

MANOEL ALFREDO CURVELO SARNO

**DETECÇÃO DA ANEMIA FETAL POR DIFERENTES
PADRÕES DE DOPPLERVELOCIMETRIA DA ARTÉRIA
CEREBRAL MÉDIA EM FETOS ISOIMUNIZADOS**

Dissertação de Mestrado

ORIENTADOR: Prof. Dr. RICARDO BARINI

**UNICAMP
2004**

MANOEL ALFREDO CURVELO SARNO

**DETECÇÃO DA ANEMIA FETAL POR DIFERENTES
PADRÕES DE DOPPLERVELOCIMETRIA DA ARTÉRIA
CEREBRAL MÉDIA EM FETOS ISOIMUNIZADOS**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Tocoginecologia, área de
Tocoginecologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. RICARDO BARINI

**UNICAMP
2004**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Sa74d

Sarno, Manoel Alfredo Curvelo

Detecção da anemia fetal por diferentes padrões de Dopplervelocimetria da artéria cerebral média em fetos isoimunizados / Manoel Alfredo Curvelo Sarno. Campinas, SP : [s.n.], 2004.

Orientador : Ricardo Barini
Dissertação (Mestado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Ultra-sonografia - doppler. 2. Isoimunização Rh.
3. Medicina fetal. I. Ricardo Barini. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: MANOEL ALFREDO CURVELO SARNO

Orientador: Prof. Dr. RICARDO BARINI

Membros:

1.

2.

3.

**Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas**

Data: 14/12/2004

Dedico este trabalho...

*... aos meus pais, pelos ensinamentos,
estímulo e confiança, mesmo a distância.
Obrigado pelo exemplo que representam.*

*... à minha esposa, Lílian,
pela paciência, incentivo e companheirismo,
fazendo com que esta conquista seja também dela.*

*... aos meus irmãos, Vitor e Marina,
pela torcida e incentivo.*

*... à minha tia Madalena pela cruz na
frente que sempre me deu muita sorte.*

Agradecimentos

À Prof.^a Dr.^a Egle Cristina Couto de Carvalho pela dedicação a este trabalho, sendo responsável pela sua co-autoria.

Ao Prof. Dr. Ricardo Barini pelo brilhantismo das idéias e orientação da tese.

Ao Prof. Dr. Emílio Marussi pela amizade, jovialidade, dedicação à vida acadêmica e acompanhamento de todos os passos deste trabalho. Meu mestre.

Aos médicos e professores da equipe de Ecografia do CAISM pela amizade e incentivo a este trabalho: Cristiane, Sara, Simiran, Márcia, Silvana, Kleber, Milton, Dr.^a Cleide, Renata e Jales.

Às funcionárias do setor de Ecografia do CAISM pela ajuda constante em todas as etapas, principalmente durante a coleta de dados: Eliana, Jandira, Marilza, Cristina, Dirce, Malu, Creuza, Conceição, Rosiane, Fabiane e Viviane.

Às enfermeiras Zoraide Gregório e Maria José Frolini Palu pelo auxílio neste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Citogenética pelo incentivo: Dr.^a Fátima, Dr.^a Denise, Juliana, Bruno, Cássia, Vanessa, Raquel, Alex e Danielle.

Aos amigos da pós-graduação e da residência médica, especialmente minha querida amiga Danielle Sá, que acompanharam de perto todo o esforço para a realização do projeto e abrilhantaram com idéias, críticas e sugestões extremamente valiosas.

Aos Professores Dr.^a Sophie, Dr. Aarão, Dr. Gabiatti, Dr.^a Eliana, Dr. Guilherme, Dr.^a Lúcia e Dr. Bahamondes pela amizade durante a residência e pós-graduação, com ensinamentos que levarei para toda vida.

Às estatísticas Sirlei Siani Morais e Gislaine Fonsechi Carvasan pela paciência e contribuição valiosa na análise dos dados.

Aos amigos da ASTEC, especialmente Sueli Chaves, pela colaboração na revisão e formatação da tese.

À Margarete Souza Donadon, pela paciência e carinho com todos os alunos da pós-graduação.

Aos funcionários do SAME pelo valioso auxílio na obtenção dos prontuários.

À minha terra natal, Salvador, pela energia durante estes anos.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	viii
Resumo	x
Summary	xii
1. Introdução	14
2. Objetivos	31
2.1. Objetivo geral	31
2.2. Objetivos específicos	31
3. Publicação	33
4. Conclusões	55
5. Referências Bibliográficas	59
6. Bibliografia de Normatizações	69
7. Anexos	70
7.1. Anexo 1 - Protocolo de Assistência à Gestante Isoimunizada pelo Fator Rh	70
7.2. Anexo 2 - Instrumento para Coleta de Dados	78
7.3. Anexo 3 - Tabelas	79
7.4. Anexo 4 - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	87

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ACM	Artéria Cerebral Média
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
Δ	Delta
DHPN	Doença Hemolítica Perinatal
DO	Densidade Ótica
DP	Desvio Padrão
DUM	Data da última menstruação
EUA	Estados Unidos da América
Hb	Hemoglobina
Hbf	Hemoglobina fetal
HC	Registro no Hospital das Clínicas/Unicamp
Ht	Hematócrito
Hz	Hertz
IC	Intervalo de Confiança
IG	Idade Gestacional
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M

IMC	Índice de Massa Corpórea
MoM	Múltiplos da Mediana
Nm	Nanômetro (s)
PS-ACM	Pico Sistólico da Artéria Cerebral Média
Rad (s)	Radiano (s)
Rh	Rhesus
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USA	<i>United States of America</i>
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo
VS	Velocidade Sistólica

Resumo

Objetivo: avaliar diferentes padrões da Dopplervelocimetria da artéria cerebral média na predição da anemia fetal. **Sujeitos e Métodos:** este é um estudo retrospectivo do tipo validação de teste diagnóstico, no qual foram avaliadas gestantes isoimunizadas submetidas à cordocentese e Dopplervelocimetria da artéria cerebral média no período de janeiro de 2003 a agosto de 2004 no Serviço de Medicina Fetal do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher da Universidade Estadual de Campinas. Foram comparados dois parâmetros do pico sistólico da artéria cerebral média (PS-ACM), 1,5 desvio padrão e 1,5 múltiplo da mediana (MoM) na predição da anemia fetal, pelo teste de McNemar. O padrão-ouro para anemia foi o resultado da medida da hemoglobina fetal (Hbf) abaixo de 0,65 MoM. Foi avaliado o melhor ponto de corte do PS-ACM antes e depois das transfusões intra-uterinas através da plotagem dos resultados na curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC). **Resultados:** das 36 gestantes isoimunizadas, 17 foram submetidas a amniocenteses seriadas. Em três foram identificados anticorpos contra antígenos irregulares que não causavam hemólise, uma perdeu o seguimento e outra evoluiu para parto antes do procedimento. Foram analisados os dados de 14 gestantes e 15 fetos (uma gestação gemelar), com o total de 64 cordocenteses. A

média da Hbf antes da primeira transfusão foi 8,1 g/dl (variação de 3,8 a 14) e após a primeira transfusão 11,6 g/dl (variação de 9 a 16,1). A média do PS-ACM antes da primeira transfusão foi 51,9 cm/s (variação de 30 a 86) e após a primeira transfusão 33,1 cm/s (variação de 21 a 59). As gestantes foram submetidas em média a 3,1 transfusões (variação de 1 a 6). Nos fetos analisados antes da primeira transfusão, a área sob a curva ROC foi 0,9821 e o melhor ponto de corte do PS-ACM foi 36 cm/s. Analisando o total de cordocenteses (64), antes e depois das transfusões, a área foi 0,7537 e o melhor ponto de corte do PS-ACM foi 44 cm/s. Comparando os valores de sensibilidade, especificidade e valores preditivos dos pontos de corte de 1,5 MoM e 1,5 DP do PS-ACM, não houve diferença estatística.

Conclusão: a velocidade do PS-ACM medida pela Dopplervelocimetria demonstrou bom desempenho para predizer os fetos com anemia e este desempenho diminuiu após a primeira transfusão. Não houve diferença entre a análise de 1,5 DP e 1,5 MoM do PS-ACM para predição de anemia moderada ou grave.

Summary

Objective: to evaluate the performance of different parameters of middle cerebral artery Doppler velocity for prediction of fetal anemia in Rh isoimmunization. **Subjects and Methods:** a retrospective study was conducted to validate a diagnostic test, assessing all isoimmunized pregnant patients who underwent cordocentesis and middle cerebral artery Doppler velocity (MCA-PSV) from January 2003 to August 2004 in the Fetal Medicine Unit at Universidade Estadual de Campinas, Brazil. Two different MCA-PSV cut offs were compared to predict fetal anemia, using McNemar test. The gold standard to fetal anemia was hemoglobin below 0.65 multiples of the median. The best cut off value to predict fetal anemia was obtained by *Receiver Operating Characteristic* curve (ROC), before and after transfusion. **Results:** thirty-six isoimmunized pregnant patients were selected. Seventeen had undergone serial amniocentesis, 3 were isoimmunized by non-hemolytic antigens, one was lost to follow-up and other delivered before the procedure and all were excluded. Data from 14 pregnant patients and 15 fetuses (one twin pregnancy) were studied with a total of 64 cordocentesis. Mean fetal hemoglobin was 8.1 g/dl (range, 3.8-14), and 11.6 g/dl (range, 9-16.1) before and after the first transfusion, respectively. Mean MCA-PSV was 51.9 cm/s (range, 30-86) and 33.1 cm/s (range,

21-59) before and after the first transfusion, respectively. Pregnant patients were submitted to an average of 3.1 transfusions during pregnancy (range, 1-6). Value for the area under the ROC curve for fetuses analyzed before the first transfusion was 0.9821, and the best cut off value was 36 cm/s. From a total of 64 cordocentesis, before and after transfusions, the value under the area of ROC curve was 0.7537 and cut off value of 44 cm/s. Comparing sensitivity and specificity, there was no statistical difference between 1.5 MoM and 1.5 DP of MCA-PSV.

Conclusion: MCA-PSV measured by Doppler velocity showed a good performance for prediction of fetal anemia in Rh isoimmunized pregnancy and this performance was poorer after the first fetal transfusion. There was no difference between 1.5 MoM and 1.5 DP of MCA-PSV to predict moderate and severe fetal anemia.

1. Introdução

A doença hemolítica perinatal (DHPN) ou eritroblastose fetal foi relatada pela primeira vez em 1609, na literatura francesa, em nascimento de gêmeos. O primeiro feto nasceu hidrópico e faleceu em seguida. O segundo nasceu extremamente ictérico e faleceu alguns dias depois (BOWMAN, 1989).

A causa da DHPN permaneceu desconhecida até meados do século passado. Em 1932, Diamond *et al.* mostraram que a hidropisia fetal, icterícia grave e anemia do neonato eram manifestações clínicas da mesma doença. A circulação de eritroblastos era comum a todas essas condições. Em 1938, DARROW defendeu que a causa da hemólise era a passagem de anticorpos anti-hemoglobina fetal da mãe para o feto. A sua teoria da passagem dos anticorpos estava correta, porém não se tratava de anticorpos anti-hemoglobina fetal.

O anticorpo correto foi descoberto por LANDSTEINER e WEINER em 1940. Eles injetaram células vermelhas de macacos Rhesus em cobaias de coelhos e porcos, e esses produziram anticorpos contra as células vermelhas. Quando este soro era misturado com amostras de indivíduos da raça branca, ocorria

aglutinação em 85% dos casos (Rh positivos). O mesmo não acontecia em 15% (Rh negativos). Este experimento, um marco da medicina, é a base da moderna imuno-hematologia e permitiu a transfusão sangüínea em humanos, além de revelar a etiologia e a patogênese da DHPN.

Após este trabalho de LANDSTEINER e WEINER foram descobertos muitos outros grupos sangüíneos, além do sistema Rh. A isoimunização pode ser causada por outros grupos sangüíneos, mas o sistema Rh é o mais comum e importante quando se estuda DHPN.

Os antígenos Rh são agrupados em três pares: D, Cc e Ee. A presença do antígeno D determina que o indivíduo seja Rh positivo. O antígeno d nunca foi encontrado, por isso a ausência do antígeno D confere ao indivíduo a condição de Rh negativo. A produção do anti-D em uma mulher Rh negativa é o que causa a DHPN em fetos Rh positivos. De acordo com a hipótese de FISHER e RACE (1946), os antígenos são distribuídos em dois grupos de três, sendo que cada grupo é originado de um dos pais. Os grupos CDe, c(d)e e cDE são os mais comuns, sendo que 45% das pessoas são homozigotas para D. A determinação da zigosidade do marido da gestante é importante. Se ele for homozigoto para D, todos os seus filhos serão Rh positivos. Se for heterozigoto, apenas metade. O sistema Rh é mais complexo do que estes cinco antígenos descritos anteriormente. Trinta e seis outros antígenos são descritos na literatura. Os mais comuns são C^w (alelo do C) e D^u, substituindo o D. Em algumas situações raras, uma mulher D^u pode produzir anticorpos anti-D do feto Rh positivo causando DHPN. O antígeno D^u é mais freqüentemente encontrado na

raça negra e a prevalência de Rh negativo na população varia de 4% a 35%, sendo mais freqüente na raça branca (BOWMAN, 1989).

