HARMAN, C. R.; BASCHAT, A. A. Persistente fetal hemoglobin in maternal circulation complicating the diagnosis of fetomaternal hemorrhage. **Obstet. Gynecol.**, v. 105, n. 4, p. 872-874, 2005.

LAND, K. J.; LASARRE, M.; STRALEY, M. Worried that your laboratory doesn't measure up? **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 133, p. 343-345, 2009.

LANDSTEINER, K.; WIENER, A. S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med. NY**, v. 48, p. 223-224, 1940.

LARSEN, R.; BERKOVICZ, A.; LOUSEN, T.; HEDEGAARD, M.; CLAUSEN, G. K.; DZIEGEL, M. Massive fetomaternal hemorrhage: clearance of fetal red cells after intravenous anti-D prophylaxis monitored by flow cytometry. **Transfusion** vol 48, p. 1707-1712, 2008.

LEE, D. Preventing RhD haemolytic disease of the newborn. Revised guidelines advocate two doses of anti-D immunoglobulin for antenatal prophylaxis. **Letters. BMJ**, v. 316, p. 1611, 1998.

LEFRERE, J. J.; ROUGER, P. Transfusion dans la période Néonatale. In : _____. **Pratique nouvelle de la transfusion sanguine**. 2. ed. Paris: Masson, 2006. p. 90-91.

LEVINE, P.; KATZIN, E. M.; BURNHAM, L. Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis foetalis. **JAMA**, v. 116, p. 825-827, 1941.

LIMA J. A. **Incidência de aloimunização em gestantes Rh negativo da Maternidade Escola Assis Chateaubriand**. 1995. Monografia (Especialização) – Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Ceará, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.

LITTLE, B. H.; ROBSON, R.; ROEMER, B.; SCOTT, C. S. Immunocytometric quantitation of foeto-maternal haemorrhage with the Abbott Cell-Dyn CD 4000 haematology analyser. **Clin. Lab. Haematol.**, v. 27, p. 21-31, 2005.

LLOYD-EVANS, P.; GUEST, A.R.; VOAK, D.; SCOTT, M.L. Detection of weak D and D(VI) red cells in D-negative mixtures by flow cytometry: implications for foeto-maternal haemorrhage quantification and D typing policies for newborns. **Br. J. Haematol.**, v. 104, n. 3, p. 621-625, 1999.

LLOYD-EVANS, P.; KUMPEL, B.M.; BROMELOW, I.; AUSTIN, E.; TAYLOR, E. Use of a directly conjugated monoclonal anti-D (BRAD-3) for quantification of fetomaternal hemorrhage by flow cytometry. **Transfusion**, v. 36, n. 5, p. 392-393, 1996.

LUBENKO, A.; WILLIAMS, J. P.; ARMSTRONG, D.; MACLENNAN, S. Monitoring the clearance of fetal RhD-positive red cells en FMH following RhD immunoglobulin administration. **Transfus. Med.**, v. 9, p. 331-335, 1999.

MAAYAN-METZGER, A.; SCHWARTZ, T.; SULKES, J.; MERLOB, P. Maternal anti-D prophylaxis during pregnancy does not cause neonatal haemolysis. **Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.**, v. 84, p. F60-F62, 2001.

MACKENZIE, I. Z.; BOWELL, P.; GREGORY, H.; PRATT, G.; GUEST, C.; ENTWISTLE, C. C. Routine antenatal rhesus D immunoglobulin profilaxis: the results of a prospective 10 year study. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 106, p. 492-497, 1999.

MANNESSIER, L.; ALIE-DARAM, S.; ROUBINET, F.; VALAT, A.-S.; DEPOOTÈRE, M. -H.; FOURNIÉ, A.; PUECH, F. La prevention de la maladie hémolytique du foetus et du nouveau-né: il faut agir! **J. Gynécol. Obstétr. Biol. Reprod.**, v. 29, n. 5, p. 441, 2000.

MARIONS, L.; THOMASSEN, P. Six cases of massive foeto-maternal bleeding causing intra-uterine fetal death. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.** v. 70. P. 85-88. 1991.

