

**PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS AOS ANTICORPOS
IRREGULARES EM
GESTANTES RHD POSITIVAS NO AGRESTE DE PERNAMBUCO**

**PREVALENCE AND FACTORS ASSOCIATED WITH IRREGULAR
ANTIBODIES IN POSITIVE RHD PREGNANT WOMEN IN PERNAMBUCO
AGRESTE**

ALOIMUNIZAÇÃO EM GESTANTES RHD (+)

ALLOIMMUNIZATION IN PREGNANT WOMEN RHD +

Júnior, e, m, s¹; Oliveira, a, h, p¹; Julião, a, v, b¹; Esteves, f, a, m²; Albuquerque, a, c, c².

RESUMO

Introdução: A incompatibilidade fetal é uma doença hemolítica causada pela polarização do sistema sanguíneo materno e fetal. A patologia se deve a interação entre proteínas que podem ou não estar presentes no sangue humano e apresenta sintomas que variam de leves a graves. **Objetivos:** Identificar a prevalência de anticorpos irregulares em gestantes do grupo sanguíneo RhD positivo no Agreste de Pernambuco. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo epidemiológico transversal em que amostras de soro foram coletadas de gestantes de alto risco, RhD positivas e caracterizadas a partir de um questionário. As amostras foram destinadas a realização da técnica de coombs indireto para determinação de prevalência de anticorpos irregulares e classificados nas classes IgM e IgG. **Resultados:** No período de setembro de 2019 a março de 2020, 65 gestantes Rh + foram selecionadas. A predominância de anticorpos irregulares observada foi de 4,61%. Os grupos sanguíneos com uma maior taxa de suscetibilidade foram os grupos A e O, e com uma maior frequência na faixa etária de 16 a 22 anos. **Discussão:** A prevalência de anticorpos irregulares em gestantes RhD positiva e susceptibilidade do tipo sanguíneo observada está aproximada com a literatura, entretanto, os protocolos de saúde priorizam o monitoramento de aloimunização em gestantes RhD negativas. **Conclusão:** Devido ao risco desses anticorpos irregulares causarem danos fetais e gerar uma alta probabilidade de abortos, é necessária a criação de um protocolo de acompanhamento a gestantes desse grupo sanguíneo desde o início do período gestacional.

Palavras-chaves: Anticorpos; Gravidez de alto risco; Incompatibilidade de grupos sanguíneos.

ABSTRACT

Introduction: Fetal incompatibility is a hemolytic disease caused by polarization of the maternal and fetal blood system. The pathology is due to the interaction between proteins that may or may not be present in human blood and presents symptoms ranging from mild to severe. **Objectives:** To identify the prevalence of irregular antibodies in pregnant women of the RhD positive blood group in the Agreste of Pernambuco. **Materials and methods:** Cross-sectional epidemiological study in which serum samples were collected from high-risk pregnant women, RhD positive and characterized from a questionnaire. The samples were used to perform the indirect coombs technique to determine the prevalence of irregular antibodies; this technique identifies IgM and IgG classes. **Results:** From September 2019 to March 2020, 65 Rh + pregnant women were selected. The prevalence of irregular antibodies observed was 4.61%. The blood groups with the highest susceptibility rate were groups A and O, and with a higher frequency in the 16 to 22 age group. **Discussion:** The prevalence of irregular antibodies in RhD positive pregnant women and observed blood type susceptibility is close to the literature, however, health protocols prioritize the monitoring of alloimmunization in RhD negative pregnant women. **Conclusion:** Due to the risk of these irregular antibodies causing fetal damage and generating a high probability of miscarriages, it is necessary to create a follow-up protocol for pregnant women in this blood group since the beginning of the gestational period.

Keywords: Antibodies; Pregnancy High-Risk; Blood Group Incompatibility.

INTRODUÇÃO

É indiscutível que no Brasil o diagnóstico e tratamento da incompatibilidade materno fetal ocupam lugar de relevância na saúde pública e privada¹. Um dos principais fatores nesse contexto é a busca por anticorpos irregulares, que são todas as imunoglobulinas anti-eritrocitária encontradas na parte líquida do sangue (soro ou plasma), de ocorrência não natural. Os anticorpos irregulares são o principal causador da eritroblastose fetal, onde a classe IgG produzida frente a diversos antígenos eritrocitários consegue atravessar a placenta e destruir as hemácias fetais².