A interrupção das transfusões de sangue Rh positivo em indivíduos Rh negativos reduziu a incidência de isoimunizações Rh. Porém, foi a partir da introdução da imunoglobulina anti-D, no final da década de 1960, que a DHPN pôde ser controlada. Com a diminuição da isoimunização Rh houve um aumento relativo dos casos de isoimunização por antígenos atípicos. Cerca de 1% a 2% dos indivíduos desenvolvem anticorpos atípicos (não D), principalmente após transfusão sangüínea. Os mais freqüentes são anti-c, anti-Kell, anti-E, anti-C e anti-Fy^a. Outros menos freqüentes são anti-e, anti-Ce, anti-Kp^a, anti-Kp^b, anti-cE, anti-k, anti-s, anti-Wr^a, dentre outros mais raros. Felizmente, estes antígenos raramente causam hemólise fetal. Quando associados com a DHPN têm pior prognóstico (BOWMAN, 1989). Um método mnemônico de correlacionar alguns antígenos à sua capacidade antigênica está descrito no Manual de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Jonhs Hopkings. Kell, *kills* (mata), duffy, *dies* (morre) e Lewis, *lives* (vive). O anti-Kell não produz hemólise, mas diminuição da hematopoiese por supressão da medula óssea, por isso a utilização do gráfico de Liley como preditor da gravidade da anemia fetal nestes casos é questionada por alguns autores (CAINE e MUELLER-HEUBACH, 1986). As gestantes positivas para anti-Kell, na maioria das vezes, não desenvolvem anemia fetal. Isso ocorre devido à zigosidade paterna. Geralmente os maridos das gestantes com anticorpos anti-Kell são Kell-negativos e apenas 0,2% são homozigotos para Kell (BOWMAN, 1989).

O sistema ABO também pode causar doença hemolítica, porém sua expressão antigênica fetal é mais tardia e o seu prognóstico é melhor do que em gestantes com anti-c, anti-Kell, anti-D e outros antígenos atípicos. Nunca ocorre hidropisia ou anemia fetal grave, sendo um problema neonatal. A explicação para a atenuação desta antigenicidade é que existem poucos sítios dos antígenos A e B na membrana celular das células vermelhas do sangue fetal. Outra razão é que a maioria dos anticorpos anti-A e anti-B é IgM e não atravessa a barreira placentária e os poucos anticorpos da classe IgG podem ligar-se a muitos outros tecidos fetais. Por essas razões, a conduta nessas gestantes deve ser sempre expectante (BOWMAN, 1977). A incompatibilidade ABO pode ter um efeito protetor para a isoimunização Rh. Ao desenvolver anticorpos anti-A ou anti-B, a gestante irá destruir as hemácias fetais Rh positivas que forem transfundidas para a circulação materna. Caso o feto seja Rh positivo e a mãe Rh negativo, com a incompatibilidade ABO o risco de isoimunização Rh cai de 16% para 1,5% (WOODROW, 1970).

A sensibilização materna pelo antígeno Rh ocorre na transfusão feto-materna. A transfusão é mais freqüente e abundante após o parto. Porém, pode ocorrer em gestantes com sangramentos, ameaça de aborto, abortamento completo, descolamento prematuro de placenta, procedimentos invasivos como amniocentese e cordocentese ou mesmo em gestações normais (PEDDLE, 1968). A localização do leito placentário através da ultra-sonografia durante os procedimentos invasivos diminuiu o volume de sangue fetal transfundido para a circulação materna (BOWMAN e POLLOCK, 1985). Já o parto cesárea e a extração manual da placenta

aumentam este risco. KLEIHAUER e colaboradores, em 1957, descreveram um método sensível para diferenciar as hemácias do adulto e as de origem fetal. Este método é capaz de quantificar a transfusão do sangue fetal para a circulação materna. O teste de Kleihauer deve ser utilizado no manejo da anemia fetal, nos casos em que há indicação de transfusão intra-uterina. Ele informa a pureza do sangue fetal obtido por cordocentese. Como há decréscimo de 15% no total de hemácias fetais a cada transfusão e bloqueio na hematopoiese fetal após a terceira transfusão, ele também permite o controle do seu resultado (MOISE, 2002).

O obstetra que assiste a uma gestante isoimunizada deve ser capaz de prever quando o feto está anêmico e a gravidade da anemia. Caso o feto esteja gravemente afetado, deve-se analisar sua idade gestacional. Apenas fetos anêmicos com menos de 32 semanas de idade gestacional devem ser submetidos a tratamento pré-natal. Após esta fase são recomendados a antecipação do parto e o tratamento neonatal. A indução da maturidade pulmonar fetal reduz a comorbidade da prematuridade (MOISE, 2002). O tratamento pré-natal depende da titulação de anticorpos pelo teste de Coombs indireto, tipagem sangüínea do pai da criança e amniocentese para aferição da bilirrubina no líquido amniótico e utilização do gráfico de Liley. A gestação não deve ultrapassar 36 semanas devido ao risco de DHPN grave no recém-nascido (BOWMAN, 1989).

Existem dois padrões mais comuns de gravidade da DHPN. A doença pode acometer todos os filhos da mulher isoimunizada com a mesma gravidade ou, a cada filho, a anemia pode aumentar progressivamente. Se a mulher teve três ou quatro filhos com anemia leve, provavelmente não desenvolverá anemia

grave em gestações futuras. Há raros casos em que nascem filhos com anemia leve após gravidez com anemia grave e vice-versa. A chance de recorrência de hidropisia fetal em gestação futura é de 90% (BOWMAN, 1989).

Outro teste importante no manejo da isoimunização é o teste de Coombs, descrito em 1945 por COOMBS *et al.*, para a identificação dos anticorpos anti-eritrocitários. As hemácias Rh positivas são incubadas com o soro para testar se esse possui o anticorpo anti-D. Pode-se titular os anticorpos através de diluições seriadas. Um teste com títulos acima de 1:32 é considerado alto devido à chance de desenvolvimento de hidropisia fetal de 25% (BOWMAN, 1989). A variabilidade entre laboratórios deste teste é um problema a ser considerado, porém não é aceitável uma variabilidade maior que uma diluição no mesmo laboratório. Na Europa e no Reino Unido a quantidade de anticorpos anti-D circulante é calculada por técnica de ELISA e comparada com padrões internacionais. Para valores acima de 15UI/ml recomenda-se a cordocentese (MOISE, 2002).

Estima-se que a incidência de isoimunização Rh nos Estados Unidos seja de 25 por 10.000 nascidos vivos (MARI *et al.*, 2002). As conseqüências descritas para o feto são hidropisia, insuficiência cardíaca, óbito intra-útero ou neonatal e parto prematuro, dentre outras. Pode ocorrer ainda icterícia grave no neonato com desenvolvimento de *kernicterus*, o que pode causar danos irreversíveis ao sistema nervoso central.

A hemoglobina fetal (Hbf) normal pode variar de 11g/dl (17 semanas) até 15g/dl (40 semanas). Para classificar adequadamente a anemia, recomenda-se a

utilização da tabela publicada por MARI *et al.* em 2000. Estes autores apresentam valores normais para cada idade gestacional e a variação conforme os múltiplos da mediana. A anemia pode ser classificada em três graus diferentes: leve, moderada e grave. Na leve, a Hbf encontra-se abaixo de 0,84 múltiplos da mediana (MoM) para a idade gestacional. Na moderada, a Hbf está abaixo de 0,65MoM e, na grave, abaixo de 0,55MoM. Há autores que consideram anemia grave sempre que a Hbf estiver abaixo de 7g/dl, porém a variação da Hbf durante a gravidez é muito grande. Uma Hbf de 7g/dl em um feto com 17 semanas não representa anemia grave mas, às 30 semanas, o feto com estes níveis de Hbf estaria gravemente comprometido. Há autores que indicam a transfusão sangüínea sempre que a hemoglobina fetal estiver 2g/dl abaixo do normal para a idade gestacional (NICOLAIDES *et al.*, 1988; MARI *et al.*, 2002).

A espectrofotometria do líquido amniótico é utilizada no diagnóstico da anemia fetal conforme os níveis de bilirrubina. O primeiro a utilizar a espectrofotometria na predição da anemia fetal foi BEVIS, em 1956. A origem da bilirrubina no líquido amniótico são principalmente as secreções pulmonar e traqueal. Em 1961, LILEY descreveu o método da medida espectrofotométrica do líquido amniótico que permitiu a comparação por diferentes laboratórios e pôde predizer a gravidade da anemia. A concentração de bilirrubina diminui durante a gestação normal. A descrição original do gráfico de Liley foi realizada a partir de gestações com 28 semanas ou mais. Como existe uma elevação fisiológica da bilirrubina no líquido amniótico antes desta idade gestacional, sugeriu-se prolongar o gráfico de Liley em forma de parábola e não linear (BOWWMAN, 1989). NICOLAIDES *et*

al. (1986a) demonstraram pouca relação entre o gráfico de Liley e anemia fetal em idades gestacionais entre 18 e 25 semanas. Esses autores recomendaram a realização de cordocentese neste período de gestação. No mesmo ano, ANANTH *et al.* (1986) fizeram uma curva de normalidade entre 14 e 20 semanas de gestação. Existe elevação a bilirrubina no líquido amniótico até 26 semanas e diminuição após. A partir desta observação foi proposta uma curva de Δ DO 450 para ser utilizada entre 14 e 40 semanas (QUEENAN *et al.*, 1993). Em 1998 foram publicados dois artigos contraditórios comparando o método de Queenan com o gráfico de Liley estendido para o segundo trimestre. SPINNATO *et al.* (1998) concluíram que o método de Queenan superestima a anemia fetal duas vezes mais do que o método descrito por Liley. Já SCOTT e CHAN (1998) sugeriram que o método de Queenan era alternativo ao de Liley. Com o desenvolvimento de técnicas não invasivas para detecção da anemia fetal, a espectrofotometria do líquido amniótico está sendo substituída em diversos protocolos de assistência ao feto isoimunizados (SCHEIER *et al.*, 2004).

A amniocentese é realizada após um exame ultra-sonográfico para a localização do sítio placentário, o que reduz o risco de transfusão feto-materna e agravamento da DHPN. Caso não seja disponível o exame ultra-sonográfico, a punção supra-púbica, após esvaziamento vesical, é a mais recomendada para evitar trauma placentário (PEDDLE, 1968; BOWMAN e POLLOCK, 1985). O procedimento é seguro, mas como todo método invasivo, há complicações descritas. Podem ocorrer infecção materna, antecipação do parto e descolamento prematuro da placenta. Além disso, é possível ferir o feto com a agulha. O

evento adverso mais importante desse procedimento é a piora da isoimunização. A contaminação do líquido amniótico com sangue materno ou fetal, mecônio e/ou exposição à luz prejudicam a leitura espectrofotométrica (REHDER e WEITZEL, 1978; BOWMAN e POLLOCK, 1985).

A transfusão intra-útero foi descrita pela primeira vez por Liley em 1963, mudando definitivamente o prognóstico fetal em isoimunização. Foi realizada a transfusão intraperitoneal em gestação de 32 semanas. As hemácias injetadas no peritônio são absorvidas pelo ducto torácico direito, através dos vasos linfáticos subdiafragmáticos. O procedimento era realizado por radioscopia e cateter epidural inserido no abdome fetal. Um ano depois (1964), FREDERICK e ADAMSONS descreveram a primeira ex-sangüíneo-transfusão por cateterização da artéria femoral fetal após histerotomia, com evolução para parto após poucas horas. A transfusão intravascular fetal com coleta de sangue foi descrita pela primeira vez por RODECK *et al.*, em 1981, com agulha guiada por fetoscopia. Em 1982 foi descrita transfusão intravascular guiada por ultra-sonografia por BANG *et al.* Atualmente esta técnica é a mais utilizada para a correção de anemia fetal, levando até a remissão completa da hidropisia fetal em alguns casos.

A punção do cordão na sua inserção placentária é a preferida e, para induzir o relaxamento muscular fetal e facilitar o procedimento, injeta-se uma substância curarizante (pancurônio) na dose de 0,1mg/kg do peso fetal estimado. Pode-se utilizar, ainda, a porção intra-hepática da veia umbilical. O sangue utilizado na transfusão deve ser tipo O negativo, previamente irradiado com 2.000 rads por unidade para reduzir a exposição a outros antígenos, com testes

para infecção negativos, com hematócrito entre 75% e 85% para evitar volume excessivo e compatível com o tipo sangüíneo materno. Podem ser utilizadas hemácias maternas lavadas para retirar os anticorpos anti-D (MOISE, 2002).

A transfusão de grandes quantidades de sangue pode acarretar óbito fetal. Existem muitas maneiras de calcular a quantidade ideal de sangue a ser transfundida, sendo que todas devem levar em consideração a idade gestacional. Pode-se subtrair 20 da idade gestacional e multiplicar por 10ml. Pode-se ainda multiplicar de 30ml a 50ml pelo peso fetal em quilos (BOWMAN, 1989). O cálculo deve levar em conta a concentração do hematócrito do doador. Se este for de 75%, multiplica-se o peso fetal em gramas por 0,02 para obter uma elevação de 10% no hematócrito fetal. Não se deve ultrapassar 100ml de volume transfundido em cada procedimento ou aumentar em quatro vezes ou mais o hematócrito fetal inicial (RADUNOVIC *et al.*, 1992). O objetivo é atingir o hematócrito de 40% a 50%. Em fetos gravemente acometidos deve-se repetir o procedimento após 48 horas para atingir o hematócrito ideal. Após a transfusão, a diminuição de 1% no hematócrito a cada dia pode antecipar os intervalos das transfusões. A partir da terceira transfusão há bloqueio da hematopoiese fetal, o que é demonstrado pelo teste de Kleihauer (MOISE, 2002).

Há outras formas de tratamento para a DHPN que foram testadas sem sucesso: administração de prometazina (GUSDON *et al.*, 1976), dessensibilização oral com estroma de hemácias Rh positivas (BIERMÉ *et al.*, 1979; GOLD *et al.*, 1983) e plasmaferese seriada (GRAHAM-POLE *et al.*, 1977). Recentemente, a administração materna de imunoglobulina intravenosa mostrou benefícios em

casos graves de DHPN. O mecanismo de ação ainda não está elucidado, porém parece haver retroalimentação na produção materna de anticorpos anti-D, bloqueio de receptores Fc na placenta e no sistema reticuloendotelial fetal. O custo excessivo desta terapia limita seu uso apenas como adjuvante do tratamento convencional, com transfusões seriadas em casos de anemia grave (VOTO et al., 1997; MOISE, 2002).

A imunoterapia materna deve ser o tratamento no futuro para estas gestantes. Estudos demonstraram nascimento de fetos sem DHPN após uma gravidez anterior com DHPN grave. Nestes casos, foi notada desaceleração da fagocitose devido à atividade de anticorpos anti-leucocitários humanos maternos. Isto deve ocorrer em função do compartilhamento de antígenos paternos pelo feto. Assim, foi proposta imunização com leucócitos paternos para possível efeito protetor na prevenção da anemia fetal em modelos animais (MOISE et al., 1995; NEPPERT et al., 1999; WHITECAR e MOISE, 2002).