MATIJEVIC, R.; GRGIC, O.; KLOBUCAR, A.; MISKOVIC, B. Diagnosis and management of Rh Alloimmunization. **Fetal Diagn. Ther.**, v. 20, p. 393-401, 2005.

MEDEARIS, A. L.; HENSLEIGH, P. A.; PARKS, D. R.; HERZENBERG, L. A.; Detection of fetal erythrocytes in maternal blood post partum with the fluorescence-activated cell sorter. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 148, p. 290-295, 1984.

MIQUEL, E.; CAVELIER, B.; BONNEAU, J. C.; ROUGER, P. Foetomaternal erythrocyte incompatibilities: from immunohaematologic surveillance of pregnant women to haemolytic disease of the newborn. **Transfus. Clin. Biol.**, v. 12, p. 45-55, 2005.

MIYADAHIRA, S. Prevenção da aloimunização Rh. **Rev. Assoc. Méd. Bras.**, v. 46, n. 4, p. 308-309, 2000.

MOISE, K. J. J. Management of Rhesus alloimmunization in pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, v. 100, n. 3, p. 600-611, 2002.

MOLLISON, P. L. Quantitation of transplacental haemorrhage. **Br. Med. J.**, v. 3, p. 31-34, 1972.

_____. Quantification of transplacental hemorrhage. Letter. **Br. Med. J.**, v. 8, p. 115, 1972.

MOLLISON, P. L. ; ENGELFRIET, C. P. ; CONTRERAS, M. Haemolytic disease of fetus and newborn. In: MOLLISON, P. L. **Blood transfusion in clinical medicine**. 10. ed. Oxford: Blackwell Science, 1997. p. 390-424.

MUENCH, M. V.; BASCHAT, A. A., REDDY, U. M.; MIGHTY, H. E.; WEINER C. P.; SCALEA, T.M.; HARMAN, C. R. Kleihauer-betke testing is important in all cases of maternal trauma. **J. Trauma**, v. 57, n. 5, p. 1094-1098, 2004.

NATIONAL INSTITUTE FOR CLINICAL EXCELLENCE (NICE). **Routine antenatal anti-D profilaxis for RhD-negative women**. 2008. (Technology Appraisal Guidance, n. 41). Disponível em: <<http://www.nice.org.uk/page.aspx?o=31696>>. Acesso em: 08 mar. 2009.

NELSON, M. An overview of the use of flow cytometry in the analysis of mixed red cell populations. **Pathology**, v. 31, n. 3, p. 191-198, 1999.

NESS, P. M.; BALDWIN, M. L.; NIEBYL, J. R. Clinical high-risk designation does not predict excess fetal-maternal hemorrhage. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 156, n. 1, p. 154-158, 1987.

NEVES, G. O. **Identificação de anticorpos anti-eritrocitários irregulares em gestantes Rh negativas alosensibilizadas atendidas no Hospital Geral César Cals no período de maio a outubro de 2006**. 2006. Monografia (Especialização)-Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Ceará, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

NOVARETTI, M. C. Z. Investigação Laboratorial em pacientes com anticorpos eritrocitários. In: COVAS, D. T.; LANGHI, J. D. M.; BORDIN, J. O. **Hemoterapia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2007. p. 185-192.

NOVARETTI, M. C. Z.; DORLHIAC-LLACER, P. E. Transfusão fetal e neonatal. In: ALBIERO, A. L. **Manual de transfusão sanguínea**. São Paulo: Roca. 2001. cap. 13, p. 115-137.

NOVARETTI, M. C. Z.; JENS, E.; PAGLIARINI, T.; BONIFÁCIO, S. L.; DORLHIAC-LLACER, P. E.; CHAMONE, D. A. F. Doença hemolítica do RN devido a anti-U. **Rev. Hosp. Clin.**, v. 58, p. 320-323, 2003.

OHTO, H.; MIURA, S.; ARIGA, H.; ISHII, T.; FUJIMORI, K.; MORITA, S. The natural history of maternal immunization against foetal platelet alloantigens. **Transfus. Med.**, v. 14, p. 399-408, 2004.