Outros tipos de grupos sanguíneos que podem causar eritroblastose fetal implicam nos sistemas antigênicos Kell, Duffy, Kidd, MNSs, Lutheran, Diego, Xg e P assim como outros antígenos. Esse tipo de sensibilização para produção dos anticorpos irregulares pode ser originada por meio de erros transfusionais, infecções bacterianas onde por meio destas, poderá ocorrer uma resposta cruzada a antígenos do patógeno, hipertensão seja a gestacional ou a hipertensão crônica, lesões placentárias que levem a extravasamento do sangue fetal para a circulação materna e etc. Em decorrência disso, a patologia gerada é uma anemia hemolítica fetal causada pela transmissão transplacentária desses anticorpos maternos direcionados às hemácias fetais³. Além disso, sabe-se que as formas clínicas da DHPN (Doença Hemolítica Perinatal) decorrem da intensidade da destruição e capacidade de produção de eritrócitos, sendo que este processo pode depender em grande parte da concentração de IgG anti-eritrocitário e das suas subclasses envolvidas⁴.

Dentre as incompatibilidades sanguíneas gestacionais a ABO é mais frequente que o sistema Rh (D), representando cerca de 20 a 25% dos casos contra 10% do sistema Rh (D). A isoimunização Rh (D) corresponde a 94% dos casos habitualmente mais grave que o sistema ABO, e tem expressão internas no útero. O fato dos antígenos de superfície do sistema RhD serem os responsáveis pelos casos mais graves de eritroblastose fetal, justifica-se por serem mais imunogênicos e, portanto, existirem exclusivamente na população eritrocitária. Enquanto, os antígenos do sistema ABO estão presentes em vários tecidos, e os eritrócitos possuem menos receptores para os seus respectivos anticorpos. Ademais, a incompatibilidade provocada por antígenos atípicos do sistema Rh (Cc, Ee), do sistema Kell (Kk), Duffy (Fya), Kidd (Jka, Jkb) e

MNS (M, N, S e s), apesar de muito raros, são capazes de originar quadros graves de incompatibilidade ou morte intra-uterina⁵.

Tendo em vista que a literatura relata de maneira abrangente a incompatibilidade fetal relacionada ao sistema RhD negativo e devido à escassez de dados epidemiológicos e a carência de informações referente a outros tipos de incompatibilidade, o trabalho visa determinar a prevalência de anticorpos irregulares em gestantes RhD positivo na região do Agreste Pernambucano.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo epidemiológico realizado foi do tipo transversal descritivo, onde foram avaliadas gestantes do grupo sanguíneo RhD+, que pertencia a pelo menos um grupo de risco para o desenvolvimento de incompatibilidade materno fetal descritos no Manual Técnico de Gestações de Alto Risco do Ministério da Saúde (2010), sendo excluídas as gestantes com histórico de infecções urinárias pelos seguintes microrganismos: *Enterococcus faecium*, *Micrococcus spp.* e *Proteus mirabilis*, pois esses microrganismos apresentam respostas cruzadas com os antígenos do sistema Kidd, sendo assim um interferente direto. Além disso, também foram excluídas as gestantes com sistema imunológico debilitado. O estudo foi realizado no período de setembro de 2019 a março de 2020, em uma maternidade regional de casos de alta complexidade, localizada na cidade de Caruaru, Agreste de Pernambuco. A coleta de dados e das amostras de soro foi obtida após a realização da leitura e da assinatura do termo de consentimento livre esclarecido informado ao paciente⁶.

A caracterização das gestantes foi feita por meio da aplicação de um questionário, assim como pela observação dos prontuários de cada gestante avaliada. As variáveis analisadas foram: número de gestações, abortos, tabagismo, consumo de álcool, diabetes, realização de transfusão sanguínea, hipertensão e deslocamento ou sangramento de placenta. Após o preenchimento dos dados foi realizada uma coleta de amostra em cada gestante, onde 5 mL de sangue total foram puncionados e colocados em um tubo seco com gel e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 3.500 Rpm por 5 minutos para a obtenção do soro, que foi dividido em 2 micro tubos, com 300 µL cada. Esses tubos foram acondicionados em congelador, a temperatura média de -6 C° para a realização do coombs indireto.