Com o avanço tecnológico na área de medicina fetal e a prevenção da isoimunização com imunoglobulina anti-D, observou-se nos Estados Unidos da América (EUA) redução da mortalidade perinatal de 1/2.180 nascimentos em 1953 para 1/65.000 nascimentos em 1991 (CONTRERAS, 1997). No Canadá, a mortalidade era de 25% antes das técnicas de transfusão intra-uterinas e caiu para aproximadamente 2% (BOWMAN, 1998).

No Brasil não se dispõe de estatísticas a respeito do assunto, porém a imunoglobulina anti-D no período pré-natal não é universalmente disponível no

Sistema Único de Saúde (SUS) (SALAMA et al., 1998). Além disso, a clandestinidade dos abortamentos provocados e a deficiência de serviços de cuidados pré-natais agravam o problema, elevando o número de gestantes isoimunizadas atendidas nas maternidades brasileiras (CABRAL et al., 2000). Na Argentina constatou-se baixo nível de informação a respeito do assunto entre gestantes Rh negativas. Apenas 58% delas sabiam que deveriam ser imunizadas após o parto para evitar sensibilização Rh e 40% sabiam que, caso viessem a ser sensibilizadas, seus filhos poderiam nascer com anemia em gestações futuras (PUPPO et al., 2002).

O padrão-ouro do diagnóstico da anemia só é obtido através da cordocentese e determinação laboratorial da hemoglobina fetal. A cordocentese é um procedimento invasivo que requer equipe médica especializada e material apropriado. Além disso, sua realização envolve riscos maternos e fetais. São complicações inerentes à cordocentese: piora da isoimunização, trombose ou sangramento da veia umbilical, ruptura prematura de membranas, parto prematuro, corioamnionite, sofrimento fetal agudo e óbito fetal. As complicações estão diretamente relacionadas à idade gestacional em que for realizado o procedimento, à experiência do examinador e à indicação do exame. A maioria dos serviços de medicina fetal relata taxa de perda fetal aproximada de 1% a 1,5% (BOWMAN, 1989). A amniocentese é descrita como uma técnica invasiva com menor risco de perda, em torno de 0,5% (NISHIE *et al.*, 2003).

Apesar da isoimunização Rh ser a principal causa de anemia, existem outras causas não hemolíticas que não são avaliadas pelo gráfico de Liley: infecção pelo parvovírus B19, hemoglobinopatias, sangramento e isoimunização

por antígeno Kell. A única forma de saber o grau de anemia nestas gestantes é a realização da cordocentese.

O desenvolvimento de técnicas não invasivas para a predição da anemia fetal é um desafio para pesquisadores em todo o mundo. A ultra-sonografia modo B é uma ferramenta importante no acompanhamento das gestantes isoimunizadas. As vantagens são muitas, por ser um método não invasivo, sem radiação e que pode ser usado frequentemente. Alguns sinais podem predizer a gravidade da anemia: aumento da circunferência abdominal por hepatoesplenomegalia, ascite, hidropisia, polidrâmnio e aumento do átrio direito fetal. Outra vantagem é localizar o sítio placentário. Apesar dos benefícios, a ultra-sonografia modo B não substituiu a leitura seriada do Δ DO 450 no líquido amniótico e estes sinais não foram capazes de diminuir a morbi-mortalidade perinatal por identificar apenas fetos gravemente comprometidos (BOWMAN, 1989; MARI *et al.*, 2000).

Os primeiros aparelhos de Doppler eram dotados de sistema contínuo no qual não era possível visibilizar o vaso a ser insonado. Como consequência, havia insonação de diferentes segmentos de um mesmo vaso, o que é motivo de distintos valores obtidos. Com o surgimento de sistemas Doppler duplex e, principalmente triplex, uso do mapeamento colorido, melhor padronização do estudo velocimétrico do fluxo sangüíneo vascular, e insonação precisa de segmentos vasculares específicos, houve melhor reprodutibilidade dos achados (CARMO, 2001).

A Dopplervelocimetria pode ser o único meio não invasivo de acesso ao nível de hemoglobina fetal (SAADE, 2000). De acordo com as hipóteses

desenvolvidas, o estudo das velocidades parecia mais promissor, uma vez que o estado de anemia fetal é estreitamente vinculado à circulação hiperdinâmica. A velocidade máxima mostrava-se menos sujeita a erros, quando comparada às velocidades mínima e média, por não depender do posicionamento da amostra do volume, do uso de elevados valores do filtro de Doppler o que elimina fluxos de baixa velocidade, por vezes, comprometendo a interpretação da velocidade mínima. A relação entre as velocidades máxima, mínima e média, apresentadas por índices (pulsatilidade e resistência) falharam na tentativa de predizer anemia fetal (VYAS et al., 1990).

Após ter sido determinado o melhor parâmetro a se estudar, a questão restringiu-se a escolher o vaso fetal que preenchesse os pré-requisitos para essa avaliação. Em se tratando de aferição de velocidades, era preciso encontrar um vaso que mantivesse pequeno ângulo de insonação com o feixe de ondas de Doppler além de exibir segmento retilíneo, permitindo precisão nas medidas da velocidade (CARMO, 2001).

Diversos vasos já foram testados, incluindo artérias e veias. Atualmente, o vaso que melhor se correlaciona com anemia fetal e preenche todos os pré-requisitos é a ACM. Para demonstrar a correlação direta do pico sistólico da artéria cerebral média (PS-ACM) com a hemoglobina, STEFOS *et al.*, em 2002, mediram o pico sistólico antes e após a transfusão intra-útero e encontraram valor 60% acima do limite superior no primeiro grupo e 38% acima no segundo.

Os fetos com anemia são hiperdinâmicos, apresentam aumento do trabalho cardíaco, da velocidade do fluxo sangüíneo e diminuição da viscosidade sangüínea. A Dopplervelocimetria é um método não invasivo que tem sido utilizado em diversos vasos fetais para predizer anemia (STILLER *et al.*, 1987). A avaliação da artéria umbilical pela Dopplervelocimetria falhou na predição da anemia fetal (GUNGOR *et al.*, 1996). A velocidade média da aorta fetal avaliada pelo Doppler está aumentada nos fetos isoimunizados, porém não hidrópicos. Este vaso é fonte de estudos por manter uma relação direta da velocidade máxima e média com anemia fetal, porém o ângulo de insonação do Doppler com a aorta fetal é mais difícil de se manter próximo a zero do que na ACM (NICOLAIDES *et al.*, 1990; TAVEIRA *et al.*, 2001; HARRINGTON *et al.*, 2004).

A artéria coronária fetal apresenta aumento na velocidade diastólica em fetos com anemia grave e naqueles com constrição do ducto arterioso (BASCHAT *et al.*, 2003).

A comparação de parâmetros ultra-sonográficos e Dopplervelocimétricos demonstrou que o PS-ACM conseguiu predizer anemia fetal em 100% dos casos, o pico sistólico da veia intra-hepática em 83%, o perímetro esplênico em 66% e o comprimento hepático fetal em 33% (DUKLER *et al.*, 2003).

Modificações na circulação do ducto venoso também já foram descritas, com aumento compensatório da circulação por este vaso. Como o fluxo do ducto venoso desemboca diretamente no átrio esquerdo através do forame oval, este aumento do fluxo tenta proteger os órgãos vitais de hipóxia mais acentuada

(OEPKES *et al.*, 1993; TAVEIRA *et al.*, 2003). Os picos sistólicos da artéria esplênica e da artéria renal também se encontram elevados em fetos anêmicos (MARI *et al.*, 1991; BAHADO-SINGH *et al.*, 2000).

Recentemente, estudos utilizando o pico sistólico da artéria cerebral média (PS-ACM) mostraram ser este um dos melhores vasos para a predição de anemia fetal (MARI *et al.*, 2000a; TEIXEIRA *et al.*, 2000; MAGALHÃES, 2004). MARI *et al.*, (2000) encontraram sensibilidade de 100% para anemia moderada e grave, com ponto de corte de 1,5MoM para o PS-ACM, corrigido para a idade gestacional. Foram também relatadas sensibilidade de 64% e especificidade de 100% para hemoglobina inferior ao segundo desvio padrão (DP) e ponto de corte para o PS-ACM acima de um DP (TEIXEIRA *et al.*, 2000). Em revisão recente, SEGATA e MARI (2004), concluíram que o PS-ACM é o melhor método não invasivo para predizer anemia fetal, porém o treinamento dos profissionais em ultra-sonografia é pré-requisito básico para obter esses resultados. No Brasil já foram realizados estudos que demonstram a utilidade do PS-ACM na predição da anemia fetal, como também já foram realizadas curvas de normalidade (CARMO *et al.*, 1998; CARMO, 2001; COSTA *et al.*, 2003, MAGALHÃES, 2004). O uso do PS-ACM como método complementar no diagnóstico da anemia fetal também foi sugerido por TAVEIRA *et al.*, (2004).

Atualmente a rotina na maioria dos serviços de medicina fetal, no diagnóstico e tratamento da isoimunização Rh, não inclui a Dopplervelocimetria na predição da anemia. O que se preconiza é a suspeição de doença hemolítica a partir da história clínica de isoimunização, titulação do anticorpo anti-D

através do teste de Coombs indireto e painel de hemácias demonstrando o anticorpo anti-D. Está indicada a realização da punção do líquido amniótico para a espectrofotometria e uso do gráfico de Liley. A punção seriada durante a gestação aumenta o valor preditivo da espectrofotometria.

Apesar da Dopplervelocimetria ser indicada por muitos pesquisadores como método capaz de induzir decisões clínicas, ainda é muito precoce afirmar que a conduta adotada em gestantes com isoimunização deva ser alterada (DIVAKARAN *et al.*, 2001). Há uma crítica em relação à adoção da Dopplervelocimetria no lugar do gráfico de Liley. Não há ainda parâmetros precisos para determinar quando realizar a cordocentese e existe possibilidade de falsos negativos, principalmente nos extremos de idade gestacional (LACKS e COHEN, 2000; MARI e ZIMMERMAN, 2000; NAGEY, 2000). Entretanto, SCHEIER *et al.* (2004) recomendam a conduta na isoimunização Rh baseada em três critérios: história clínica, níveis séricos de anticorpos hemolíticos e exame ultra-sonográfico (modo B e Dopplervelocimetria para diagnóstico de estado hiperdinâmico). Eles não mencionam a espectrofotometria na condução desses casos.

A Dopplervelocimetria da artéria cerebral média é um método promissor para, em futuro próximo, evitar inúmeras cordocenteses e amniocenteses desnecessárias (WHITECAR e MIOSE, 2000; DEREN e ONDEROGLU, 2001; ABDEL-FATTAH *et al.*, 2002). Assim, fazem-se necessários estudos que avaliem e confirmem tal associação. Para tentar colaborar com o esclarecimento desta questão, foi realizado estudo.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a detecção da anemia fetal por diferentes padrões de Dopplervelocimetria da artéria cerebral média em fetos isoimunizados.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar, por Dopplervelocimetria, o PS-ACM em fetos isoimunizados submetidos à cordocentese, antes e depois das transfusões intra-uterinas.
- Determinar a dosagem de hemoglobina fetal, obtida através da cordocentese, antes e depois das transfusões intra-uterinas.
- Comparar os valores do PS-ACM com os valores da hemoglobina fetal em fetos isoimunizados, antes e depois das transfusões intra-uterinas.
- Avaliar a sensibilidade, especificidade e valores preditivos de 1,5MoM e 1,5 DP do PS-ACM tendo como padrão-ouro 0,65MoM da hemoglobina

fetal, obtida através da dosagem sérica fetal por cordocentese, antes e depois das transfusões intra-uterinas.

- Comparar os valores de sensibilidade e especificidade de 1,5MoM e 1,5 DP do PS-ACM, tendo como padrão-ouro 0,65MoM da hemoglobina fetal.
- Determinar o melhor ponto de corte do PS-ACM para o diagnóstico da anemia fetal, antes e depois das transfusões intra-uterinas.

3. Publicação

UOL Mail Inteligente

Página 1 de 1



ASSINE

BATE-PAPO

BUSCA

CENTRAL DO ASSINANTE

E-MAIL

SHOPPING UOL

ÍNDICE PF



Segunda, 22 de novembro de 2004 - 18h06
manoelsarno@uol.com.br

Volt

Mensagens

Responder | Responder a todos | Apagar | Encaminhar

Escrever

De: The American Journal of Obstetrics & Gynecology

AntiSpam

Para: manoelsarno@uol.com.br

Videomail

Data: 22/11/2004 18:06

Pastas

Assunto: Submission Confirmation

Endereços

11-22-2004

Limpar lixeira

Dear Dr. Manoel Sarno:

Configurar

This acknowledges the receipt of your submission entitled, "Diagnosis of fetal anemia using di values of middle cerebral artery peak systolic velocity by Doppler velocity in Rh isoimmunizatic American Journal of Obstetrics and Gynecology.

Buscar

Please note: If any items were not included online, the submission will be considered incomple to the author.

Ajudar

Acelerador

Thank you for your careful attention to these details.

Cartões

We will report the results of our review as quickly as possible. Also, you may log onto www.edi an author for details on the processing of your manuscript.

Sair

Thank you for your submission to the American Journal of Obstetrics and Gynecology.

Sincerely,

The Editors

Responder | Responder a todos | Apagar | Encaminhar

Fechar

Próxima msg

Exportar

Mover para



ASSINE

BATE-PAPO

BUSCA

CENTRAL DO ASSINANTE

E-MAIL

SHOPPING UOL

ÍNDICE PF

Atenção: a senha do assinante do UOL é secreta. Nenhum funcionário do UOL está autorizado a soli
© 1996-2004 UOL - O melhor conteúdo. Todos os direitos reservados.

Diagnosis of fetal anemia using different cut off values of middle cerebral artery peak systolic velocity by Doppler velocity in Rh isoimmunization.