OWEN, R. Karl Landsteiner and the first human marker locus. **Genetics**, v. 155, p. 995-998, 2000.

PAI, M. K. R.; BEDRITIS, I.; ZIPURSKY, A. Massive transplacental hemorrhage: clinical manifestations in the newborn. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 112, p. 585-589, 1975.

PARKER, J.; WRAY, J.; GOOCH, A.; ROBSON, S.; QURESHI, H. **Guidelines for the use of prophylactic anti-D immunoglobulin**. London (UK): British Committee for Standards in Haematology (BCSH), 2008. 13 p.

PATTON, W. N.; NICHOLSON, G. S.; SAWERS, A. H.; FRANKLIN, I. M.; ALA, F. A.; SIMPSON, A. W. Assesment of fetal-maternal haemorrhage in mothers with hereditary persistence of fetal haemoglobin. **J. Clin. Pathol.**, v. 43, p. 728-731, 1990.

PASHA, K. P. R.; SHOKRI, F. Immunologic basis and immunoprophylaxis of RhD induced hemolytic disease of the newborn (HDN). **Iran J. Immunol.**, v. 5, n. 4, p. 189-200, 2008.

RAAFAT, A.; FRASER, N.; MAIN, R.; URBANIAK, S. J. A quality assurance scheme for the Kleihauer test: the Scottish experience 1988 – 1996. **Transfus. Med.**, v. 7, p. 221- 226, 1997.

RAMSEY, G. Inaccurate doses of Rh imune globulin after Rh-incompatible fetomaternal hemorrhage. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 133, p. 465-469, 2009.

REID, M. E.; LOMAS-FRANCIS, C. **The Blood group antigen facts book**. London: Academic Press, 1997.

ROBERTS, I. A. The changing face of haemolytic disease of the newborn. **Early Hum. Dev.**, v. 84, n. 8, p. 515-523, 2008.

ROSSEF, S. D. **Transfusão pediátrica: manual para médicos**. 1. ed. Maryland: American Association of Blood Banks, 2006.

SAADE, G. R. Noninvasive testing for fetal anemia. **N. Engl. J. Med.**, v. 342, n. 1, p. 52-53, 2000.

SALIM, R.; IZHAR, B-S.; NACHUM, Z.; MADER, R.; SHALEV, E. The incidence of large fetomaternal hemorrhage and the Kleihauer-Betke test. **Obstet. Gynecol.**, v. 105, n. 5 part.1, p. 1039-1043, 2005.

SAMADI, R.; GREENSPOON, J. S.; GVIAZDA, I.; SETTLAGE, R. H.; GOODWIN, T. M. Massive fetomaternal hemorrhage and fetal death: are they predictable? **J. Perinatol.**, v. 19, n. 3, p. 227-229, 1999.

SANTOS, F. W. R.; MAGALHAES, S. M. M.; MOTA, R. M. S.; PITOMBEIRA, M. H. ena. Post-transfusion red cell alloimmunisation in patients with acute disorders and medical emergencies. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 4, p. 369-372, 2007.

SCHMIDT, P. J.; LEPARC, G. F.; SAMIA, C. T. Use of Rh positive blood in emergency situations. **Surg. Gynecol. Obstet.**, v. 167, p. 229-233, 1988.

SCHOLZ, C.; KACHLER, A.; HERMANN, C.; WEISSENBACHER, T.; TOTH, B.; FRIESE, K.; KAINER, F. Flowcytometric assessment of fetomaternal hemorrhage during external cephalic version at term. **J. Perinat. Med.**, 2009. In press.

SEBRING, E. S.; POLESKY, H. F. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurrence and clinical effects. **Transfusion**, v. 30, p. 344-357, 1990.

THOMAS, A.; MATHEW, M.; MORAL, E. U.; VACLAVINKOVA, V. Acute massive fetomaternal hemorrhage: case reports and review of the literature. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, v. 82, p. 479-480, 2003.