O seguimento laboratorial foi realizado no Centro Universitário Tabosa de Almeida, após o descongelamento do soro a temperatura ambiente a fim de preservar a

integridade das imunoglobulinas para a realização da técnica de coombs indireto. Essa técnica é dividida em 4 fases, em que, na primeira, dita como fase a temperatura ambiente, preparou-se 2 tubos rotulados tubo 1 e tubo 2 com a identificação das pacientes e qual hemácia fenotipada seria adicionada ao tubo, em seguida foram adicionadas 1 gota da hemácia fenotipada triacel I, no tubo 1, 1 gota de hemácia fenotipada triacel II, no tubo 2, e 1 gota do soro da paciente em ambos dos tubos, os tubos foram homogeneizados e, em seguida foram centrifugados a 3.400rpm por 15 segundos e verificou-se a presença/ausência de aglutinação em cada um dos tubos. Após a verificação, a segunda fase, dita como fase da albumina bovina, que consistiu em adicionar 2 gotas de albumina bovina a 22% em ambos os tubos, centrifugar a 3400rpm por 15 segundos e realizar a leitura. Ambas as fases tem por objetivo identificar anticorpos da classe IgM. Na terceira fase, dita fase a 37° C ou banho-maria, os tubos foram incubados a banho-maria com a temperatura de 37 C° por 15 minutos, posteriormente centrifugados por 15 segundos a 3400 rpm e feito a leitura. A quarta fase, dita como fase da antiglobulina humana, assim como a terceira fase, é destinada a detecção de anticorpos irregulares da classe IgG. Nessa fase as hemácias presentes no tubo foram lavadas com solução salina a 0,9%, sendo adicionado 1mL em cada tubo, levados à centrífuga a 3400 rpm por 1 minuto e após a centrifugação desprezou-se o sobrenadante, após isto as hemácias são ressuspensas na solução salina, o processo foi repetido três vezes, ao fim das lavagens foi acrescido em cada tubo duas gotas da antiglobulina humana e centrifugados novamente para a observação de aglutinação ou ausência. Os resultados foram transcritos para uma planilha, de acordo com a fase e a intensidade de aglutinação (1+, 2+, 3+, 4+).

O controle de qualidade da técnica foi feito com o acréscimo de 1 gota de hemácias sensibilizadas por anticorpos em cada tubo, em que foram centrifugados por 15 segundos a 3400 rpm e verificou-se a presença de aglutinação, sendo assim, confirmado a efetividade do teste, em caso de não aglutinação foi-se feito um novo teste para a amostra em questão.

Os dados foram armazenados e analisados pelo Excel, onde a análise descritiva forneceu a frequência de cada variável categorizada, sendo estas de carácter nominal e discreta, e os percentuais encontrados foram apresentados por meio de tabelas.

A pesquisa foi analisada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), sob o número do parecer: 3.754.884 e CAAE: 25047819.9.0000.5203.

RESULTADOS

Foram avaliadas 65 gestantes do grupo sanguíneo RhD+. A prevalência de anticorpos irregulares encontrada foi de 4,61% (3/65). A tabela 1 mostra a caracterização das gestantes em relação às variáveis avaliadas.

Tabela 1- Caracterização das gestantes (n=65) e prevalência de anticorpos irregulares dentro de cada característica.

Perfil das gestantes	(n)	%	(n) positivas para PAI	%
Tipo sanguíneo:				
A+	26	40	2	7,69
B+	4	6,2	0	0
AB+	5	7,7	0	0
O+	30	46,2	1	3,33
Idade (anos):				
16 a 22	17	26,15	2	11,76
23 a 29	20	30,77	0	0
30 a 36	14	21,54	0	0
37 a 43	14	21,54	1	7,14
Já teve outras gestações:				
Sim	44	67,7	1	2,27
Não	21	32,3	2	9,52
Já sofreu abortos:				
Sim	20	30,8	0	0
Não	45	69,2	3	6,66
Foi ou é fumante:				
Sim	11	16,9	1	9,09
Não	54	82,1	2	3,70
Consome bebida alcoólica:				
Sim	36	55,4	2	5,55
Não	29	44,6	1	3,44
Já realizou transfusão sanguínea:				
Sim	3	4,6	0	0
Não	62	95,4	3	4,83
Diabética ou tem diabetes gestacional:				
Sim	18	27,7	0	0
Não	47	72,3	3	6,38
Hipertensa ou tem problemas cardíacos:				
Sim	24	36,9	1	4,16
Não	41	63,1	2	4,87
Já teve descolamento de placenta:				
Sim	9	13,8	1	11,11
Não	56	86,2	2	3,57

*PAI (pesquisa de anticorpos irregulares); n (Frequência absoluta); % (Frequência relativa).

Na tabela 2 estão presentes as informações relacionadas às imunoglobulinas encontradas, em relação às fases do exame, sobre a intensidade de reação observada e o percentual de positividade do Coombs Indireto.

Tabela 2- Número de gestantes positivas no coombs indireto e intensidade dos anticorpos em cada fase.

Prevalência de Anticorpos irregulares n(%)	Positividade nas fases do Coombs indireto	1+ (n)	2+ (n)	3+ (n)	4+ (n)
3 GPPCI(4,61)	1º Fase	0	1	0	0
	2º Fase	1	0	0	0
	3º Fase	2	0	0	0
	4º Fase	1	0	0	0

*%(Frequência relativa); n(Frequência absoluta); GPPCI(Gestantes positivas para Coombs indireto); 1, 2, 3 e 4 +(Intensidade de positividade).

Na tabela 3, verificou-se que a idade mínima entre as gestantes selecionadas foi de 16 anos, enquanto, a idade máxima observada foi de 43 anos em que a média aritmética entre todas as gestantes foi de 29,10 anos.

Tabela 3- Caracterização etária

Idade mínima (%; n)	Idade máxima (%; n)	Média
16 (3,1; 2)	43 (1,5; 1)	29,10

*(%): Frequência relativa; (n): Frequência absoluta.

DISCUSSÃO

Caruaru, localizada no agreste de Pernambuco, está situada a 140 km de Recife, capital de Pernambuco. Apresenta uma Latitude de 8,17S e longitude de 35,58W⁷. Caruaru é uma referência materna no estado de Pernambuco no atendimento de casos de alta complexidade, todos os casos da 4º região do estado de Pernambuco e algumas localidades do sertão pernambucano são encaminhados para o centro de atendimento para o monitoramento⁸.

Diante do distanciamento social em decorrência a pandemia causada pelo SARS-CoV-2 a equipe foi impossibilitada de fazer novas coletas, fazendo com que o estudo se limitasse a 65 amostras, a início o estudo tinha como objetivo coletar 100 amostras do local referido, mas em decorrência da impossibilidade de completar a quantidade de amostras desejadas, optou-se por dar continuidade à pesquisa com as

amostras já obtidas, mesmo este valor sendo inferior quando comparado com a população estudada em outros estudos presentes na literatura.

Os dados obtidos, referindo-se a positividade dos testes da PAI são uma contrapartida ao protocolo de exames gestacionais na busca de uma aloimunização fetal do ministério da saúde (MS), esse protocolo prioriza a busca por anticorpos irregulares apenas em gestantes RhD negativas, além deste, o protocolo de pré-natal e puerpério do MS, no qual, indica que após o exame de tipagem sanguínea for observado que a gestante é RhD positivo, não se é mais feito acompanhamento quanto a riscos de incompatibilidade materno-fetal⁹⁻¹⁰.

Todavia, a presente análise demonstrou uma prevalência de anticorpos irregulares de 4,61 % em gestantes RhD+, Maranhão em seu estudo, realizado em Santa Catarina, identificou uma prevalência de 7,69% (n.45) de anticorpos irregulares na população observada em seu estudo, onde teve uma amostragem de 585 pacientes, o mesmo pesquisou e identificou quais eram os antígenos responsáveis por causar a incompatibilidade, observando que 42,2% (n.19) destes casos eram causados por outros antígenos não pertencentes ao sistema RhD, em outro estudo realizado na cidade de Santos no estado de São Paulo, com uma amostragem de 7.691 nascimentos no período de realização do estudo, dos quais em 2,1% (n.162), verificou-se uma sensibilização eritrocitária por anticorpos maternos, sendo observados através dos resultados positivos no Teste de Antiglobulina Humana Direto (TAD), dos resultados positivos no TAD, 77,2% (n.125) foram voltados a anticorpos do sistema ABO, 21% (n.34) foram anticorpos contra antígenos do sistema RhD e, em 1,85% (n.3) os anticorpos não foram identificados^{11- 12}.

Mostrando que apesar da limitação referente ao número de amostras à presente pesquisa obteve uma proximidade com os valores de prevalência em comparação com outros estudos presentes na literatura, apenas não diferenciando qual grupo antigênico gerou a sensibilização do sistema imunológico materno, em um estudo voltado para a prevalência de DHPN no Brasil, entre os anos de 2007 e 2010, observou-se que a estimativas de casos esperados era 5 vezes inferior aos casos que foram notificados, neste mesmo estudo foi descrito uma proporção de 5 casos de DHPN para 1000 nascidos vivos (0,5%) para todo o Brasil¹³.

Ao analisar a distribuição da aloimunização pelo o tipo sanguíneo materno, na presente pesquisa observou-se que pacientes do tipo “A+” e “O+”, em comparação às pacientes pertencentes aos grupos “B+” e “AB+” (tabela 1), apresentaram maior incidência de incompatibilidade, assemelhando-se ao resultado observado no estudo da cidade de Santos-SP, onde a grupo sanguíneo “O” foi o mais observado nas pacientes que apresentaram algum tipo de incompatibilidade¹¹.

Em decorrência do fato de que pacientes do tipo sanguíneo “O” terem anticorpos naturais contra hemácias do tipo “A” e “B”, há uma maior facilidade para que estas gerarem uma resposta imunológica caso haja esse contato entre o sangue materno e o fetal, logo também explicasse o porque a maior incidência de casos de incompatibilidade são em decorrência do sistema ABO.

Em contrapartida a faixa etária e a incidência de incompatibilidade observada na pesquisa, onde se verificou maior frequência de incompatibilidade na faixa etária de 16-22 anos, onde 2 pacientes apresentaram positividade no coombs indireto (tabela 1), um estudo realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, entre os anos de 2006 e 2014, notou maior incidência de incompatibilidade em pacientes de idade mais avançada, que variou entre 24 e 43 anos, o estudo teve uma amostragem de 58 gestantes com antecedente moderado ou grave de DHPN¹⁴.

Fato este que pode ser explicado pela presença de um ou mais fatores de riscos apresentados pelas pacientes participantes da presente pesquisa, mesmo que as pacientes sejam jovens, ao analisar as respostas das pacientes que apresentaram anticorpos irregulares ao questionário (tabela 1).

Não foi possível observar maior frequência de apresentação de algum dos grupos de riscos dentre elas, porém foi possível notar que nenhuma delas passou por processos de transfusão sanguínea, não apresentavam nenhum tipo de diabetes e não sofreram abortos prévios, sendo assim descartados como possíveis causadores da geração desta resposta imunogênica, porém foi observado problemas hipertensivos, consumo de álcool, deslocamento de placenta e tabagismo, sendo estes descritos pelo MS como fatores associados para a geração de incompatibilidade materno-fetal, em comparação a categorização de grupos de riscos apresentados pelas gestantes em outros estudos, foi-se observado maior percentual de ocorrência em pacientes que já

apresentaram casos prévios de DHPN, indo contra o observado na pesquisa, já que nenhuma das pacientes apresentaram casos prévios de DHPN¹³⁻¹⁴⁻¹⁵.

Quanto à identificação dos anticorpos irregulares e qual subclasse de imunoglobulina eles pertenciam, diferenciou-se as fases e a intensidade da positividade apresentadas durante a realização do coombs indireto (tabela 2) onde foi possível observar que as três pacientes apresentaram anticorpos da classe IgG, por apresentaram positividade na 3º fase e na 4º fase, sendo possível afirmar a presença desta classe tendo em vista que, estas fases quando positivas são indicadoras da presença desta classe de imunoglobulina, enquanto a positividade das duas primeiras fases indicam a presença de imunoglobulinas da classe IgM, onde apenas uma das pacientes apresentou a sua presença por ter sido observado aglutinação na 2º fase, a paciente em questão apresentou reatividade para as duas classes de imunoglobulina, não foi possível comparar este aspecto com a literatura por não haver discriminação de quais imunoglobulinas foram apresentadas ou em qual fase houve maior positividade na PAI.

CONCLUSÃO

A partir do exposto, verificou-se uma prevalência de 4,61% de gestantes RhD positivas com anticorpos irregulares, com gestações de alta complexidade no agreste pernambucano, sendo este valor considerado médio quando comparado com a literatura de forma regional, porém quando comparado a valores nacionais é um valor alto, onde pacientes do tipo sanguíneo “A+” apresentaram maior incidência de positividade ao PAI, também sendo possível observar alguns fatores associados ao desenvolvimento dessa aloimunização, tais como problemas hipertensivos, consumo de álcool, deslocamento de placenta e tabagismo, mesmo em pacientes jovens. O protocolo geral da saúde preconiza a busca de anticorpos irregulares apenas em gestantes RhD negativa, dessa forma, é de inestimável importância salientar a necessidade da criação de um protocolo de acompanhamento que incluam os testes para detecção destas imunoglobulinas irregulares em gestantes RhD positivas durante o período de pré-natal, para que quando detectados sejam encaminhadas para alternativas terapêuticas, sendo assim possível minimizar a possibilidade do risco de abortos e danos fetais.

CONFLITOS DE INTERESSE

Não há conflitos de interesse.

SUPORTE FINANCEIRO

O projeto foi custeado pelos próprios autores sem auxílios financeiros externos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a toda equipe laboratorial e coordenação de enfermagem do Hospital Regional Jesus Nazareno e a instituição de ensino superior ASCES-UNITA por todo apoio e colaboração para o desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

- 1. Pacheco, C.A.M.S. Doença hemolítica perinatal RHD: um problema de saúde pública no Brasil. Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro; 2013**
- 2. Tyler, C.R., van Aerle, R., Nilsen, M.V., Blackwell, R., Maddix, S., Nilsen, B.M., Berg, K., Hutchinson, T.H. and Goksøyr, A. Monoclonal antibody enzyme- linked immunosorbent assay to quantify vitellogenin for studies on environmental estrogens in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 2002, 21: 47-54.2**
- 3. Dulay AT, Buhimschi IA, Zhao G, Luo G, Abdel-Razeq S, Cackovic M *et al.* Nucleated red blood cells are a direct response to mediators of inflammation in newborns with early-onset neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198 (426): 1–9.**
- 4. Lambin, P., Debbia, M., Puillandre, P. and Brossard, Y., IgG1 and IgG3 anti- D in maternal serum and on the RBCs of infants suffering from HDN: relationship with the severity of the disease. *Transfusion* 2002, 42: 1537-1546.**
- 5. Malono, J., Nabais, I., Cohen, Á., Fraga, G., Gonçalves, S. Doença hemolítica do recém nascido. *Consensos Nacionais Em Nanotecnologia* 2004; 139.**
- 6. Ministério da Saúde. Assistência pré-natal: manual técnico. Brasília, DF: O Ministério; 2000**
- 7. DB-City. 2016. Acesso em 10 de Maio de 2020. Disponível em <http://pt.db-city.com/Brasil - Pernambuco- Recife>**
- 8. Secretaria Estadual De Saúde. Hospital Jesus Nazareno. Acesso em 10 de out 2020. Disponível em: <http://portal.saude.pe.gov.br/unidades-de-saude-e-servicos/secretaria-executiva-de-atencao-saude/hospital-jesus-nazareno>**

9. **Ministério da Saúde. Pré-natal e puerpério: atenção qualificada e humanizada. Brasília, DF: O Ministério; 2000**
10. **Maranho, C.K. Prevalência de anticorpos irregulares em gestantes atendidas em serviços públicos da hemorrede de Santa Catarina. Faculdade de medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2016**
11. **Zerbinatti, V., dos Santos, R. M., & Ferreira, E. C. P. M. (2016). Frequência de aloimunização materno-fetal de janeiro de 2010 a janeiro de 2015 no Hospital Guilherme Álvaro em Santos-SP. UNILUS Ensino e Pesquisa, 13(30), 131.**
12. **Pacheco, C.A.M.S. Doença hemolítica perinatal RHD: uma proposta metodológica para análise da distribuição da doença hemolítica perinatal RHD no Brasil. Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro; 2013**
13. **Campos, M.V.X. Correlação entre títulos de anticorpos anti-D e desfecho gestacional adverso em gestantes com antecedente de doença hemolítica perinatal. Universidade de São Paulo; 2016**
14. **Ministério da Saúde, *Gestação de Alto Risco*, Brasília-DF, 2010**
15. **Seidl, V. Doença hemolítica perinatal: fatores de risco e abordagem terapêutica. Rio de Janeiro; 2013.**