Original article

Manoel Sarno ¹

Egle Couto ²

Silvia Herrera ³

Márcia San Juan Derktigil ¹

Emílio Marussi ²

Ricardo Barini ²

Department of Obstetrics and Gynecology – School of Medicine- Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – Brazil

¹- MD, Postgraduate Student – Universidade Estadual de Campinas

²- MD, PhD, Universidade Estadual de Campinas

³ - MD, Resident– Universidade Estadual de Campinas

Running title: Fetal anemia and Doppler velocity

Correspondence: Manoel Sarno

Rua Coronel Quirino, 2152/34, Cambuí, CEP 13025-003, Campinas, SP, Brasil,

Phone: +55 19 32958193 / Fax +55 19 37889304

e-mail: manoelsarno@uol.com.br; egle@unicamp.br

Diagnosis of fetal anemia using different cut off values of middle cerebral artery peak systolic velocity by Doppler velocity in Rh isoimmunization.

Abstract

Objective: to evaluate the performance of different parameters of middle cerebral artery Doppler velocity for prediction of fetal anemia in Rh isoimmunization. **Subjects and**

Methods: a retrospective study was conducted to validate a diagnostic test, assessing all isoimmunized pregnant patients who underwent cordocentesis and middle cerebral artery Doppler velocity (MCA-PSV) from January 2003 to August 2004 in the Fetal Medicine Unit at Universidade Estadual de Campinas, Brazil. Two different MCA-PSV cut offs were compared to predict fetal anemia, using McNemar test. The gold standard to fetal anemia was hemoglobin below 0.65 multiples of the median. The best cut off value to predict fetal anemia was obtained by *Receiver Operating Characteristic* curve (ROC), before and after transfusion. **Results:** thirty-six isoimmunized pregnant patients were selected. Seventeen had undergone serial amniocentesis, 3 were isoimmunized by non-hemolytic antigens, one was lost to follow-up and other delivered before the procedure and all were excluded. Data from 14 pregnant patients and 15 fetuses (one twin pregnancy) were studied with a total of 64 cordocentesis. Mean fetal hemoglobin was 8.1 g/dl (range, 3.8-14), and 11.6 g/dl (range, 9-16.1) before and after the first transfusion, respectively. Mean MCA-PSV was 51.9 cm/s (range, 30-86) and 33.1 cm/s (range, 21-59) before and after the first transfusion, respectively. Pregnant patients were submitted to an average of 3.1 transfusions during pregnancy (range, 1-6). Value for the area under the ROC curve for fetuses analyzed before the first transfusion was 0.9821, and the best cut off value was 36 cm/s. From a total of 64 cordocentesis, before and after transfusions, the value under the area of ROC curve was 0.7537 and cut off value of 44 cm/s. Comparing sensitivity and specificity, there was no

statistical difference between 1.5 MoM and 1.5 DP of MCA-PSV. **Conclusion:** MCA-PSV measured by Doppler velocity showed a good performance for prediction of fetal anemia in Rh isoimmunized pregnancy and this performance was poorer after the first fetal transfusion. There was no difference between 1.5 MoM and 1.5 DP of MCA-PSV to predict moderate and severe fetal anemia.

Keywords: fetal anemia, Doppler velocity and Rh isoimmunization.

Introduction:

Anemia is a clinical condition resulting from various causes, which may severely affect the fetus. The most frequent cause of fetal anemia is Rh isoimmunization. The incidence of Rh isoimmunization in the US is estimated at 25 per 10,000 live births.¹ Fetal consequences may be fetal hydrops, cardiac failure, intrauterine or newborn death, premature delivery, among others. Fetal hemoglobin (Hbf) level varies from 11g/dl at 17 weeks to 15g/dl at 40 weeks.²

Anemia can be classified in three different degrees: mild, moderate or severe. Mild anemia occurs when Hbf is below 0.84 multiples of the median (MoM) for gestational age. Moderate occurs when Hbf is below 0.65 MoM and severe when Hbf is below 0.55 MoM.³ Some authors indicate transfusion whenever Hbf is 2g/dl below the normal value for gestational age.^{1,2}

Fetal anemia is suspected when there is a clinical history of Rh isoimmunization in previous pregnancies, high anti-Rh (D)-antibody titers in maternal serum, ultrasound examination with fetal edema, placentomegaly, increase amniotic fluid, abdominal circumference above normal for gestational age or increased fetal cardiac atrium, Doppler velocity of fetal vessels showing high velocities, e.g. middle cerebral artery (MCA), and amniocentesis with high levels of bilirubin in amniotic fluid. However, the gold standard in diagnosis is only obtained through cordocentesis and determination of fetal hemoglobin.³

Cordocentesis is an invasive procedure requiring a specialized medical staff, adequate material and its performance involves considerable risks. Complications described of cordocentesis included: isoimmunization worsening, thrombosis or bleeding of the umbilical vein, premature rupture of membranes, premature delivery, chorioamnionitis,

acute fetal distress, and fetal death. Complications are directly related to gestational age at the time of procedure, the experience of the examiner and the indication of the exam. Most fetal medicine units report a fetal loss rate of approximately 1 to 1.5%.³ Amniocentesis is an invasive technique with a lower risk of fetal loss (around 0.5%), however, bilirubin levels in amniotic fluid is an indirect indicator of anemia.⁴ Therefore, cordocentesis is the method for evaluation of non-hemolytic causes of fetal anemia.⁵

The development of noninvasive techniques for predicting fetal anemia has been a challenge for researchers worldwide and is important to avoid a large number of unnecessary amniocentesis and/or cordocentesis.

Blood flow of fetuses affected by anemia is characterized by decreased blood viscosity and increased blood velocity. Doppler velocity has been used in various fetal vessels. Recently, studies using the middle cerebral artery peak systolic velocity (MCA-PSV) have shown that it is one of the best noninvasive methods for predicting fetal anemia.^{3, 6} Mari *et al.*(2000)³ found a sensitivity of 100% for moderate and severe anemia, with a cut-off point of 1.5 MoM for MCA-PSV corrected for gestational age. Teixeira *et al.*(2000)⁷ published a sensitivity of 64% and specificity of 100% for a hemoglobin level below two standard deviation (SD) and a cut-off > 1 SD for MCA-PSV. Scheier *et al.* (2004)⁸ reported the mean values and standard deviation (SD) for each gestational age and proposed that assessment of severe of fetal hemolysis should be based on (1) the history of previous affected pregnancies, (2) the levels of maternal hemolytic antibody and (3) ultrasound examination for detection ascites and Doppler studies for diagnosis of hyperdynamic circulation. In this study, Liley's graph was not mentioned in fetal anemia management. Although some evolution has been achieved, the standardization of fetal anemia management based on MCA-PSV is not clear.

The aim of this study was to evaluate the diagnosis of fetal anemia using different cut off values of MCA-PSV by Doppler velocity in isoimmunized pregnant patients.

Subjects and Methods: A retrospective study was conducted to validate the diagnostic test of different cut offs of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity for fetal anemia, using hemoglobin serum measurement as the gold standard. The Ethics Committee of Universidade Estadual de Campinas, Brazil, approved this study. The written consent by the patient was not necessary since this study was retrospective. However, all pregnant women submitted cordocentesis have given written consent after informed about procedure risks. Data required for the study were obtained through medical records. All isoimmunized pregnant women who underwent cordocentesis to determine fetal hemoglobin between January 2003 and August 2004 were evaluated. Doppler velocity measurement of MCA-PSV is routine in these pregnant women seeking care in the Fetal Medicine Unit at University Hospital.

Selection was done in the outpatient clinic. All pregnant women with Rh isoimmunization who underwent cordocentesis were included. We excluded patients with the following criteria: patients whose hemoglobin level or MCA-PSV results were not available in their medical charts; whose fetuses were Rh-negative cases lost to follow-up.

The ultrasound examination was performed in the Ultrasound Unit University Hospital, using Toshiba[®] equipment with pulsed and color Doppler, Powervision 6000, with a multi frequency convex transducer. Doppler device was calibrated with a 100 Hz wall filter. The patients were placed supine and the examination was performed through the abdomen with color Doppler. The fetal MCA was identified at the circle of Willis outlet. The pulsed-wave Doppler gate was then placed on the proximal one-third of the

MCA and the angle of insonation was less than 20°. The image was frozen and blood flow peak systolic velocities were measured, when a spectrum of at least four homogeneous cycles of the artery was obtained. This procedure was performed before cordocentesis and after intrauterine transfusion, whenever indicated.⁹ Cordocentesis were performed by umbilical vein puncture guided by ultrasound previously described and fetal hemoglobin was determined.¹⁰ Laboratory tests to determine fetal hemoglobin were done in a clinical analysis laboratory using automated technology.¹¹ The values of multiples of median of Hbf for each gestational age proposed by Mari *et al.* (2000)³ were used. The gold standard to consider moderate or severe anemia was Hbf below 0.65 MoM.

Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of 1.5 SD and 1.5 MoM for the MCA-PSV were calculated in comparison to fetal hemoglobin. The difference between each cut off was calculated.

The area under the ROC curve for the MCA-PSV was calculated for both a cut-off value of 1.5 SD and 1.5 MoM. Plotting the values at ROC curve also provided the best cut off value age independent gestational, obtained by the smaller distance to the left upper corner of the graph.

Statistical Analysis:

Women were described according to gestational characteristics.

A value of 1.5 SD of the mean, as published by Scheier *et al.*(2004)⁸ and 1.5 MoM as proposed by Mari *et al.*(2000)³ were considered for Doppler cut offs values.

Assuming that the calculated values were cut-off points, the sensitivity, specificity (95% confidence intervals), and positive and negative predictive values (PPV and NPV) were calculated. The difference between the performance of 1.5 SD and 1.5 MoM was calculated by McNemar test. This test was used to compare the same population and different cut offs. To compare the sensitivity, all positive cases (moderate and severe anemia) were selected and compared with two different cut offs. To compare the specificity, the same was done with non-anemic fetuses.

The ROC curve was used to evaluate the pre and post transfusion values together, determining the best cut-off point for Doppler values to predict fetal anemia, before and after the first and total transfusions. The best cut off point was determined by the Doppler value situated at the smaller distance from upper left corner of the graph. The area under ROC curve also provided the performance of the method, plotting the values of true positive fraction at the vertical coordinate and false positive fraction at the horizontal coordinate, ranging from zero to one.¹²

Paired Student *t* test was used to compare the Doppler velocity and Hbf means, before and after transfusion.

Statistical analysis was performed by SAS version 8.2. The area under the ROC curve was calculated using both the SAS program and the Excel 2000 program (Microsoft Excel 2000, New York, USA).

Results:

Thirty-six cases of isoimmunized pregnant women were evaluated from January 2003 to August 2004. Of these, 22 were excluded because they did not undergo cordocentesis (n=17), lost to follow-up (n=1), and others presents isoimmunization by anti-Lex, anti-Lewis irregular antigens (n=3) and the cordocentesis was not performed. One pregnant patient delivered before cordocentesis.

We analyzed 14 pregnant patients and 15 fetuses (one twin pregnancy) with Rh anti-D isoimmunization, who underwent cordocentesis and Doppler velocity of MCA. Among these fetuses, two of them had no anemia, four had mild, two moderate and seven had severe anemia.

The mean age of the pregnant women studied was 31.6 years, ranging from 20 to 40 years. Five women had a history of newborn death in previous pregnancies and eight reported prior isoimmunization. One woman had a fetal death in last pregnancy. The mean number of previous deliveries was 4.6 (ranging from 2 to 8). The number of live-born children ranged from 1 to 5, with a mean of 2.2. Mean gestational age was 25 weeks and four days (ranging from 17 to 31 weeks).

Fifteen fetuses with anti-D Rh isoimmunization underwent 64 cordocentesis before and after intrauterine transfusions. Between one and six transfusions were performed in each fetus, a total of 64 Doppler velocity measurements of the MCA and determinations of fetal hemoglobin. The mean results before and after the first transfusion can be seen in Table 1.

To analyze MCA-PSV as a predictor of fetal anemia, two parameters were compared. Initially, results of peak systolic above 1.5 standard deviations (SD) were evaluated. Then, values above 1.5 multiples of the median (MoM).

Results for sensitivity, specificity and predictive values for fetal anemia by MCA-PSV above 1.5 SD and above 1.5 MoM, before and after the first transfusion and the total of transfusions are shown on Table 2. We must highlight the high specificity of the exam both before the first transfusion and before the total number of transfusions, the high PPV before the first and the total number of transfusions. In only one case did the MCA-PSV result show fetal anemia after transfusion, when in reality fetal hemoglobin was within the normal limits.

There was no statistical difference between both MCA-PSV cut off values ($p=1,0$).

Data analysis plotted to construct the ROC curve is shown on Graph 1. For data obtained before the first transfusion the best cut-off value for MCA-PSV was 36 cm/s and area of 0.9821 for sensitivity of 85.7% and a specificity of 100% (95% CI, 62.7-100% Sensitivity, 100% Specificity). For fetuses with at least one transfusion the best cut off value of MCA-PSV was 50 cm/s and the area under the curve was 0.7321 for sensitivity of 64.3% and specificity of 75% (95% CI, 50.5-78.8% Sensitivity, 61.9-88.1% Specificity). For the total number of transfusions, the best cut-off value was 44 cm/s and the area under the curve was 0.7837 for sensitivity of 67.9% and specificity of 70.9% (95% CI, Sensitivity 56.2-79.5%, Specificity 59.2-81.9%).

There was one fetal death after the second transfusion in a twin pregnancy. The pregnancy ended in premature delivery at 31 weeks of gestation, resulting in a newborn with mild anemia and in good health. The other fetuses were born alive, with mild or no anemia.