TO, W. W.; HO, S. N.; MOK, K. M. Anti-E alloimmunization in pregnancy: management dilemmas. **J. Obstet. Gynaecol. Res.**, v. 29, n. 1, p. 45-48, 2003.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. **Saúde** – Maternidade Escola Assis Chateaubriand. Disponível em: <http://www.ufc.br/portal/index.php?option=com_content&task=view&id=134&Itemid=82> Acesso em: 03 mar. 2008.

URBANIAC, S. J.; GREISS, M. A. RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. **Blood Rev.** v. 14, n. 1, p. 44-61, 2000.

URBANIAC, S. J. Royal College of Physicians of Edinburgh/Royal College of Obstetricians and Gynaecologists consensus conference on anti-D prophylaxis 7 & 8 April 1997. **Transfus. Med.**, v. 7, n. 2, p. 143-144, 1997.

URBANIAC, S. J. The scientific basis of antenatal prophylaxis. **Br. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 105 suppl. 18, p. 11-18, 1998.

VENGERLEN-TYLER, V. Perinatal Concerns in Transfusion Practice. In: AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS (AABB). **Technical manual**. 13rd ed. Bethesda, Maryland, 1999. cap. 23, p. 495-510.

VICENTE, L. F.; PINTO, G.; SERRANO, F.; SOARES, C.; ALEGRIA, A. M. Profilaxia da isoimunização RhD: uma proposta de protocolo. **Acta Med. Port.**, v. 16, p. 255-260, 2003.

VUCINOVIC, M.; JADRIC, H.; KARELOVIC, D.; ROJE, D.; HASPL-HUNDRIC, Z.; HRGOVIC, Z. VUCINOVIC, Z. Haemolytic disease of the newborn – from a mother anti-Kell, anti-E and anti-Vel anti-erythrocyte alloantibodies. **Z. GEBURTSHILFE Neonatol.**, v. 208, n. 5, p. 197-202, 2004.

WESTHOFF, C. M. The Rh System. In: AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS (AABB). **Technical manual**. 16rd ed. Bethesda, Maryland, 2006. cap. 13, p. 388-409.

WESTHOFF, C. M. The structure and function of the Rh antigen complex. **Semin. Hematol.**, v. 44, n. 1, p. 42–50, 2007.

ZIZKA, Z.; CALDA, P.; ZLATOHLAVKOVA, B.; HAAKOVA, L.; CERNA, M.; JIRASEK, J. E.; FAIT, T.; HAJEK, Z. Massive fetomaternal transplacental hemorrhage as a perinatology problem, role of ABO fetomaternal compatibility-case studies. **Med. Sci. Monit**, v. 7, n. 2, p. 308-311, 2001.

ZIZKA, Z.; FAIT, T.; BELOSOVICOVA, H.; HAAKOVA, L.; MARA, M.; JIRKOVSKA, M.; JIRASEK, J. E.; BARTOSOVA, L.; CALDA, P. ABO fetomaternal compatibility poses a risk for massive fetomaternal transplacental hemorrhage. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, v. 87, n. 10, p. 1011-1014, 2008.

ZUPPA, A. A.; SCORRANO, A.; COTA, F.; D'ANDREA, V.; FRACCHIOLLA, A.; ROMAGNOLI, C. Massive fetomaternal hemorrhage and late-onset neutropenia: description of two cases. **Turk. J. Paediatr.**, v. 50, p. 400-404, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Titulo da pesquisa: ***Quantificação da hemorragia fetomaterna em gestantes Rh negativas atendidas em maternidade públicas do Ceará – Um estudo prospectivo.***

Prezada Mãe,

Este documento lhe dará informações e pedirá seu consentimento para participar de uma pesquisa que está sendo realizada pela Universidade Estadual do Ceará – UECE, pelo centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – HEMOCE e por este hospital. Este documento foi feito em duas vias para que você possa ter uma comprovação de sua participação na pesquisa. A outra via ficará com os pesquisadores.

O estudo pretende avaliar a eficácia de duas técnicas utilizadas na mensuração da hemorragia fetomaterna, prevenindo a ocorrência de uma grave complicação da gestação chamada doença hemolítica do recém nascido e que pode colocar em risco a vida dos bebês.

