

u-8

HEMOCE - 08

MIRNA DE MOURA GONDIM

INCIDÊNCIA DE IMUNIZAÇÃO DE GESTANTES Rh NEGATIVO NA MATERNIDADE ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND



Trabalho apresentado como requisito final ao curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia, convênio MEC/BID III/UFC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Fortaleza - Ceará

1986

A minha filha
Mara

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos:

Aos mestres José Murilo Martins, Maria da Silva Pitombeira, Maria Piedade Calmon Vergne, Luiz Carlos Fontenele, Francisco Oliveira Chagas, Roberto Cláudio Frolta Bezerra, Paulo César de Almeida.

Aos doutores Marfisa Neves Fujita, Elsié Sobreira Muniz e Orlando Rodrigues Campos.

Aos funcionários Iolanda de Moura Cavalcante, Nilson Pitombeira e a todos os colegas do laboratório de imunohematologia.

S U M Á R I O

	pág.
X I - INTRODUÇÃO	1
X II - MATERIAL E MÉTODOS	3
X III - RESULTADOS	4
IV - DISCUSSÃO	7
* V - CONCLUSÃO	12
VI - SUMMARY .z.....z...	13
* VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	14

INCIDÊNCIA DE IMUNIZAÇÃO EM GESTANTES Rh NEGATIVO
DA MATERNIDADE ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND (MEAC)*

MIRNA DE MOURA GONDIM **

Foram determinados anticorpos irregulares em 122 gestantes Rh negativo da Maternidade Escola Assis Chateaubriand, 7,4% das gestantes estavam sensibilizadas, onde 55,27% corresponderam a anti-D e o restante aos demais anticorpos anti-C, anti-Le^b, anti-M e anticorpos não identificados. Os valores encontrados foram submetidos a análise estatística e os resultados comparados com a literatura.

I- INTRODUÇÃO

Aloimunização em gestantes Rh negativo pode causar uma patologia grave no feto denominada doença hemolítica do recém-nascido (DHRN) (8-30-45). A doença foi reconhecida na antiguidade havendo relato de casos semelhantes feitos Hipócrates 400 AC (32), porém o critério de diagnóstico só

* Trabalho realizado no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC)

** Farmacêutica do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, aluno do curso de especialização em Hematologia e Hemoterapia.

foi estabelecido no fim do século passado por Ballantyne (4).. A doença pode também ser designada doença hemolítica perinatal, anteriormente conhecida como eritroblastose feral (38), hoje em completo desuso.

Hipóteses foram formuladas para demonstrar que a DHRN era produzida por anticorpos através de imunização a um aglutinogênio desconhecido (11-22-23). A descoberta do sistema Rh por Landsteiner e Wiener em 1940, e posteriormente dos subgrupos Rh (C,E, $\bar{c}$,e) e dos sistema Kell,Duffy,Lewis,MN Ss, facilitou o diagnóstico da enfermidade (5-6-19-20). Levine estudando 153 mulheres que tinham filhos com DHRN concluiu que 93% eram Rh negativo e apenas 7% positivo (21).

O percentual de sensibilização de mulheres Rh negativo com filhos Rh positivo varia de 5 a 12% (9-33-36-40-45-46), Giblett encontrou na segunda gestação uma cifra de 17% (16). Gestantes Rh negativo podem se sensibilizar por transfusão(raramente), abortos espontâneos com curetagem (3-4%) e abortos induzidos (5,5%) (40).

Na década de 50, foram realizados importantes estudos objetivando o diagnóstico da DHRN, entre os quais a análise da composição do líquido amniótico (25) e a identificação de glóbulos fetais na circulação materna (7). O tratamento com ex-sanguíneo transfusão (26) e a profilaxia da DHRN passaram a ser assunto de suma importância, devido o elevado índice de mortalidade e causa de morbidade nas crianças afetadas. A partir de 1960, a fundação de clínica especializadas contribuiu substancialmente para melhor conhecimento, terapêutica e prevenção da doença (12-13-17-27-29-34-35-37-39).

Walker estudando anticorpos irregulares nos soros de gestantes Rh negativo, mostrou que 57% dos casos de DHRN eram por incompatibilidade ABO, 41% pelo sistema Rh por outros fatores (45). A ordem de frequência dos anticorpos, segundo Allen, para mães Rh positivo é $Le^a, Le^b, E, \bar{c}, C, e, JK^a, K, M$ e S e para mães Rh negativo é: $D, C, Fy^a, e Le^b$ (3). Apesar da maior frequência de DHRN ser por incompatibilidade ABO, a presença de substâncias solúveis A, B e H no plasma e nos tecidos concorrem, em parte para uma menor gravidade da doença (30).



Vários fatores contribuem para o baixo índice de imunização: proteção ABO (30), interferência do sistema Rh dos cônjugues (30), progenitoras Rh positivo de gestante Rh negativas (43), gestantes não responsivas (31), sistema HLA (12), níveis de esteróides (37) e outros fatores.

O presente trabalho tem por finalidade mostrar a incidência de imunização de gestantes Rh negativa, na Maternidade Escola Assis Chateaubriand, a fim de melhor conhecimento da doença no nosso meio, o que servirá de base à profilaxia da DHRN.

II - MATERIAL E MÉTODOS

Estudamos 150 gestantes, supostamente Rh negativo, por ocasião do parto, na Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC), no período de junho de 1985 a janeiro de 1986.

A investigação imuno-hematológica foi realizada no setor especializado do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), sendo que as amostras de sangue foram colhidas aleatoriamente não havendo anamnese imunológica das gestantes. O número de gestantes, abortamento, nível sócio-econômico e a realização de pré-natal não influenciou na triagem.

Estudo imunohematológicos iniciais excluíram 28 mulheres por serem Rh positivo, portanto a pesquisa de anticorpos irregulares foi realizada em 122 gestantes comprovadamente Rh negativa.

As amostras de sangue para estudo foram obtidos da seguinte maneira: Parturientes, foram colhidas duas amostras, uma com oxalato como anticoagulante, que oferece facilidades para investigação de grupos sanguíneos e outra sem anticoagulante para obtenção de soro para pesquisa de anticorpos. Os estudos recém-nascidos foram realizados utilizando sangue de cordão umbilical ou por punção de veia jugular, com oxalato.

Nas amostras de sangue da mãe foram executadas as tipagens ABO e Rh pelo método de tubo (1) e pesquisa da variante D^u. Os anticorpos irregulares foram detectados pelo teste

da antiglobulina indireta ou teste de Coombs indireto (2) usando soro padrão antiglobulina de largo espectro. Havendo positividade os soros das gestantes foram passados no painel de hemácias (BASCA) para identificar o anticorpo. Conhecido o anticorpo, seguiu-se a sua titulação diluindo sucessivamente o soro da gestante em soro fisiológico à 0,85% e adicionando hemácias homozigotas para o anticorpo encontrado. Anticorpos duplos foram identificados pela técnica de absorção (1).

No sangue de cordão umbilical foi feita a tipagem ABO (1) Rh (3) e pesquisa da variante D^u (1) quando se tratar de Rh negativo. A presença ou não de anticorpos fixados as hemácias do recém-nascido foram observados pelo teste da antiglobulina direta ou teste de Coombs direto (2).

Estudo estatístico foi realizado na comparação dos dados obtidos, utilizando o teste de duas proporções (44).

III- RESULTADOS

As gestantes Rh negativa estudadas pertenciam aos seguintes grupos sanguíneos: 35,2% do grupo "A", 7,3% do grupo "B", 3,2% do grupo "AB", 54,1% do grupo "O". A pesquisa da variante D^u mostrou que 97,5% eram D^u negativo e 2,45% positivo (tabela I).

Os anticorpos irregulares das gestantes Rh negativo, expressa na tabela II, revelou os seguintes valores percentuais: 2,45% de anti D, 0,81% de anti D mais anti-C, 0,81% de anti-D mais anticorpo frio não identificado, 0,81% de anti-Le^b mais anti M e 2,45% de anticorpos não identificados.

A tabela III, mostra a relação entre o percentual de mulheres sensibilizadas e o nº de partos ocorridos na Maternidade Escola Assis Chateaubriand, no período de junho de 1985 a janeiro de 1986. A relação entre percentual de mulheres sensibilizadas e o total de casos estudados foi demonstrado na tabela IV.

A análise estatística mostrou pelo teste de 2 (duas) proporções, que a comparação entre os estudos realizados no

(*) Reagentes produzidos pelo Instituto Santa Catarina.

TABELA I

Distribuição dos grupos sanguíneos ABO e variante Du das gestantes Rh negativo da Maternidade Escola Assis Chateaubriand, estudadas no período de Junho/85 a Janeiro/86

GRUPOS SANGUINEOS	Rh NEGATIVO		TOTAL	%
	Du NEGATIVO	Du POSITIVO		
A	43	—	43	35,25
B	9	—	9	7,38
AB	4	—	4	3,27
O	63	3	66	54,10
TOTAL	119	3	122	100,0

TABELA II

Anticorpos irregulares encontrados nas gestantes Rh negativo estudadas no HEMOCE, no período de Junho/85 a Janeiro/86

Anticorpos	Nº de anticorpos	% n=9	% n=122
Anti-D	3	33,3(*)	2,45(*)(*)
Anti-D + Anti-C	1	11,1	0,81
Anti-D + anticorpo frio	1	11,1	0,81
Anti-Leb + anti-M	1	11,1	0,81
Anti corpo não identificado	3	33,3	2,45

(*) % sobre nº de mulheres sensibilizadas (n = 9)
 (*) (*) % " " " casos estudados (n=122)



TABELA III

Percentual de mulheres sensibilizadas em relação ao número total de partos da Maternidade Escola Assis Chateaubriand no período de Junho/85 a Janeiro/86

M E S E S	Nº de partos na M E A C	Nº de gestantes sensibilizadas	% de sensibilização
Junho	872	1	0,11
Julho	926	1	0,10
Agosto	927	1	0,10
Setembro	936	1	0,10
Outubro	966	1	0,10
Novembro	974	1	0,10
Dezembro	980	2	0,20
Janeiro	1 000	1	0,10

TABELA IV

Percentual de gestantes sensibilizadas em relação ao número de casos estudados no HEMOCE, no período de Junho/85 a Janeiro/86

M E S E S	Nº de casos estudados	Nº de gestantes sensibilizadas	% de sensibilização
Junho	11	1	9,0
Julho	14	1	7,1
Agosto	8	1	12,5
Setembro	12	1	8,3
Outubro	27	1	3,7
Novembro	18	1	5,6
Dezembro	17	2	11,7
Janeiro	15	1	6,6

Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e Centro de Hemoterapia e Hematologia do Ceará-Ltda (FUJI-SAN) foi estatisticamente significativa para alfa igual a 0,05.

IV - DISCUSSÃO

A variabilidade de sensibilização em gestantes Rh negativo, segundo alguns autores, é em torno de 5 a 12% (9-33-36-40-45-46). Os anticorpos irregulares responsáveis pelo DHRN são em sua maioria cerca 90% anti-D, seguido por $\bar{c}$, C, E, e, K e Fy^a (17-32). [Outros anticorpos como os do sistema Lewis e Pl podem sofrer reativação não específica com a gravidez e após transfusão, mas não são responsáveis pela DHRN (15)]. Bhurucha cita casos de DHRN causada por Le^b (5). É comum encontrar associação de anticorpos como anti-CD e anti- $\bar{c}$ E (14).

Estudos comparativos sobre a incidência de imunização em gestante Rh negativo realizado no Centro de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE) (33) Centro de Hemoterapia e Hematologia do Ceará-Ltda (FUJI-SAN) (14) e Centro Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) (tabela V), mostrou que na região metropolitana do Recife a incidência de gestantes sensibilizadas foi maior do que a encontrada no FUJI-SAN, no HEMOCE e também em relação a frequência encontrada por vários autores Smith e col (3,1%) (41), Polesky (5,7%) (36).

A análise do número de gestantes Rh negativo sensibilizadas estudadas (tabela VI), demonstrou que em todos os meses houve ocorrências de mulheres sensibilizadas. No FUJI-SAN, a percentagem foi de 2,2% e no HEMOCE, de 7,4%; a discrepância acentuada entre estes valores pode se dever ao fato de que no FUJI-SAN as gestantes tem melhor nível sócio-econômico e foram submetidas a acompanhamento obstétrico e profilaxia com Rho Gam*. As gestantes da Maternidade Escola Assis Chateaubriand são em sua maioria indigentes e não recebem profilaxia adequada. Através destes dados fica mais uma vez esclarecido a necessidade de um acompanhamento ambulatorial e profilático da DHRN. A investigação pré-natal e pós-natal do soro materno, através de estudo iminohematológico, mostrou a presença de anticorpos capaz de causar a doença hemolítica.

Na revisão dos prontuários das gestantes estudadas não obtiveram dados referentes a número de gestações, abortos, filhos natimortos, ictéricos, que impossibilitou de correlacionar com a pesquisa de anticorpos irregulares das gestantes Rh negativo.

A comparação entre o HEMOCE e FUJI-SAN foi estatísticamente significativa como mostra a tabela VIII.

TABELA V

Percentual de imunização em mulheres Rh negativo, estudadas no Centro de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Centro de Hemoterapia e Hematologia do Ceará Ltda (FUJISAN) e Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE).

GRUPOS	G E S T A N T E S		
	estudadas	imunizadas	% de imunização
HEMOPE (1979 - 1982)	1 0 5 8	1 5 1	1 2 , 4 %
FUJISAN	4 5 4	1 0	2 , 2 %
HEMOCE	1 2 2	9	7 , 4 %



TABELA VI

Estudo comparativo de gestantes Rh negativo realizados no MEAC e FUJISAN, no período de Junho/85 a Janeiro/86

MESES	M E A C			FUJISAN		
	Nº Gestantes estudadas	Nº Gestantes sensibilizadas	% de sensibilização	Nº Gestantes estudadas	Nº Gestantes sensibilizadas	% de sensibilização
Junho	11	1	9,0	12	0	0,0
Julho	14	1	7,1	75	1	1,3
Agosto	8	1	12,5	69	1	1,4
Setembro	12	1	8,3	58	2	3,4
Outubro	27	1	3,7	72	0	0,0
Novembro	18	1	5,5	74	3	4,0
Dezembro	17	2	11,7	74	2	2,7
Janeiro	15	1	6,6	20	1	5,0

% de mulheres sensib.

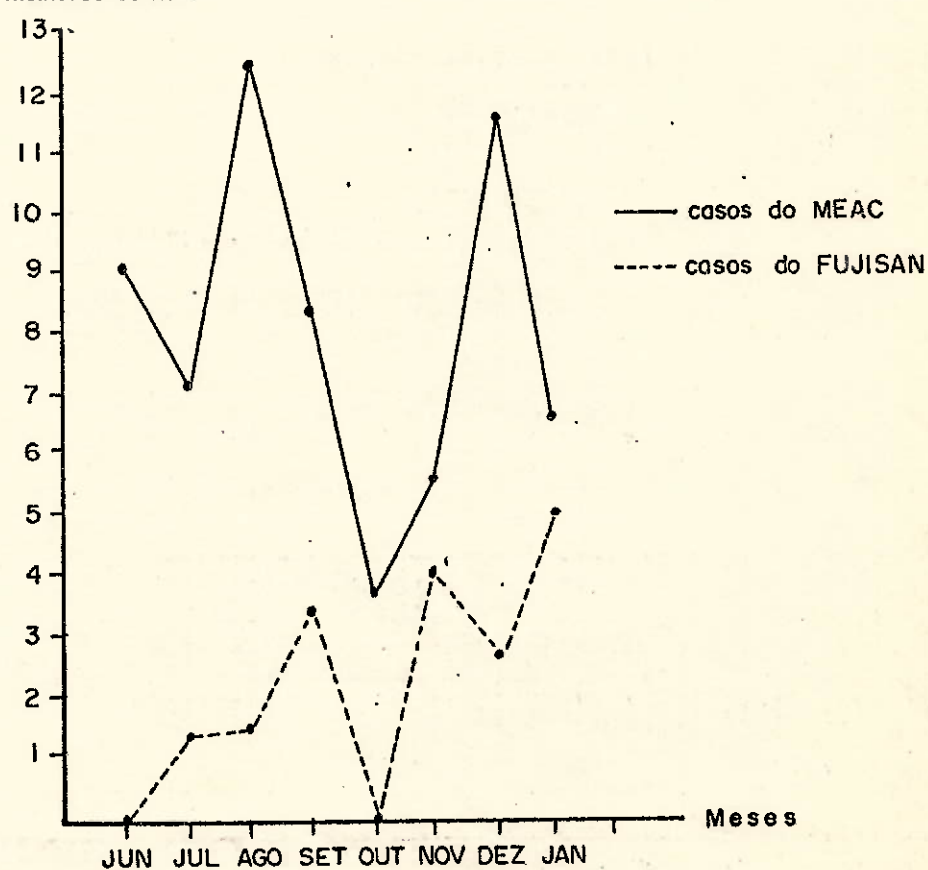


TABELA VII

Resultado do teste de duas proporções do estudo comparativo entre HEMOCE e FUJISAN

GRUPOS	n	proporções	teste "Z"
HEMOCE	1 2 2	0,7 4	2 , 9 8 *
FUJISAN	4 5 4	0,2 2	

* Significante a nível de $\alpha = 0,05$

V-CONCLUSÃO

- 1 - Nas gestantes Rh negativo estudadas 7,4% estão sensibilizadas.
- 2 - O percentual de anticorpos encontrados foram 4,09% de anti-D, 0,81% de anti-C, 0,81% de anti-M, 0,81% de anti-Le^b, 2,45% dos anticorpos não foram identificados.
- 3 - O percentual de mulheres sensibilizadas na Maternidade Escola Assis Chateaubriand (7,4%) foi superior a do Centro de Hemoterapia e Hematologia do Ceará Ltda (2,2%).
- 4 - A pesquisa de anticorpo irregular é fundamental no diagnóstico e profilaxia da doença hemolítica do recém-nascido, devido sua importância prática na orientação obstétrica no acompanhamento das gestantes Rh negativo.
- 5 - Realizamos estudos em 122 gestantes Rh negativo que representam uma amostra inicial. Continuamos o estudo a fim de obtermos resultados estatisticamente mais fidedignos.



VI-SUMMARY

We studied 122 cases of Rh negative pregnant women. The incidence of immunization was 7,4%, from whom 55,2% were anti-D and the others were anti-C, anti-Le^b, anti-M non-identified antibodies.

VII-REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - AABB - Technical Manual of American Association of Blood Bancks, Washington, 1982
- 2 - AABB - Technical Manual of American Association of Blood Bancks, Washington, 1985
- 3 - ALLEN, S.T, DURNER, M.S & MOCKLER, N.R, Routine prenatal screening of atypical antibodies, Amer.J.Obstet.Gynec., 99: 274,1967
- 4 - BALLANTYNE, The disease and deformitus of foetus, Oliver and Boyd, Edinburcht, 1892
- 5 - BHARUCHA, Z.S, JOSH,R.R, BHATIA, H.A, Hemolytic disease of the newborn due to anti-Le^b, Vox Sang, 41: 36-39, 1981
- 6 - CHAPMAN, J.,WATER, A.H.,Hemolytic disease of the newborn to rhesus anti- $\bar{e}$ antibody, Vox Sang., 41:45-47.1981
- 7 - CHOWN, B, Anaemia from bleeding of the foetus into the mother's circulation, Lancet, 1: 1213, 1954
- 8 - COOMBS, R.R.A, MOURANT, A.E & RACE, R.R.,In vivo isosensibilization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis, Amer. J. Obstet. Gynec. 42: 925, 1941
- 9 - CUNHA, S.P. SALA, M.M, SÁ, M.F.S., YAZLLE, M.E.A, BAILÃO, L.A, SILVA, R.O & RIBEIRO, J.V.,Isoimunização feto-moderno I. Características modernas, Bras. Gynec.Obstet, 44-50, 1982
- 10 - DARKE, C., SARGENT, C.,& DYER, P.A, HLA-DR antigens and properdin fator B allotypes in responders and nonresponders the rhesus - D antigens, Tissue Antigens,21:333 335, 1985

- 11 - DARROW, R.R, Icterus Gravis (erythroblastosis) neonatorum.
Examination of etiologic considerations, A.M.A. Arch
of Pathol, 25: 378, 1938
- 12 - FREDA, V.J., GORMAN, J.G & POLLACK, W., The use of Rh ne
gative immunoglobulin in the prevention of the disease,
Bulletin of Sloane Hospital for women, 13: 95-99, 1967
- 13 - FREDA, V.J, GORMAN, J.G, POLLACK, W.& BOWE, E., Prevention
of Rh hemolytic disease: Ten years clinical experience
with Rh immuglobulin, N.Engl. J.Med., 292: 1014-1016,
1975
- 14 - FUJITA, M.N Comunicação pessoal, 1986
- 15 - GENETET, B.& MANNONI, P, La transfusion, Flammarion Médici
ne Sciences, Paris, 560, 1978
- 16 - GIBLETT, E.R, Blood group antibodies causing hemolytic di
sease of newborn, Clin.Obstet.Gynec., 7: 1044, 1964
- 17 - GJODE, P., MOULVAD, I., TRIERHANSEN, J.& JORGENSEN, J., Low
dose rhesus immunoprophylaxis after carly induce abor-
tions, Acta Obst. ed Gynec sev., 61: 105-107, 1982
- 18 - KORNSTAD, L., New cases of irregular blood group antibodies
other than anti-D in pregnancy. Frequency and clinical
significance, Acta Obst. et Gynec Sev., 62: 431-435, 1963
- 19 - LACEY, P.A, CASKEY, C.R., WERNER, D.J & MOULDS, J.J., Fatal
hemolytic disease of a newborn due to anti-D an Rh po-
sitive D^u variant mothers, Transfusion, 23: 91-94, 1983
- 20 - LANDSTEINER, K.& WIENER, A.S, An agglutinable fator in hu
mom blood recognizable by immune sera for rhesus blood,
Proc.Soc.Exp.Biol, 43: 223, 1940
- 21 - LEVINE, P., KATZIN, M & BURNHAN, L., Isoimmunization in preg



- nancy, its possible bearing on erythroblastosis fetalis, J.Amer.Med.Ass., 113: 825-827, 1941
- 22 - LEVINE, P., KATZIN; E.M & BURNHAN, L., The role of immunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis, Amer. J. Obst. Gynec., 42: 925, 1941
- 23 - LEVINE, P. & STETSON, R., An unusual case of intra-group agglutination, J.Amer.Med.Asso, 113, 1939
- 24 - LEVINE, P. & POLAYES, S.H., An atypical hemolysis in pregnancy, Ann. Interm. Med., 14: 1903, 1941
- 25 - LILEY, A.W, Liquor amnii analysis in the management of the pregnancy complicated by rhesus sensibilization, Amer. J. Obst. Gynec., 82: 1359, 1961
- 26 - LILEY, A.W- Intrauterine transfusion of foetus in hemolytic disease, Brit. Med. J., 2: 1107, 1963
- 27 - LIMA, G.R., Prevenção da sensibilização ao fator Rh pela globulina anti-Rh Rho Conr, Bras. Med., 46-50.1961
- 28 - MARLETTA, J., Hematologia e Imunohematologia, Cientifico técnicas Americanas, Buenos Aires, 1979
- 29 - MELLONE, O, Emprego de soro ou plasma anti-Rh na prevenção da isoimunização da mulher Rh negativo, Maternidade e Infância, 30: 325-344, 1971
- 30 - MOLLISON, P.L., Blood transfusion in clinical medicine, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1983
- 31 - MOLLISON, P.L, FRAME, M. & ROSS, M.E., Differences between Rh (D) negative subjects in response, Brit.Journal of Hematology 19: 257, 1970

- 32 - OLIVES, M.M., El problem Rh enfermnd hemolític neonatal, Jims, Barcelona, 1973
- 33 - OLIVEIRA, M.C.V.C, Incidência de Imunização eritrocitária em mulheres, na Região metropolitana do Recife-Pe, Rev. Ped.Pernamb, 1 (3): 165-170, 1983
- 34 - PARINAUD, J., FOURNIÉ, A., GRANDJEAN, H., BLANC, M. & PONTA NNIE, G., Primeiers essais de traitement de l'alloimmunization foeto-maternalle dans d' antigens erythrocytaire, J. Obst. Gynec. Biol Rep, 12: 407-413, 1983
- 35 - PIATO, S. & CYMBALISTA, N., Prevenção da imunização Rh através do emprego da imunoglobulina, Faculdade de Ciências Medica da Santa Casa, 1975
- 36 - POLESKY, H.F., Blood group antibodies in prenatal sera, Minn Med., 50: 601, 603, 1967
- 37 - QUEENAN, J.T., Modern management of the Rh problem, Hoeber Medical Division, Harper, Harper and Row, New York, 1967
- 38 - RAUTMANN, H, Die blutbildung bei fotaler allgemeiner was sersucht, Ziegl. Beitz, Path. A nat., 54: 332, 1912
- 39 - REINOLD, E., Obstetrial aspects in successes and failures of rhesus prophylaseis, Wiener Medizinische Wochens Chrift, 133: 610-613, 1983
- 40 - ROTE, N.S, Pathoplysiology of Rh isoimmunization, Clin. Obst.Gynec., 25: 249, 1982
- 41 - SMITH, B.H, HABER, J.M & QUEENAN, J.T., Irregular antio bclies in pregnancy women, Obst. Gynec., 29:118, 1967

- 42 - STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H., Principal and prodedures of statisticas, a biometrical approoch, 2 the ed, Mc Graw Hill, Kogakusha, 1980
- 43 - TAYLON, J.F., Sensibilizations of Rh negative dough ters by their Rh positive mothers, Obst. Gynec. Sev. 276: 547-551, 1961
- 44 - TOVEY, D.A.L., TAVERNER, J.M. & LONGSTER, G.H., Devolo ponent of multiple antibodias im an apparently " Protected Rh negative mother", Vox Sang. 42: 131, 1982
- 45 - WALKER, R.H., Hemolytic disease of the newborn, Chi cago, 99-104, 1971
- 46 - WIDLE-KANT, J., BEER, A.E, Antepartum Rh immune globu lin, Clin. Perinatal, 10: 345-355, 1983