Discussion:

In this study, MCA-PSV was important for prediction of fetal anemia mainly before first transfusion, as demonstrated in the area under the ROC curve. There was no difference between the methods of MCA-PSV cut offs, 1.5 SD or 1.5 MoM. Results obtained were better for fetuses before the first transfusion, reducing the values of sensitivity and specificity, when analyzing fetuses with at least one previous transfusion. The physiopathology to explain the rise in MCA-PSV in fetal anemia is a decreased in blood viscosity in anemic fetus and subsequent increased blood velocity in the vessel studied, besides an increase in fetal cardiac output due to a hyperdynamic state in fetal anemia.¹³ Other theory is an increase of atrial natriuretic factor and vasa dilators prostanooids resulting in a reduction of vascular impedance.¹⁴

The difference between the values for 1.5 SD and 1.5 MoM of MCA-PSV decrease with gestational age and range from 5 cm/s at 18 weeks to 1.2 cm/s at 40 weeks. In the Fetal Medicine Unit at our hospital, we use the values by Scheier *et al.* (2004),⁸ with a cut-off point of 1.5 SD to define which fetuses were at risk for developing anemia. This data is also used at Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital. Nevertheless, most reports in the literature use 1.5 MoM as a cut-off point to predict fetal anemia. We compared both methods and found similar results, although there was one fetus with hemoglobin levels within normal limits after transfusion, who was classified as anemic using 1.5 SD as reference and as non-anemic using 1.5 MoM as reference. A single result does not compromise the use of SD as a parameter, mainly because the false negative result was not before transfusion. In this study there was no

statistical difference between both methods. More studies are necessary to compare these parameters and uniform the fetal anemia management by the MCA-PSV.

We identified the value of 36cm/s as the best cut off for fetuses before their first transfusion. We must emphasize that this is only considerable for fetuses less than 28 weeks, that was the mean gestational age at first transfusion. The high prevalence of moderate or severe anemic fetuses should provided the low cut off value of MCA-PSV. We consider this a good practical clinical management without quality loss.

The results of this study are similar to those recently found in other countries, including Brazil.^{9, 15, 16, 17} The method is reproducible and employed according to recent investigation, MCA-PSV shows little inter and intra-observer variability.⁹ Previous studies have failed to show the same performance for Doppler velocity.^{18, 19} These results possibly arise from using different techniques and parameters to measure MCA-PSV. The current technique used consists in maintaining an angle below 20° between the ultrasound beam and the vessel, visualizing the MCA outlet at the circle of Willis and measuring at proximal one third.⁸

Fetal anemia is a subject of great interest in the world literature, because its diagnosis and treatment are expensive and is preventable through the use of anti-D immune globulin.³ In the US, the ratio of fetuses with the risk of developing anemia is 25 per 10,000 livebirths. Of these, only 10% will require transfusion for severe anemia.

During the follow-up of 36 pregnant women with Rh isoimmunization, 14 underwent intrauterine transfusion (38.8%), a larger proportion than that reported in the literature (10%). Probably this has to do with the great complexity of cases seen at our hospital (60% with moderate or severe anemia), as well as the large number of previous deliveries among the pregnant women studied, which may aggravate the hemolytic

disorder. We should emphasize the high predictive values in this study should be due to high prevalence of fetal anemia among these patients.

Pregnant patients affected by D antigens isoimmunization or irregular antigens are periodically evaluated by amniocentesis and/or cordocentesis, which may cause risks to the pregnancy. The estimated loss in these cases is 0.5% for amniocentesis and 1% for cordocentesis, besides increased risk of infection, fetal bleeding, premature rupture of membranes and fetal bradycardia.

In our study, there was one fetal death in a twin gestation after a second intrauterine transfusion. The live twin was born prematurely in good health. For these reasons, the development of noninvasive techniques is important to predict fetal anemia and improve treatment of these pregnant women, reducing the costs and adverse events that may occur with the use of invasive methods. The studies to hypothesize that fetal anemia was concurrent with a rise in MCA-PSV, and its reduction after intrauterine transfusion were published since 1995 by Mari *et al.*²⁰ Scheier *et al.* (2004)⁸ proposed the assessment of fetal anemia based on history of previous affected pregnancies, maternal hemolytic antibodies levels and ultrasound examination with MCA-PSV evaluation. No bilirubin levels in amniotic fluid were mentioned. Many studies must be undertaken to evaluate if using the MCA-PSV is really advantageous in the management of fetal anemia. Decision to perform cordocentesis in pregnant women with Rh isoimmunization based upon MCA-PSV results showed better fetal results than those based on serial amniocentesis.^{6, 21} However, replacing the use of Liley's graph by MCA-PSV measurements for predicting fetal anemia needs further multi center studies of clinical trial, and with larger samples.

Conclusion: MCA-PSV measured by Doppler velocity showed a good performance for predicting fetuses with anemia. This performance was poorer after the first fetal transfusion. There was no statistical difference between different cut off values (1.5SD or 1.5 MoM).

TABLE 1. MEAN VALUES OF FETAL HEMOGLOBIN AND MIDDLE CEREBRAL ARTERY PEAK SYSTOLIC (MCA-PSV) BEFORE AND AFTER FIRST INTRAUTERINE TRANSFUSION

First intrauterine Transfusion											
	Before					After					p*
	n	mean	median	SD	range	n	mean	median	SD	range	
Hbf	15	7.5	7.5	2.9	3.8-14	12	13.3	14.1	2.0	9.0-16.1	< 0,0001
MCA-PSV	11	51.5	49	17.6	30-86	10	33.1	32	11.2	21.0-59.0	0,0003

Hbf = Fetal Hemoglobin

MCA-PSV = Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity

n = number of cases

* Student' *t* test

TABLE 2. PERFORMANCE OF MCA-PSV ABOVE 1.5 SD AND ABOVE 1.5 MoM FOR PREDICTION OF FETAL ANEMIA BEFORE AND AFTER TRANSFUSIONS AND TOTAL NUMBER OF TRANSFUSIONS

	First transfusion		Total number of transfusions	
	Before	After	Before	After
ABOVE 1.5 SD				
Sensitivity	50.0	0.0	39.1	0.0
Specificity	100.0	100.0	81.8	95.7
PPV**	100.0	NC	81.8	0.0
NPV***	16.7	55.6	39.1	81.5
ABOVE 1.5 MoM				
Sensitivity	40.0	0.0	26.1	0.0
Specificity	100.0	100	90.9	100.0
PPV**	100.0	NC*	85.7	NC*
NPV***	14.3	55.6	37.0	82.1
n ****	11	9	34	28

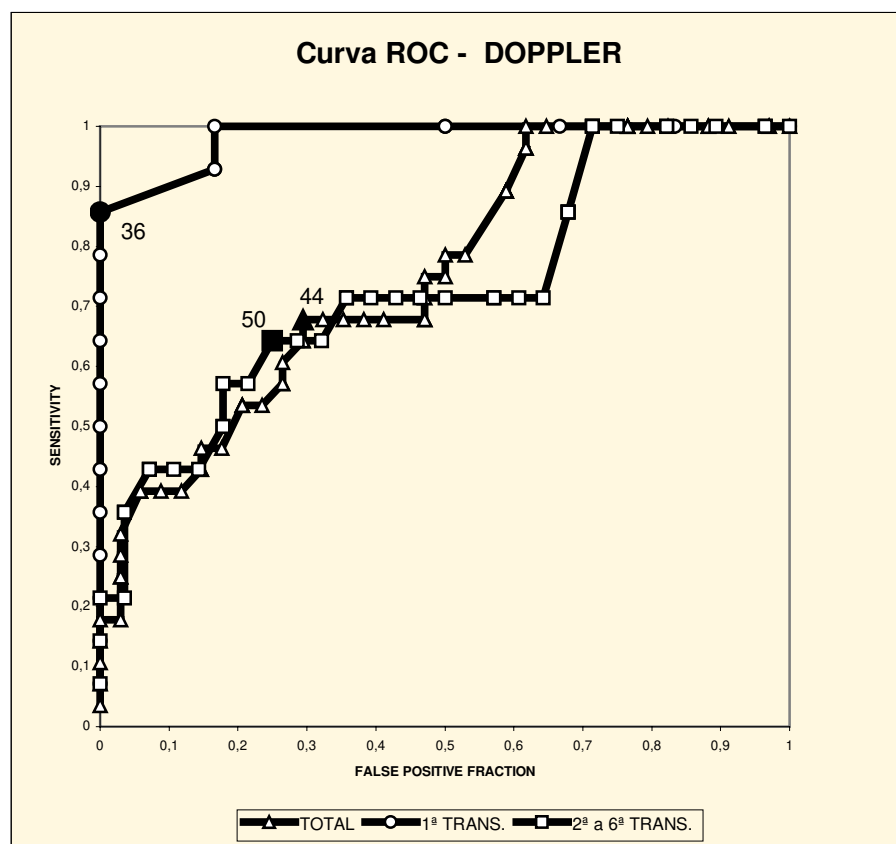
* not calculated

** Positive predictive value

*** Negative predictive value

**** number of cases

MCA-PSV – Middle Cerebral Artery Peak Systolic Velocity



Graph 1. ROC curve (Receiver Operating Characteristic) for peak systolic velocity in the middle cerebral artery to predict fetal anemia in the overall population studied. The best cut off value to predict fetal anemia in this population was 36 cm/s for fetuses at first transfusion, 50 cm/s at least one transfusion and 44 cm/s for total transfusions.

References

1. Mari G, Detti L, Oz U, Zimmerman R, Duerig P, Stefos T. Acurate prediction of fetal hemoglobin by Doppler ultrasonography. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 589-93.
2. Nicolaides KH, Soothill PW, Clewell WH, Rodeck CH, Misbasha RS, Campbell S. Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunization. *Lancet* 1988; 1: 1073-5.
3. Mari G, for the Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity of Anemic Fetuses. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. *N Engl J Med* 2000; 342: 9-14.
4. Liley AW. Liquor amnii analysis in pregnancy complicated by rhesus isoimmunization. *Am J Obstet Gynecol* 1961; 82: 1359-70.
5. Bowman JM. Hemolytic disease (erythroblastosis fetalis). In: Creasy RK, Resnik R. *Maternal-fetal medicine: principles and practice*. Philadelphia, USA: WB Saunders Company 1989, p. 613-55.
6. Caine ME, Mueller-Heubach E. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986, 154: 85-9.
7. Nishie EN, Brizot ML, Liao AW, Carvalho MHB, Toma O, Zugaib M. A comparision between middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic

- fluid optical density at 450 nm in the prediction of fetal anemia. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188: 214-19.
8. Teixeira JM, Duncan K, Letsky E, Fisk NM. Middle cerebral artery peak systolic velocity in the prediction of fetal anemia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 15 (3): 205-8.
 9. Scheier M, Hernandez-Andrade E, Carmo A, Dezerega V, Nicolaides KH. Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004, 23: 432-436.
 10. Costa AG, Mauad-Filho F, Spara P, Ferreira AC, Gelonezi GM, Pinheiro-Filho L. Curva de normalidade da artéria cerebral média em fetos normais entre 22 e 38 semanas de gestação. *Rev Bras Ultra-Sonog Méd* 2003, 1: 123-7.
 11. Dafos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: A study of 606 consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol* 1985, 153: 655-60.
 12. Taveira MR, Cabral ACV, Leite HV, Brum AP, Demian AA, Melo IG. Avaliação da velocidade média na aorta torácica descendente em feto com anemia. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2001, 23: 1-8.
 13. Metz CE. Basic principles of ROC analysis. *Sem Nucl Med* 1978, 4: 283-98.

14. Abdel-Fattah SA, Soothill, PW, Carroll SG, Kyle PM. Middle cerebral artery Doppler for the prediction of fetal anaemia in cases without hydrops: a practical approach. *Br J Rad* 2000; 75: 726-30.
15. Weiner CP, Robillard JE. Effect of acute intravascular volume expansion on human fetal prostaglandin concentrations. *Obstet Gynecol* 1989, 73: 1494-97.
16. Alshimimiri MM, Hamoud MS, Al-Saleh EA, Mujaibel KY, Al-Harmi JA, Thalib L. Prediction of fetal anemia by middle cerebral artery peak systolic in pregnancy complicated by rhesus isoimmunization. *J Perinatol* 2003; 23 (7): 536-40.
17. Kowalczyk D, Guzikowski W, Kubicki J, Maczka M. Doppler measurements of blood flow in the middle cerebral artery for diagnosis of fetal anemia. *Ginekol Pol* 2003; 74 (10): 1160-5.
18. McLean LK, Hedriana HL, Lanouette JM, Haesslein HC. A retrospective review of isoimmunized pregnancies managed by middle cerebral peak systolic velocity. *Am J Obstet Gynecol*, 2004; 190 (6): 1732-6, discussion 1736-8.
19. Vyas S, Nicolaides KH, Campbell S. Doppler examination of the middle cerebral artery in the anemic fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 1066-1068.
20. Hecher K, Snijders R, Campbell S, Nicolaides K. Fetal venous, arterial, and intracardiac blood flows in red blood cell isoimmunization. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 122-127.
21. Mari G, Adrignolo A, Abuhamad AZ, Pirhonen J, Jones DC, Ludomirsky A, Copel JA. Diagnosis of fetal anemia with doppler ultrasound in the pregnancy

complicated by maternal blood group immunization. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5 : 400-5.

22. Pereira L, Jenkins TM, Berghella V. Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by Doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189 (4): 1002-6.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Cristina Faro and Gustavo Pavan for providing substantial help in collecting data and also for encouraging this study.

4. Conclusões

A isoimunização Rh é uma doença evitável com administração de antiglobulina anti-D na 28^a semana de gestação, pós-parto, pós-aborto, após sangramento durante pré-natal ou após procedimentos invasivos. A causa mais freqüente de isoimunização Rh no Brasil é a falta de administração da antiglobulina anti-D. Em 126 casos estudados no CAISM entre 1990 e 1999, 69% foram de falha na profilaxia, 11% foram após transfusão incompatível e em 19% não foi possível identificar a causa (MACHADO, 2004). Esses dados são semelhantes na literatura. Em estudo no sudeste da Escócia, HUGHES *et al.* (1994) mostraram que 87,5% dos casos de isoimunização entre 1985 e 1990 eram secundários da falha de imunização da população de risco.