Para a participação na pesquisa, você responderá a um questionário sobre o atendimento médico e a utilização de imunoglobulina anti-D (conhecida como Rhogan ou vacina) na gestação atual e em gestações passadas (caso existam) e fará a coleta de uma amostra de sangue até 24 horas após o parto, para avaliar a necessidade de utilização de ou mais doses da “vacina”.

Você tem direito a solicitar mais esclarecimentos sobre a pesquisa e se recusar a participar dela ou interromper sua participação a qualquer momento, sem que isso lhe cause nenhum prejuízo.

Suas informações serão mantidas em sigilo e não serão divulgadas em qualquer hipótese. Os resultados serão apresentados em conjunto sem que haja qualquer identificação das pacientes participantes.

Fortaleza: ____/____/____

Luciana Maria de Barros Carlos
Pesquisadora

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS - ESCLARECIDO

Declaro estar ciente das informações constantes deste termo de consentimento e concordo em participar desta pesquisa.

Fortaleza: ____/____/____

Ass. Paciente ou responsável: _____

Ass. Testemunha: _____

Ass. Entrevistador: _____

O participante concordou e assinou o termo de consentimento?

1. Concordou e assinou 2. Concordou e não assinou 3. Recusou sua participação.

APENDICE B

QUESTIONÁRIO _____ DATA ____/____/____ SERVIÇO _____		
NOME _____		
NOME DA MÃE _____		
IDADE <small>(ANOS COMPLETOS)</small> _____	PROCEDÊNCIA _____	RAÇA B () N () P () _____
ENDEREÇO _____		TELEFONE _____
ESCOLARIDADE ANALF () EFC () EFI () EMC () EMI () NS () _____		
RENDIA FAMILIAR < 1 SM () 1-3 SM () 3-5 SM () > 5 SM () _____		
GRUPO SANGUÍNEO MÃE _____ RN _____	HISTÓRIA GESTACIONAL G P A _____	
HISTÓRIA TRANSFUSIONAL _____		
MOTIVO DO INTERNAMENTO ABORTAMENTO () IG _____ PARTO PREMATURO () IG _____ PARTO A TERMO () IG _____		
TIPO DE PARTO NORMAL () CESAREANO () COM DISTOCIA () QUAL _____		
PROCEDIMENTOS INVASIVOS NA GESTAÇÃO CORDOCENTESE () N ^o _____ AMNIOCENTESE () N ^o _____ TRANSFUSÃO INTRA-UTERINA () N ^o _____ OUTRO () QUAL _____		
OUTRO MOTIVO _____		
PRÉ-NATAL SIM () NÃO ()	NÚMERO DE CONSULTAS _____	
USO DE IgRh GESTAÇÃO ATUAL SIM () NÃO ()	N ^o VEZES _____	
QUANDO (IG) _____	DOSE _____	
MOTIVO USO DE IgRh PROFILAXIA ANTE-NATAL () PARTO PREMATURO () PARTO A TERMO () AMEAÇA DE ABORTAMENTO () OUTRO MOTIVO _____		
TAI GESTAÇÃO ATUAL SIM () NÃO ()	POSITIVO () NEGATIVO ()	ANTICORPO _____
PRÉ-NATAL GESTAÇÕES ANTERIORES SIM () NÃO ()	NÚMERO DE CONSULTAS _____	
USO DE IgRh SIM () NÃO () N ^o VEZES _____	QUANDO(IG) _____	DOSE _____
MOTIVO USO DE IgRh PARTO PREMATURO () PARTO A TERMO () ABORTAMENTO () AMEAÇA DE ABORTAMENTO () OUTRO MOTIVO _____		

TAI GESTAÇÕES ANTERIORES SIM () NÃO ()	POSITIVO () NEGATIVO ()
(SE POSITIVO) ANTICORPO IDENTIFICADO SIM () NÃO ()	QUAL _____
HISTÓRIA DE DHPN EM GESTAÇÕES ANTERIORES SIM () NÃO ()	
(SE SIM) EVOLUÇÃO RN	
TEMPO DE INTERNAMENTO UTI NEO _____	
REALIZAÇÃO DE FOTOTERAPIA SIM () NÃO ()	
REALIZAÇÃO DE EX-SANGUÍNEO-TRANSFUSÃO SIM () NÃO () Nº _____	
REALIZAÇÃO DE TRANSFUSÃO INTRA-UTERINA SIM () NÃO () Nº _____	
EVOLUÇÃO FINAL ALTA () ÓBITO ()	
OBSERVAÇÕES	
EVOLUÇÃO RN GESTAÇÃO ATUAL	
RN SEM ALTERAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADAS A DHPN SIM () NÃO ()	
(SE SIM)	
MORTE FETAL ()	
TEMPO DE INTERNAMENTO UTI NEO _____	
REALIZAÇÃO DE FOTOTERAPIA SIM () NÃO ()	
REALIZAÇÃO DE EX-SANGUÍNEO-TRANSFUSÃO SIM () NÃO () Nº _____	
REALIZAÇÃO DE TRANSFUSÃO INTRA-UTERINA SIM () NÃO () Nº _____	
EVOLUÇÃO FINAL ALTA () ÓBITO ()	
OBSERVAÇÕES	
ENTREVISTADOR:	
TESTES:	
KLEIHAUER-BETKE:	
GEL:	
QUANTIFICAÇÃO HFM:	
RESPONSÁVEL PELOS TESTES E CÁLCULO DA HFM	
CONDUTA:	

ANEXOS

ANEXO A

Parece Comitê de Ética em Pesquisa



SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO CEARÁ / SUS
HOSPITAL GERAL CÉSAR CALS
CENTRO DE ESTUDOS APERFEIÇOAMENTO E PESQUISA
COMITE DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CEP

Protocolo do CEP: 212/2008

Titulo do Projeto: Aloimunização Eritrocitária Materna e Prevenção da Doença Hemolítica Perinatal por Anti-D em Maternidades Públicas do Ceará no Ano de 2008 – Um Estudo Transversal Prospectivo.

Pesquisador responsável: Luciana Maria de Barros Carlos

PARECER CONSUBSTANCIADO -

O projeto contém uma Introdução bem referendada, onde a pesquisadora justifica a importância da identificação de pacientes que não possuem anticorpos contra o antígeno D do sistema Rh, pela possibilidade de sensibilização com hemácias fetais portadoras deste antígeno, desencadeando doença hemolítica peri-natal. Já se usa de rotina uma aplicação de uma imunoglobulina anti-D nesta população negativa, embora a dose ainda não esteja bem estabelecida. Esta dose parece depender da quantidade de sangue fetal que extravasou para a corrente sanguínea materna. O objetivo deste estudo é portanto determinar este volume de sangue numa população atendida em duas maternidades públicas de Fortaleza, no período de março a setembro de 2008. Uma amostra de sangue será coletada e enviada ao Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, onde serão usados testes de quantificação. Outros objetivos são a identificação do percentual de mulheres Rh D negativas aloimunizadas nesta população, especificar os anticorpos envolvidos, identificar fatores causais na falha da imunização anti-RhD e individualizar a dose de imunoglobulina anti-D. Será aplicado um questionário onde consta dados demográficos da mãe, história obstétrica.

AVALIAÇÃO DO CEP :

Trata-se de um estudo interessante, que poderá caracterizar melhor a população atendida em dois hospitais públicos de Fortaleza, sob risco de desenvolver esta complicação hemolítica peri-natal. A pesquisadora informa se tratar de um estudo transversal e prospectivo. Na verdade não encontramos no projeto evidências de estudo prospectivo mas principalmente de um estudo transversal, onde esta população será estudada num dado momento. Se haverá administração de imunoglobulina anti-D e se ocorrerá seguimento isto não foi explícito no referido projeto. Portanto sugerimos a retirada do termo prospectivo do título deste protocolo de estudo.

Em resumo o CEP considera APROVADO o presente protocolo de estudo.

Fortaleza, 07 de março de 2008


Dr. Antônio Luiz Carneiro Jerônimo
Coordenador do CEP

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)