Nos últimos 50 anos houve avanços no diagnóstico e tratamento da isoimunização Rh, porém este ainda é um importante problema de saúde pública. As conseqüências desta doença são graves, com mortalidade de 4/1.000 nascidos vivos, 17% de baixo peso ao nascimento, 14% de parto prematuro, 76% nascem ictericos e 1/3 é submetido à exsangüíneo-transfusão. O tempo de internação é

superior ao de recém-nascidos sem a doença, com média de 6,6 dias. Há uma estimativa de 10,6 casos de DHPN para 10.000 nascidos vivos em 1986 nos EUA. Naquele país, com a profilaxia adequada pode-se evitar 19.000 casos de DHPN em dez anos (CHAVEZ *et al.*, 1991). Neste estudo tivemos a média de 2.537g de peso ao nascimento, 34 semanas e cinco dias de idade gestacional média, índice de Apgar 5/9, hematócrito de 37,5 g/dl e uma média de 12 dias de internação. Ocorreu um óbito secundário à transfusão intra-uterina em um feto gemelar, nascendo o segundo por parto cesárea, com 31 semanas, 1.635g, hematócrito de 50%, submetido à fototerapia durante sete dias, permanecendo no hospital por 28 dias.

A perspectiva atual no manejo da DHPN é o desenvolvimento de técnicas não invasivas de predição da anemia fetal. Atualmente realiza-se amniocentese e dosagem de bilirrubina no líquido amniótico em gestantes isoimunizadas, tendo como objetivo a seleção de fetos anêmicos que necessitam de cordocentese e transfusão intra-uterina. A ultra-sonografia convencional, modo B, não foi capaz de correlacionar seus achados com o grau de anemia. O diagnóstico de anemia moderada ou grave, baseado nestes achados, é tardio e não reduz a morbimortalidade perinatal. O PS-ACM foi, dentre muitos parâmetros estudados, o que melhor se correlacionou com o grau de anemia fetal. Sua performance é melhor antes da primeira transfusão. Isto ocorre devido à redução do estado hiperdinâmico fetal e aumento da viscosidade sangüínea. A diminuição da sensibilidade e especificidade do PS-ACM em predizer anemia após a primeira transfusão não interfere na decisão do intervalo das transfusões subseqüentes,

já que o grau de anemia foi classificado conforme a dosagem de Hbf por cordocentese antes da primeira transfusão.

A literatura tem mostrado que a predição de anemia fetal pelo PS-ACM é superior quando comparado com a dosagem da concentração de bilirrubina no líquido amniótico. Algumas vantagens da Dopplervelocimetria na predição de anemia não hemolítica são descritas em relação à utilização do gráfico de Liley, dentre elas podemos citar: infecção pelo parvovírus B 19, isoimunização anti-Kell, talassemias e hemoglobinopatias. Há controvérsias em relação à utilização deste parâmetro em fetos hidróticos, já que a hidropisia não imune também pode aumentar o PS-ACM. Neste trabalho houve uma correlação direta entre anemia fetal e o PS-ACM, mesmo em fetos hidróticos. HERNANDEZ-ANDRADE *et al.* (2004) mostraram que o PS-ACM é capaz de diferenciar os fetos anêmicos entre aqueles com hidropisia não imune.

Apesar dos recentes avanços na literatura em relação à utilização do PS-ACM na anemia fetal, não há ainda consenso em relação ao melhor parâmetro a ser utilizado. Comparamos dois pontos de corte do PS-ACM, 1,5 MoM e 1,5 DP. Não houve diferença estatística entre as duas medidas. Definimos ainda o melhor ponto de corte para a predição da anemia fetal através da curva ROC, encontrando PS-ACM de 36 cm/s para predizer os fetos com anemia moderada ou grave antes da primeira transfusão. Este ponto de corte só deve ser usado até 28 semanas, que corresponde à média da idade gestacional antes da primeira transfusão. Comparando este ponto de corte com os valores de 1,5 MoM e 1,5

DP, vimos que se encontra bem abaixo para esta idade gestacional. Isto pode ser explicado pela alta prevalência de fetos anêmicos nesta casuística (60%).

Conforme referido por outros autores, há elevação de quase três vezes nos valores do PS-ACM durante a gestação, o que indica a necessidade de sempre comparar os valores encontrados na Dopplervelocimetria com os dos múltiplos da mediana ou desvios padrões para cada idade gestacional. Neste estudo indicamos um ponto de corte que pode ser útil antes de 32^a semana de gravidez, o que facilita a prática clínica, sem perda de qualidade nos resultados. Além da questão dos pontos de corte, outras devem ser respondidas pelos estudos vindouros, como quando iniciar o seguimento, qual o intervalo dos exames Dopplervelocimétricos e se títulos séricos de anticorpos antieritrocitários altos dispensam a Dopplervelocimetria e indicam cordocentese.

Estudos tipo ensaio clínico multicêntricos, com grandes casuísticas, devem ser realizados para comparar a conduta tradicional baseada na amniocentese seriada e o PS-ACM.

5. Referências Bibliográficas

ABDEL-FATTAH, S.A.; SOOTHILL, P.W.; CARROLL, S.G.; KYLE, P.M. Middle cerebral artery Doppler for the prediction of fetal anaemia in cases without hydrops: a practical approach. **Br J Rad**, 75:726-30, 2002.

ALSHIMIMIRI, M.M.; HAMOUD, M.S.; AL-SALEH, E.A.; MUJAIBEL, K.Y.; AL-HARMI, J.A.; THALIB, L. Prediction of fetal anemia by middle cerebral artery peak systolic in pregnancy complicated by rhesus isoimmunization. **J Perinatol** 23:536-40, 2003.

ANANTH, U.; WARSOFF, S.L.; COULEHAN, J.M.; WOLF, P.H.; QUEENAN, J.T. Midtrimester amniotic fluid delta optical density at 450nm in normal pregnancies. **Am J Obstet Gynecol**, 155:664-6, 1986.

BAHADO-SINGH, R.; OZ, U.; DEREN, O.; KOVANCHI, E.; HSU, C.D.; COPEL, J. et al. Splenic artery doppler peak systolic velocity predicts severe fetal anemia in rhesus disease. **Am J Obstet Gynecol**, 182:1222-6, 2000.

BANG, J.; BOCK, J.E.; TROLLE, D. Ultra-sound guided fetal intravenous transfusion for severe rhesus haemolytic disease. **Br Med J**, 284:373-7, 1982.

BASCHAT, A.A.; MUENCH, M.V.; GEMBRUCH, U. Coronary artery blood flow velocities in various fetal conditions. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 21:426-9, 2003.

BEVIS, D.C.A. Blood pigments in haemolytic disease of the newborn. **J Obstet Gynaecol Br Emp**, 63:68-72, 1956.

BIERMÉ, S.J.; BLANC, M.; ABBAL, M. Oral Rh treatment for severely immunized mothers. **Lancet**, 1:604, 1979.

BOWMAN, J.M. Neonatal management. In: QUEENAN, J.T. **Modern management of the Rh problem**. 2^aed., Hagerstown, Harper & Row. 1977.

BOWMAN, J.M.; POLLOCK, J.M. Transplacental fetal hemorrhage during pregnancy and after delivery. **Vox Sang**, 51:117-27, 1985.

BOWMAN, J.M. Hemolytic disease (erythroblastosis fetalis). In: CREASY, R.K.; RESNIK, R. **Maternal-fetal medicine: principles and practice**. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Company; 1989. p.613-55.

BOWMAN, J.M. RhD hemolytic disease of the newborn. **New Engl J Med**, 339:1775-7, 1998.

CAINE, M.E.; MUELLER-HEUBACH, E. Kell sensitization in pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, 154:85-9, 1986.

CABRAL, A.C.V.; TAVEIRA, M.R.; PEREIRA, A.K.; LEITE, H.V. Isoimunização materna pelo fator Rh: histórico e perspectiva. **Femina**, 28:2057, 2000.

CARMO, A V., DA SILVA L. G. P., FILHO, J. R., MONTENEGRO, C. A. B. Doppler da artéria cerebral média do feto. Valores normais do índice de pulsatilidade e da velocidade máxima. **J Bras Gynec**, 108:3-24, 1998.

CARMO, A. V. **Velocidade sistólica máxima do fluxo sanguíneo na artéria cerebral média na avaliação da anemia fetal**. São Paulo, 2001. [Tese - Doutorado – Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo].

CHÁVEZ, G. F., MULINARE, J., EDMONDS, L. D. Epidemiology of Rh hemolytic disease of the newborn in the united states. **JAMA**, 265:3270-4, 1991.

CONTRERAS, M. The prevention and management of hemolytic disease of the fetus and newborn. **Bol Soc Hematol Hemat**, 12:23-8, 1997.

COOMBS, R.R.A.; MOURANT, A.E.; RACE, R.R. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins. **Br J Exp Pathol**, 26:255-61, 1945.

COSTA, A.G.; MAUAD-FILHO, F.; SPARA, P.; FERREIRA, A.C.; GELONEZI, G.M.; PINHEIRO-FILHO, L. Curva de normalidade da velocidade sistólica máxima da artéria cerebral média em fetos normais entre 22 e 38 semanas de gestação. **Rev Bras Ultra-Sonog Med**, 1:123-7, 2003.

DAFOS, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; FORESTIER, F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: A study of 606 consecutive cases. **Am J Obstet Gynecol**, 153:655-60, 1985.

DARROW, R.R. Icterus gravis (erythroblastosis neonatorum, examination of etiologic considerations). **Arch Pathol**, 378-83, 1938.

DEREN, O.; ÖNDEROGLU, L. The value of middle cerebral artery systolic velocity for initial and subsequent management in fetal anemia. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, 101:26-30, 2002.

DIAMOND, L.K.; BLACKFAN, K.D.; BATY, J.M. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. **J Pediatric**, 1:260-73, 1932.

DIVAKARAN, T.G.; WAUGH, J.; CLARK, T.J.; KHAN, K.S.; WHITTLE, M.J.; KILBY, M.D. Noninvasive techniques to detect fetal anemia due to red blood cell alloimmunization: a systematic review. **Obstet Gynecol**, 98:509-17, 2001.

- DUKLER, D.; OEPKES, D.; SEAWARD, G.; WINDRIM, R.; RYAN, G. Noninvasive tests to predict fetal anemia: a study comparing doppler and ultrasound. **Am J Obstet Gynecol**, 188:1310-4, 2003.
- FISHER, R.A.; RACE, R.R. Rh gene frequencies in Britain. **Nature**, 157:48-9, 1946.
- FREDA, V.J.; ADAMSONS, K. Exchange transfusion in utero. **Am J Obstet Gynecol**, 89:817-21, 1964.
- GOLD Jr., W.R.; QUEENAN, J.T.; WOODY, J. Oral desensibilization in Rh disease. **Am J Obstet Gynecol**, 146:980-8, 1983.
- GRAHAM-POLE, J.; BARR, W.; WILLOUGHBY, M.L.N. Continuous flow plasmapheresis in management of severe Rhesus disease. **Br Med J**, 1:1185-8, 1977.
- GUNGOR, M.; EKICI, E.; KUSCU, E.; ARSLAN, S.; DANISMAN, N.; GOKMEN, O. The effect of intravascular transfusion for severely anemic fetuses on umbilical artery doppler flow velocity waveforms. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 75:711-4, 1996.
- GUSDON Jr., J.P.; CAUDLE, M.R.; HERBST, G.A. Phagocytosis and erythroblastosis: I. Modification of the neonatal response by promethazine hydrochloride. **Am J Obstet Gynecol**, 125:224-9, 1976.
- HARRINGTON, K.; FAYYAD, A.; NICOLAIDES, K.H. Predicting the severity of fetal anemia using time-domain measurement of volume flow in the fetal aorta. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 23:437-41, 2004.
- HECHER, K.; SNIJDERS, R.; CAMPBELL, S.; NICOLAIDES, K. Fetal venous, arterial, and intracardiac blood flows in red blood cell isoimmunization. **Obstet Gynecol**, 85:122-7, 1995.

- HERNANDEZ-ANDRADE, E., SCHEIER, M., DEZEREGA, V., CARMO, A., NICOLAIDES, K. H. Fetal middle cerebral artery peak systolic velocity in investigation of non-immune hydrops. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 23:442-5, 2004.
- HUGHES, R.G.; CRAIG, J.I.O.; MURPHY, W.G.; GREER, I.A. Causes and clinical consequences of Rhesus (D) haemolytic disease of the newborn: a study of a Scottish population, 1985-1990. *Br J Obstet Gynaecol*, 101:297-300, 1994.
- KLEIHAUER, E.; BRAUN, H.; BETKE, K. Demonstration von fetalem haemoglobin in den erithrozyten eines blutausriches. *Klin Wochenschr*, 35:637-40, 1957.
- KOWALCZYK, D.; GUZIKOWSKI, W.; KUBICKI, J.; MACZKA, M. Doppler measurements of blood flow in the middle cerebral artery for diagnosis of fetal anemia. *Ginekol Pol*, 74:1160-5. 2003.
- LAKS, M.; COHEN, T. Noninvasive diagnosis of fetal anemia by doppler ultrasonography. *N Engl J Med*, 343:66-8, 2000.
- LANDSTEINER, K.; WEINER, A.S. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 43:223-7, 1940.
- LILEY, A.W. Liquor amnii analysis in pregnancy complicated by rhesus isoimmunization. *Am J Obstet Gynecol*, 82:1359-70, 1961.
- MACHADO, I.N.; BARINI, R.; SANTOS, C.M.; SIMONI, R.Z.; MILANEZ, H.; PINTO e SILVA, J.L. Maternal antecedents to and out comes of RhD alloimmunization. A study of a brazilian population. *Rev Cien Med/PUCAMP* (no prelo, 2004).
- MAGALHÃES, C.G. **Velocidade máxima de fluxo na artéria cerebral média no diagnóstico da anemia fetal em gestantes isoimunizadas**. Botucatu, 2004. [Dissertação-Mestrado-Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista/UNESP].

MARI, G.; MOISE, K.J.; DETER, R.L.; CARPENTER, R.J. Doppler assessment of renal blood flow velocity waveforms in the anemic fetus before and after intravascular transfusion for severe red cell alloimmunization. **J Clin Ultrasound**, 19:15-9, 1991.

MARI, G.; ADRIGNOLO, A.; ABUHAMAD, A.Z.; PIRHONEN, J.; JONES, D.C.; LUDOMIRSKY, A. et al. Diagnosis of fetal anemia with doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization. **Ultrasound Obstet Gynecol** 5:400-5, 1995.

MARI, G.; RAHMAN, F.; OLOFSSON, P.; OZCAN, T.; COPEL, J.A. Increase of fetal hematocrit decreases the middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by rhesus alloimmunization. **J Matern Fetal Med** 6:206-8. 1997.

MARI G, for the Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity of Anemic Fetuses. Noninvasive diagnosis by doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. **N Engl J Méd**, 342:9-14, 2000.

MARI, G.; ZIMMERMAN, R.; OZ, U. Noninvasive diagnosis of fetal anemia by doppler ultrasonography. **N Engl J Med** 343:66-8. 2000.

MARI, G.; DETTI, L.; OZ, U.; ZIMMERMAN, R.; DUERIG, P.; STEFOS, T. Acurate prediction of fetal hemoglobin by doppler ultrasonography. **Obstet Gynecol**, 99:589-93, 2002.

METZ, C.E. Basic principles of ROC analysis. **Sem Nucl Med**, 4:283-98, 1978.

McLEAN, L.K.; HEDRIANA, H.L.; LANOUILLE, J.M.; HAESSLEIN, H.C. A retrospective review of isoimmunized pregnancies managed by middle cerebral peak systolic velocity. **Am J Obstet Gynecol**, 190:1732-6, 2004.

MOISE, K.J.; PERKINS, J.T.; SOSLER, S.D.; BROWN, S.J.; SAADE, G.; CARPENTER, R.J. et al. The predictive value of maternal serum testing for detection of fetal anemia in red blood cell alloimmunization. ***Am J Obstet Gynecol***, 172:1003-9, 1995.

MOISE, K.J. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. ***Obstet Gynecol***, 100:600-11, 2002.

NAGEY, D.A. Noninvasive diagnosis of fetal anemia by Doppler ultrasonography. ***N Engl J Med***, 343:66-8, 2000.

NEPPERT, J.; WITZLEBEN-SCHURHOLZ, E.; ZUPANSKA, B. BARTZ, L.; GREVE, O.; EICHLER, H. et al. High incidence of maternal HLA A, B and C antibodies associated with a mild course of haemolytic disease of the newborn. Group for the Study of Protective Maternal HLA Antibodies in the Clinical Course of HDN. ***Eur J Haematol***, 63:120-5, 1999.

NICOLAIDES, K.H.; RODECK, C.H.; MISBASHAN, R.S. Have Liley charts outlived their usefulness? ***Am J Obstet Gynecol***, 155:90-8, 1986a.

NICOLAIDES, K.H.; SOOTHILL, P.W.; CLEWELL, W.H. Rh disease: intravascular fetal blood transfusion by cordocentesis. ***Fetal Therapy***, 1:185-9, 1986b.

NICOLAIDES, K.H.; SOOTHILL, P.W.; CLEWELL, W.H.; RODECK, C.H.; MISBASHAN, R.S.; CAMPBELL, S. Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunization. ***Lancet***, 1:1073-5, 1988.

NICOLAIDES, K.H.; BILARDO, C.M.; CAMPBELL, S. Prediction of fetal anemia by measurement of the mean blood velocity in the fetal aorta. ***Am J Obstet Gynecol***, 162:209-12, 1990.

NISHIE, E.N.; BRIZOT, M.L.; LIAO, A.W.; CARVALHO, M.H.B.; TOMA, O.; ZUGAIB, M. A comparison between middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid optical density at 450 nm in the prediction of fetal anemia. **Am J Obstet Gynecol**, 188:214-9, 2003.

OEPKES, D.; VANDENBUSSCHE, F.P.H.A.; VAN BE F.; KANHAI, H.H.H. Fetal ductus venosus blood flow velocities before and after transfusion in red cell alloimmunized pregnancies. **Obstet Gynecol**, 82:237-41, 1993.

PEDDLE, L.J. Increase of antibody titer following amniocentesis. **Am J Obstet Gynecol**, 100:567-71, 1968.

PEREIRA, L.; JENKINS, T.M.; BERGHELLA, V. Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. **Am J Obstet Gynecol**, 189:1002-6, 2003.

PUPPO, M.; LÓPEZ, M.; JUNCОВIAR, N.; RIDOLFI, A.; SÁNCHEZ NÚÑEZ, G. Evaluación del nivel de información acerca del control de prevención de la sensibilización anti-D en embarazadas D negativo asistidas en hospitales públicos de Chaco y Formosa. **Rev Argent Transfus**, 28:153-8, 2002.

QUEENAN, J.T.; TOMAI, T.P.; URAL, S.H.; KING, J.C. Deviation in amniotic fluid optical density at a wavelength of 450nm in Rh-immunized pregnancies from 14 to 40 weeks gestation: a proposal for clinical management. **Am J Obstet Gynecol**, 168:1370-6, 1993.

RADUNOVIC, N.; LOCKWOOD, C.J.; ALVAREZ, M.; PLECAS, D.; CHITKARA, U.; BERKOWITZ, R.L. The severely anemic and hydropic isoimmune fetus: Changes in fetal hematocrit associated with intrauterine death. **Obstet Gynecol**, 79:390-3, 1992.

REHDER, H.; WEITZEL, H. Intrauterine amputation after amniocentesis. **Lancet**, 1:832, 1978.

RODECK, C.H.; HOLMAN, C.A.; KARNICKI, J. Direct intravascular fetal blood transfusion by fetoscopy in severe rhesus isoimmunization. **Lancet**, 1:652, 1981.

SAADE, G.R. Noninvasive teting for fetal anemia. **N Engl J Med**, 342:52-3, 2000.

SALAMA, A.; WITTMANN, D.G.; STELZER, A.; DUDENHAUSEN, J.W. Use of the gel agglutination technique for determination of fetomaternal hemorrhage. **Transfusion**, 38:177-80, 1998.

SCHEIER, M.; HERNANDEZ-ANDRADE, E.; CARMO, A.; DEZEREGA, V.; NICOLAIDES, K. H. Prediction of fetal anemia in rhesus disease by measurement of fetal middle cerebral artery peak systolic velocity. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 23:432-6, 2004.

SCOTT, F.; CHAN, F.Y. Assessment of clinical usefulness of the “Queenan” chart versus the “Liley” chart in predicting severity of rhesus iso-immunization. **Prenat Diagn**, 18:1143-8, 1998.

SEGATA, M.; MARI, G. Fetal anemia: new technologies. **Curr Opin Obstet Gynecol**, 16:153-8, 2004.

SPINNATO, J.A.; CLARK, A.L.; RALSTON, K.K.; GREENWELL, E.R.; GOLDSMITH, L.J. Hemolytic disease of the fetus: a comparison of the Queenan and extended Liley methods. **Obstet Gynecol**, 92:441-5, 1998.

STEFOS, T.; COSMI, E.; DETTI, L.; MARI, G. Correction of fetal anemia on the middle cerebral artery peak systolic velocity. **Obstet Gynecol**, 99:211-5, 2002.

STILLER, R.J.; ASHMEAD, G.G.; PAUL, D.; WEINER, S. Fetal blood flow measurements in severe rhesus isoimmunization. A case report. **J Reprod Med**, 32:453-5, 1987.

TAVEIRA, M.R.; CABRAL, A.C.V.; LEITE, H.V.; BRUM, A.P.; DEMIAN, A.A.; MELO, I.G. Avaliação da velocidade média na aorta torácica descendente em feto com anemia. **Rev Bras Ginecol Obstet**, 23:1-8, 2001.

TAVEIRA, M.R.; CABRAL, A.C.V.; LEITE, H.V. Correlação entre os índices dopplervelocimétricos da veia cava inferior e ducto venoso e a concentração de hemoglobina do cordão em fetos de gestantes isoimunizadas. **Rev Bras Ginecol**, 25:577-83, 2003.

TAVEIRA, M.R.; CABRAL, A.C.V.; LEITE, H.V.; MELO, I.G.; LOPES, A.P.B.M. Diagnóstico não invasivo de anemia fetal pela medida do pico de velocidade sistólica na dopplervelocimetria da artéria cerebral média. **Rev Bras Ginecol Obstet**, 26:649-53, 2004.

TEIXEIRA, J.M.; DUNCAN, K.; LETSKY, E.; FISK, N.M. Middle cerebral artery peak systolic velocity in the prediction of fetal anemia. **Ultrasound Obstet Gynecol**, 15:205-8, 2000.

VOTO, L.S.; MATHET, E.R.; ZAPATERIO, J.L.; ORTI, J.; LEDE, R.L.; MARGULIES, M.. High dose gammaglobulin followed by intrauterine transfusions (IUTs): A new alternative for the treatment of severe fetal hemolytic disease. **J Perinat Med**, 25:8508, 1997.

VYAS, S.; NICOLAIDES, K.H.; CAMPBELL, S. Doppler examination of the middle cerebral artery in the anemic fetuses. **Am J Obstet Gynecol**, 162: 1066-1068, 1990.

WHITECAR, P.W.; MOISE Jr, K.J. Sonographic methods to detect fetal anemia in red blood cell alloimmunization. **Obstet Gynecol Surv**, 55:240-50, 2000.

WOODROW, J.C. Rh immunization and its prevention. Series Hematologia Vol III. Copenhagen, Munksgaard, 1970.

6. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade
de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98
(alterada 2002).

7. Anexos

7.1. Anexo 1 - Protocolo de Assistência à Gestante Isoimunizada pelo Fator Rh

I- Conceito

São consideradas pacientes com sensibilização pelo fator Rh aquelas que apresentam tipagem Rh negativa e Coombs indireto positivo com identificação de anticorpos anti-D da classe IgG.

Eventualmente podemos ter pacientes que, independente da tipagem Rh, poderão estar sensibilizadas para outros antígenos irregulares, as quais apresentarão o mesmo seguimento, desde que comprovada sua capacidade hemolítica (ex: anti-Kidd, anti-Duffy, etc.). O antígeno Kell pode provocar anemia, porém não hemolítica. As pacientes Rh negativo com Coombs indireto negativo e parceiro Rh positivo, devem repetir a coleta com a seguinte seqüência: 1 Coombs indireto pré e outro no pós-parto imediato, como rotina.

Gestante Rh negativo => pedir tipagem sangüínea do marido => se Rh positivo => Coombs Indireto trimestral e após o parto. Se marido Rh negativo => desnecessário o seguimento.

II- Conduta

Propedêutica

Realizar tipagem sangüínea ABO e Rh do parceiro, com realização de fenotipagem Rh.

Realizar Coombs Indireto com identificação de diferentes anticorpos do sistema Rh (anti-D, anti-C, anti-E, etc.), com titulação e escore, mensalmente.

Toda gestante com Coombs Indireto positivo para determinado anticorpo com capacidade hemolítica deverá ser submetida a levantamento detalhado da história obstétrica pregressa e de possíveis antecedentes hemoterápicos. Após essas informações, será decidido pelo seguimento através de espectrofotometria seriada para estudo no líquido amniótico com identificação da bilirrubina (Δ DO 450 nm), Dopplervelocimetria da artéria cerebral média ou por cordocentese seriada.

Os critérios para decisão no seguimento serão os seguintes:

- Para a paciente com má história obstétrica, ou seja, antecedente de fetos gravemente acometidos (óbito fetal, recém-nascidos submetidos à exsangüíneo transfusões ou fotometria prolongada), antecedente de sensibilização por procedimentos hemoterápicos ou exame ultra-sonográfico, com acometimento

fetal será realizado seguimento com cordocentese. Para as pacientes com ausência destes fatores será realizado seguimento com espectofotometria e/ou Dopplervelocimetria de artéria cerebral média.

- Será oferecida cordocentese para aquelas pacientes cujo fenótipo do companheiro puder ser compatível com fetos Rh negativo, a fim de se obter a tipagem sangüínea fetal e assim, evitar seguimento desnecessário em fetos Rh negativos.

A época indicada para a primeira investigação é dada pelos antecedentes clínicos e/ou pelos resultados de exames ultra-sonográficos. Não se utiliza titulação do teste de Coombs para indicar época de amniocentese. Preferencialmente o estudo deverá ser iniciado para os casos de maior gravidade, em média 10 semanas antes do último evento obstétrico insatisfatório, ou iniciar a partir de 20 semanas para as situações de possível acometimento fetal.

Para as pacientes seguidas por espectofotometria, a partir da primeira punção utiliza-se o gráfico prognóstico de Liley para estabelecimento da conduta ou repetição do procedimento, apenas para as pacientes com mais de 28 semanas de idade gestacional (zona I – sem afecção fetal, repetir amniocentese 21 dias; zona IIA – afecção moderada – repetir amniocentese 15 dias; zona IIB – repetir amniocentese 7 dias; zona III – afecção severa – transfusão intra-útero. Em idades gestacionais inferiores a 28 semanas será utilizada a curva de Manitoba, devendo ser submetida à cordocentese as pacientes cujo $\Delta DO 450\text{ nm}$ seja superior a 0,10.

Toda paciente deverá realizar seguimento ecográfico com repetição quinzenal, além de vigilância da vitalidade a partir de 30 semanas, com realização de controle diário de movimentação fetal, cardiotocografia e Dopplervelocimetria semanais.

Deverá ser iniciada corticoterapia para aceleração da maturidade pulmonar fetal a partir de 28 semanas, como regra, sendo que nos casos de maior gravidade iniciaremos a partir de 26 semanas.

Monitorização da vitalidade fetal

Controle de movimetação fetal - diário

Cardiotocografia

- Semanalmente – todas
- A cada 3 dias – pacientes submetidas à transfusão intra-útero.

Dopplervelocimetria – semanal

Controle ecográfico – quinzenal

III- Terapêutica

O tratamento da gestação com sensibilização Rh é conduzido pela realização de transfusão intra-útero, preferencialmente intra vascular.

Transfusão intra-uterina está indicada quando o resultado de espectrofotometria for alterado ou o nível de hemoglobina fetal for inferior a 10, devendo ser realizada apenas a partir de 20 semanas de amenorréia. Ao se obter a amostra

de sangue fetal deveremos realizar a tipagem sangüínea ABO e Rh, Coombs indireto e teste de Kleihauer.

A técnica a ser utilizada será a intravascular, preferencialmente por punção do cordão umbilical em sua inserção na placenta ou sua porção intra-hepática. Nos casos de difícil acesso ao cordão, pode-se utilizar a via intraperitoneal. Utilizamos sangue “O” negativo, com hematócrito elevado (70 a 80%) compatível com o sangue materno, previamente irradiado com 2000 rads/Unidade. O volume de sangue a ser infundido é dado pela fórmula:

$$V = \frac{V_{sf} (C3 - C1)}{C2}$$

V = , Volume transfundido

Vsf = volume sangüíneo feto placentário (será obtido através de uma curva pré determinada, obtendo-se o valor a partir da determinação da idade gestacional).

C3 = concentração do sangue pós-transfusional

C1 = concentração do sangue pré-tranfusional

C2 = concentração do produto transfundido.

O volume máximo a ser transfundido é de 100 ml de papa de hemácias (1 unidade pediátrica). Deverá ser feita monitorização cardíaca fetal contínua até 4 horas após o procedimento e controle ecográfico 48 a 72 horas após a transfusão.

Em idades gestacionais próximas a 20 semanas, a expectativa do hematócrito final deverá ficar ao redor de 35 a 40%, enquanto que em idades gestacionais mais avançadas poderemos chegar a estimativas de 45 a 50%. Tem esta medida a intenção de evitar hipervolemia, a qual em fetos hidróticos poderá ser determinante de piora da insuficiência cardíaca. Nos casos de fetos já hidróticos, o ideal será realizar transfusões de pequenos volumes a intervalos menores e preferivelmente por via intravascular.

A frequência do procedimento será determinada pela gravidade do acometimento fetal e pelos níveis de hemoglobina/hematócrito obtidos após a transfusão. A interrupção da gravidez será indicada de acordo com resultado da vitalidade fetal, sendo preferível levar a gestação próximo ao termo (36 semanas).

Sabe-se que a partir do segundo procedimento intra-útero o feto diminui a sua capacidade de hematopoiese e portanto, o intervalo entre o primeiro e segundo procedimento será menor, podendo ser posteriormente alargado.

Uma outra medida medicamentosa que poderá ser utilizada é o Fenobarbital, por administração oral à gestante. A intenção é acelerar o metabolismo hepático fetal, aumentando a capacidade de conjugação hepática de bilirrubinas e com isso, reduzir a realização de exsanguíneo transfusão ao nascer. A dose será, em média, 100 mg diários (50 – 200 mg), devendo ser iniciado no mínimo 3 dias antes do nascimento. Idealmente programaremos início ao redor de 34 semanas.

IV- Profilaxia da Isoimunização Rh

Indicações para o uso da imunoglobulina anti-D

- Quando houver acidente de punção em Rh negativo não sensibilizado
- Quadro de sangramento durante a gestação em paciente Rh negativo não sensibilizada
- No pós-parto, pós aborto de paciente Rh negativo, Coombs indireto negativo e RN Rh positivo ou Rh desconhecido
- Profilaticamente em gestantes Rh não sensibilizadas ao redor de 28 semanas.

V- Assistência ao parto de Rh negativo não sensibilizada

Deverão ser evitadas manobras que aumentem os riscos ou a intensidade de hemorragia feto-materna, como por exemplo: dequitação manual da placenta, tração ou torção de cordão umbilical previamente à dequitação, etc.

VI- Aspectos Éticos

As pacientes deverão ser orientadas sobre a importância dos procedimentos invasivos a que estão sendo submetidas, inclusive seus riscos, devendo posteriormente aos esclarecimentos assinarem um termo de consentimento que deverá ser anexado no prontuário da mesma.

CONSENTIMENTO PARA PROCEDIMENTOS INVASIVOS

ISOIMUNIZAÇÃO RH

Eu, _____, fui informada de que apresento uma gravidez complicada por sensibilização ao sistema Rh. Sei que esse problema pode levar ao aparecimento de anemia (destruição de sangue) no meu bebê.

Fui informada de que, para saber se meu bebê já tem anemia preciso ser submetida a uma coleta de sangue no cordão umbilical (cordocentese). Já fui esclarecida de que esse procedimento apresenta alguns riscos, mas que no momento é necessário, sendo o seu resultado importante para o meu tratamento.

Paciente: _____

Médico: _____

7.2. Anexo 2 - Instrumento para Coleta de Dados

Nome: _____

HC: _____

número no estudo

--	--	--

--

1. Idade Gestacional: |__| sem |__| dias

2. IMC |__|

--	--	--

3. Idade |__| anos

4. Gesta |__| Para |__| C |__| A |__| FV |__|

5. Filho anterior com isoimunização?

SIM

NÃO

6. Fototerapia em filho anterior?

SIM

NÃO

7. Transfusão intra-útero em filho anterior?

SIM

NÃO

8. Transfusão pós natal em filho anterior?

SIM

NÃO

9. Óbito fetal em gestação anterior?

SIM

NÃO

10. Óbito neonatal em gestação anterior?

SIM

NÃO

11. Isoimunização Rh nesta gestação?

SIM

NÃO

12. Transfusão intra-útero nesta gestação?

SIM

NÃO

13. Índice do Líquido Amniótico |__| mm

14. Hemoglobina fetal antes da transfusão |__| g/dl

15. Doppler da Artéria Cerebral Média antes da transfusão VS= |__| cm/s

16. Quantidade de sangue: |__| mL transfundidos

17. Hemoglobina fetal após a transfusão |__| g/dl

18. Doppler da Artéria Cerebral Média após da transfusão VS= |__| cm/s

7.3. Anexo 3 - Tabelas

TABELA 1

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes da primeira transfusão

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	5	0	5
PS-ACM $<$ 1,5DP	5	1	6
Total	10	1	11

Sensibilidade = 50% (IC 95% 20,5-79,5%)

Especificidade = 100% (IC 95% 100%)

Valor Preditivo Positivo = 100%

Valor Preditivo Negativo = 16,7%

Acurácia = 54,5%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

DP = Desvio padrão

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 2

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após a primeira transfusão

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	0	0	0
PS-ACM $<$ 1,5DP	4	5	9
Total	4	5	9

Sensibilidade = 0,0% (IC 95% 0,0)

Especificidade = 100% (IC 95% 100%)

Valor Preditivo Positivo = Não calculável

Valor Preditivo Negativo = 55,6%

Acurácia = 55,6%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

DP = Desvio padrão

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 3

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes do total de transfusões

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	9	2	11
PS-ACM $<$ 1,5DP	14	9	23
Total	23	11	34

Sensibilidade = 39.1% (IC 95% 24.3%-55,5%)

Especificidade = 81.8% (IC 95% 68.9%-94.8%)

Valor Preditivo Positivo = 81,8%

Valor Preditivo Negativo = 39,1%

Acurácia = 52,9%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

DP = Desvio padrão

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 4

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após o total de transfusões

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	0	1	1
PS-ACM $<$ 1,5DP	5	22	27
Total	5	23	28

Sensibilidade = 0,0% (IC 95% 0,0%)

Especificidade = 95,7% (IC 95% 88,1%-100%)

Valor Preditivo Positivo = 0,0%

Valor Preditivo Negativo = 81,5%

Acurácia = 78,6%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

DP = Desvio padrão

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 5

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 MoM na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes da primeira transfusão

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	4	0	4
PS-ACM $<$ 1,5DP	6	1	7
Total	10	1	11

Sensibilidade = 40% (IC 95% 13,6%-69,0%)

Especificidade = 100% (IC 95% 100%)

Valor Preditivo Positivo = 100%

Valor Preditivo Negativo = 14,3%

Acurácia = 45,5%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 6

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 MoM na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após a primeira transfusão

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	0	0	0
PS-ACM $<$ 1,5DP	4	5	9
Total	4	5	9

Sensibilidade = 0,0% (IC 95% 0,0%)

Especificidade = 100% (IC 95% 100%)

Valor Preditivo Positivo = Não Calculável

Valor Preditivo Negativo = 55,6%

Acurácia = 55,6%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 7

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 MoM na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes da primeira transfusão

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	6	1	7
PS-ACM < 1,5DP	17	10	27
Total	23	11	34

Sensibilidade = 26,1% (IC 95% 13,9-40,8%)

Especificidade = 90,9% (IC 95% 81,2%-100%)

Valor Preditivo Positivo = 85,7%

Valor Preditivo Negativo = 37,0%

Acurácia = 47,1%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 8

Desempenho do PS-ACM acima de 1,5 MoM na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após o total de transfusões

	Anemia	Sem anemia	Total
PS-ACM $\geq$ 1,5DP	0	0	0
PS-ACM < 1,5DP	5	23	28
Total	5	23	28

Sensibilidade = 0,0% (IC 95% 0,0%)

Especificidade = 100,0% (IC 95% 100%)

Valor Preditivo Positivo = Não Calculável

Valor Preditivo Negativo = 82,1%

Acurácia = 82,1%

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 9

Comparação entre a sensibilidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes da primeira transfusão

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	4	1	5
Sem anemia 1,5DP	0	5	5
Total	4	6	10

Teste Exato de McNemar

Valor p=1,0000

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 10

Comparação entre a especificidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes da primeira transfusão

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	0	0	0
Sem anemia 1,5DP	0	1	1
Total	0	1	1

Teste Exato de McNemar

Valor p= Não Calculável

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 11

Comparação entre a sensibilidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após a primeira transfusão

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	0	0	0
Sem anemia 1,5DP	0	4	4
Total	0	4	4

Teste Exato de McNemar

Valor p= Não Calculável

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 12

Comparação entre a especificidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após a primeira transfusão

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	0	0	0
Sem anemia 1,5DP	0	5	5
Total	0	5	5

Teste Exato de McNemar

Valor p= Não Calculável

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 13

Comparação entre a sensibilidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes do total de transfusões

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	6	3	9
Sem anemia 1,5DP	0	14	14
Total	6	17	23

Teste Exato de McNemar

Valor p= 0,2500

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 14

Comparação entre a especificidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, antes do total de transfusões

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	1	1	2
Sem anemia 1,5DP	0	9	9
Total	1	10	11

Teste Exato de McNemar

Valor p= 1,0000

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 15

Comparação entre a sensibilidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após o total de transfusões

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	0	0	0
Sem anemia 1,5DP	0	5	5
Total	0	5	5

Teste Exato de McNemar

Valor p= Não Calculável

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

TABELA 16

Comparação entre a especificidade do PS-ACM acima de 1,5 MoM e 1,5 DP na predição da anemia fetal tendo como padrão-ouro Hbf abaixo de 0,65 MoM, após o total de transfusões

	Anemia 1,5 MoM	Sem anemia 1,5 MoM	Total
Anemia 1,5DP	0	0	0
Sem anemia 1,5DP	1	22	23
Total	1	22	23

Teste Exato de McNemar

Valor p= Não Calculável

PS-ACM = Pico sistólico da artéria cerebral média

MoM= Múltiplos da mediana

DP = Desvio padrão

Hbf = Hemoglobina fetal

7.4. Anexo 4 - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP com parecer projeto número 311/2004.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi liberado por se tratar de pesquisa retrospectiva.

O CEP aprovou sem restrições o projeto por estar em conformidade com as Resoluções 196/96.



UNICAMP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP

☎ (0_19) 3788-8936

FAX (0_19) 3788-7187

🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

✉ cep@fcm.unicamp.br

CEP. 19/10/04

(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 311/2004

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO "DESEMPENHO DA DOPPLERVELOCIMETRIA DA ARTÉRIA CEREBRAL MÉDIA NA PREDIÇÃO DA ANEMIA FETAL EM GESTANTES ISOIMUNIZADAS".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Ricardo Barini

INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 30/06/2004

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 19/10/05

II - OBJETIVOS

Avaliar o desempenho do pico sistólico da artéria cerebral média na predição da anemia fetal em gestantes isoimunizadas

III - SUMÁRIO

Trata-se de estudo retrospectivo, de validação de teste diagnóstico, do pico sistólico da artéria cerebral média, adotando a dosagem de hemoglobina sérica fetal como padrão ouro. Sujeitos da pesquisa: aproximadamente 30 gestantes, atendidas nos Ambulatórios do Pré-Natal especializado em Medicina Fetal do CAISM, submetidas à cordocentese para determinação da hemoglobina fetal, cujos fetos encontravam-se isoimunizados desde janeiro/2003, quando teve início a medida de dopplerveLOCIMETRIA do pico sistólico da artéria cerebral média, na instituição. O processo de amostragem, embora não descrito, parece ser o de conveniência. Não é descrito o cálculo do tamanho amostral. As gestantes incluídas no estudo foram submetidas aos seguintes procedimentos de rotina: exame ultrassonográfico, com determinação das velocidades de fluxo sanguíneo do pico sistólico, realizado antes da cordocentese e depois da infusão intra-uterina, quando indicada e exame laboratorial da dosagem de hemoglobina. Está previsto o levantamento de outras informações como idade, IMC, história obstétrica, a serem obtidas a partir do prontuário da paciente. Prevê-se a realização do estudo no período de 10 meses. Os autores destacam que não há necessidade de obtenção de consentimento por escrito das pacientes, por se tratar de estudo retrospectivo. Estão descritos no projeto, os métodos para determinação dos parâmetros de pico sistólico da artéria cerebral média e da hemoglobina. Metodologicamente o estudo parece delineado de modo a proporcionar condições para obtenção dos objetivos propostos.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

A obtenção dos dados para o estudo não implica em riscos adicionais para o paciente, uma vez que tais exames foram rotineiramente utilizados na prática clínica junto a tais gestantes. Está previsto um financiamento de R\$ 8.200,00 por meio da FAPESP, destinado a compra de material de consumo e permanente, bem como para o pagamento de serviços a terceiros.

O pesquisador solicita liberação do TCLE, uma vez tratar-se de pesquisa retrospectiva, ao que o CEP/FCM entende ser plenamente dispensável.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

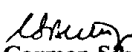
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na X Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 19 de outubro de 2004.


Profa. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP