



Estudo da prevalência da Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido na população da ULSTS

Ana Isabel Ferreira Moreira

09/2025





Estudo da prevalência da Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido na população da ULSTS

Autor

Ana Isabel Ferreira Moreira

Orientadores

Prof Coordenadora Especialista Maria Manuela Amorim/ REQUIMTE/LAQV, Escola Superior de Saúde|P.Porto

Prof Doutora Sandra Marlene Mota / REQUIMTE/LAQV, Escola Superior de Saúde|P.Porto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Área de Especialização em Imunohemoterapia e Transplantação pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.



Agradecimentos

A realização desta dissertação não teria sido possível sem o apoio e contributo de várias pessoas, às quais desejo expressar a minha gratidão e apreço.

À minha família, expresso um agradecimento especial pela paciência e pelo apoio incondicional em todas as etapas desta jornada. Sem o vosso incentivo e compreensão nos momentos mais difíceis, este trabalho não teria sido possível.

Às minhas amigas, agradeço pela amizade, compreensão e palavras de encorajamento. A vossa presença foi fundamental para ultrapassar os obstáculos e atingir os objetivos.

Aos meus colegas de trabalho, especialmente à Dra. Anunciação Ruivo, deixo um agradecimento pelo apoio, compreensão e espírito de colaboração, que permitiram conciliar este percurso académico com as exigências profissionais.

Às minhas orientadoras, agradeço o acompanhamento, a disponibilidade, a paciência e o voto de confiança, que se revelaram decisivos para o desenvolvimento e conclusão desta dissertação.

Por fim, deixo uma palavra de sincero apreço a todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a concretização deste projeto.



Resumo

Introdução: A doença hemolítica do feto e do recém-nascido (DHFRN) resulta da passagem transplacentária de anticorpos maternos da classe IgG, responsáveis pela destruição de eritrócitos fetais e neonatais. Apesar da redução da incidência de casos por anti-D após a implementação da profilaxia, continuam a surgir casos associados a outros anticorpos clinicamente relevantes. Pretendeu-se neste estudo caracterizar a prevalência, os achados clínico-laboratoriais e as intervenções associadas à DHFRN numa coorte de recém-nascidos da ULSTS em 2024.

Métodos: Realizou-se um estudo observacional em recém-nascidos (RN), avaliando-se parâmetros clínicos e laboratoriais, incluindo grupo sanguíneo, teste de antiglobulina direto (TAD), níveis de hemoglobina e bilirrubina, necessidade de fototerapia e história obstétrica materna. Foi realizada uma análise estatística descritiva e inferencial.

Resultados: Foram obtidos 1808 registos de RN e respetivas mães. A idade média das grávidas neste estudo foi de $31,3 \pm 5,5$ anos, com percentagem de mulheres primíparas de 52,5%, e um total de 7,08% de grávidas que não tiveram a vigilância adequada durante a gravidez. A incompatibilidade ABO entre mãe/RN neste estudo foi de 27,09%, com TAD positiva por anticorpos ABO de 3,85%. A prevalência de grávidas com anticorpos anti-eritrocitários foi de 1,05%, sendo o anti-D o mais frequente com 40,91% (n=9). A cobertura profilática com Ig anti-D foi de 85,91% durante a gravidez e de 97,67% no pós-parto. Verificou-se associação estatisticamente significativa entre TAD positivo e ocorrência de icterícia, bem como necessidade de fototerapia. Os RN com TAD positivo apresentaram níveis de hemoglobina mais baixos.

Discussão e Conclusão: Os resultados reforçam o papel do TAD como marcador clínico e laboratorial de hemólise significativa em RN, permitindo identificar precocemente os que apresentam maior risco de icterícia e necessidade de terapêutica. A profilaxia com imunoglobulina anti-D continua a ser uma medida fundamental na redução da aloimunização RhD. Contudo, a presença de anticorpos de outros sistemas sanguíneos reforça a importância do rastreio universal e da vigilância pré e pós-natal. Conclui-se que a DHFRN, embora controlada por estratégias preventivas, permanece uma condição clinicamente relevante, justificando monitorização e protocolos multidisciplinares que integrem prevenção, diagnóstico precoce e terapêuticas eficazes.

Palavras-chave: Doença hemolítica do feto e do recém-nascido; hiperbilirrubinémia; incompatibilidade ABO e Rh; aloimunização; profilaxia com imunoglobulina anti-D.



Abstract

Introduction: Haemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) results from the transplacental passage of maternal IgG antibodies, responsible for the destruction of fetal and neonatal erythrocytes. Despite the reduced incidence of anti-D cases following the implementation of prophylaxis, cases associated with other clinically relevant antibodies continue to occur. The aim of this study was to characterise the prevalence, clinical and laboratory findings, and interventions associated with HDFN in a cohort of newborns at ULSTS in 2024.

Methods: An observational study was conducted in newborns (NB), assessing clinical and laboratory parameters including blood group, direct antiglobulin test (DAT), haemoglobin and bilirubin levels, need for phototherapy, and maternal obstetric history. Both descriptive and inferential statistical analyses were performed.

Results: 1,808 records of newborns and their mothers were obtained. The mean maternal age in this study was 31.3 ± 5.5 years, with 52.5% of women being primiparous, and 7.08% lacking adequate antenatal surveillance. ABO incompatibility between mother and NB was 27.09%, with ABO antibody-positive DAT accounting for 3.85%. The prevalence of pregnant women with red cell antibodies was 1.05%, with anti-D being the most frequent (40.91%, n=9). Prophylactic coverage with anti-D Ig was 85.91% during pregnancy and 97.67% post-partum. A statistically significant association was observed between a positive DAT and the occurrence of jaundice, as well as the need for phototherapy. Newborns with a positive DAT also presented with lower haemoglobin levels.

Discussion and Conclusion: The results reinforce the role of the DAT as a clinical and laboratory marker of significant haemolysis in newborns, enabling the early identification of those at higher risk of jaundice and need for therapy. Anti-D immunoglobulin prophylaxis remains a fundamental measure in reducing RhD alloimmunisation. However, the presence of antibodies from other blood group systems underscores the importance of universal screening and both antenatal and postnatal surveillance. It is concluded that HDFN, although controlled through preventive strategies, remains a clinically relevant condition, warranting ongoing monitoring and multidisciplinary protocols that integrate prevention, early diagnosis, and effective therapies.

Keywords: Hemolytic disease of the fetus and newborn; hyperbilirubinemia; ABO and Rh incompatibility; alloimmunization; prophylaxis with anti-D immunoglobulin.



Índice

1.	Introdução.....	1
1.1.	Fisiopatologia da Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido e Mecanismos Imunológicos ..	1
1.1.1.	Doença hemolítica por incompatibilidade ABO	6
1.1.2.	Doença hemolítica por incompatibilidade Rh.....	8
1.1.3.	Doença hemolítica por incompatibilidade de sistemas <i>minor</i>	9
1.2.	Diagnóstico.....	11
1.2.1.	Diagnóstico Pré-natal.....	11
1.2.2.	Diagnóstico Pós-Natal.....	14
1.3.	Estratégias de Prevenção	16
1.4.	Tratamento.....	18
2.	Objetivo do Estudo	23
3.	Métodos.....	23
3.1.	Tipo de Estudo.....	23
3.2.	População e Amostra.....	23
3.3.	Instrumentos	24
3.4.	Procedimento.....	24
3.5.	Estatística	25
4.	Resultados.....	25
4.1.	Caraterização da coorte de recém-nascidos	25
4.1.	Caraterização da coorte das gestantes.....	28
4.2.	Prevalência de anticorpos maternos.....	31
4.3.	Profilaxia	33
4.4.	Associações estatísticas nas variáveis clinico-laboratoriais.....	35
5.	Discussão.....	37
5.1.	Caracterização da coorte.....	37
5.2.	Prevalência de anticorpos.....	40
5.3.	Profilaxia	43
5.4.	Associações estatísticas nas variáveis clinico-laboratoriais.....	44
5.5.	Sugestões de melhoria.....	45
5.6.	Limitações do estudo e perspectivas futuras	46



6. Conclusão.....	47
7. Referências Bibliográficas.....	49
ANEXOS.....	56
Anexo I – Testes laboratoriais na gravidez de baixo risco.....	57
Anexo II – Exames invasivos para diagnóstico pré-natal.....	58
Anexo III – Algoritmo para a gestão clínica de gravidezes não aloimunizadas, aloimunizadas para o antigénio D e/ou para outros antigénios.....	59
Anexo IV – Vantagens e desvantagens dos diferentes métodos de diagnóstico laboratorial, clínico e opções de tratamento pré-natal.....	60
Anexo V – <i>Guidelines</i> para a transfusão de eritrócitos em RN com menos de 4 meses de idade.....	61
Anexo VI – Limiares de Fototerapia para RN com um mais fatores de risco para neurotoxicidade por hiperbilirubinémia.....	62
Anexo VII – Limiares para Exsanguinotransfusão em RN sem e com fatores de risco para neurotoxicidade por hiperbilirubinémia.....	63
Anexo VIII – Análise estatística comparando as mães RhD negativo que fizeram profilaxia com variáveis qualitativas.....	64



Índice de Abreviaturas e Acrónimos

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BD	Bilirrubina direta
BSG	Boletim de Saúde da Grávida
BT	Bilirrubina total
BTc	Bilirrubina transcutânea
CE	Concentrado de Eritrócitos
cff DNA	<i>cell-free fetal</i> DNA ou ADN fetal livre de células
DG6P	Desidrogenase glicose-6-fosfato
DGS	Direção Geral de Saúde
DHFRN	Doença hemolítica do feto e do recém-nascido
ESP	Esfregaço de sangue periférico
EUA	Estados Unidos da América
g/dL	Gramas/decilitro
HFM	Hemorragia feto-materna
Hg	Hemoglobina
HTP	Hemorragia transplacentária
IC	Intervalo de confiança
IAI	Identificação de anticorpos irregulares
Ig	Imunoglobulina
Ig anti-D	Imunoglobulina anti-RhD
IVIG	Imunoglobulina intravenosa
mg/dL	Miligramas/decilitro
MPS-ACM	Medição do Pico de Velocidade Sistólica na Artéria Cerebral Média
OR	Estimativa de risco (odds ratio)
PAI	Pesquisa de Anticorpos Irregulares ou Teste de <i>Coombs</i> Indireto
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RN	Recém-nascido
SnMP	Mesoporfirinas de estanho
TAD	Teste de Antiglobulina/ <i>Coombs</i> Direto
TH	Tempo de hospitalização



Índice de Abreviaturas e Acrónimos (cont.)

TIU	Transfusão intrauterina
UGT	Difosfato-glucuroniltransferase
ULSTS	Unidade Local de Saúde do Tâmega e Sousa

Índice de Figuras

Figura 1 – Classes de Imunoglobulinas e Estrutura Geral dos Anticorpos.....	2
Figura 2 – Ilustração da patogénese da DHFRN na mãe, no feto e no recém-nascido.....	4
Figura 3 – Limiar da fototerapia por idade gestacional e idade em horas de vida para recém-nascidos sem fatores de risco de neurotoxicidade por hiperbilirubinémia.....	21
Figura 4 – Intervalo de valores da hemoglobina dos recém-nascidos.....	26
Figura 5 – Frequência absoluta e relativa dos valores de bilirrubina direta.....	27
Figura 6 – Frequência absoluta dos intervalos de valores da bilirrubina total obtidos em dois momentos distintos.....	27
Figura 7 – Distribuição dos grupos sanguíneos dos RN.....	28
Figura 8 – Frequência absoluta e relativa do intervalo de idades das grávidas.....	29
Figura 9 – Gestaçã o e paridade das mulheres em estudo.....	29
Figura 10 – Frequência absoluta e relativa da vigilância da gravidez.....	30
Figura 11 – Frequência absoluta e relativa da distribuição dos grupos sanguíneos das grávidas.....	30
Figura 12 – Frequência absoluta e relativa dos anticorpos encontrados na PAI.....	31
Figura 13 – Frequência absoluta da realização da profilaxia durante a gestaçã o.....	34
Figura 14 – Frequência absoluta da realizaçã o da profilaxia pós-parto.....	34

Índice de Quadros

Quadro 1 – Causas comuns de eventos de sensibilizaçã o e de hemorragia transplacentária durante a gravidez.....	5
Quadro 2 – Gravidade da DHFRN e frequênci a da associaçã o com os anticorpos mais comuns.....	5
Quadro 3 – Testes de paternidade para tipagem sanguínea.....	13



Quadro 4 – Indicações estabelecidas para a administração de imunoglobulina anti-D em mulheres RhD negativo, incluindo em situações propensas a hemorragia feto-materna	18
Quadro 5 – Fatores de risco para o desenvolvimento de hiperbilirrubinémia significativa e para o desenvolvimento de neurotoxicidade por hiperbilirrubinémia.....	20
Quadro 6 – Critérios de exclusão do estudo.....	25

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Estatística descritiva das variáveis numéricas estudadas.....	26
Tabela 2 – Relação entre grupo sanguíneo da mãe e os anticorpos encontrado no eluado do RN e a suas frequências absolutas e relativas.....	28
Tabela 3 – Incompatibilidade ABO e RhD entre mães e RN.....	31
Tabela 4 – Mães com PAI positiva cujos RN não fizeram determinação da TAD.....	32
Tabela 5 – Mães com PAI positiva cujos RN tiveram TAD negativa	32
Tabela 6 – Comparação entre o resultado da TAD e algumas variáveis estatísticas qualitativas.....	35
Tabela 7 – Análise estatística comparando o resultado da TAD com as médias da hemoglobina, bilirrubina total numa 1ª e numa 2ª determinação	35
Tabela 8 – Análise estatística comparando a incompatibilidade ABO do par mãe/RN com algumas variáveis qualitativas.....	36
Tabela 9 – Análise estatística da incompatibilidade ABO com variáveis estatísticas contínuas.....	36
Tabela 10 – Resultados estatísticos da distribuição dos grupos sanguíneos num estudo feito pelo IPST, nos EUA e neste estudo.....	39



1. Introdução

A gravidez é um período de alterações fisiológicas profundas, marcada pela expectativa do nascimento. A saúde materna e o acompanhamento médico são fatores fundamentais para garantir o bem-estar da mãe e do bebé, desde os primeiros meses de gestação até ao nascimento. Neste contexto, é essencial o rastreio e a monitorização das grávidas, para a deteção precoce e implementação de estratégias preventivas e terapêuticas para a segurança materno-fetal(1).

Uma das doenças incluída neste rastreio é a doença hemolítica do feto e do recém-nascido (DHFRN). Consiste num grupo de patologias em que ocorre destruição dos eritrócitos fetais e/ou do recém-nascido (RN), o que causa hemólise, anemia e hiperbilirrubinémia, entre outras complicações. A DHFRN pode ser distinguida entre etiologia imune ou não imune, dependendo se é mediada pela presença de anticorpos maternos(2). Este trabalho foca-se na DHFRN mediada por anticorpos ou imune.

Nas últimas décadas, a DHFRN tem sofrido várias alterações, devido principalmente à introdução da profilaxia com imunoglobulina anti-D (Ig anti-D) para grávidas RhD negativo nos anos 70. Também os rastreios regulares às grávidas implementados nos serviços de saúde e a evolução da tecnologia e dos tratamentos permitiram uma modificação da abordagem feto-materna no contexto da aloimunização(2,3).

1.1. Fisiopatologia da Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido e Mecanismos Imunológicos

O sistema imunitário é um componente essencial do organismo humano, que permite reconhecer e destruir uma grande variedade de microrganismos invasores, como bactérias e vírus, que, de outra forma, seriam capazes de provocar infeções prejudiciais para o ser humano. Outra vertente do sistema imunitário é a vigilância constante sobre o aparecimento de antigénios estranhos ao próprio (*non-self*), tendo como objetivo destruir estes antigénios(4,5). Os anticorpos, ou imunoglobulinas (Ig), são proteínas plasmáticas que são produzidas em resposta à estimulação antigénica. Os anticorpos são formados por moléculas funcionais e heterogéneas que se ligam aos antigénios através dos epítomos. Existem cinco classes de imunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE (Figura 1), cada uma com as suas características funcionais e estruturais. Os anticorpos produzidos contra antigénios *non-self* são designados de aloanticorpos e os anticorpos produzidos contra antigénios *self* são designados de autoanticorpos(4,5).

As características funcionais das imunoglobulinas são determinadas pela região Fc da molécula (Figura 1), podendo existir anticorpos com a mesma capacidade de ligação a um antigénio, mas diferentes



regiões Fc. Estas regiões determinam as propriedades biológicas daquele anticorpo, como por exemplo, permitir a ativação do sistema complemento por meio dos recetores Fc, o que vai promover a fagocitose dos antígenos(4,5).

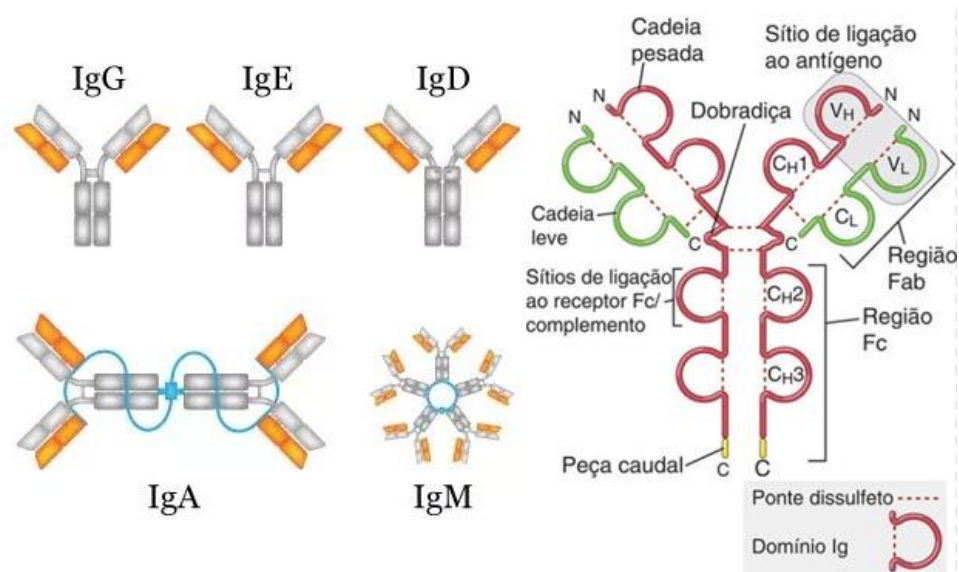


Figura 1- Classes de Imunoglobulinas (Esquerda) e Estrutura Geral dos Anticorpos (Direita) (6,7)

As imunoglobulinas mais abundantes e com maior efeito protetor são a IgM e a IgG(4,5).

A IgM é o principal anticorpo secretado para o sangue na fase inicial de uma resposta imune primária e tem uma elevada eficiência na ligação e ativação do complemento. É uma molécula importante no combate às infeções, correspondendo a cerca de 5-10% das imunoglobulinas séricas e é a primeira a ser sintetizada no RN. No entanto, devido ao seu elevado peso molecular, a IgM está confinada à circulação sanguínea e não atravessa a placenta(4,5).

A IgG é a principal imunoglobulina no sangue (70-75%), é produzida durante a resposta imune secundária e têm como função destruir os microrganismos infecciosos. Os anticorpos IgG são os únicos que podem atravessar a placenta, uma vez que as células da placenta que estão em contato com o sangue materno possuem recetores que se ligam à região Fc das moléculas de IgG e intervêm na sua passagem para o feto, conferindo imunidade neonatal(4,5). As outras classes de anticorpos não se conseguem ligar a estes recetores e, por isso, não conseguem atravessar a placenta. Esta capacidade proporciona uma importante linha de defesa contra as infeções nas primeiras semanas de vida do RN. Existem quatro subclasses de IgG, que são semelhantes, mas não idênticas, na sequência de aminoácidos e nas propriedades gerais. Por exemplo, a IgG3 é a que se liga mais eficazmente ao complemento, seguida pela IgG1, e foi demonstrado que todas as subclasses, exceto a IgG2, atravessam a placenta(2,4,5,8). Sendo assim, as formas clinicamente mais significativas de DHFRN são causadas



por antígenos do grupo sanguíneo que produzam aloanticorpos maternos da classe IgG, sendo que a IgG1 é o anticorpo mais abundante nas grávidas, seguido da IgG3(5,8–10).

Uma vez na circulação fetal, os anticorpos maternos ligam-se aos eritrócitos fetais positivos para o antígeno em questão, causando um aumento da lise dos eritrócitos, que são depois eliminados pelo baço do feto, reduzindo a vida útil dos eritrócitos fetais e causando anemia. A hemoglobina livre, resultante destes eritrócitos destruídos, é metabolizada em bilirrubina, e uma vez que esta consegue atravessar a placenta, é conjugada pelo fígado materno. À medida que a anemia fetal se agrava, a hematopoiese fetal aumenta, denominada “eritroblastose fetal”, e os órgãos envolvidos na síntese extramedular dos eritrócitos (fígado, baço) podem aumentar de tamanho. Eventualmente, se esta compensação não for suficiente, pode causar hidrúpsia fetal, uma condição que consiste em edemas na pele e nas cavidades serosas, insuficiência cardíaca e até a morte fetal(5,8,9).

Após o parto, a ligação com a circulação materna é cortada, contudo, o aloanticorpo continua em circulação no RN, continuando a afetar os seus eritrócitos e a causar anemia de forma progressiva. No entanto, a bilirrubina proveniente da destruição dos eritrócitos pode aumentar rapidamente porque as vias metabólicas do fígado do RN ainda se encontram imaturas e não conseguem conjugar a bilirrubina de forma a facilitar a sua eliminação. Embora a maioria dos casos de icterícia em RN seja benigna, o tratamento da hiperbilirrubinémia é fundamental no período neonatal devido ao risco de encefalopatia induzida pela bilirrubina. Quando não tratada atempadamente, pode causar danos irreversíveis no sistema nervoso central, condição conhecida como *kernicterus*. Esta condição é causada pela deposição de bilirrubina no cérebro, podendo levar a paralisia cerebral, disfunção auditiva, défice intelectual, entre outros. Em RN de termo, níveis de bilirrubina superiores a 25–30 mg/dL estão associados a um risco aumentado de *kernicterus*. Não há relatos de *kernicterus* com níveis de bilirrubina abaixo de 20 mg/dL; isto deve-se, em parte, à capacidade de ligação da bilirrubina à albumina circulante, sendo os casos entre 20 e 25 mg/dL de bilirrubina sérica bastante raros(8,9,11–13). No entanto, nos RNs de muito baixo peso, *kernicterus* pode surgir com valores tão baixos como 8–12 mg/dL(13). Na Figura 2, encontra-se um resumo da fisiopatologia da DHFRN na mãe, no feto e no RN.

O anticorpo materno permanece na circulação do RN durante semanas, ou até meses, após o nascimento. Assim, os bebés podem apresentar icterícia tardia (ao fim de algumas semanas) como também entrar numa fase hipoproliferativa de anemia devido à supressão da eritropoiese(8).

Estão descritos 48 sistemas de grupos sanguíneos(15), que se referem aos antígenos presentes na superfície das membranas dos eritrócitos e são herdados geneticamente. O sistema de um grupo sanguíneo consiste num ou mais antígenos sob o controlo de um único gene ou de dois ou mais genes



homólogos. Assim, cada sistema é geneticamente independente de todos os outros sistemas e origina que cada eritrócito apresente uma combinação de vários antígenos, o que se designa por fenótipo(13).

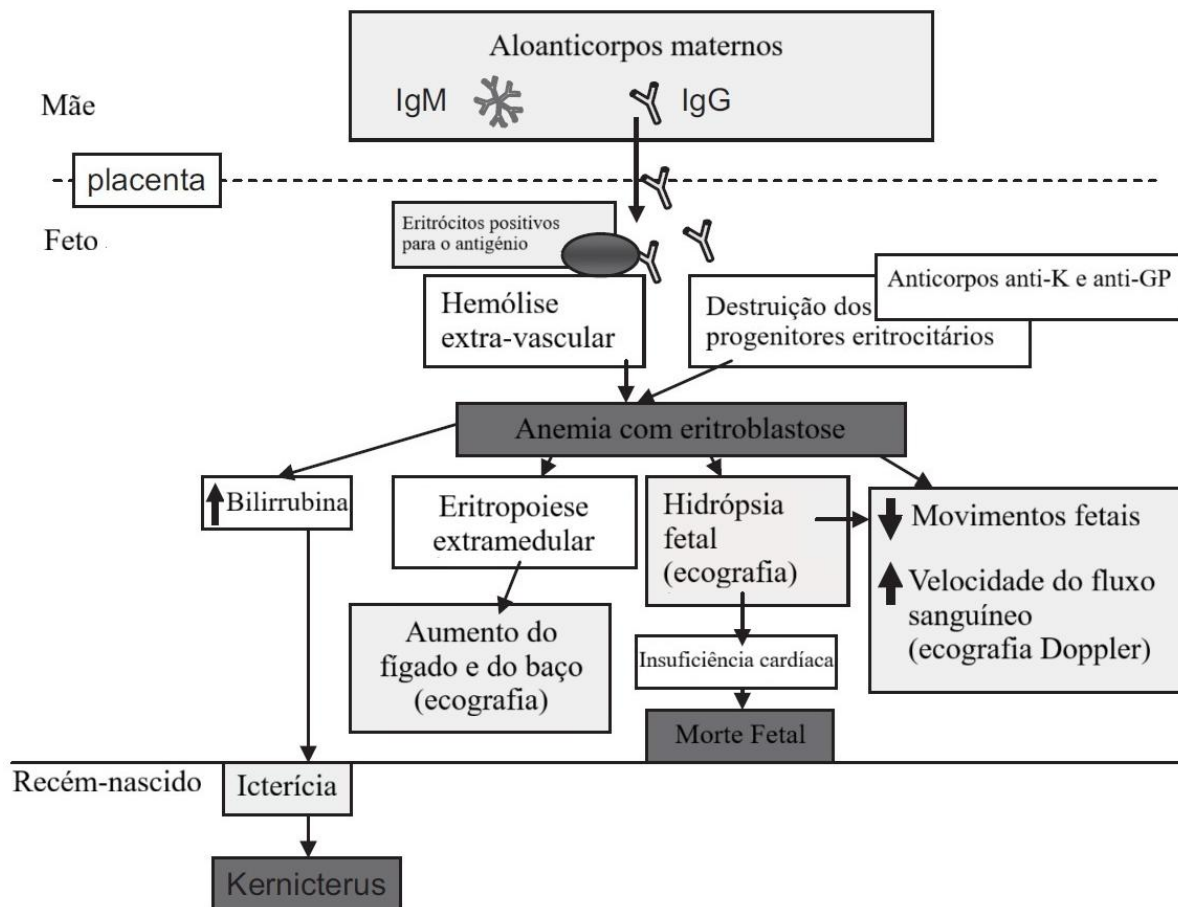


Figura 2 - Ilustração da patogénese da DHFRN na mãe, no feto e no recém-nascido (Adaptado de Haas M, et al, 2015. p. 100(14))

Para que ocorra a formação de aloanticorpos anti-eritrocitários, a mãe tem que entrar em contato com um antígeno *non-self*, por exemplo, o feto pode expressar o antígeno, cujo gene foi herdado do pai. A DHFRN resulta da produção de anticorpos maternos que foram estimulados pela presença destes antígenos fetais estranhos. A produção de anticorpos depende de uma variedade de fatores: a composição genética dos pais, a antigenicidade de um antígeno específico e a quantidade real de antígeno introduzida na circulação materna(5).

A hemorragia transplacentária (HTP) ou hemorragia feto-materna (HFM) é a mistura espontânea entre a circulação fetal e materna, pode ocorrer em qualquer fase da gravidez, e a probabilidade de acontecer aumenta ao longo da gravidez: 3%, 12% e 45% no primeiro, segundo e terceiro trimestres, respetivamente, embora a quantidade de sangue fetal na circulação materna seja geralmente muito pequena e desprezível(5,8). A HTP é normalmente assintomática e pode surgir em qualquer momento da gravidez, ocorrendo em 75% de todas as gravidezes. A hemorragia significativa, que provoca imunização, normalmente ocorre durante o último trimestre, uma vez que o tecido que separa os vasos placentares



(onde circula o sangue do feto) do espaço intervilo (onde circula o sangue materno) vai diminuindo de espessura, permitindo trocas de sangue entre a mãe e o feto, ou no parto. Os eritrócitos fetais podem também entrar na circulação materna como resultado de perturbações físicas do feto ou placenta, estando estas causas enumeradas no Quadro 1(5,16–19).

Quadro 1 – Causas comuns de eventos de sensibilização e de hemorragia transplacentária durante a gravidez(5,8,20).

Causas de eventos de sensibilização numa grávida	
Trauma abdominal	Aborto espontâneo ou médico
Gravidez ectópica	Amniocentese ou cordocentese
Parto normal	Cesariana
Descolamento prematuro da placenta	Remoção manual ou cirúrgica da placenta
Transfusão de eritrócitos ou plaquetas	Multiparidade
Ser submetida a cirurgia <i>major</i>	Ter tido um filho do sexo masculino
Morte fetal	Hemorragia anteparto

A resposta imunitária aos antígenos é complexa e não está totalmente esclarecida, uma vez que pode ou não haver produção de anticorpos após uma exposição a um antígeno *non-self*. Sabe-se que o RhD é o antígeno mais imunogénico, e que 85% dos indivíduos RhD negativo irão produzir anti-D após uma transfusão com eritrócitos RhD positivo. Embora apenas 0,1 a 1 mL de eritrócitos RhD positivo seja o suficiente para estimular a produção de anticorpos, os volumes de HTP são geralmente pequenos, o que contribui para taxas de aloimunização relativamente baixas na gravidez(2,8).

A DHFRN envolve primariamente os grupos sanguíneos *major* ABO e Rh. No entanto, cerca de 50 antígenos dos chamados grupos *minor* podem estar envolvidos, alguns dos quais podem causar doença grave, como demonstrado no Quadro 2(2). O risco de desenvolver DHFRN grave depende de vários fatores, incluindo a classe da imunoglobulina envolvida, a especificidade dos aloanticorpos e o nível de expressão do antígeno nos eritrócitos fetais e noutros tecidos(9).

Quadro 2 – Gravidade da DHFRN e frequência da associação com os anticorpos mais comuns (Adaptado de Minuk, 2020)(20)

Frequência dos antígenos associados a DHFRN	Gravidade da DHFRN		
	Leve	Moderada	Grave
Comum	ABO (A, B) Rh (E)		Rh (D, C, c) Kell (K, k)
Rara	MNS (M, S) (a gravidade da doença pode variar de ligeira a grave)	Duffy (Fy ^a , Fy ^b) Kidd (Jk ^a , Jk ^b) Rh (C)	
Sem associação com DHFRN	Lewis (Le ^a , Le ^b), Ii (I), P (P1), Sem risco, devido à baixa expressão destes antígenos nos eritrócitos fetais		



Os anticorpos podem ser classificados como anticorpos naturais ou irregulares. Os anticorpos naturais são aqueles presentes no plasma que não necessitam de uma sensibilização prévia para existirem em circulação, como os anticorpos do sistema ABO. Os anticorpos irregulares necessitam de uma exposição inicial a um antígeno eritrocitário *non-self* para desencadear a sua produção, como por exemplo, antígenos do sistema Rh, Kell, Duffy, Kidd, entre outros. Nalguns casos, não se consegue identificar em que circunstância ocorreu a exposição; estes anticorpos podem advir da exposição de antígenos ambientais, bacterianos ou víricos, semelhantes a antígenos de um sistema sanguíneo(2,13).

Assim, DHFRN por sensibilização raramente acontece na primeira gravidez porque os novos aloanticorpos têm maior probabilidade de serem formados após o parto, onde a resposta imune primária reage com a formação de anticorpos IgM, que não atravessam a barreira placentária. Após a sensibilização materna primária, a resposta imune secundária continuará com a produção de anticorpos IgG, que atravessam a placenta e atingem a circulação fetal numa gravidez subsequente(2,8).

Num estudo nos Estados Unidos da América (EUA)(21) com mais de 35 mil mulheres em idade fértil, 1,15% destas apresentaram aloanticorpos anti-eritrocitários. A frequência dos anticorpos clinicamente relevantes encontrada foi: anti-D 18%; anti-E 14%; anti-C 7%; anti-c 5,8%; anticorpos do sistema Kell 20%; do sistema Duffy 5,6%; do sistema MNS 4,7% e do sistema Kidd 1,5%. Nas décadas de 60 e 70, a frequência de anticorpos anti-D era superior a 50%.

Num outro estudo, na Holanda, a prevalência de aloanticorpos detetados no primeiro trimestre de gravidez foi de 1,2%(22). Segundo Rodrigues *et al.*(23), que realizou uma revisão sistemática de estudos de prevalência publicados entre 2013 e 2023, 0,17% das mulheres grávidas estavam aloimunizadas e, de entre as mulheres grávidas aloimunizadas, 36,84% tiveram um bebé com DHFRN. Nesta revisão, o anti-D foi o aloanticorpo mais comum (35,01%), seguido pelo anti-K (14,69%), anti-E (11,21%), anti-c (5,48%), anti-C (4,93%) e anti-M (2,35%)(23). Um estudo populacional realizado na Suécia(24) demonstrou que a presença de anticorpos maternos estava significativamente associada a resultados adversos, tal como maior risco de parto prematuro ou de parto de um nado-morto.

1.1.1. Doença hemolítica por incompatibilidade ABO

O sistema sanguíneo ABO resulta da presença ou ausência de antígeno A e/ou B na superfície do eritrócito e da ausência ou presença dos anticorpos complementares aos antígenos de superfície que ocorrem naturalmente. A produção de anticorpos anti-A e anti-B começa por volta dos quatro ou seis meses de idade, momento em que há provável exposição a fatores ambientais e bactérias intestinais



com estrutura semelhante aos antigénios A e B. Os antigénios do sistema ABO estão presentes nos eritrócitos e em vários tecidos(2,25).

O sistema ABO é um dos mais importantes na DHFRN pois é a causa mais comum de incompatibilidade, existindo incompatibilidade de 15% a 25% dos pares mãe/RN. No entanto, a DHFRN por ABO é normalmente moderada ou ligeira devido a alguns fatores: a) os anticorpos anti-ABO são predominantemente da classe IgM, não atravessando a placenta; b) os antigénios A e B não estão totalmente expressos nos eritrócitos do RN na altura do nascimento, o que resulta em menos locais de ligação; e c) muitos anticorpos anti-ABO que atravessam a placenta serão absorvidos por outros tecidos. No entanto, em indivíduos do grupo O, os anticorpos anti-ABO também incluem IgG, e as mães com títulos elevados de anti-A e anti-B do tipo IgG podem provocar DHFRN. Por estas razões, a incompatibilidade ABO está maioritariamente limitada a mulheres do grupo O com fetos do grupo A ou B, originando DHFRN em apenas 3-4% dos casos. A literatura refere a existência de casos em mães do grupo A com um título de IgG anti-B elevado, contudo são casos esporádicos(2,3,5,8,25). Em conjunto, isto resulta numa baixa taxa de DHFRN grave devido à incompatibilidade ABO, embora a incidência de doença mais ligeira varie de 1/150 nascimentos a 1/3000 nascimentos, dependendo dos parâmetros utilizados para a definição do caso. A incompatibilidade ABO é, atualmente, a maior causa de DHFRN no mundo ocidental. Uma vez que os anticorpos ABO maternos estão presentes sem sensibilização prévia, a DHFRN pode ocorrer na primeira gravidez e tem uma taxa de recorrência de até 87%(2,3,8).

Em contraste com outros aloanticorpos do tipo IgG, a hemólise grave por incompatibilidade ABO é normalmente um problema para o RN, e raramente afetam o feto(25). A hemólise é mais comum com o anticorpo anti-A, quando comparado com o anti-B(2,3,25). Os RN afetados são geralmente assintomáticos ao nascimento, podendo apresentar anemia ligeira e hiperbilirrubinémia, que se manifesta frequentemente nas primeiras 24 horas de vida. Nos testes imunohematológicos, os neonatos apresentam geralmente, mas nem sempre, um teste de antiglobulina direto (TAD) positivo(13,26). A proporção de casos de DHFRN por incompatibilidade ABO com TAD positivo varia de acordo com os reagentes laboratoriais utilizados(2,3); num estudo de 2005(27), 40% dos bebés que necessitaram de fototerapia devido à incompatibilidade ABO apresentaram TAD negativo. Estão descritos na literatura alguns casos raros de hidrópsia fetal no contexto de aloimunização ABO(2,3).

A incompatibilidade ABO associada à incompatibilidade Rh é protetora, dado que os eritrócitos fetais na circulação materna são rapidamente destruídos pelo sistema imunitário antes de poderem provocar a sensibilização(2).



1.1.2. Doença hemolítica por incompatibilidade Rh

O sistema sanguíneo Rh é um sistema sanguíneo altamente imunogénico, polimórfico e complexo com 56 antígenos descritos. Os anticorpos mais clinicamente significativos são contra os antígenos D, E, e, C, e c(13,23). A expressão do antígeno D nos eritrócitos determina a classificação do indivíduo em Rh positivo ou Rh negativo, sendo que prevalência de indivíduos RhD negativo varia com a etnia (15% em caucasianos)(2,13,28).

Normalmente, o padrão de imunização é demonstrado pelo caso de uma mãe RhD negativo cuja imunização primária foi causada por uma gravidez com um feto RhD positivo, o que estimula a produção de anticorpos anti-D de baixo título, predominantemente da classe IgM. A estimulação antigénica subsequente, como a HTP durante uma segunda gravidez com um feto RhD positivo, pode provocar uma resposta secundária, caracterizada pela predominância de títulos crescentes de anti-D da classe IgG, que atravessam a placenta e atingem a circulação fetal, ligando-se aos eritrócitos fetais que serão destruídos (hemólise extravascular). Os casos mais graves podem resultar em insuficiência hepática, hidròpsia fetal, encefalopatia bilirrubínica aguda e *kernicterus*(2,5).

Até ao início da década de 70, o anticorpo anti-D era a causa mais frequente e mais grave de DHFRN, sendo responsável por aproximadamente 93% dos casos de doença hemolítica não-ABO, podendo ocorrer isoladamente ou em combinação com outro anticorpo Rh. Desde o desenvolvimento da profilaxia com imunoglobulina anti-RhD (Ig anti-D) para prevenir a imunização ao antígeno D, a incidência estimada de DHFRN causada pelo anti-D diminuiu significativamente de 1/180 nascimentos para 1,06/1000 recém-nascidos nos EUA. Atualmente, apesar de DHFRN por anticorpos anti-D ainda ser a mais frequente e a causar morbidade e mortalidade fetal e neonatal, os anticorpos anti-c e anti-E são também uma das causas mais comuns de doença hemolítica(2,3,5,8,25).

Apesar da profilaxia com Ig anti-D pré e pós-natal adequada, nos Países Baixos, 1 a 3 em cada 1000 mulheres RhD negativo ainda desenvolvem anti-D. No geral, em toda a população de grávidas, a prevalência de gravidezes sensibilizadas com anti-D é de cerca de 1 em 1000(9,29). Esta profilaxia também não protege contra a formação de anticorpos dirigidos a outros antígenos do sistema Rh(25). Por outro lado, a combinação de incompatibilidades em vários antígenos Rh pode ser grave e potencialmente fatal(2).

Num estudo que analisou mais de 13 mil grávidas aloimunizadas, foram encontrados anticorpos Rh no plasma de 52,69% destas, sendo o anti-E o segundo anticorpo mais comum do sistema Rh, seguido do anti-c, anti-C, anti-Cw, anti-e, anti-G, anti-f e anti-Goa(23).



O anti-c está presente em cerca de 0,07% de todas as gravidezes e está associado a quadros mais marcados de hemólise na DHFRN. O anti-c pode ser difícil de detetar uma vez que só apresenta reação positiva no teste de *Coombs* direto num terço destes casos de incompatibilidade(30).

O anticorpo anti-E está associado a quadros clínicos de gravidades distintas. Este anticorpo está normalmente associado a doença ligeira pela sua fraca imunogenicidade, mas também estão reportados casos com hiperbilirrubinémia grave e hemólise com necessidade de transfusão, o que vem dificultar o prognóstico da doença. O anti-E pode estar presente em 1/300 grávidas, ocorrendo a doença associada a este anticorpo em cerca de 1/500 casos(25).

1.1.3. Doença hemolítica por incompatibilidade de sistemas *minor*

A doença hemolítica provocada por sistemas *minor* é rara e envolve geralmente os sistemas Kell (K, k), MNS (M, S, s), Duffy (Fy^a) e Kidd (Jk^a, Jk^b), sendo que a prevalência é de cerca de 1 em 500 gravidezes. As manifestações clínicas são variadas, com um menor risco de desenvolver doença grave, mas vai desde hiperbilirrubinémia ligeira até à hidrósia fetal com elevada taxa de mortalidade(2,9).

Os aloanticorpos Kell (anti-K) são a causa mais comum de DHFRN depois dos anticorpos dos sistemas ABO e Rh, sendo responsável por cerca de 10% dos casos reportados de doença grave. No entanto, apresenta algumas particularidades quando se compara a DHFRN provocada por outros anticorpos(3,23,25,31). Os antigénios Kell estão presentes nas células precursoras dos eritrócitos na medula óssea, o que provoca a destruição destas células na presença dum anti-K, bem como à supressão da eritropoiese e hemólise dos eritrócitos já maduros(2,25). Como estas células precursoras não possuem hemoglobina, observa-se uma hiperbilirrubinémia menos significativa, tanto no feto como no RN, quando comparada com a doença provocada por outros anticorpos, mas por outro lado, verifica-se um grau de anemia mais pronunciado. Os sintomas podem desenvolver-se logo no início da gravidez, com possível aparecimento de hidrósia antes das 20 semanas de gestação, o que leva a uma necessidade frequente de intervenção *in utero*(2,3,25,31). Foi também demonstrado que os antigénios Kell estão presentes noutras células progenitoras mielóides e que a inibição da proliferação fetal destas células pode ser responsável pela trombocitopenia e leucopenia por vezes observadas nos RN(3).

Outra inconsistência na DHFRN por anti-K é a falta de correlação entre o título do anticorpo materno e o grau de anemia fetal/gravidade clínica da doença hemolítica, o que torna a avaliação destas gravidezes mais complicada. Normalmente, um título de 4 identifica um risco grave de DHFRN, mas casos graves ocorrem com títulos anti-K mais baixos. Assim, qualquer gravidez com presença de anti-K deve ter um acompanhamento diferenciado quando não é possível prever o fenótipo do feto(3,23,31).



O sistema MNS é considerado clinicamente insignificante, uma vez que os anticorpos são, maioritariamente, da classe IgM e reagem apenas a temperaturas inferiores a 37°C (reatividade ótima a 4°C). No entanto, podem ter uma componente IgG que atravessa a placenta e causa DHFRN(9,32,33). O anti-M é o anticorpo mais comum deste sistema e é frequentemente encontrado em mulheres grávidas como um anticorpo natural da classe IgM. Os anticorpos anti-M IgM são detetados em 10% das grávidas com teste de Coombs indireto positivo, mas apenas 0,01% a 0,7% das grávidas desencadeiam anti-M da classe IgG capaz de atravessar a placenta(9,25,32,33). A fisiopatologia do anti-M é semelhante à do anti-K, podendo causar anemia hipoproliferativa prolongada devido à supressão da eritropoiese fetal. Assim, recomenda-se que os RN sejam monitorizados quanto aos sintomas de anemia até aos 2 meses de idade(23,25,32). O anti-N não está geralmente associado à DHFRN(13). Já os anticorpos anti-S e anti-s são, maioritariamente, da classe IgG, e podem provocar DHFRN grave e fatal(13,25).

No sistema Duffy, o anti-Fy^a é um anticorpo relativamente comum, comparativamente com o anti-Fy^b, que é 20 vezes menos comum que o primeiro. Estes dois anticorpos podem induzir DHFRN ligeira a grave, sendo que o anti-Fy^a está associado a uma doença mais grave comparativamente ao anti-Fy^b, que tende a ser mais leve e rara(9,13,25).

Os antigénios do sistema Kidd (principalmente, Jk^a e Jk^b) são bastantes imunogénicos, no entanto, o título dos anticorpos correspondentes geralmente diminui para níveis indetetáveis no plasma, sendo necessário especial atenção para estes doentes, principalmente se forem transferidos para outro hospital sem a história clínica relevante. Apesar do potencial hemolítico destes anticorpos, raramente causam DHFRN grave(13,23,25).

Também é possível ocorrer a presença de múltiplos anticorpos no plasma materno. Isto representa um risco aumentado de desenvolver DHFRN(23,34). Um estudo em Israel mostrou que 15% das grávidas aloimunizadas tinham múltiplos anticorpos e que 6,8% destas desenvolveram doença grave, o que pode indicar que a presença de múltiplos aloanticorpos maternos pode aumentar a gravidade da DHFRN(34). Alguns anticorpos podem também aparecer em combinação regular, por exemplo, anti-c pode aparecer muitas vezes associado ao anti-E, e o anti-K ao anti-E(25).

Existem ainda vários anticorpos que são prevalentes nas grávidas, mas que não são clinicamente relevantes. Ou porque não atravessam a placenta (anticorpos do sistema Lewis ou P1Pk que são maioritariamente da classe IgM) ou porque os antigénios correspondentes ainda não se encontram desenvolvidos nos eritrócitos do RN, pelo que não conseguem provocar DHFRN mesmo que sejam da classe IgG e com títulos elevados (por exemplo, sistema Lutherano)(9,13,25).



1.2. Diagnóstico

1.2.1. Diagnóstico Pré-natal

Como parte da rotina pré-natal e de acordo com as *guidelines* em vigor da Direção Geral de Saúde (DGS)(1) (Anexo I), deve fazer-se a determinação do grupo sanguíneo ABO e RhD em todas as grávidas na primeira visita pré-natal, bem como o teste de *Coombs* indireto ou pesquisa de anticorpos/aglutininas irregulares (PAI). Estes exames laboratoriais assumem um papel importante na grávida, nomeadamente para as mulheres RhD negativo, que devem realizar a profilaxia anti-RhD, e aquando da presença de anticorpos anti-eritrocitários, devem ser tomadas medidas de intervenção fetal se necessário(1,20,35). Também é bastante importante estabelecer a história clínica da grávida, uma vez que pode ajudar no rastreio de fatores de risco que predisponham à sensibilização das grávidas, tal como gravidezes prévias, abortos, transfusões sanguíneas, história prévia de um neonato com DHFRN, e eventos que possam provocar HFM, tal como amniocentese ou trauma(25,36).

A determinação do grupo sanguíneo ABO é essencial, especialmente se a mãe for do grupo O. Para a determinação RhD, é necessário ter atenção às variantes D, uma vez que podem causar discrepâncias na prova sérica. É relevante fazer a genotipagem destas grávidas para que sejam tomadas decisões informadas e diminuir a necessidade de administração de Ig anti-D(13,35,36).

O teste de *Coombs* indireto permite aferir a existência de aloimunização, e, em Portugal, é recomendada a sua realização por volta das 12 semanas de gestação e, posteriormente, entre a 24–28ª semana de gestação, inclusive nas grávidas RhD positivo, uma vez que estas têm a mesma probabilidade que as mulheres RhD negativo de formar anticorpos, para além do anti-D(1,20,35). Após as 28 semanas, não é necessário fazer a PAI pois os anticorpos detetados apenas no terceiro trimestre não causam DHFRN, uma vez que provavelmente foi uma sensibilização recente, e portanto, encontram-se na fase inicial de uma resposta imune primária com secreção de anticorpos IgM(4,5,14,35). Caso a PAI seja negativa nestes dois momentos de avaliação, não é necessário fazer mais nenhum exame laboratorial. Para as grávidas RhD negativo, é necessário garantir que a PAI seja efetuada por volta das 28 semanas e antes da administração da Ig anti-D, pois esta administração vai dar origem a uma PAI positiva, e como não é possível distinguir um anti-D profilático de um anti-D imune, existirá sempre dúvidas neste aspeto. Caso ocorra algum evento de potencial sensibilização, como trauma abdominal ou descolamento da placenta, a PAI deve ser repetida, mesmo em grávidas RhD positivo(19,20,35).

Caso a PAI seja positiva, é necessário realizar testes adicionais – identificação de anticorpos irregulares (IAI) – para identificar o anticorpo, determinar a sua especificidade (se é clinicamente



significativo) e concentração e a probabilidade de causar DHFRN(8,20,35). Caso este não seja identificado, as amostras da grávida podem ser enviadas para um centro de referência para concluir esta investigação. Quando um anticorpo é detetado, é necessário quantificá-lo através do teste de titulação de anticorpos e esta monitorização é realizada uma vez por trimestre se o título for inferior a 16 e a cada quatro semanas se o título for superior a 16(2,8,20).

O título do anticorpo ajuda na estratificação adicional do risco, embora seja importante ter em conta a natureza relativamente subjetiva destes ensaios. O nível do título não corresponde nem prevê o desfecho clínico do feto ou do RN; funciona, sobretudo, como um teste de rastreio que indica se existe risco de DHFRN(8,20). Assim, os laboratórios estabelecem títulos críticos de anticorpos a partir dos quais se considera que a sua força pode causar anemia fetal significativa (valores de 16 a 64 são habitualmente usados) ou se aumentar rapidamente entre medições, devendo a grávida ser referenciada para uma equipa de obstetrícia de alto risco, para monitorização contínua. Contudo, um anti-K materno com título relativamente baixo (por exemplo, 4) pode causar anemia hipoproliferativa grave. Técnicas alternativas de determinação da força dos anticorpos, como a citometria de fluxo, podem ser mais precisas do que a titulação convencional(8,20).

Certos anticorpos, como anti-D, -c e -K, estão implícitos na DHFRN e a mãe requer intervenção pré-natal com monitorização mais intensiva. O anti-K requer atenção especial uma vez que provoca supressão da eritropoiese no feto, necessitando assim que a mãe seja seguida por uma equipa especializada e monitorização mais apertada, com ecografia Doppler, por exemplo. Outros anticorpos, como anti-I, -P1, -Le^a e -Le^b, não são da classe IgG ou os antigénios correspondentes não estão completamente desenvolvidos à nascença, podendo assim ser ignorados uma vez que muito raramente provocam DHFRN(8,20,35) (Quadro 2).

É benéfico conhecer o fenótipo dos antigénios fetais das grávidas aloimunizadas, particularmente se for com anti-D. Se o feto for RhD negativo, não corre risco de desenvolver DHFRN e não são necessários outros procedimentos; se for RhD positivo, pode ser providenciada a gestão adequada de uma gravidez de risco(37). Para evitar alguns destes transtornos para a grávida e para o feto, pode-se determinar o grupo sanguíneo paterno de modo a prever o risco de o feto herdar o antigénio correspondente ao anticorpo presente na mãe (Quadro 3). Caso o pai seja positivo para o RhD, o teste serológico paterno por si só não consegue prever o número de genes RhD que o progenitor vai transmitir à descendência devido à sua complexidade genética, sendo assim necessário realizar genotipagem paterna no caso da sensibilização materna anti-D. No entanto, é necessário reconhecer que existe um potencial para identificação errada do pai e dos riscos que isso acarreta para o feto(8,20,35).



Quadro 3 – Testes de paternidade para tipagem sanguínea (Adaptado de Minuk 2020 e Fasano 2016) (20,38)

Testes de paternidade para determinação sanguínea	
Não há expressão paterna do antígeno	O feto não está em risco de DHFRN
Expressão homozigótica paterna do antígeno	O feto tem 100% de risco de DHFRN
Expressão heterozigótica paterna do antígeno	O feto tem 50% de hipóteses de estar em risco de DHFRN

Também é possível determinar o genótipo do feto através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR – *Polymerase Chain Reaction*) quando for clinicamente relevante, por exemplo, quando a mãe possui um alto título do anticorpo, o pai é heterozigótico para o antígeno em questão ou a mãe possui uma história anterior de DHFRN(8,20,35). Material genético para a realização da genotipagem fetal pode ser obtido através de amniocentese, de uma biópsia das vilosidades coriônicas (Anexo II) ou de colheita de sangue do cordão umbilical. No entanto, estas são técnicas invasivas, que acarretam um pequeno risco de aborto espontâneo (0,5% a 1%) e de provocar HFM (17% na amniocentese), podendo agravar o título do anticorpo(8,20,35). Só se utilizam estas técnicas para obtenção de ácido desoxirribonucleico (ADN) fetal quando existe uma outra indicação para a sua aplicação; assim, estas técnicas são realizadas para determinar o grau de anemia fetal quando a grávida atingiu um título de anticorpos crítico, sabendo-se que o feto é positivo para o antígeno e tem como objetivo estabelecer uma terapêutica adequada(17).

No final da década de 90, foi desenvolvido um procedimento não invasivo em que se obtém ADN fetal a partir de amostras de sangue materno através de uma venopunção. Este procedimento baseia-se na presença de ADN fetal livre de células (cff DNA – *cell-free fetal DNA*) na circulação materna, libertado pela apoptose dos trofoblastos vilosos da placenta, a partir do primeiro trimestre(8,20,35,37,38). Por volta das 20 semanas de gestação, este cff DNA está presente em quantidade suficiente no plasma materno para fazer a determinação do genótipo fetal através de PCR em tempo real com *primers* específicos para os antígenos de interesse. Este ADN tem uma meia-vida de 30 minutos, o que significa que ADN de fetos em gravidezes prévias não afetarão os resultados(2,37,38).

Atualmente, este procedimento possibilita a genotipagem dos antígenos fetais D, C, c, E, Kell e de outros antígenos *minor* em mães aloimunizadas, tendo-se tornado o padrão em vários países pela sua facilidade de obtenção e elevada sensibilidade, com reduzida taxa de falsos negativos. Tal deve-se ao aperfeiçoamento das técnicas automatizadas de extração de ADN e a um conhecimento mais aprofundado da constituição genética dos antígenos, em particular do RhD(2,8,20,35,37,38).

Quando se consegue confirmar a presença do antígeno em questão, é necessário fazer a monitorização dos fetos com risco de doença hemolítica grave. Atualmente, esta monitorização é sustentada por métodos não invasivos, nomeadamente, a medição seriada do pico de velocidade



sistólica na artéria cerebral média (MPS-ACM) com doppler, que permite avaliar o grau de anemia fetal (Anexo III)(2,39). Está demonstrado que a MPS-ACM reduz a necessidade de procedimentos invasivos, como a amniocentese e a cordocentese, em mais de 70% e, de facto, substitui-os, porque não existem praticamente riscos para o feto ou para a mãe com este método e porque as medições da velocidade sistólica máxima da ACM demonstraram ter uma avaliação mais precisa da anemia fetal do que as medições indiretas da bilirrubina do líquido amniótico obtidas da amniocentese(38-40). A cordocentese para determinar a hematócrito só está indicada nos casos de ascite ou quando a velocidade sistólica se encontra acima do normal(8,40). Os estudos da MPS-ACM podem ser efetuados a partir da 18ª semana de gestação, mas não são fiáveis após a 35ª semana de gestação e devem ser efetuados a cada 1 a 2 semanas para estratificar o risco(8,13,39).

1.2.2. Diagnóstico Pós-Natal

O diagnóstico pós-natal da DHFRN assenta-se nos seguintes exames laboratoriais: determinação sanguínea ABO e RhD e TAD no sangue do cordão umbilical ou sangue venoso do RN; hemograma com reticulócitos e esfregaço de sangue periférico; e análise bioquímica do sangue do cordão umbilical ou sangue venoso com doseamento da bilirrubina total e direta(2).

Normalmente, quando a mãe é RhD negativo ou tem PAI positiva, faz-se a colheita de sangue do cordão umbilical do RN durante o parto para a determinação do grupo sanguíneo e TAD. Caso contrário e o RN seja saudável e sem icterícia, limita-se as colheitas sanguíneas ao estritamente necessário. Neste caso, quando surge alguma suspeita clínica depois do parto, como o aparecimento de icterícia, faz-se a colheita de sangue ao RN, que deve incluir hemograma, bilirrubina total e direta, grupo sanguíneo e TAD para despiste de patologias(19,36,41).

A determinação ABO e RhD é importante para os casos de incompatibilidade ABO e Rh, especialmente se a mãe for do grupo O e/ou RhD negativa, para tomada de decisão para o tratamento e profilaxia. Caso a mãe possua um anticorpo que não anti-D, é necessário realizar a fenotipagem do antígeno ao RN correspondente ao anticorpo que está associado a doença(2,25).

Se a TAD é positiva, confirma-se a presença de anticorpos nos eritrócitos do RN. No entanto, na aloimunização ABO, o teste é fracamente positivo ou mesmo negativo; apenas 20-40% dos RN apresenta TAD positiva aquando da incompatibilidade ABO. A TAD também pode ser negativa quando a DHFRN é provocada por anti-c ou anti-C(2,12,39). Caso o grupo sanguíneo e PAI da mãe não sejam conhecidos, é necessário fazer esta determinação pós-parto, de modo a correlacionar com os resultados(36). Ainda, a seguir a uma TAD positiva, faz-se o estudo monoespecífico, que consiste em



reconhecer a presença de IgG, IgA, IgM e proteínas do complemento: C3, C3c e C3d, que estejam a sensibilizar os eritrócitos(42). O próximo passo é a realização de uma eluição ou eluado em que o objetivo é recuperar o anticorpo ligado aos eritrócitos numa forma utilizável, ou seja, intacto. O eluado vai alterar a termodinâmica das reações antigénio-anticorpo, libertando assim o anticorpo para permitir a sua identificação com uma PAI e, caso seja reativo, uma IAI(13).

É normal que a hemoglobina de um RN diminua durante os primeiros meses de vida, possivelmente causada por uma diminuição da eritropoiese, como resultado do aumento da saturação de oxigénio no sangue após o início da respiração pós-parto. A diminuição da hemoglobina é ainda mais acelerada na DHFRN, em parte devido ao aumento da destruição dos eritrócitos, mas também porque a eritropoiese é suprimida enquanto a hemoglobina estiver acima de 10 g/dL(12). O hemograma é então essencial para reconhecer a presença de anemia e o esfregaço de sangue periférico (ESP) pode confirmar a presença de hemólise aloimune. Alguns anticorpos suprimem a eritropoiese, por isso também é importante fazer a contagem de reticulócitos, que estarão diminuídos nesta situação; normalmente, os reticulócitos estão aumentados, refletindo o estado da eritropoiese. A presença de esferócitos também pode ser observada na DHFRN por incompatibilidade ABO(3,12,18,43).

Outra consequência decorrente da hemólise é o aumento da bilirrubina total sérica (BT), denominado hiperbilirrubinémia, e da bilirrubina direta (BD). No entanto, na maioria das vezes, a hiperbilirrubinémia não está associada a uma patologia subjacente, mas sim é considerada uma manifestação de icterícia fisiológica, causada pelas seguintes situações:

- Aumento da produção de bilirrubina, uma vez que os RN produzem 2 a 3 vezes mais bilirrubina do que os adultos, devido à maior concentração de eritrócitos e à menor vida média destes(11);
- Redução da depuração da bilirrubina, que resulta da imaturidade das enzimas hepáticas; a atividade da enzima uridina difosfato-glucuroniltransferase (UGT) só começa a funcionar a partir do 3º dia de vida do RN e ao 7º dia, corresponde a apenas 1% da encontrada em adultos(11,12);
- Aumento da circulação entero-hepática, onde existe reabsorção da bilirrubina no intestino, contribuindo para a sua elevação no organismo(11).

Um aumento da BT sérica superior a 5 mg/dL em 24 horas num RN de termo é um indicador de um processo hemolítico, bem como o aparecimento de icterícia nas primeiras 24 horas de vida. A hemólise nem sempre resulta de DHFRN, podendo ser causada por várias outras condições. Independentemente da sua causa, a hemólise leva inevitavelmente a um aumento dos níveis de BT. Contudo, a capacidade de excreção da bilirrubina é independente do processo hemolítico(11,12). Daí ser necessário também o doseamento da BD, para excluir outras patologias, como atresia biliar ou colestase patológica(44).



A BT pode ainda ser estimada através da medição da bilirrubina transcutânea (BTc). Esta é usada como método de rastreio, porque é um método válido e fiável para identificar RN que necessitam de uma medição de BT sérica. Os dispositivos que avaliam a BTc medem a tonalidade da luz refletida transmitida pela pele e utilizam um algoritmo para prever o nível de BT sérica. Desta forma, há uma diminuição dos pedidos de BT ao laboratório e da necessidade de flebotomias (em até 50%)(11,12,44,45). As determinações da BTc ou da BT devem ser realizadas entre as 24 e as 48 horas após o nascimento do RN ou antes da alta(11,44,45). Uma taxa de aumento rápida da BTc ou BT (>0,3 mg/dL por hora nas primeiras 24 horas ou >0,2 mg/dL por hora posteriormente) pode indicar risco de desenvolver hiperbilirrubinémia e sugere hemólise(44,46).

Existem outras patologias que podem provocar hiperbilirrubinémia e anemia no RN, por isso é importante realizar o diagnóstico diferencial da DHFRN. Normalmente, o diagnóstico definitivo da DHFRN é feito por uma TAD ou PAI positivas; no entanto, podem haver resultados falsos-negativos (principalmente na incompatibilidade ABO) que levam à necessidade de um diagnóstico diferencial. É também importante compreender que um RN pode apresentar múltiplas doenças, e que a icterícia ou anemia podem ter mais de uma causa, podendo o quadro clínico ser mais grave devido à presença simultânea de várias etiologias(25,27).

1.3. Estratégias de Prevenção

As estratégias de prevenção da aloimunização materna podem ser divididas em prevenção primária e secundária(13,47).

A prevenção primária visa evitar a exposição de mulheres em idade fértil a antigénios eritrocitários estranhos, recorrendo preferencialmente a transfusões com eritrócitos e plaquetas RhD negativo caso a mulher seja RhD negativa. Outra estratégia é o uso de eritrócitos negativos para o antigénio K e, potencialmente, a compatibilização para antigénios adicionais como o C, e, c e E. Estudos mostram que a aloimunização está associada tanto a gravidezes prévias como a transfusões, e que a compatibilização fenotípica de antigénios Rh e K em mulheres em idade fértil poderia prevenir até 40% dos casos de DHFRN. Assim, em muitos países europeus, é *standard* fazer a determinação do fenótipo Rh e K das mulheres em idade fértil e fornecer transfusões isogrupais para evitar estas situações(13,47).

A prevenção secundária baseia-se, essencialmente, na profilaxia com Ig anti-D. Sem profilaxia, mesmo em gravidezes sem intercorrências, cerca de 2% das mulheres RhD negativo desenvolvem sensibilização ainda antes do parto, e aproximadamente 16% sensibilizam-se durante o parto. Com a profilaxia durante a gravidez e após o parto, há uma redução da aloimunização RhD para 0,1%(19,47). A



relação custo-benefício é favorável se se considerar as mortes fetais e neonatais evitadas, as morbidades prevenidas, o tratamento fetal e neonatal necessários, e também os custos indiretos associados às consequências emocionais e familiares decorrentes desta doença(19).

O mecanismo exato de atuação da Ig anti-D ainda não está bem esclarecido, mas acredita-se que tem um efeito imunomodulador que suprime a resposta imunitária de uma mãe RhD negativa exposta a eritrócitos fetais RhD positivo, e induzindo uma eliminação rápida destes(14,19,22,47).

Inicialmente administrada a todas as mulheres RhD negativo, atualmente a Ig anti-D pós-parto é apenas indicada para aquelas que têm fetos RhD positivo. A introdução da genotipagem do gene *RHD* permitiu clarificar as recomendações para a administração da Ig anti-D, mostrando que mulheres com variantes D fraco tipo 1, 2 ou 3 devem ser consideradas RhD positivo e não necessitam de Ig anti-D(13,47).

Atualmente, põe-se em causa a administração de Ig anti-D durante a gravidez a mulheres RhD negativo cujos fetos também são RhD negativo (cerca de 38%)(48). Contudo, ainda não existe uma metodologia suficientemente segura, fiável e rápida para a genotipagem fetal de rotina do gene *RHD*(37,48). Com o advento da genotipagem fetal usando cff DNA, pode-se considerar usar este método como rastreio fetal de gene *RHD* para todas as grávidas RhD negativo não sensibilizadas. Isto permitiria uma melhor relação custo-efetividade, com uma melhor gestão da utilização de Ig anti-D que, ao ser usada em situações que não seriam necessárias, levanta questões éticas (produto obtido a partir de sensibilização de voluntários) e submete a grávida a um risco por ser um produto derivado do sangue(23,37). Assim, o rastreio fetal do gene *RHD* constitui uma forma de reduzir significativamente a quantidade de produtos sanguíneos administrados a mulheres grávidas, mas ainda não se encontra em vigor(37).

A Direção-Geral da Saúde estabelece que a Ig anti-D deve ser disponibilizada às 28 semanas de gestação, a todas as grávidas Rh não sensibilizadas, sendo obrigatório o registo desta administração no Boletim de Saúde da Grávida (BSG). Após esta administração, o teste de *Coombs* indireto será sempre positivo, pelo que não é necessário realizá-lo. A Ig anti-D deve ser administrada caso ocorra alguma situação do Quadro 4 dentro de 72 horas, e deve ser repetida 12 semanas após a primeira administração. No entanto, não é necessário fazê-lo antes das 28 semanas de gestação. Após o parto, deve ser testada uma amostra do cordão umbilical para determinar o grupo ABO e RhD do RN. Se a gravidez não for viável e não se conseguir obter qualquer amostra do RN ou se o grupo RhD for inconclusivo, deve ser administrado anti-D profilático à puerpera(19,49).



Quadro 4 – Indicações estabelecidas para a administração de imunoglobulina anti-D em mulheres RhD negativo, incluindo em situações propensas a hemorragia feto-materna(19,22)

Situação	Indicação específica
Pós-parto	Recém-nascido RhD positivo, antes das 72 horas
Abortos	Interrupção médica da gravidez (cirúrgica ou médica) Aborto espontâneo (após as 6 semanas de gestação) Gravidez ectópica ou gravidez molar Ameaça de aborto com metrorragia (após as 12 semanas)
Hemorragia da 2.ª metade da gravidez	Descolamento da placenta; Placenta prévia
Técnicas invasivas de diagnóstico/terapêutica fetal	Amniocentese; Cordocentese Biópsia das vilosidades coriônicas; Redução embrionária
Cirurgia/trauma abdominal	Inclui a versão externa
Morte fetal	–

Mesmo quando se combina profilaxia pré e pós-natal, entre 0,1% e 0,3% das mulheres em risco acabam por desenvolver anticorpos anti-D, daí ser importante a combinação da prevenção primária com a secundária, para minimizar ainda mais o risco de aloimunização(13,22,47).

O BSG é fornecido à grávida na primeira consulta e contém a história familiar, antecedentes pessoais e obstétricos, avaliação do risco da gestação atual, exames laboratoriais, incluindo o grupo sanguíneo, registos de dados clínicos e analíticos, como exames ecográficos, descrição do parto e consulta de puerpério(50).

1.4. Tratamento

Após a avaliação da anemia fetal através da MPS-ACM, bem como outras características de anemia, como cardiomegalia, aumento do diâmetro da veia umbilical, aumento do baço ou aumento da opacidade no intestino, o obstetra deve definir a abordagem terapêutica mais adequada a cada caso. A transfusão intrauterina (TIU) está indicada quando se diagnostica anemia fetal grave, sendo habitualmente realizada entre as 18 e as 35 semanas de gestação. Depois deste período, o risco associado ao procedimento é superior ao de um parto pré-termo, o qual pode ser considerado, desde que esteja confirmada a maturidade pulmonar(17,43).

A TIU pode-se dividir em transfusão intraperitoneal e em transfusão intravascular e ambas têm o objetivo de manter os níveis de hemoglobina fetal, de forma a corrigir a anemia fetal grave, prevenindo a morte do feto(16,17,51). Por mais bem-sucedida que esta terapia seja, podem acontecer complicações em 3% dos casos, tal como rutura prematura de membranas, hemorragia transplacentária, infeção, parto prematuro, doença do enxerto contra o hospedeiro e morte fetal(17,18,43). Outra desvantagem é a



formação de aloanticorpos adicionais maternos, com estudos a reportarem taxas de até 22 a 26% das gravidezes afetadas por esta ocorrência(52,53). Deste modo, recomenda-se a utilização de sangue com fenótipo alargado, assegurando, sempre que possível, a compatibilidade com os antigénios maternos Rh, K, Fy, Jk e Ss, de forma a reduzir o risco de formação adicional de anticorpos(43,52,53).

Os RN submetidos a TIU repetidas apresentam um curso clínico distinto, sendo que a primeira TIU tem efeito transitório devido à presença de eritrócitos sensibilizados, mas as transfusões subsequentes suprimem a hematopoiese fetal. Assim, a icterícia neonatal tende a ser ligeira, raramente requer fototerapia e não há anemia neonatal. Contudo, a anemia tardia é frequente, podendo persistir durante várias semanas após o parto. O tratamento é sobretudo expectante, com suporte nutricional, suplementação de ferro e ácido fólico, e monitorização laboratorial regular. As transfusões pós-natal apenas se justificam em casos de anemia sintomática, sendo que a maioria dos RN recupera espontaneamente mesmo com níveis de hemoglobina baixos(3).

Existem ainda outras medidas que podem adiar a necessidade de TIU, mas não a eliminam, tal como plasmaférese terapêutica, imunoglobulina intravenosa e imunossuppressores (Anexo IV)(43).

O tratamento neonatal do RN assenta no tratamento da hiperbilirrubinémia e da anemia(44). No período neonatal, os sinais de anemia podem incluir taquicardia e/ou taquipneia, aumento na frequência de episódios de bradicardia e/ou apneia, aumento ponderal insuficiente apesar de alimentação adequada, maior necessidade de suporte de oxigénio e elevação dos níveis de lactato no sangue. Devido à baixa especificidade desses sinais e sintomas, a prevenção da anemia representa uma das principais indicações para a realização de uma transfusão simples. No entanto, não há consenso internacional relativamente ao limiar ideal de hemoglobina para transfusão de concentrado de eritrócitos (CE) no RN. O estado clínico do RN tem vindo a ganhar uma importância crescente no contexto da estratégia transfusional, mas a presença de hemoglobina inferior a 13 g/dL nas primeiras 24 horas de vida justifica a consideração de transfusão de CE(Anexo V)(13,36,54,55).

É importante identificar fatores de risco, apresentados no Quadro 5, para hiperbilirrubinémia, uma vez que estes RN requerem uma monitorização mais cuidada(44). A fototerapia é o tratamento de primeira linha da hiperbilirrubinémia. É um método seguro e eficaz e o principal objetivo é reduzir a concentração de BT e/ou diminuir a probabilidade de novos aumentos da concentração de BT, reduzindo a necessidade de terapias invasivas, como a exsanguinotransfusão. Pode ser administrada de forma contínua, inclusive através de dispositivos portáteis (*"biliblankets"* de fibra ótica), que permitem manter o contacto entre pais e RN e possibilitam fototerapia dupla em associação com aparelhos fixos. O seu



mecanismo baseia-se numa variedade de reações fotoquímicas que permitem que a bilirrubina seja excretada mais facilmente na bÍlis e na urina(3,44,56).

Quadro 5 – Fatores de risco para o desenvolvimento de hiperbilirrubinémia significativa e para o desenvolvimento de neurotoxicidade por hiperbilirrubinémia (Adaptado)(44)

Fatores de risco para o desenvolvimento de hiperbilirrubinémia
Idade gestacional baixa.
Icterícia nas primeiras 24 horas após o nascimento.
Valores de BTc ou BT antes da alta próximos do limiar de fototerapia.
Hemólise ou aumento rápido da BT ou BTc.
Necessidade de fototerapia antes da alta.
Parente ou irmão que necessitou de fototerapia ou de exsanguinotransfusão.
História familiar ou genética sugestiva de doenças hereditárias dos eritrócitos, incluindo défice de DG6P.
Aleitamento materno exclusivo com ingestão insuficiente.
Hematoma do couro cabeludo ou equimoses significativas.
Síndrome de Down.
Recém-nascido macross�mico, filho de mãe diabética.
Fatores de Risco de Neurotoxicidade por Hiperbilirrubinémia
Idade gestacional < 38 semanas (o risco aumenta com o grau de prematuridade).
Albumina <3 g/dL.
Doença hemolítica aloimune (isto é, TAD positivo), deficiência de DG6P ou outras condições hemolíticas.
Sépsis.
Instabilidade clínica significativa nas últimas 24 horas.

Legenda: DG6P – Desidrogenase glicose-6-fosfato

Os limiares recomendados para a fototerapia são definidos abaixo dos níveis em que ocorre neurotoxicidade aguda por hiperbilirrubinémia. A sua utilização não deve visar apenas a prevenção de alterações neurológicas, pois a evidência   contraditória e não demonstra benefícios claros, havendo até dados que sugerem um pequeno aumento do risco de epilepsia infantil. Ainda assim, considera-se que o benefício da fototerapia supera esse risco quando a BT atinge ou ultrapassa o limiar recomendado. Estes limiares variam consoante a idade gestacional e a presença de fatores de risco de neurotoxicidade (Quadro 5 e Anexo VI)(44). A Figura 3 fornece os limiares sugeridos para a fototerapia caso não existam fatores de risco de neurotoxicidade por hiperbilirrubinémia, para além da idade gestacional(44).

A administração de imunoglobulina intravenosa (IVIG)   o único tratamento farmacológico utilizado na prática clínica em RN com hiperbilirrubinémia secundária   aloimunização por Rh ou ABO e pode ser administrada a RN com uma TAD positiva, cuja BT atinja ou ultrapasse o limiar de escalada de cuidados. Embora a IVIG reduza a necessidade de exsanguinotransfusão, a duração da fototerapia e a

duração do tempo de hospitalização, é principalmente utilizada para ganhar tempo antes de iniciar a exsanguinotransusão em casos graves de hiperbilirrubinemia. Contudo, a sua utilização em regime de profilaxia continua a ser controversa, pois vários estudos demonstraram que a IVIG não apresenta superioridade em relação à exsanguinotransusão, apesar desta ser um procedimento mais invasivo e, em alguns casos, a IVIG falha no tratamento de hiperbilirrubinemia por aloimunização ABO, para além de ser um produto derivado de sangue de múltiplos doadores, existindo um risco potencial de transmissão de infeções sanguíneas(3,44,56). A IVIG é constituída por anticorpos (principalmente IgG, IgM, IgA e IgE), bem como eletrólitos, açúcares, citocinas, albumina e solventes. O mecanismo proposto é a inibição da neutralização de anticorpos nos RN com DHFRN por aloimunização, reduzindo assim o risco(36).

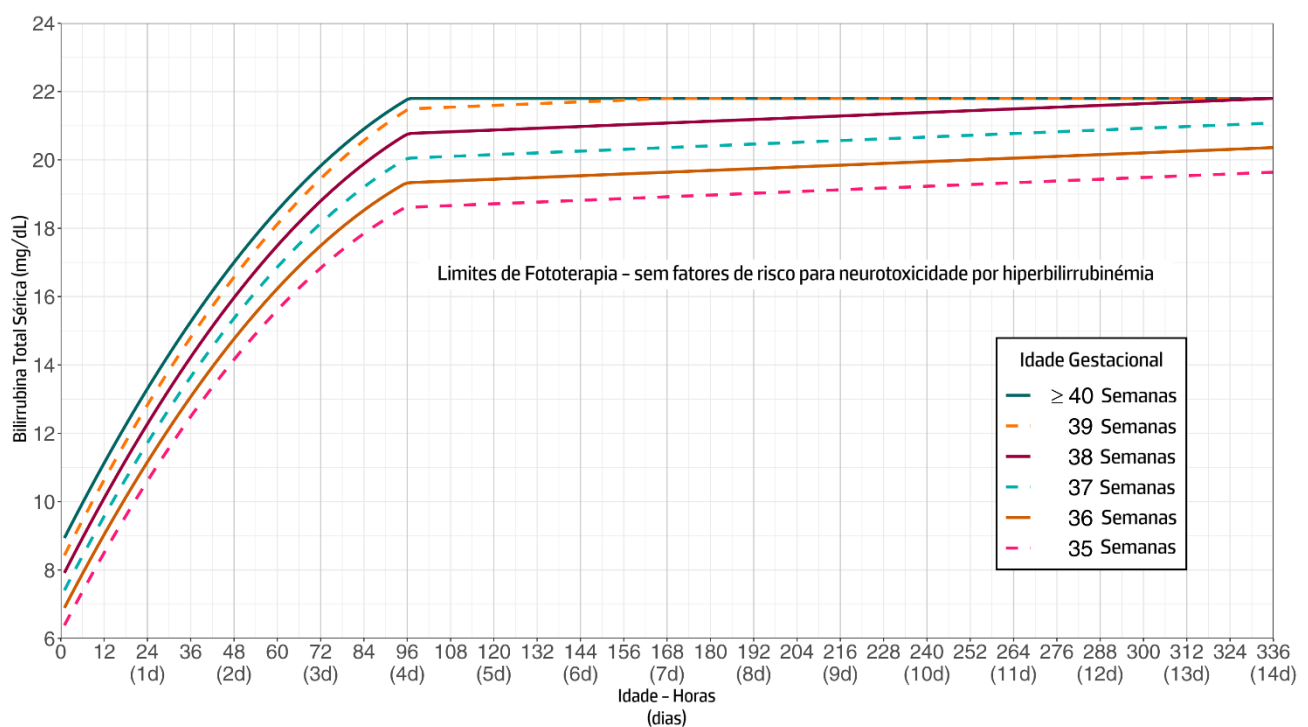


Figura 3 - Limiar da fototerapia por idade gestacional e idade em horas de vida para recém-nascidos sem fatores de risco de neurotoxicidade por hiperbilirrubinemia (Adaptado de Kemper AR, et al. (44)).

A exsanguinotransusão é então reservada para RN que não respondem à fototerapia e hidratação, e deve ser realizada quando a BT estiver no ou acima do limiar de exsanguinotransusão e antes do desenvolvimento de *kernicterus*, e em RN com sinais de encefalopatia aguda por hiperbilirrubinemia, tais como hipertonia, postura em arco, choro agudo e apneia recorrente(13,44,56).

A exsanguinotransusão consiste em alternar a administração do produto compatibilizado e a retirada de sangue do RN em pequenas quantidades através de uma veia ou artéria. Os principais objetivos da exsanguinotransusão são a remoção da BT e a maximização da ligação da bilirrubina residual à albumina. Adicionalmente, em processos hemolíticos mediados por anticorpos, a



exsanguinotransfusão permite a remoção dos anticorpos em circulação e dos eritrócitos recobertos por anticorpos, e substituí-los por eritrócitos isentos do antígeno em causa(12,13,36,45).

O sangue destinado a exsanguinotransfusão deve obedecer a requisitos específicos: ter menos de 7 dias de colheita, ser desleucocitado e irradiado, estar livre de anticorpos hemolíticos anti-A, anti-B e anti-AB, bem como de quaisquer anticorpos inesperados ativos a 37 °C. Por este motivo, utilizam-se frequentemente CE. Se for necessário utilizar sangue total, a melhor opção é combinar CE com plasma fresco congelado compatível ou plasma fresco rico em plaquetas. O plasma do grupo AB é o preferido, já que não contém anticorpos contra os antígenos do sistema ABO. No entanto, também pode ser utilizado plasma de outro grupo, desde que seja compatível com o RN, a mãe e os eritrócitos a transfundir(12,55). O recomendado para a exsanguinotransfusão é então a mistura dum CE lavado e compatível com plasma fresco congelado adulto descongelado, ajustado para um hematócrito aproximado de 40%(12,44).

A seleção do sangue para transfusões em RN, quer seja transfusão simples ou exsanguinotransfusão, deve ser feita com muito rigor. Inicialmente, os testes laboratoriais devem incluir a determinação do grupo sanguíneo ABO e RhD e TAD numa amostra do RN, bem como a determinação do grupo ABO e Rh e PAI na mãe. Nos casos de DHFRN por incompatibilidade ABO, o grupo O é geralmente o grupo de eleição, uma vez que não possui antígenos ABO. O dador pode ter o mesmo grupo Rh do RN, desde que não haja envolvimento do sistema Rh. Já nos casos de DHFRN por incompatibilidade Rh, o RN pode ser transfundido com o seu próprio grupo ABO, desde que este seja compatível com o grupo sanguíneo da mãe. Quando essa compatibilidade não existe, deve recorrer-se ao grupo O. Em qualquer destas situações, o sangue a transfundir deve ser obrigatoriamente RhD negativo. Se for identificado um aloanticorpo não-ABO no RN ou na mãe, o sangue selecionado deve ser isento do antígeno correspondente e compatível numa prova de compatibilidade (12,13).

É fundamental realizar uma monitorização rigorosa do RN durante todo o procedimento, avaliando os parâmetros hematológicos e bioquímicos antes, durante e após, uma vez que pode haver reequilíbrio da bilirrubina entre os tecidos extravasculares e o plasma, o que pode tornar necessária uma nova exsanguinotransfusão(13,56).

Nos últimos anos, a necessidade de exsanguinotransfusão reduziu de forma significativa, graças ao melhor controlo pré-natal e à disponibilidade de sistemas de fototerapia mais modernos e eficazes(36). Os estudos demonstram que a exsanguinotransfusão é segura, com taxas de mortalidade a variar entre 0,53% e 4,7% por criança(57,58). Contudo, podem ocorrer efeitos adversos significativos, incluindo: complicações cardiorrespiratórias, lesões vasculares, problemas relacionados com o cateter e os produtos sanguíneos, como infeções ou sépsis, hipotermia, alterações metabólicas e hematológicas,



enterocolite necrosante, perfuração intestinal, entre outras(36). Nas últimas duas décadas, os riscos associados à exsanguinotransusão foram reportados em até 74% dos casos, sendo que os efeitos negativos rondam 31%. Segundo Steiner *et al*(59), não se registou aumento da morbidade ou mortalidade nos últimos 21 anos, devido também a uma diminuição da DHFRN grave por anti-D.

Como tratamento, existem ainda as metaloporfirinas, que são análogos da heme (componente da hemoglobina), e inibem competitivamente a atividade da heme-oxigenase, a enzima limitante na via do catabolismo da heme. Esta ação reduz a formação de bilirrubina, o que as torna potenciais agentes tanto na profilaxia como no tratamento da hiperbilirrubinémia neonatal. As mesoporfirinas de estanho (SnMP) são os compostos mais estudados neste contexto(3). Num estudo de Martinez *et al*(60), existe evidência de que uma única dose de SnMP em RN sem fatores de risco reduz o pico de bilirrubina plasmática e a necessidade de fototerapia. Apesar destes resultados positivos, os riscos a longo prazo permanecem desconhecidos(3,60). Importa salientar que, mesmo em RN saudáveis, a fototerapia origina frequentemente preocupação materna e prolonga o tempo de hospitalização. Assim, embora sejam necessários mais estudos para confirmar a eficácia e a segurança do SnMP, o uso de metaloporfirinas poderá, no futuro, assumir um papel relevante no tratamento da hiperbilirrubinémia neonatal(3,60).

2. Objetivo do Estudo

Apesar da profilaxia anti-D ter reduzido drasticamente a incidência da doença hemolítica por incompatibilidade RhD, continuam a ocorrer casos. Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo caracterizar a prevalência e as características laboratoriais e clínicas da doença hemolítica do feto e do recém-nascido (DHFRN) numa coorte de neonatos da Unidade Local de Saúde do Tâmega e Sousa (ULSTS) em 2024. Pretende-se assim: 1) determinar a frequência de anticorpos irregulares maternos detetados durante a gravidez e estudar a sua associação com a ocorrência de DHFRN (incluindo resultados do teste de antiglobulina direta e fototerapia); 2) avaliar a cobertura e a eficácia da profilaxia com imunoglobulina anti-D nas grávidas RhD negativo; 3) descrever a utilização de intervenções terapêuticas nos RN com DHFRN, nomeadamente fototerapia e exsanguinotransusão.

3. Métodos

3.1. Tipo de Estudo

O estudo é observacional, descritivo e transversal.

3.2. População e Amostra



Neste estudo, a população é constituída pelos registos analíticos e clínicos de neonatos nascidos na ULSTS e das respetivas mães. A nossa amostra será constituída por todos os registos de neonatos analíticos e clínicos nascidos na ULSTS e das respetivas mães, durante o ano 2024. Serão excluídas as gravidezes gemelares, com tempo de gestação inferior a 35 semanas e aquelas cujos registos não estejam completos ou sejam contraditórios.

3.3. Instrumentos

Na recolha de dados, foram utilizados: a) o *software Clinidata XXI* versão 5.3.25, implementado na ULSTS, que contém os dados referentes aos parâmetros analíticos do laboratório de Imunohemoterapia e Patologia Clínica; b) o programa informático *Sclínico 2,8* para a consulta do processo clínico; c) o programa *ASIS* (Aplicação Sistema Informação Sangue) para consulta de transfusão de hemoderivados. O *software Excel* do *Microsoft Office 2021* foi utilizado para a criação de uma base de dados e o *IBM SPSS Statistics* versão 29.0.2.0 foi usado para a realização de testes estatísticos.

3.4. Procedimento

Procedeu-se à seleção dos registos de todos os neonatos nascidos na ULSTS no ano 2024, sendo recolhidos os dados em folha de cálculo do *Excel*. A partir do *software Sclínico 2,8*, consultou-se cada número de processo do RN e recolheu-se a informação relativa à data de nascimento, tempo de gestação, presença de icterícia, se realizou fototerapia e o tempo de hospitalização. A informação dos parâmetros analíticos realizados aos RN foi consultada no *Clinidata XXI*. Foram registados os parâmetros: hemoglobina, bilirrubina total e direta, grupo sanguíneo, TAD e se positivo, monoespecíficos, eluado e caracterização do anticorpo do eluado.

A partir da consulta do processo do RN no *Sclínico 2,8*, obteve-se o processo da mãe e registaram-se os seguintes dados: data de nascimento, grupo sanguíneo, se a gravidez foi vigiada, número de gravidezes, partos e abortos e ainda se realizou profilaxia com imunoglobulina anti-D. No *Clinidata XXI*, consultou-se os resultados para o teste de Coombs indireto (PAI) e, se positivo, a identificação e o título do anticorpo. Consultou-se ainda o programa *ASIS* para verificar se os neonatos e respetivas mães realizaram alguma transfusão.

Todos os dados foram compilados numa base de dados em *Excel*.

Foram excluídos registos de RN e respetivas mães com menos de 35 semanas de gestação, gémeos, morte perinatal, transferidos para outro hospital e com informações incompletas e contraditórias.



Este estudo obteve parecer favorável pela Comissão de Ética de Saúde e foi aprovado pelo Conselho de Administração da ULSTS, sendo que a confidencialidade dos dados e o anonimato dos utentes foi garantida.

3.5. Estatística

Os dados foram analisados através de estatística descritiva, aplicando análise uni e bivariada e com recurso a medidas de tendência central e de tabelas de frequência, de acordo com o aplicável, utilizando o *Excel do Microsoft Office 2021*[®]. Foi também usado o *IBM SPSS Statistics* versão 29.0.2.0 para tratamento estatístico inferencial.

As variáveis contínuas foram inicialmente avaliadas quanto à distribuição, recorrendo aos testes de Shapiro–Wilk. Para as variáveis com distribuição normal ($p > 0,05$), utilizaram-se testes paramétricos (teste *t* de Student para amostras independentes). A homogeneidade de variâncias foi verificada através do teste de Levene. Quando este apresentava $p > 0,05$, assumiram-se variâncias iguais; caso contrário, reportou-se a linha de variâncias diferentes. Para variáveis contínuas sem distribuição normal ($p < 0,05$), aplicou-se o teste não paramétrico de Mann–Whitney. As variáveis categóricas foram analisadas com o teste do Qui-quadrado ou, quando existiam valores esperados < 5 , com o teste exato de Fisher. Para todas as análises estatísticas, considerou-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados

4.1. Caracterização da coorte de recém-nascidos

A coorte de RN nascidos na ULSTS no ano de 2024 foi de 1938. Foram excluídos 130 RN e respetivas mães, obtendo-se uma amostra de 1808 registos. No Quadro 6, encontram-se os motivos de exclusão destes registos.

Quadro 6 – Critérios de exclusão do estudo

Motivo	Número RN
Gémeos	52 (26 pares)
Tempo de gestação <35 semanas	57
Nascimento fora do hospital	2
Morte perinatal	1
Transferido para outro hospital	10
Informações incompletas	6
Informações contraditórias	2
Total	130



Nasceram 914 RN do sexo feminino (50,55%) e 894 do sexo masculino (49,45%) com uma média de $39,3 \pm 1,3$ semanas de gestação e uma média de $2,98 \pm 2,24$ dias de tempo de hospitalização (Tabela 1). Um baixo número de RN ($n=73$; 4,04%) nasceram entre as 35,0 e as 36,9 semanas de gestação, sendo considerados de RN prematuros tardios(61).

Tabela 1 – Estatística descritiva das variáveis numéricas estudadas

Variáveis	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	IC: 95%
Tempo de Gestação	1808	35,00	41,90	39,27	1,26]39,21; 39,33[
Tempo de Hospitalização	1808	1,00	55,00	2,98	2,24]2,88; 3,08[
Hemoglobina (g/dL)	698	9,30	24,50	18,23	2,13]18,07; 18,39[
BT (mg/dL)	733	1,00	15,40	9,07	2,90]8,86; 9,28[
BD (mg/dL)	731	0,20	2,00	0,53	0,10]0,52; 0,54[
BT- 2ªD (mg/dL)	507	1,70	18,20	10,46	2,63]10,23; 10,69[
Idade da mãe ao parto	1808	16,90	51,50	31,30	5,50]31,06; 31,57[

Legenda: BT – bilirrubina total; BD – bilirrubina direta; BT-2ªD – bilirrubina total segunda determinação; IC – Intervalo de confiança

Relativamente aos parâmetros analíticos dos RN, observou-se uma média de hemoglobina (Hg) de $18,23 \pm 2,13$ g/dL (Tabela 1). Na Figura 4, verifica-se que 89,12% ($n=643$) dos RN apresentaram valores de Hg considerados normais (entre 14,6 e 23,4 g/dL) e 6,45% ($n=45$) apresentaram níveis abaixo do intervalo de referência(4). Dos 952 RN (52,65%) que apresentaram icterícia visível, foi realizado doseamento de bilirrubina total (BT) e Bilirrubina direta (BD), tendo-se obtido um valor médio de $9,07 \pm 2,90$ mg/dL e de $0,53 \pm 0,10$ mg/dL, respetivamente. No caso da BT, 667 RN (90,84%) apresentaram valores acima de 5 mg/dL, e 3 RN (0,41%) apresentaram uma BT acima de 15 mg/dL, valor este considerado patológico. No caso da BD, 99,57% dos RN apresentaram valores entre os 0,2 a 1 mg/dL, considerados dentro do normal para um RN(11,44), conforme pode ser observado na Figura 5.

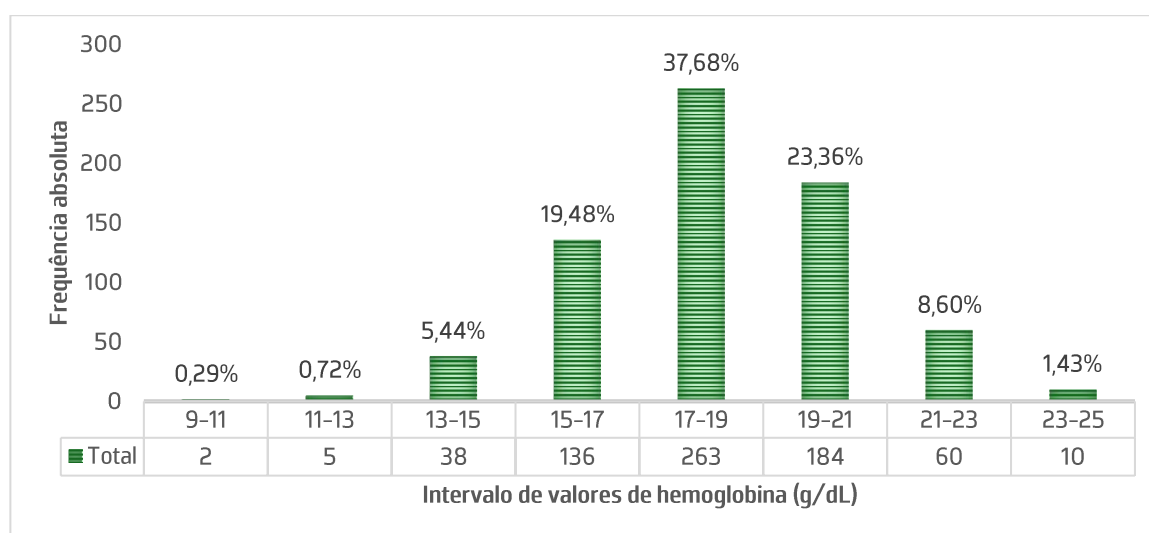


Figura 4 – Intervalo de valores da hemoglobina dos recém-nascidos

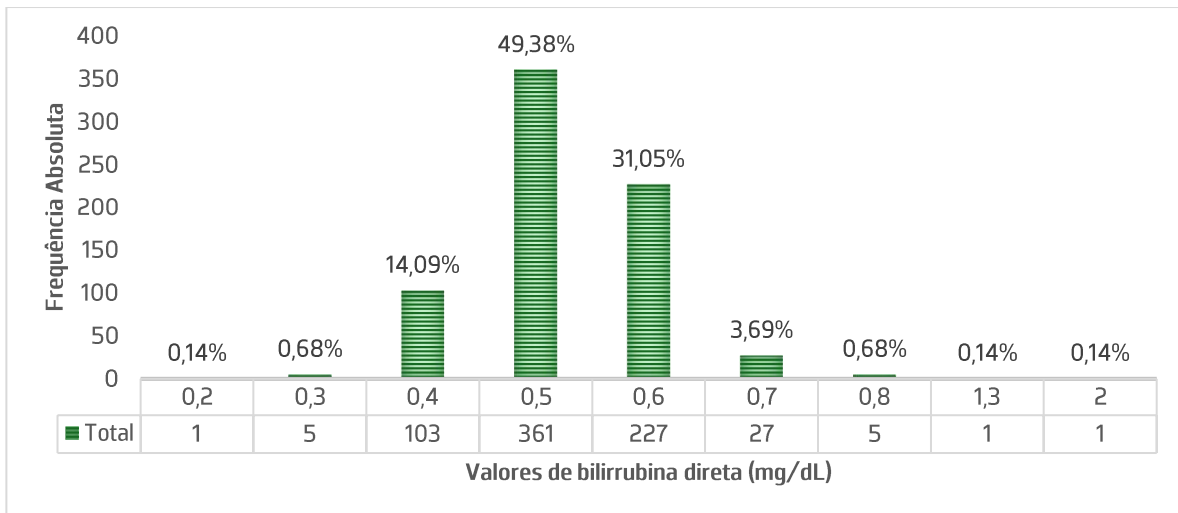


Figura 5 - Frequência absoluta e relativa dos valores de bilirrubina direta

Em 507 RN, foi ainda realizada uma segunda determinação da BT (BT-2^ªD), num horário posterior, em que o RN tinha mais horas de vida (Figura 6). A média destes valores apresentam-se na Tabela 1. Na segunda determinação, existem 492 RN (97,04%) com BT acima de 5 mg/dL e 20 RN (3,94%) com uma BT acima de 15 mg/dL. No total, 393 RN (21,74%) fizeram fototerapia.

Dos 1808 RN, 1210 (66,92%) não realizaram a determinação do grupo sanguíneo e TAD, tendo resultados apenas de 598 RN (33,08%). Na ULSTS, apenas se realiza a determinação do grupo e TAD nos RN cujas mães são RhD negativo, normalmente em amostras do sangue do cordão umbilical, e RN com icterícia precoce ou com suspeita de incompatibilidade ABO (mães do grupo O, especialmente) ou em casos de DHFRN. De acordo com a Figura 7, 40,13% dos RN são do grupo O RhD Positivo (n=240) e 26,92% do grupo A RhD Positivo (n=161). A coluna "Outros" contempla RN em que uma das determinações foi inconclusivo ou RhD fraco. De salientar que 148 RN (24,74%) são RhD Negativo.

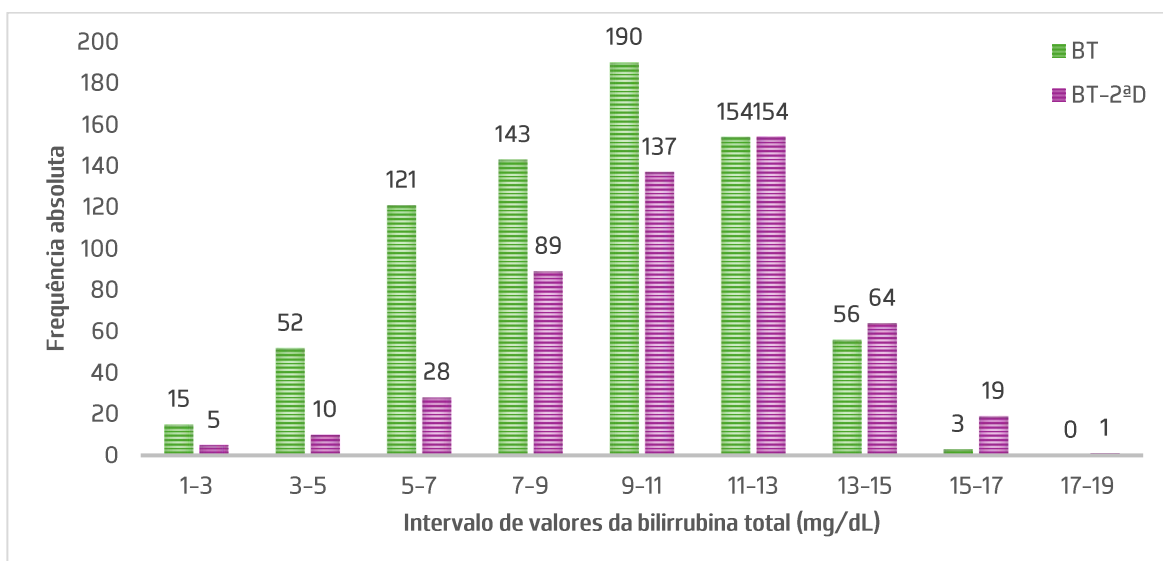


Figura 6 - Frequência absoluta dos intervalos de valores da bilirrubina total obtidos em dois momentos distintos

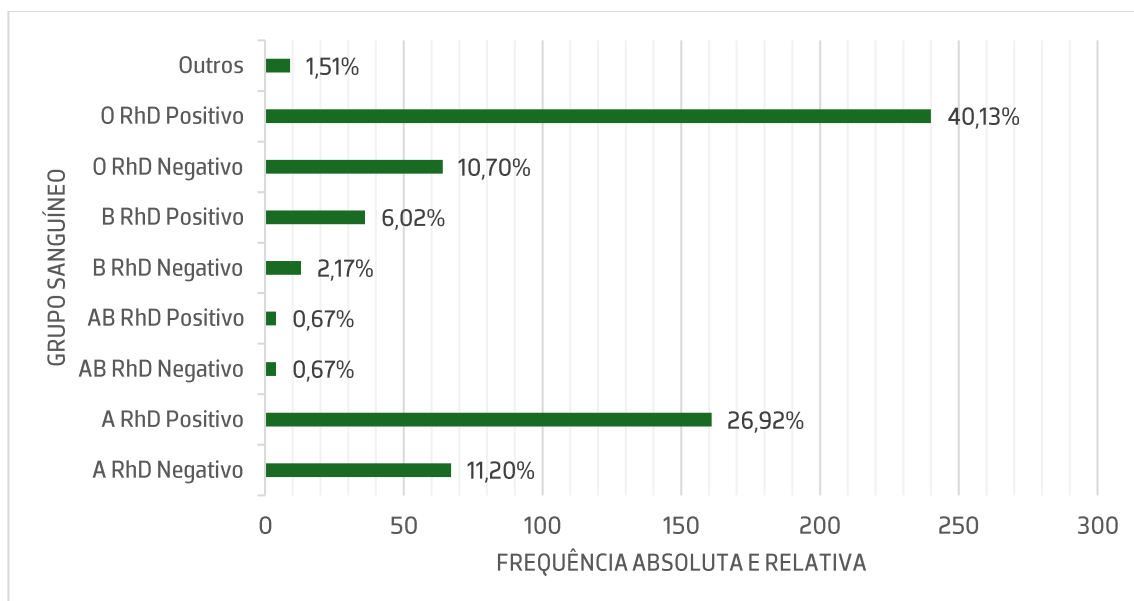


Figura 7 – Distribuição dos grupos sanguíneos dos RN

Em relação aos resultados da TAD, obtiveram-se 34 resultados positivos (5,69%), tendo sido identificados 30 anticorpos da classe IgG no estudo de anticorpos mono-específicos. Em 3 destas situações, não se realizou o estudo de anticorpos mono-específicos e num caso, deu resultado negativo.

Foram realizados no total 37 eluados, obtendo-se 29 eluados reativos (Tabela 2). Dos eluados reativos, mais de metade (n=15), foi identificado o anticorpo anti-A, seguido do Anti-D (n=5). O anti-D foi também encontrado em conjunto com o anti-A (n=3) e com o anti-B (n=1). Os anticorpos ABO foram todos encontrados em RN cujas mães eram do grupo O. Foi ainda encontrado um anticorpo dos sistemas *minor* (anti-S). Todos os anti-D foram encontrados em RN cujas mães eram RhD negativo.

Tabela 2 – Relação entre grupo sanguíneo da mãe e os anticorpos encontrado no eluado do RN e a suas frequências absolutas e relativas

Anticorpos identificados no eluado do RN

Grupo Mãe	Anti-A	Anti-A + Anti-D	Anti-A,B	Anti-B	Anti-B + Anti-D	Anti-D	Anti-S
A RhD-						1	
O RhD-	5	3			1	4	
O RhD+	10		2	2			1
Frequência	15	3	2	2	1	5	1
Frequência (%)	51,72%	10,34%	6,90%	6,90%	3,45%	17,24%	3,45%

4.1. Caracterização da coorte das gestantes

A idade média das grávidas na altura do parto foi de $31,3 \pm 5,5$ anos (Tabela 1, Figura 8). A maioria das grávidas apresenta uma idade na faixa etária dos 25 a 35 anos (61,06%). Existem 26,33% (n= 476)



de grávidas com mais de 35 anos, consideradas como gravidezes em idade avançada, que estão associadas a um maior número de complicações durante a gravidez(62).

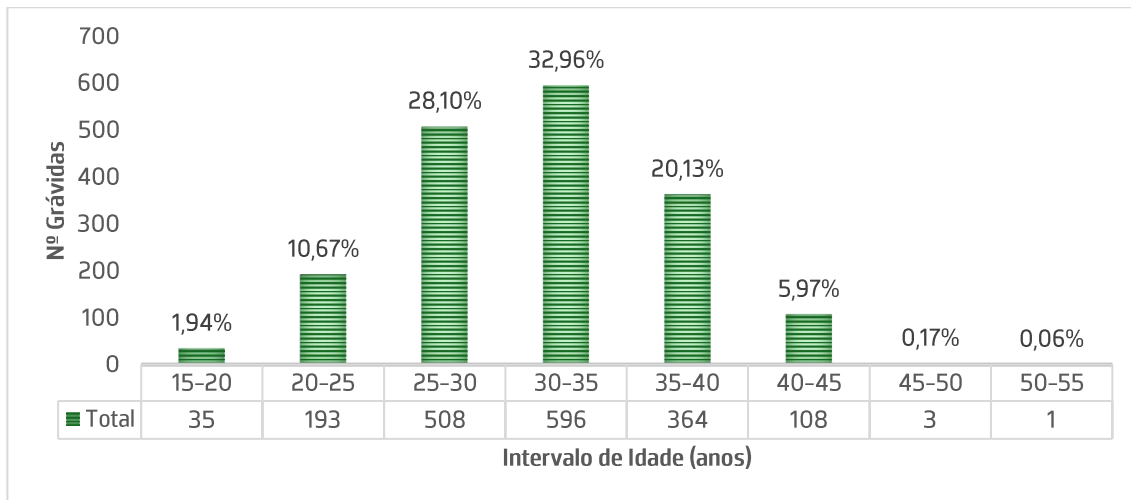


Figura 8 – Frequência absoluta e relativa do intervalo de idades das grávidas

O sistema de classificação de grávidas processa-se no sentido xGyPzA, em que G significa o número de gravidezes; o P, o número de partos acima das 20 semanas de gestação; e A, o número de abortos(63). Em relação à história obstétrica destas mulheres (Figura 9), a maioria (43,81%; n=792) é primigesta, ou seja, é a primeira gravidez e 24,39% (n=441) encontra-se na segunda gravidez, tendo previamente dado à luz um filho vivo. 414 mulheres já tiverem pelo menos um aborto (22,90%), e pelo menos 5 mulheres tinham histórico de morte fetal durante a gravidez.

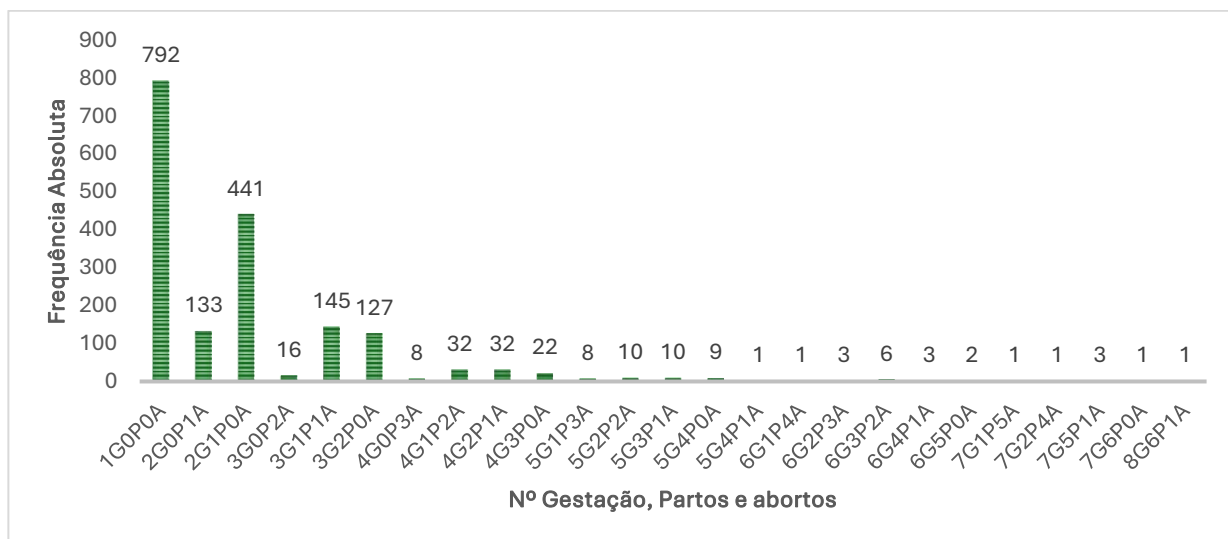


Figura 9 – Gestação e paridade das mulheres em estudo

Em termos da vigilância da gravidez (Figura 10), apenas 10 grávidas (0,55%) não tiveram qualquer tipo de acompanhamento durante a gravidez. De salientar que 118 grávidas (6,53%) tiveram uma vigilância irregular, ou seja, tiveram um início de vigilância tardio (depois das 15 semanas de gestação), foram seguidas inicialmente noutro país ou faltaram a consultas ou ecografias de forma inconsistente.



Sobre os parâmetros analíticos das mães, 1007 destas nunca realizaram determinação ABO e RhD nem PAI neste hospital e 128 mães tinham realizado a PAI noutra gravidez ou noutro tipo de estudo que não a gravidez atual, ou seja, 62,78% das grávidas não foram seguidas na ULSTS na gravidez atual.

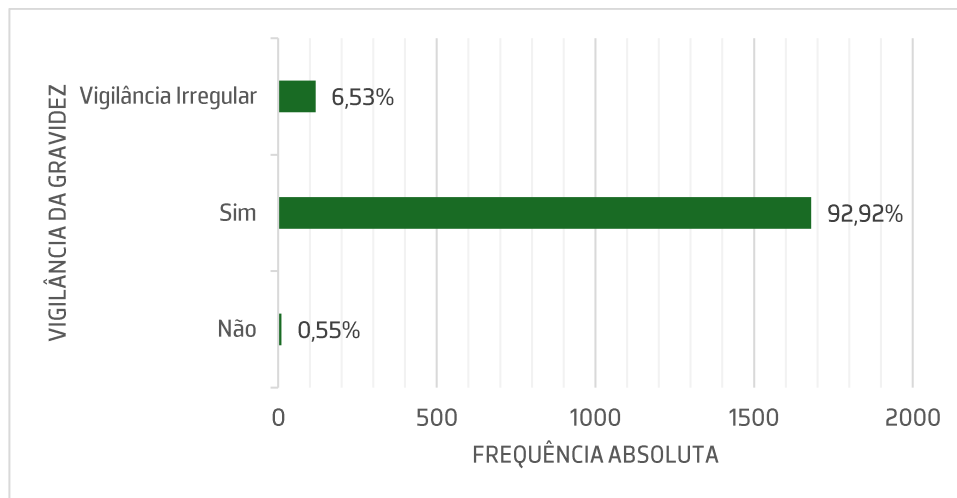


Figura 10 - Frequência absoluta e relativa da vigilância da gravidez

Em relação à distribuição do grupo sanguíneo das mães, a Figura 11 mostra que 40,49% são A RhD Positivo e 34,35% são O RhD Positivo. Relativamente ao RhD, 282 mães são RhD negativo (15,6%). A coluna "Outros" contempla os grupos: A RhD fraco tipo 2 (n=1); A RhD Positivo Fraco (n=1); B RhD Parcial (n=1); B RhD fraco tipo 2 (n=1); O RhD Fraco Tipo 2 (n=1); O RhD Parcial (n=1) e O RhD Variante não especificado (n=1). Os casos RhD variante não especificado e RhD parcial devem ser classificados como RhD negativo para questões de profilaxia. Na coorte de 598 RN que efetuaram a determinação do grupo (Tabela 3), verifica-se que existem 172 incompatibilidades RhD (28,76%) e 162 incompatibilidades ABO (27,09%). A incompatibilidade ABO mais frequente é mãe do grupo O com RN grupo A (n=117), seguido de mãe do grupo O com RN grupo B (n=33). Por conveniência, retirou-se da Tabela 3 os RN com ABO inconclusivo (n=6) e considerou-se os RN com RhD inconclusivo como RhD positivo.

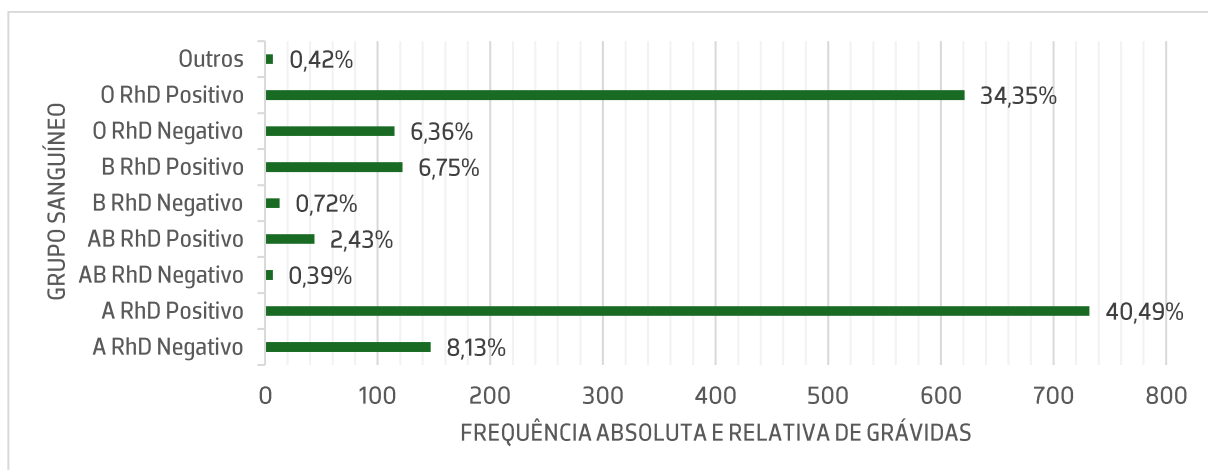


Figura 11 - Frequência absoluta e relativa da distribuição dos grupos sanguíneos das grávidas



Tabela 3 – Incompatibilidade ABO e RhD entre mães e RN

		Grupo RN							
Grupo Mãe	A RhD -	A RhD +	AB RhD -	AB RhD +	B RhD -	B RhD +	O RhD -	O RhD +	Total
A RhD -	41	56	2	2	2	2	16	25	146
A RhD +	1	10	-	-	-	-	-	5	16
AB RhD -	-	2	1	-	1	1	-	-	5
AB RhD +	-	-	-	-	-	1	-	-	1
B RhD -	-	1	1	1	2	6	1	1	13
B RhD +	-	-	-	1	-	1	-	-	2
O RhD -	11	23	-	-	6	1	23	51	115
O RhD +	14	69	-	-	2	24	24	161	294
Total	67	161	4	4	13	36	64	240	592

4.2. Prevalência de anticorpos maternos

Em relação ao PAI, das 800 grávidas que têm resultados, apenas 22 (2,75%) apresentaram PAI positiva, e a distribuição dos anticorpos encontrados apresenta-se na Figura 12. Destaca-se a presença do anticorpo anti-D em 40,91% (n=9) dos PAI positivos. Dos RN destas 22 puérperas, 8 não fizeram determinação do grupo sanguíneo nem TAD, 13 tiveram um resultado de TAD negativo e 1 RN teve TAD positivo, com identificação do anti-S no eluado, que corresponde ao anticorpo encontrado na IAI da mãe. O histórico obstétrico da mãe era 2G1POA e como era O RhD Positivo, não efetuou qualquer profilaxia. Os resultados da titulação efetuada nesta mãe em diferentes determinações variaram entre um título de 16 e 64, o que significa que se encontra em valores críticos(8,20). Este RN nasceu com 38,6 semanas de gestação, fez fototerapia, mas apenas esteve hospitalizado 2 dias, tendo uma BT máxima de 7,8 mg/dL.

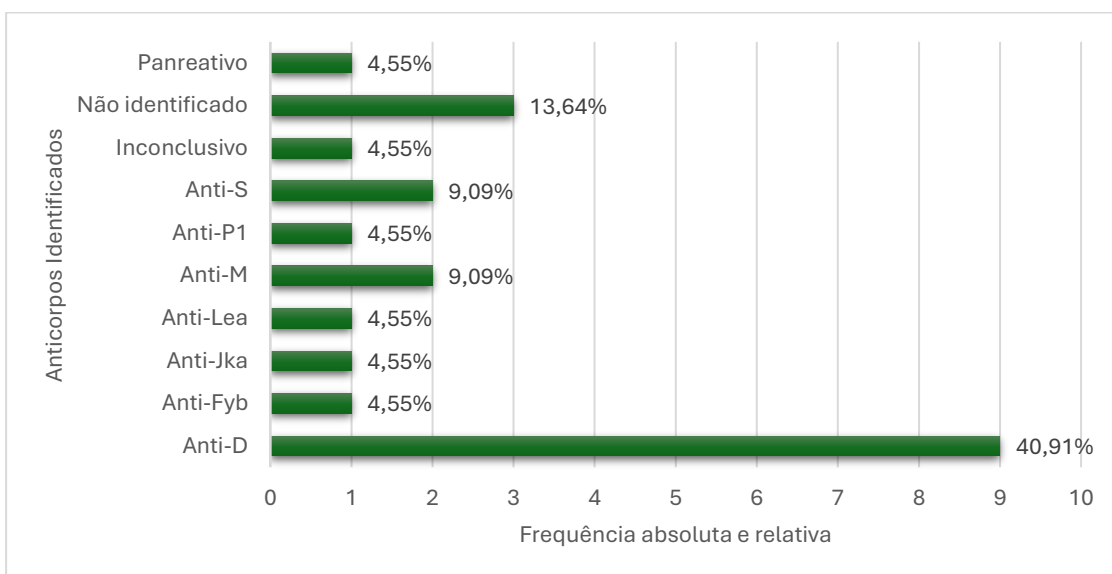


Figura 12 – Frequência absoluta e relativa dos anticorpos encontrados na PAI



As mães dos 8 RN que não efetuaram a TAD tinham os seguintes anticorpos identificados na PAI: anti-Le^a, -M, -P1, -Jk^a, -Fy^b (Tabela 4) e ainda 3 IAI inconclusivas. Das 3 mães com IAI inconclusivos, 1 tinha o estudo imunohematológico compatível com quadro clínico de tiroidite autoimune, e as outras 2 tinham um anticorpo sem especificidade determinada.

Tabela 4 – Mães com PAI positiva cujos RN não fizeram determinação da TAD

Mãe			RN			
Anticorpo	Título	Paridade	Semanas de gestação	BT máxima	Fototerapia	Tempo Hospitalização
Anti-M	4	5G4P0A	39,1	14,9	Sim	5
Anti-Le ^a	Não	3G1P1A	41,0	ND	Não	3
Anti-P1	Não	2G1P0A	37,4	ND	Não	2
Anti-Jk ^a	2/2/2/8	2G1P0A	40,4	ND	Não	2
Anti-Fy ^b	2/4/4/8/16/16/16	2G0P1A	40,1	ND	Não	3

Legenda: ND – não disponível

No caso das grávidas com PAI positiva por anti-D e cujos RN tiveram TAD negativa (Tabela 5) destaca-se que:

- 3 grávidas apresentaram PAI positivo para anti-D no segundo trimestre e negativo no terceiro trimestre;
- 3 grávidas com indicação no registo clínico que o anti-D identificado na PAI será por provável Ig anti-D residual, mas não apresentam resultados de PAI subsequente.
- 1 grávida com PAI do primeiro trimestre negativa e posteriormente positivo no segundo trimestre, presumivelmente, após administração da Ig anti-D; não efetuou rastreio no terceiro trimestre;
- 1 grávida com PAI positiva para anti-D no segundo trimestre e negativa no terceiro trimestre, mas sem descrição da administração da profilaxia durante a gravidez; por isso, não é possível aferir se o anticorpo é passivo. Além disto, era um RN com trissomia 21, que realizou fototerapia e cuja gravidez teve uma vigilância irregular;
- No último caso, não existe um registo clínico para justificar estes resultados.

A grande maioria das grávidas (98,56%) não tem nenhum registo de transfusão neste hospital, sendo que apenas 26 mulheres realizaram transfusões de CE, 9 das quais foram realizadas no ano de 2024, durante a gravidez ou pós-parto. Ainda, 3 mulheres não têm qualquer registo de transfusão no ASIS (programa de transfusão da ULSTS) mas nos registos clínicos (*SClínico*), menciona que realizaram transfusões pós-parto (n=2) ou por terem anemia durante a gravidez (n=1).



Tabela 5 – Mães com PAI positiva cujos RN tiveram TAD negativa

Mãe				RN			
Anticorpo	Título	Paridade	Profilaxia	Semanas gestação	BT máxima	Fototerapia	Tempo Hospitalização
Anti-D	1	4G1P2A	Sim	39,3	ND	Não	2
Anti-D	2	1G0P0A	Sim	39,1	11,6	Sim	3
Anti-D	2	3G1P1A	Sim	37,3	ND	Não	3
Anti-D	2	2G1P0A	Sim	37,7	ND	Não	5
Anti-D	2	1G0P0A	Sim	40,1	11	Sim	2
Anti-D	4	3G1P1A	Sim	40,9	7,3	Não	5
Anti-D	2	2G1P0A	Não	39,4	11,4	Sim	8
Anti-D	2	3G1P1A	Sim	39,1	ND	Não	2
Anti-S	2/4/4	4G2P1A	Sim	39,9	ND	Não	2
Anti-M	8	1G0P0A	Sim	39,9	5,7	Não	2
Anti-D	32/16/4	1G0P0A	Sim	40,7	ND	Não	3

Legenda: ND – não disponível

4.3. Profilaxia

A Figura 13 mostra a distribuição das gestantes RhD negativo que realizaram ou não profilaxia com Ig anti-D de acordo com o grupo sanguíneo durante a gestação. De forma geral, observa-se que a maioria das grávidas realizou profilaxia (85,91%) enquanto que em 40 grávidas (14,08%) não existe um registo na ULSTS de que tenham realizado qualquer profilaxia. Mais uma vez, este registo pode estar presente no BSG, o qual não tivemos acesso para este estudo. Sendo assim, considera-se que a grávida não realizou profilaxia durante a gravidez. Também existe a possibilidade de que o progenitor do RN seja RhD negativo, não sendo necessária assim a profilaxia; no entanto, durante a consulta dos registos na recolha de dados, apenas foi possível confirmar esta situação num dos casos.

O perfil da profilaxia pós-parto das gestantes RhD negativo já é bastante diferente (Figura 14), porque assenta na determinação do grupo sanguíneo do RN e não numa suposição. Sendo assim, das 284 mães RhD negativo (282 RhD negativo, juntamente com os RhD parcial e variante que devem ser considerados como RhD negativo), existem 170 mães com incompatibilidade RhD, ou seja, são mães RhD negativo cujos filhos são RhD positivo e 2 mães cujos filhos apresentaram um resultado RhD inconclusivo, o qual fizeram profilaxia. Assim, do total de grávidas RhD negativo, apenas 168 mães fizeram profilaxia pós-parto (59,15%). Existe aqui uma discrepância de números. Houve uma grávida cuja gravidez não foi vigiada até às 34 semanas de gestação, e por isso fez profilaxia às 35 semanas, não



sendo necessário a profilaxia pós-parto. Noutra mãe, embora nos registos das consultas de gravidez de termo estar identificada como RhD negativa, no registo do internamento, está identificada como RhD positivo, daí não ter feito a profilaxia. Nas outras 2 mães, não há qualquer registo de que tenham feito profilaxia pós-parto. Assim, observa-se que, das 172 mães que deveriam ter feito profilaxia pós-parto, 97,67% (n=168) realizou profilaxia de forma adequada.

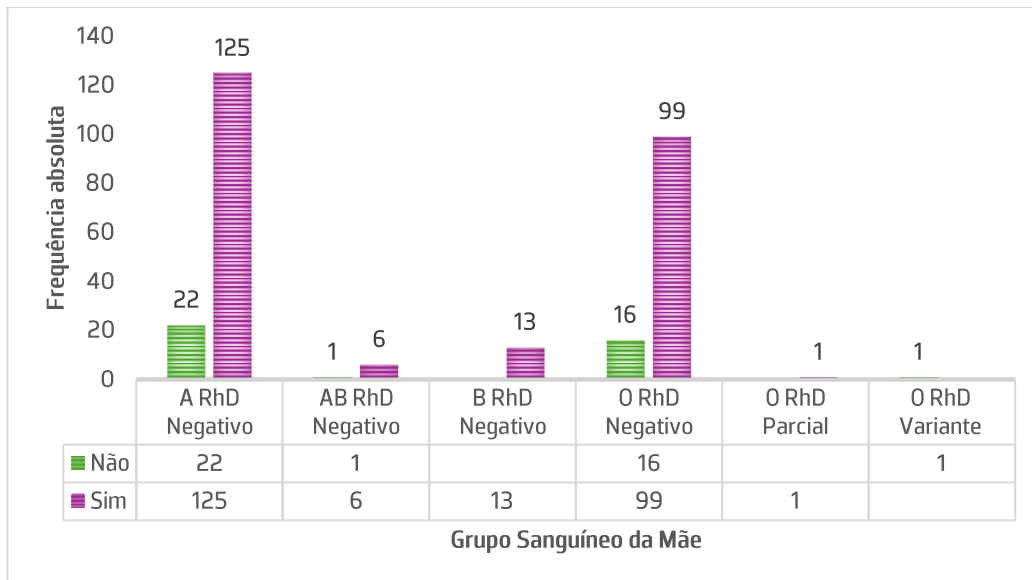


Figura 13 - Frequência absoluta da realização da profilaxia durante a gestação

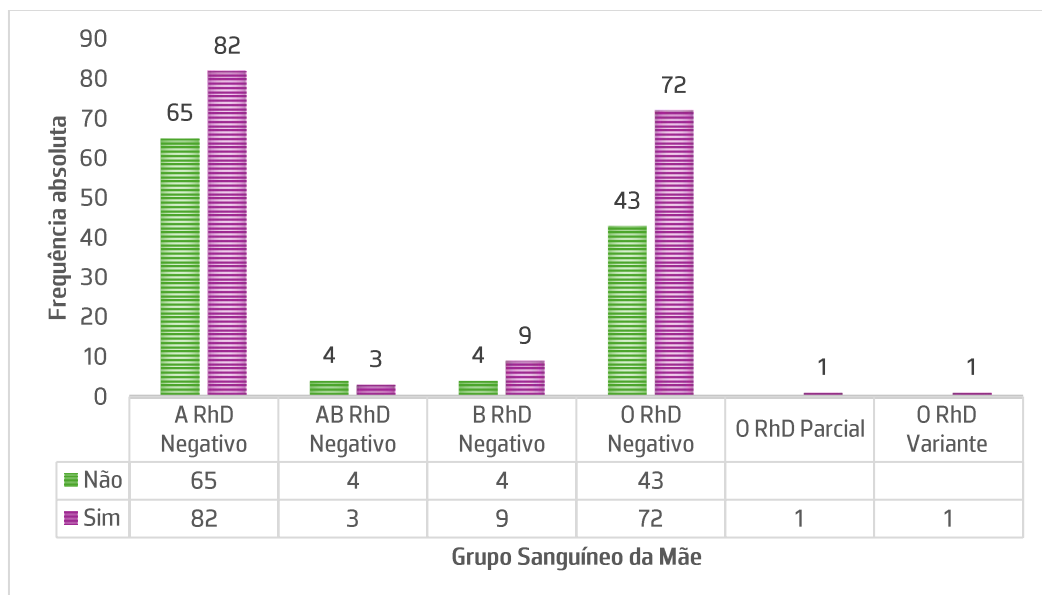


Figura 14 - Frequência absoluta da realização da profilaxia pós-parto

Existe ainda o caso de 3 gestantes que fizeram a determinação ABO e RhD na ULSTS, cujo grupo era RhD positivo e estavam identificadas como RhD negativo no *SClínico*. Neste caso, estas mulheres foram sujeitas a profilaxia Ig anti-D tanto durante a gravidez como no pós-parto de forma desnecessária.



4.4. Associações estatísticas nas variáveis clínico-laboratoriais

Na análise dos resultados obtidos com recurso a testes estatísticos (Tabela 6), constatou-se uma associação estatisticamente significativa entre o resultado do TAD e a ocorrência de icterícia ($p=0,001$), bem como com a necessidade de fototerapia ($p<0,001$). Em contrapartida, não se observaram associações estatisticamente significativas entre o resultado do TAD e a vigilância da gravidez ($p=1,000$) ou a realização de transfusão materna ($p=0,412$).

Tabela 6 – Comparação entre o resultado do TAD e algumas variáveis estatísticas qualitativas

Variáveis	Teste estatístico	Valor de p	Nível de significância
Icterícia	Teste exato de Fisher	0,001	0,05
Fototerapia	Qui-quadrado de Pearson	<0,001	0,05
Vigilância da gravidez	Teste exato de Fisher	1,000	0,05
Transfusão da mãe	Teste exato de Fisher	0,412	0,05

Relativamente às variáveis contínuas (Hg, BT-1^aD, BT-2^aD), após verificação da normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e da homogeneidade de variâncias (teste de Levene), aplicou-se o teste *t* de Student para amostras independentes (Tabela 7). Os RN com TAD positivo apresentaram valores médios de hemoglobina significativamente mais baixos do que os TAD negativos ($t=2,509$; $p=0,013$) e valores mais baixos de BT na segunda determinação ($t=2,929$; $p=0,004$). Não se observaram diferenças significativas na BT na primeira determinação ($t=0,608$; $p=0,543$).

Tabela 7 – Análise estatística comparando o resultado do TAD com as médias da hemoglobina, bilirrubina total numa 1^a e numa 2^a determinação

Variável	Teste de Levene	TAD positiva (n) Média ± Desvio-padrão	TAD negativa (n) Média ± Desvio-padrão	Valor de p
Hemoglobina (g/dL)	0,067	(32); 17,30 ± 1,78	(360); 18,29 ± 2,17	0,013
Bilirrubina Total 1 ^a D (mg/dL)	0,425	(32); 8,81 ± 2,41	(371); 9,13 ± 2,80	0,543
Bilirrubina Total 2 ^a D (mg/dL)	0,713	(30); 9,20 ± 2,15	(262); 10,60 ± 2,50	0,004

Relativamente à bilirrubina direta, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre RN com TAD positiva e negativa (teste de Mann-Whitney: $U=6282,0$; $Z=0,654$; $p=0,513$). Também no tempo de hospitalização, não se verificaram diferenças entre os grupos ($U=9733,5$; $Z=0,157$; $p=0,875$).

Foi também realizada uma comparação entre mães que apresentavam incompatibilidade ABO com os seus RN e algumas variáveis estatísticas qualitativas, como a TAD, fototerapia e icterícia (Tabela



8). Para isso, foram aplicados o Teste Exato de Fisher ou do Qui-quadrado de Pearson. Os resultados mostram um valor de $p < 0,05$ ($p = 0,001$ ou $p < 0,001$), indicando uma associação estatisticamente significativa entre a incompatibilidade ABO e estas variáveis em estudo. Além disso, a estimativa de risco revelou que o valor de Odds Ratio (OR) foi superior a 1 para todas as variáveis analisadas, com intervalos de confiança que não incluíam o valor 0 (com 95% de confiança). Isto sugere que a incompatibilidade ABO está associada a uma maior ocorrência de TAD positiva, icterícia e a necessidade de fototerapia nos RN.

Tabela 8 – Análise estatística comparando a incompatibilidade ABO do par mãe/RN com algumas variáveis qualitativas

Variáveis	Teste Estatístico	Valor de p	Estimativa de risco (OR)	IC: 95%
Resultado da TAD	Teste Exato de Fisher	<0,001	18,674]7,086; 49,211[
Fototerapia	Qui-quadrado de Pearson	<0,001	1,897]1,314; 2,738[
Icterícia	Qui-quadrado de Pearson	0,001	2,057]1,318; 3,210[

Ao estudarmos se a incompatibilidade ABO afeta as variáveis contínuas (Hg, BT-1^ªD, BT-2^ªD, BD e tempo de hospitalização), após a verificação ou não de normalidade, observou-se diferença estatisticamente significativa apenas nos níveis de hemoglobina. Neste caso, obtiveram-se níveis de hemoglobina inferiores no grupo em que existe incompatibilidade ABO (Tabela 9).

Tabela 9 – Análise estatística da incompatibilidade ABO com variáveis estatísticas contínuas

Variáveis	Incompatibilidade ABO: Não (n=186)		Incompatibilidade ABO: Sim (n=98)		Teste de Mann-Whitney	Valor de p
	Média ± Desvio padrão	IC: 95%	Média ± Desvio padrão	IC: 95%		
Hg	18,45 ± 2,30]18,11; 18,78[17,77 ± 2,22]13,32; 18,21[13127,5	<0,001
BT-1 ^ª D	9,01 ± 2,95]8,58; 9,43[9,24 ± 2,59]8,73; 9,76[18756,5	0,295
BD	0,52 ± 0,08]0,51; 0,53[0,55 ± 0,12]0,52; 0,57[18686,0	0,201
BT-2 ^ª D	10,48 ± 2,66]10,09; 10,86[10,36 ± 2,17]9,93; 10,80[9503,0	0,943
TH	4,05 ± 4,09]3,46; 4,64[3,72 ± 1,69]3,39; 4,06[37718,5	0,085

incABO – incompatibilidade ABO; TH – tempo de hospitalização

Executou-se ainda uma comparação das mães RhD negativo que fizeram profilaxia com as variáveis: resultado da PAI, icterícia, resultado da TAD, fototerapia e presença de anti-D no eluado (Anexo VIII). No entanto, para todas estas variáveis, o valor de $p > 0,05$ (nível de significância), o que indica que não existem diferenças estatisticamente significativas. Além disto, fez-se ainda uma estimativa de risco para estas variáveis, sendo que o risco de uma mãe que tenha recebido profilaxia é ligeiramente



aumentado de ter um resultado positivo na PAI (OR=1,408; IC95%: 0,170-11,639) e de o seu RN ter icterícia (OR=1,068; IC95%: 0,547-2,084), mas um risco diminuído de ter um resultado positivo na TAD do RN, de este necessitar de fototerapia ou de ter um anti-D no seu eluado.

5. Discussão

A DHFRN mantém-se como uma patologia relevante, mesmo após a implementação generalizada da profilaxia anti-D. A caracterização dos casos que ainda ocorrem é essencial para compreender melhor os fatores de risco envolvidos, avaliar a eficácia das estratégias preventivas e garantir a melhoria contínua dos cuidados prestados(36,64). Investigações desenvolvidas em contextos locais, como o presente estudo, assumem particular importância por permitirem monitorizar a realidade assistencial de uma população concreta e identificar oportunidades de melhoria na vigilância materna e neonatal.

5.1. Caracterização da coorte

Neste estudo, observou-se uma percentagem de 4,04% de RN prematuros tardios. Este valor é inferior ao reportado no ano 2022 em Portugal de RN prematuros (7,4%)(61,65). No entanto, o valor inferior dever-se-á ao facto de, no nosso estudo, termos excluídos RN com menos de 35 semanas de gestação. Também relativamente ao tempo de hospitalização dos RN, pode existir um enviesamento dos dados uma vez que alguns RN, apesar de terem alta clínica, só têm alta social passado vários dias, por se encontrarem à espera de resposta por parte do Serviço Social ou por se encontrarem à espera que a mãe tenha alta.

No presente estudo, a idade média materna ao nascimento foi de $31,3 \pm 5,5$ anos, valor médio próximo da média nacional em 2024 (31,7 anos)(65,66), o que sugere que a amostra é representativa neste indicador. Num estudo nos EUA em 2024(67), a idade média da mulher ao parto foi de 33,2 anos, ligeiramente superior à observada em Portugal. No nosso estudo, 26,33% (n=476) das grávidas tinham idade superior a 35 anos. Em 2014, num hospital de Lisboa(69), esta proporção era de 32,2% (n=237), valores comparáveis apesar da diferença no tamanho amostral. Quanto ao tempo de gestação, a média encontrada no nosso estudo foi 39,3 semanas, coincidindo com a média observada nos EUA em 2024(67) e próxima da observada numa maternidade de Lisboa (38,8 semanas)(68).

Está demonstrado que a idade materna avançada aumenta os riscos associados à gravidez e a probabilidade de complicações obstétricas. Comparativamente às mulheres mais jovens, as grávidas com mais de 35 anos apresentam maior risco de complicações como diabetes gestacional, placenta prévia, pré-eclâmpsia, aborto espontâneo, hipertensão induzida pela gravidez e parto por cesariana. O



risco de nascimento de nados-mortos, morte neonatal e morte fetal também aumenta com a idade materna. Além disso, estas mulheres apresentam maior probabilidade de já terem sido diagnosticadas com doenças crónicas, como hipertensão, diabetes *mellitus* ou outras patologias, frequentemente sob tratamento farmacológico, o que pode complicar ainda mais a gestação(70,71). No entanto, embora o aumento dessas taxas seja visível a partir dos 35 anos, esse risco não parece intensificar-se de forma significativa antes dos 40 anos(70,71). Por isso, é importante salientar que a maioria das mulheres em idade avançada, nomeadamente entre os 35 e 39 anos, dão à luz sem complicações maternas, perinatais e neonatais significativas, para além de que as taxas de mortalidade e morbidade perinatais são baixas, o que reforça que os desfechos destas grávidas são favoráveis(70,71). Apesar da idade materna avançada não estar diretamente relacionada com a DHFRN, está relacionada com a maior probabilidade de a mulher ter sido submetida a uma cirurgia *major*, por exemplo, com necessidades transfusionais ou de já ter tido uma gestação prévia(5,8,20).

Em relação à paridade, 52,5% das mulheres eram primíparas, em 34,7% era o segundo parto, em 9,6% era o terceiro parto e 3,2% das mulheres apresentavam quatro ou mais partos. Num estudo realizado numa maternidade de Lisboa em 2010(68), a realidade era diferente: a percentagem de primíparas foi de 79%; 19% tinham o segundo parto e 2% o terceiro; apenas 0,5% das mulheres apresentaram paridade igual ou superior a quatro. Esta discrepância poderá refletir diferenças no tipo de instituição (hospital regional vs maternidade), bem como alterações demográficas ao longo do tempo, nomeadamente a redução da taxa de natalidade, o adiamento da idade da primeira gravidez e mudanças nas escolhas reprodutivas das famílias.

Neste estudo, existe um total de 7,08% de grávidas sem vigilância adequada durante a gravidez. Estima-se que em Portugal existam até 5% de mulheres grávidas sem vigilância adequada da gravidez(72), o que se confirma neste estudo. 62,78% das grávidas não foram seguidas na ULSTS em relação aos parâmetros analíticos na gravidez atual. No entanto, a maioria das grávidas são seguidas nos centros de saúde, onde os médicos de família prescrevem estas análises, sendo estas realizadas no sistema de saúde privado. Estas determinações estão também disponíveis no BSG, contudo, neste estudo não foi possível aceder a esse registo.

Os resultados de um estudo nacional sobre a distribuição dos grupos sanguíneos na população portuguesa, realizado em 2007 pelo Instituto Português de Sangue e Transplantação (IPST)(28), encontram-se na Tabela 10, juntamente com os resultados obtidos neste estudo. Como podemos verificar, a coorte das mães é a que mais se aproxima dos resultados obtidos nesse estudo. Sobre os RN, a determinação do grupo sanguíneo é feita na maioria das vezes, em mães RhD negativo e do grupo O,



devido às características já mencionadas anteriormente(2,3,5,8,25), o que pode enviesar os resultados. A prevalência dos grupos sanguíneos nos EUA é semelhante à de Portugal, embora com algumas diferenças geográficas e populacionais.

Tabela 10 - Resultados estatísticos da distribuição dos grupos sanguíneos num estudo feito pelo IPST(28), nos EUA(13) e neste estudo.

Grupo sanguíneo	IPST	EUA	Mães	RN
A	46,58%	40%	48,74%	38,12%
AB	3,43%	4%	2,82%	1,34%
B	7,80%	11%	7,59%	8,19%
O	42,29%	45%	40,89%	50,83%
D negativo	16,55%	15%	15,72%	24,74%

De acordo com o *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*(4), a média da Hg nos primeiros dias de um RN é de 19,0 g/dL com 95% dos valores entre 14,6 e 23,4 g/dL. Seguindo a sugestão deste autor, 89,12% dos RN desta amostra tem Hg entre 15,0 e 23,0 g/dL, o que sugere que esta amostra se encontra dentro dos padrões normais.

Apenas 1 RN, com 39,0 semanas de gestação, realizou transfusão de CE, uma vez que, para além de anemia (9,3 mg/dL de Hg), tinha uma suspeita de infeção por *Parvovirus* B19 (com suspeita de seroconversão materna) e teve um episódio de dessaturação durante o sono com hipoatividade, obtendo critérios para transfusão de hemoderivados(41).

Os RN que apresentaram icterícia antes da alta hospitalar são avaliados por meio da BTc. De acordo com os valores obtidos, é determinada a necessidade ou não da quantificação da bilirrubina sérica. Na maioria dos casos, apesar da presença clínica de icterícia, os níveis de BTc não atingiram os limites para fototerapia, pelo que não foi realizada colheita sanguínea para BT, evitando-se assim um procedimento invasivo(44). Esta abordagem permitiu prevenir a realização de análises em 218 RN, correspondendo a uma redução de 22,90% em concordância com o reportado num estudo realizado no EUA(67). No entanto, os resultados da BTc geralmente não ficam disponíveis no registo clínico, o que impossibilitou a sua recolha para análise neste estudo. Os valores de referência de um RN para a BT são flexíveis, dependendo do tempo de gestação, da idade do RN em horas e da presença de fatores de risco para a neurotoxicidade por hiperbilirrubinémia(44), contudo valores acima de 12-15 mg/dL já são considerados preocupantes(11,12,73). Verificou-se que 52,65% dos RN apresentavam icterícia, o que está de acordo com as estatísticas(11). Verificou-se também uma elevada prevalência de hiperbilirrubinémia neonatal, maioritariamente com valores fisiológicos (>5 mg/dL), mas com uma minoria a atingir níveis patológicos (>15 mg/dL), sobretudo na segunda determinação. A necessidade de



fototerapia em 21,74% dos RN reforça a relevância clínica destes resultados. No entanto, vários estudos reportam a necessidade de fototerapia em 1 a 10% dos RN(74,75). Esta discrepância pode resultar tanto de diferenças na população (por exemplo, mais RN de risco com percentagem de incompatibilidade ABO ligeiramente superior à da literatura), como de diferenças nos critérios e práticas clínicas, como por exemplo, entrada em vigor de novas *guidelines*(44). Outros fatores, como amamentação exclusiva com leite materno, diferença nos limiares usados para iniciar fototerapia (os valores de BT para início de fototerapia são subjetivos e alguns médicos podem optar por um tratamento mais preventivo) e eventual viés de registo nos estudos.

Nenhum RN tinha BT acima dos 20 mg/dL. A hiperbilirrubinémia patológica é definida como BT acima de 25 mg/dL e pode levar a *kernicterus*, ocorrendo em cerca de 1 em cada 2500 nascimentos(11,44,73). Assim, neste estudo, nenhum RN esteve em risco de *kernicterus* e nenhum necessitou de exsanguinotransusão.

Em relação à BD, existem 2 RN com BD>1,0 mg/dL, que é classificado como anormal(44). Ambos os RN foram diagnosticados com colestase. Nestes casos, o tratamento depende da etiologia subjacente e, normalmente é necessário a intervenção de especialistas, como gastroenterologistas. Os restantes tinham valores abaixo de 1,0 mg/dL, mas acima dos 0,2 mg/dL, que é o valor de referência da ULSTS. No entanto, estes são valores discretamente aumentados e ainda dentro do normal para um RN, que pode advir da imaturidade das vias enzimáticas ou da diminuição da velocidade de excreção da BD na bile(11,44).

5.2. Prevalência de anticorpos

A incompatibilidade ABO entre mãe/RN neste estudo foi de 27,09% (n=162), contudo apenas 3,85% (n=23) das TAD foram positivas por anticorpos ABO: 19 por anti-A (3,18%) e 4 por anti-B (0,67%). Nos RN em que foi detetado anti-A,B, um era do grupo A e o outro do grupo B. Este estudo é consistente com a literatura(2,18,36), que reporta um prevalência de incompatibilidade ABO entre 12 a 25% da população de grávidas, com apenas 1 a 4% a originar DHFRN. A frequência observada neste estudo é ligeiramente superior, o que poderá estar relacionado com o facto de a determinação do grupo ABO do RN não ter sido aleatória, mas direcionada para RN com características sugestivas de risco, introduzindo possível viés de seleção. Em concordância com o reportado em estudos prévios(2,3,5,8,25), todos os anticorpos anti-A, anti-B e anti-A,B foram identificados em RN de mães do grupo O. Num estudo realizado num hospital da área de Lisboa(76), a frequência de anticorpos ABO encontrado no eluado foi semelhante, embora se tenha observado uma maior proporção de anti-B, justificada pela maior



frequência de RN do grupo B nessa população (36,1% vs 8,19%). Estas diferenças poderão refletir variações populacionais regionais.

A frequência de TAD positivo observada neste estudo é de 5,69%, valor semelhante ao reportado por Dinesh D.(27), mas aproximadamente o dobro do descrito no estudo realizado por Valsami S. *et al.*(26) (2,69%), onde a maior parte dos TAD positivo era por incompatibilidade ABO (91,43%). Estas discrepâncias podem refletir diferenças nas características populacionais avaliadas, na prevalência relativa de anticorpos irregulares e nos critérios laboratoriais utilizados para a determinação do TAD.

Foram realizados no total 37 eluados, mais 3 do que as TAD positivas. Como existe alguma probabilidade de a TAD ser negativa, mesmo existindo anticorpos a sensibilizar as células, por vezes os pediatras pedem a realização do eluado(27).

A prevalência de grávidas com anticorpos anti-eritrocitários na população da ULSTS é de 1,05%. Das 800 grávidas que têm resultados, apenas 22 (2,75%) apresentaram PAI positiva. A frequência dos anticorpos detetados foi a seguinte: anti-D com 40,91% (n=9); anti-M e -S com 9,09% (n=2 cada); e anti-Fy^b, -Jk^a, -Le^a e -P1 com 4,55% (n=1 cada). Em 22,74% (n=5) dos casos, não foi possível determinar a especificidade, o que sugere que se tratava provavelmente de anticorpos da classe IgM, sem relevância clínica para a DHFRN.

A prevalência obtida é semelhante à reportada noutros países(21,22,24), como Suécia (1,3%), EUA (1,15%) e Países Baixos (1,2%), o que reforça a consistência dos resultados. No entanto, para além do anti-D, foram apenas detetados anticorpos pertencentes a sistemas *minor*, contrariamente ao perfil de anticorpos encontrado nestes estudos(21,22,24). Alguns fatores podem justificar estas diferenças:

- Dimensão da amostra: a exclusão de 130 grávidas pode ter limitado a deteção de anticorpos mais raros, dificultando a captação da diversidade observada em estudos de maior escala;
- Prática transfusional e profilática: a determinação prévia do fenótipo Rh e Kell nas mulheres em idade fértil, associada à administração de CE compatíveis, poderá ter contribuído para reduzir a aloimunização nesta população(22). Acresce que a taxa de transfusões em mulheres de idade fértil é geralmente baixa, o que também diminui a possibilidade de aloimunização;
- Menor frequência de procedimentos invasivos, como a amniocentese, que aumentam a exposição materna a antigénios fetais;
- Diferenças metodológicas entre testes laboratoriais utilizados, cuja sensibilidade pode afetar a deteção de anticorpos;



- Organização dos cuidados de saúde: o hospital da ULSTS funciona como unidade de referência regional, mas não dispõe de cuidados altamente especializados. Assim, casos mais complexos podem ser referenciados para outras instituições, reduzindo a sua representação nesta amostra.

Em conjunto, estes fatores podem ter influenciado o perfil de anticorpos observado, justificando as diferenças face a estudos internacionais(21,22,24).

Em relação ao anti-D, a introdução da profilaxia com Ig anti-D dá origem a PAI positivas após a sua administração às grávidas, não sendo possível distinguir um anti-D profilático de um anti-D imune(19,35). No entanto, neste estudo existem 3 casos em que a PAI foi positiva no segundo trimestre e negativa no terceiro, o que sugere que a positividade observada se deveu à administração da Ig anti-D. Assim, a frequência do anti-D desce para 27,26%.

Um aspeto relevante relativamente ao anti-D passivo é que este não tem capacidade para hemolisar os eritrócitos do RN, nem para provocar alterações hematológicas significativas, sendo considerado inócuo caso atravesse a placenta — situação descrita em cerca de 9% dos casos(77). Neste estudo, ocorreu em 5,23% dos RN (n=9), que não apresentaram hemólise e apresentavam valores de hemoglobina superiores a 15 g/dL. Dentre estes 9 RN, 6 mães realizaram profilaxia durante a gravidez. Nos 3 restantes, não foi possível confirmar a administração da profilaxia, contudo estas apresentavam PAI negativa no estudo do 2º trimestre, admitindo-se que os anti-D detetados no eluado sejam de origem passiva, ainda que tal não possa ser confirmado com certeza. Além disto, o baixo título dos anticorpos bem como a TAD negativa nos RN, reforça a hipótese de uma origem passiva. Apenas num dos casos existia indicação no registo clínico da grávida que o resultado positivo se deveria a Ig anti-D.

Foram detetadas 2 mães com anti-S, mas apenas um RN apresentou TAD positiva e, portanto, DHFRN. Assim, a prevalência de DHFRN por anticorpos *minor* foi de 0,17%. A mãe deste RN apresentou títulos de anti-S entre 16 e 64, o que indica valores críticos de título, colocando o RN em risco para DHFRN. No outro caso de anti-S materno, o título obtido foi de 4, um título relativamente baixo para o anticorpo em questão(49). Por esta razão, o RN não apresentou hiperbilirrubinémia, o que não levantou suspeita ao clínico e este não pediu análises ao RN para confirmar se realmente existiria DHFRN. No entanto, uma vez que a mãe apresentava este fator de risco, pelo menos a determinação do grupo sanguíneo e TAD deviam ter sido realizados, uma vez que os anticorpos anti-S podem provocar DHFRN grave e fatal(8,13,20,25,44). Em ambas as mães, esta não era a primeira gravidez, o que significa que provavelmente entraram em contato com antigénios *non-self* numa gravidez prévia e ficaram sensibilizadas com um aloanticorpo(2,3,8).



Nas mães dos 8 RN que não efetuaram TAD foram identificados os seguintes anticorpos: anti-Le^a, -M, -P1, -Jk^a, -Fy^b. Enquanto o anti-Le^a e o anti-P1 não se associem à DHFRN devido à baixa expressão destes antigénios nos eritrócitos fetais, os anti-M, -Jk^a, -Fy^b apresentam relevância clínica e necessitam de uma monitorização mais rigorosa(8,20,35). Em alguns destes casos, observa-se títulos críticos ou antecedentes sugestivos de aloimunização prévia, reforçando a necessidade de realizar TAD em todos os RN com risco potencial de DHFRN, de forma a confirmar ou excluir esta situação e a orientar a vigilância clínica adequada(5,8,9,13,25).

Em termos de risco transfusional, das 26 mulheres que realizaram transfusão, existem 17 que poderiam ter sido potencialmente aloimunizadas antes do ano de 2024 através de transfusões de CE. Destas 17, 3 não realizaram PAI durante a gravidez atual e as restantes tinham PAI negativa. Assim, podemos inferir que estas grávidas não foram aloimunizadas com as transfusões prévias de CE. A política da ULSTS em transfundir mulheres de idade fértil com CE isogrupais, ou seja, mesmo grupo ABO e Rh, incluindo D, C, c, e, E e Kell para minimizar potenciais riscos de aloimunização parece ter algum efeito(13), apesar da pequena amostra.

5.3. Profilaxia

Em relação à profilaxia das grávidas, verificou-se que em 14,08% (n=40) destas não existe qualquer registo, sendo classificadas neste estudo como não tendo efetuado a administração da profilaxia. Contudo, a ausência do acesso ao BSG impossibilitou a confirmação destes dados, podendo este facto ter introduzido um viés nos resultados. Considerando os resultados obtidos, existe uma cobertura de administração da profilaxia Ig anti-D de 85,91% durante a gravidez, o que está em concordância com um estudo publicado em 2012, no Quebec(78), com uma cobertura de administração de 85,7%. O mesmo acontece ao compararmos a cobertura de administração da Ig anti-D pós-parto que no estudo no Quebec(78) foi de 98,5% e no nosso foi de 97,67%. Ao avaliarmos as 40 grávidas que não fizeram profilaxia durante a gravidez, constatamos que 23 tiveram um RN RhD positivo, necessitando de profilaxia pós-parto.

De salientar que 244 grávidas fizeram profilaxia, contudo apenas 172 mães precisavam de profilaxia pós-parto, pois tinham incompatibilidade RhD. Assim, pode-se considerar que 29,50% (n=72) das grávidas fizeram profilaxia desnecessariamente. Este resultado levanta algumas questões relevantes. A Ig anti-D é considerada segura, mas continua a ser um derivado de plasma humano, pelo que a sua utilização deve ser reservada a situações em que existe real benefício clínico. A administração desnecessária não só representa um custo acrescido para o sistema de saúde, como também pode ter



impacto na disponibilidade deste recurso, cuja produção depende de dadores e está frequentemente sujeita a limitações(29,37). É possível que este número reflita falhas nos registos da determinação materna e/ou fetal ou a aplicação de protocolos que optam por uma abordagem mais universal, administrando profilaxia a todas as mulheres RhD negativo. Embora essa estratégia minimize o risco de falhas, conduz inevitavelmente a uma sobreutilização. Neste contexto, os resultados obtidos sublinham a importância de rever e uniformizar os procedimentos, de modo a garantir que a profilaxia é administrada apenas quando clinicamente indicada, equilibrando a eficácia preventiva com a boa gestão dos recursos disponíveis(37,79).

De salientar que a utilização de testes de genotipagem fetal através do cff DNA para determinar a presença ou ausência do *RHD* iria determinar que apenas 172 grávidas necessitariam de realizar profilaxia durante a gravidez, uma redução de 29,50%. Este resultado é concordante com outro estudo realizado no Reino Unido, que refere uma redução de 36 a 40% na aplicação da profilaxia(37,79). No entanto, a literatura aponta para a necessidade de mais estudos, tanto económicos como sociais, para averiguar a fiabilidade e credibilidade para ser usado como rastreio fetal(79).

5.4. Associações estatísticas nas variáveis clínico-laboratoriais

Pela análise inferencial, constatou-se uma associação estatisticamente significativa entre o resultado do TAD e a ocorrência de icterícia, bem como com a necessidade de fototerapia. Estes resultados reforçam a relevância do TAD como ferramenta diagnóstica e marcador de hemólise clinicamente significativa, que se traduz em manifestações neonatais que requerem intervenção terapêutica, neste caso, fototerapia(2,44). Em contrapartida, não se observaram associações estatisticamente significativas entre o resultado do TAD e a vigilância da gravidez ou a transfusão materna, o que sugere que estas variáveis não são fatores relevantes para a positividade do TAD neste estudo.

No que respeita às variáveis contínuas, os RN com TAD positivo apresentaram níveis de hemoglobina e valores de BT na segunda determinação significativamente mais baixos, em comparação com os RN com TAD negativo. Por outro lado, não se observaram diferenças estatisticamente significativas na primeira determinação da BT, nem nos valores de BD ou no tempo de hospitalização. Isto pode significar que a hemólise é mais marcada comparando com os RN com TAD negativa, devido à destruição de eritrócitos pelos anticorpos. No entanto, esta hemólise é ligeira devido ao perfil de anticorpos encontrados (anticorpos ABO maioritariamente, o que leva a um a DHFRN ligeira)(2,3,5,8,25). A fototerapia parece ter mais impacto nos RN com TAD positiva, uma vez que a BT na 2ª determinação é



mais baixa (esta é normalmente feita após o início da fototerapia, como forma de monitorização). Também pode refletir um início do tratamento mais prematuro dos RN com TAD positiva, devido a fatores de risco, o que origina valores de BT mais baixos comparativamente aos RN com TAD negativa. No entanto, é preciso ter em atenção o possível viés nos resultados.

Relativamente à incompatibilidade ABO, constatou-se uma associação estatisticamente significativa com TAD positivo, icterícia e fototerapia ($p < 0,05$ em todas), com Odds Ratio superiores a 1, confirmando o seu papel como fator de risco para a DHFRN e necessidade de tratamento. Além disso, os RN com incompatibilidade ABO apresentaram níveis médios de hemoglobina significativamente inferiores, corroborando a relevância clínica desta incompatibilidade. As restantes variáveis contínuas (BT, BD, tempo de hospitalização) não mostraram diferenças significativas.

Por fim, ao analisar as mães RhD negativo submetidas a profilaxia com Ig anti-D, não se encontraram diferenças estatisticamente significativas relativamente às variáveis estudadas (PAI, icterícia, TAD, fototerapia ou presença de anti-D no eluado). Embora se tenha observado uma tendência para menor risco de TAD positivo e de necessidade de fototerapia entre os filhos de mães que receberam profilaxia, estes resultados não atingiram significância estatística, podendo refletir o impacto protetor da profilaxia, mas também limitações do tamanho amostral.

5.5. Sugestões de melhoria

Durante a recolha de dados, foram identificadas diversas situações com potencial impacto no acompanhamento materno-fetal:

- Grupo sanguíneo materno – em 5 casos, o grupo sanguíneo da mãe estava incorretamente registado no processo clínico, levando à administração indevida de Ig anti-D em 3 situações;
- Grupo sanguíneo materno no processo do RN – em 8 casos, o grupo sanguíneo da mãe estava errado ou incompleto no processo clínico do RN, o que poderia comprometer a vigilância de complicações como hiperbilirrubinémia;
- Grupo sanguíneo do RN – em 2 casos, o RN foi registado como RhD negativo, quando era positivo. Apesar disso, a profilaxia materna foi corretamente administrada;
- Idade gestacional – em 7 processos do RN, não constava a idade gestacional ao nascimento, ou o registo encontrava-se incorreto.

Estes erros poderiam ter sido evitados com uma maior articulação entre os hospitais, centros de saúde e setor privado, uma vez que parte dos resultados laboratoriais (grupo sanguíneo e PAI) não estão diretamente disponíveis no sistema informático do Sistema Nacional de Saúde, favorecendo falhas de



transcrição no BSG e atrasos na monitorização clínica. A criação de um sistema informático, ou então um BSG digital, partilhado entre todos os profissionais de saúde envolvidos no processo de uma gravidez, seria uma medida eficaz para assegurar registos fidedignos e cuidados materno-fetais de maior qualidade.

Durante o decurso da recolha de dados, foi ainda identificada inconsistência na definição de gestação e paridade em pelo menos 10 casos, incluindo omissão de abortos prévios e discrepâncias em gestações gemelares. Este problema não é exclusivo da ULSTS, refletindo uma falta de uniformização internacional. A variabilidade e inconsistência existentes nas definições de paridade entre diferentes dicionários, textos de referência, orientações e entre profissionais de saúde constitui um fator de risco acrescido, dado que a paridade é uma variável importante em várias ferramentas de avaliação de risco na gravidez, nomeadamente para tromboembolismo venoso e hemorragia pós-parto. Erros nesta definição podem originar tanto subtratamento, como intervenções clínicas desnecessárias. A problemática torna-se ainda mais evidente nas gestações múltiplas, em que persiste a divergência entre considerar cada nascimento individualmente ou o evento de parto como um todo(80).

Dada a sua relevância clínica, é fundamental que entidades nacionais e internacionais desenvolvam e adotem uma definição padronizada. Uma definição clara e consensual promoveria a precisão na comunicação clínica, aumentaria a segurança na tomada de decisão e reduziria a probabilidade de intervenções desnecessárias ou omissões de tratamento, contribuindo assim para a melhoria da qualidade e da segurança dos cuidados materno-fetais(80).

5.6. Limitações do estudo e perspetivas futuras

Este estudo apresenta algumas limitações que importa considerar na interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, trata-se de uma análise restrita à população acompanhada na ULSTS, pelo que não é possível extrapolar diretamente os achados para a totalidade da população portuguesa e pode não ser completamente representativa da população alvo. Acresce que parte da informação utilizada dependeu de registos incompletos, uma vez que nem todas as mães foram seguidas na ULSTS, o que pode ter introduzido viés nos dados recolhidos. A ausência de acesso ao BSG impossibilitou a confirmação de alguns resultados, nomeadamente o grupo sanguíneo e a administração da profilaxia, limitando a robustez da análise. Por fim, a exclusão dos partos gemelares e dos pré-termos com idade gestacional inferior a 35 semanas poderá ter conduzido a uma subestimação da gravidade de alguns casos, nomeadamente os de maior complexidade clínica.



Este estudo teria beneficiado com a recolha sistemática dos valores de BT ao longo do internamento do RN, em função das horas de vida e da realização de fototerapia, assim como com a inclusão dos resultados da BTc. A caracterização da nacionalidade materna e do grupo sanguíneo paterno constituiria igualmente informação relevante para a análise, uma vez que se pode verificar uma alteração da frequência de grupos sanguíneos ABO a nível global(81). Além disso, seria pertinente desenvolver um estudo dirigido à avaliação da taxa de reinternamento por hiperbilirrubinémia, permitindo aferir se as práticas clínicas atualmente em vigor são eficazes na prevenção de complicações.

Outra limitação verificada é o facto de não ter sido possível encontrar nenhum estudo semelhante que permita comparar a população constituída por RN e suas respetivas mães, com o historial obstétrico e parâmetros realizados no RN durante o internamento, como o TAD, BT e Hg, impossibilitando a comparação de todas as variáveis em estudo.

No futuro, será fundamental avançar para a implementação de um rastreio universal de anticorpos irregulares, de modo a garantir uma deteção precoce e abrangente de situações de risco. Paralelamente, a utilização sistemática de técnicas moleculares, nomeadamente através do uso de cff DNA para genotipagem fetal não invasiva, permitirá uma abordagem mais precisa e personalizada(37). A realização de estudos multicêntricos em Portugal constituiria uma oportunidade para comparar resultados entre diferentes contextos clínicos e otimizar práticas clínicas. Será igualmente importante desenvolver estudos sobre o impacto clínico a longo prazo nos RN afetados, de forma a compreender melhor as consequências destas patologias e a eficácia das estratégias de prevenção e tratamento.

No domínio da deteção de anticorpos, é importante investir na evolução de plataformas analíticas com maior sensibilidade e especificidade, associada a uma vigilância sistemática após transfusão ou parto, de modo a identificar precocemente novas aloimunizações.

Uma vertente importante seria a criação de registos locais e regionais, ou até mesmo uma base de dados nacional com o grupo ABO e Rh e de anticorpos, bem como a utilização rotineira de cartões de identificação, garantindo o acesso imediato desta informação em diferentes contextos clínicos.

6. Conclusão

A DHFRN constitui um exemplo paradigmático do impacto das medidas preventivas e da inovação tecnológica em medicina perinatal. A profilaxia com Ig anti-D permitiu reduzir a mortalidade associada, mas a ocorrência de casos relacionados com outros aloanticorpos mantém a necessidade de rastreio universal, vigilância rigorosa e políticas transfusionais adequadas. O desenvolvimento de métodos



diagnósticos não invasivos, como a genotipagem fetal por cff DNA e o doppler da ACM, melhorou a estratificação de risco e diminuiu a necessidade de procedimentos invasivos.

Do ponto de vista terapêutico, a fototerapia, a IVIG e as TIU consolidaram-se como estratégias essenciais para prevenir complicações graves. Os resultados deste estudo reforçam a importância do acompanhamento sistemático da grávida, com determinação do grupo ABO e RhD e PAI, permitindo identificar mulheres com maior risco de terem RN suscetíveis ao desenvolvimento de DHFRN; e monitorização imunohematológica neonatal, incluindo o TAD, garantindo deteção precoce e vigilância adequada, independentemente de se manifestarem ou não como DHFRN, e contribui para a melhoria contínua da qualidade dos cuidados prestados à grávida e ao RN.

A prevenção da aloimunização materna permanece prioridade, justificando o desenvolvimento de novas opções de profilaxia dirigidas não apenas ao antigénio D, bem como aprofundar o estudo de estratégias para prevenir a aloimunização eritrocitária materna primária contra o RhD e outros antigénios dos grupos sanguíneos, bem como formas de mitigar os riscos associados à presença de aloanticorpos eritrocitários maternos já existentes. Além disso, a hiperbilirrubinémia, condição neonatal mais comum a necessitar de intervenção, continua a exigir investigação em terapias alternativas, como metaloporfirinas, e no futuro poderão ser explorados métodos inovadores, incluindo a utilização de câmaras de telemóveis para deteção precoce de icterícia.



7. Referências Bibliográficas

1. George FHM. Exames laboratoriais na Gravidez de Baixo Risco. Norma da Direção-Geral da Saúde. 2013;37:1–4.
2. Baptista M, Nabais I, Carvalhosa G, Palaré MJ, Matono J, Cohen Á. Doença Hemolítica do Feto e Recém-nascido [Internet]. Vol. 1, Sociedade Portuguesa de Neonatologia. 2014. Available from: http://www.lusoneonatologia.com/site/upload/consensos/2014-D_Hemolitica.pdf
3. Roberts IAG. The changing face of haemolytic disease of the newborn. Vol. 84, Early Human Development. London: Elsevier Ireland Ltd.; 2008. p. 515–23.
4. McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 24th ed. Elsevier; 2022.
5. Turgeon ML. Immunology and Serology in Laboratory Medicine. 5ª Edição. Elsevir; 2014.
6. Mendonça C. Educa+Brasil. 2018 [cited 2025 Jun 21]. Anticorpos. Available from: <https://www.educamaisbrasil.com.br/enem/biologia/anticorpos>
7. Abbas A k., Lichtman AH, Pillai S. Imunologia Celular e Molecular – Tradução da 9ª Edição. Elsevier; 2020.
8. Delaney M, Matthews DC. Hemolytic disease of the fetus and newborn: managing the mother, fetus and newborn. Am Soc Hematol. 2015;(1):146–51.
9. de Haas M, Thurik FF, Koelewijn JM, van der Schoot CE. Haemolytic disease of the fetus and newborn. Vol. 109, Vox Sanguinis. International Society of Blood Transfusion; 2015. p. 99–113.
10. Iyer YS, Kulkarni S V., Gupte SC. Distribution of IgG subtypes in maternal anti-D sera and their prognostic value in Rh haemolytic disease of the new-born. Acta Haematol. 1992;88(2–3):78–81.
11. Quintas C, Silva A. Icterícia Neonatal – Avaliação e tratamento no recém-nascido de termo e pré-termo. Soc Port Neonatol [Internet]. 2013; Available from: https://www.spneonatologia.pt/wp-content/uploads/2016/11/2013-Ictericia_neonatal.pdf
12. AJE. Hemolytic Disorders of the Newborn, Current Methods of Diagnosis and Treatment: A Review Study. Hematol Blood Transfus Disord. 2016;3(1):1–18.
13. Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, Katz LM, Schwartz J (Yossi). Technical Manual. 21st ed. AABB; 2023.
14. de Haas M, Thurik FF, Koelewijn JM, van der Schoot CE. Haemolytic disease of the fetus and newborn. Vox Sang. 2015;109(2):99–113.
15. International Society of Blood Transfusion [Internet]. Table of blood group systems.
16. Nandyal RR. Hemolytic Disease of the Newborn. J Hematol Thromboembolic Dis [Internet].



- 2015;3(2):1–3. Available from: <http://books.google.com/books?id=aJzMGECACAAJ&pgis=1>
17. Lança ASF. Isoimunização Rh (D) e Doença Hemolítica do Feto e Recém-Nascido. 2015;(D).
 18. Wagle S, Deshpande PG. Hemolytic Disease of Newborn [Internet]. 2024 [cited 2025 Apr 30]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/974349-overview>
 19. Direcção-Geral da Saúde. Profilaxia da isoimunização Rh. Circ Norm [Internet]. 2007;(2):497–500. Available from: <https://www.dgs.pt/normas-orientacoes-e-informacoes/normas-e-circulares-normativas.aspx?cachecontrol=1707010190157>
 20. Minuk L, Clarke G, Lieberman L. Approach to red blood cell antibody testing during pregnancy. *Can Fam Physician*. 2020 Jul;66:491–8.
 21. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet Gynecol*. 1997;89(2):272–5.
 22. Koelewijn JM. Detection and prevention of pregnancy immunisation: the OPZI study [Internet]. [The Netherlands]: University of Amsterdam; 2009. Available from: <https://dare.uva.nl>
 23. Rodrigues MM de O, Mattos D, Almeida S, Fiegenbaum M. Hemolytic disease of the fetus and newborn—a perspective of immunohematology. *Hematol Transfus Cell Ther* [Internet]. 2024;46:S246–57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.04.122>
 24. Fan J, Lee BK, Wikman AT, Johansson S, Reilly M. Associations of Rhesus and non-Rhesus maternal red blood cell alloimmunization with stillbirth and preterm birth. *Int J Epidemiol*. 2014;43(4):1123–31.
 25. Oliveira Teixeira AB, Seara Sevivas TS, Ribeiro Dias da Costa S de S. Doença Hemolítica do Feto e do Recém-Nascido, a sua relação com os grupos sanguíneos minor e abordagem prática. 2023.
 26. Valsami S, Politou M, Boutsikou T, Briana D, Papatesta M, Malamitsi-Puchner A. Importance of Direct Antiglobulin Test (DAT) in Cord Blood: Causes of DAT (+) in a Cohort Study. *Pediatr Neonatol*. 2015;56(4):256–60.
 27. Dinesh D. Review of positive direct antiglobulin tests found on cord blood sampling. *J Paediatr Child Health*. 2005;41(9–10):504–7.
 28. Duran JA, Chabert T, Rodrigues F, Pestana D. Distribuição Dos Grupos Sanguíneos Na População Portuguesa. *ABO - Rev Med Transfusional*. 2007;29:5–17.
 29. Koelewijn JM, De Haas M, Vrijkotte TGM, Bonsel GJ, Van Der Schoot CE. One single dose of 200 µg of antenatal RhIG halves the risk of anti-D immunization and hemolytic disease of the fetus and newborn in the next pregnancy. *Transfus Pract*. 2008;48(8):1721–9.
 30. Özmeral Odabaşı I, Sinan U, Bas EK, Bulbul A, Unal ET, Acar DB, et al. Hemolytic Anemia Due To



Anti-c Incompability In The Newborn Period: A Case Report. Vol. 54, The Medical Bulletin of Sisli Etfal Hospital. 2019. p. 502–4.

31. Slootweg YM, Lindenburt IT, Koelewijn JM, Van Kamp IL, Oepkes D, De Haas M. Predicting anti-Kell-mediated hemolytic disease of the fetus and newborn: diagnostic accuracy of laboratory management. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2018;219(4):393.e1–393.e8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.07.020>
32. Shah S, Mathew AM, Bhatnagar N, Shah M, Patel T, Thakkar T. Maternal allo anti-M antibody-induced hemolytic disease of newborn. *Asian J Transfus Sci*. 2022;16:144–7.
33. Golshahi F, Sharbaf FR, Shirazi M, Sahebdel B, Golshahi J, Dadoun S, et al. Severe fetal hemolytic disease due to anti-M alloimmunization: A case report and literature review. *Case Reports Women's Heal* [Internet]. 2024;42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.crwh.2024.e00620>
34. Rahimi-Levene N, Chezar J, Yahalom V, Abed-Alenbi A, Akira L, Arbov L, et al. Red blood cell alloimmunization prevalence and hemolytic disease of the fetus and newborn in Israel: A retrospective study. *Transfusion*. 2020;60(11):2684–90.
35. The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists. Guidelines for Blood Grouping and Antibody Screening in the Antenatal and Perinatal Setting. *Aust New Zeal Soc Blood Transfus Ltd*. 2007;(March):1–24.
36. Myle AK, Al-Khattabi GH. Hemolytic Disease of the Newborn: A Review of Current Trends and Prospects. *Pediatr Heal Med Ther*. 2021;Volume 12:491–8.
37. Daniels G, Finning K, Martin P, Massey E. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal blood group phenotypes: current practice and future prospects. *Prenat Diagn*. 2009;29:101–7.
38. Fasano RM. Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2016;21(1):28–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2015.10.006>
39. Wagle S, Deshpande PG. *emedicine - Medscape*. 2024 [cited 2025 Aug 8]. Hemolytic Disease of the Newborn. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/974349-overview>
40. Gadelha-Costa A, Spara-Gadelha P, Mauad-Filho F, Gadelha EB. A velocidade sistólica máxima aumenta na artéria cerebral média de fetos normais da 22. a a 38. a semana de gestação. *Acta Med Port*. 2006;19(2):105–8.
41. Guedes B, Vasconcellos G, Fraga G, Pinto R. Anemia Neonatal – Política Transfusional. *Consensos Em Neonatol* [Internet]. 2004;Jornadas d:135–7. Available from:



- https://www.spneonatologia.pt/wp-content/uploads/2016/11/201107201730-consensos_neonatologia_2004
42. Bio-Rad Laboratories. ID-DC Screening I [Internet]. [cited 2025 Aug 27]. Available from: <https://bio-rad.com.br/imunohematologia/produtos/id-dc-screening-i-igg-iga-igm-c3c-c3d-ctl>
 43. van 't Oever RM, Zwiers C, de Winter D, de Haas M, Oepkes D, Lopriore E, et al. Identification and management of fetal anemia due to hemolytic disease. *Expert Rev Hematol* [Internet]. 2022;15(11):987–98. Available from: <https://doi.org/10.1080/17474086.2022.2138853>
 44. Kemper AR, Newman TB, Slaughter JL, Maisels MJ, Watchko JF, Downs SM, et al. Clinical Practice Guideline Revision: Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. *Pediatrics* [Internet]. 2022 Sep;150(3):2022058859. Available from: http://publications.aap.org/pediatrics/article-pdf/doi/10.1542/peds.2022-058859/1346778/peds_2022058859.pdf
 45. Owaymir AD Al, Aseeri RMA, Albariqi MAA, Alalyani MS, Almansaf JAA, Albalwi ABK, et al. An Overview on Diagnosis and Management of Neonatal Jaundice. *Arch Pharm Pract*. 2021;12(2):99–102.
 46. Hall V, Vadakekut ES, Avulakunta ID. StatPearls. 2025 [cited 2025 Sep 1]. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557423>
 47. Gupta GK, Balbuena-Merle R, Hendrickson JE, Tormey CA. Immunohematologic aspects of alloimmunization and alloantibody detection: A focus on pregnancy and hemolytic disease of the fetus and newborn. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2020;59(5):102946. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2020.102946>
 48. Daniels G. *Human Blood Groups*. 2^a Edition. Blackwell Science: Oxford; 2002.
 49. Gooch A, Parker J, Wray J, Qureshi H, Stainsby D. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. *Transfus Med*. 2007;17(4):252–62.
 50. Direção-Geral da Saúde (DGS). Boletim de Saúde da Grávida. *Circ Inf* [Internet]. 2001;(16/DSMIA):1–3. Available from: http://gid.min-saude.pt/publicacoes/c_dgs/Circular_Normativa_13_2008_DGS_Referenciacao_de_Doentes_Insuficientes_Renais_para_Medicina_Preventiva.pdf
 51. Doyle B, Quigley J, Lambert M, Crumlish J, Walsh C, McParland P, et al. A correlation between severe haemolytic disease of the fetus and newborn and maternal ABO blood group. *Transfus Med*. 2014;24(4):239–43.



52. Schonewille H, Klumper FJCM, van de Watering LMG, Kanhai HHH, Brand A. High additional maternal red cell alloimmunization after Rhesus- and K-matched intrauterine intravascular transfusions for hemolytic disease of the fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(2):143.e1-143.e6.
53. Doyle B, Quigley J, Lambert M, Crumlish J, Walsh C, Adshead S, et al. Red cell alloimmunisation following intrauterine transfusion and the feasibility of providing extended phenotype-matched red cell units. *Transfus Med.* 2014;24(5):311-5.
54. Barros AC, Dias AL, Ferraz C, Costa E, Vasconcellos G, Soares H, et al. Anemia da prematuridade. *Grup Recom em Neonatol – Soc Port Neonatol da SPP.* 2025;1-16.
55. Anemia no período neonatal. *Soc Port Neonatol.* 2025;1-21.
56. Mitra S, Rennie J. Neonatal jaundice: Aetiology, diagnosis and treatment. *Br J Hosp Med.* 2017;78(12):699-704.
57. Mimura K, Endo M, Takahashi A, Doi Y, Sakuragi M, Kiyokawa T, et al. Successful management of fetal hemolytic disease due to strong anti-Rh17 with plasma exchange and intrauterine transfusion in a woman with the D-- phenotype. *Int J Hematol [Internet].* 2019;111(1):149-54. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12185-019-02735-6>
58. Al-lawama M, Badran E, Elrimawi A, Mustafa AB, Alkhatib H. Intravenous Immunoglobulins as Adjunct Treatment to Phototherapy in Isoimmune Hemolytic Disease of the Newborn: A Retrospective Case-Control Study. *J Clin Med Res.* 2019;11(11):760-3.
59. Steiner LA, Bizzarro MJ, Ehrenkranz RA, Gallagher PG. A decline in the frequency of neonatal exchange transfusions and its effect on exchange-related morbidity and mortality. *Pediatrics.* 2007;120(1):27-32.
60. Martinez JC, Garcia HO, Otheguy LE, Drummond GS, Kappas A. Control of Severe Hyperbilirubinemia in Full-term Newborns With the Inhibitor of Bilirubin Production Sn-Mesoporphyrin. *Pediatrics.* 1999;103(1):1-5.
61. SNS24. Prematuridade [Internet]. 2025 [cited 2025 Aug 23]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/pt/tema/saude-da-crianca/prematuridade>
62. SNS24. Guia para grávidas [Internet]. 2025 [cited 2025 Aug 23]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/pt/tema/prevencao-e-cuidados-de-saude/guia-para-gravidas>
63. Mendis S. Patient. 2024 [cited 2025 Aug 23]. Gravity and parity definitions – Implications in risk assessment. Available from: <https://patient.info/doctor/obstetrics/gravidity-and-parity-definitions-and-their-implications-in-risk-assessment>
64. de Winter DP, Kaminski A, Tjoa ML, Oepkes D, Lopriore E. Hemolytic disease of the fetus and



- newborn: rapid review of postnatal care and outcomes. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2023 Oct 18;23.
65. Instituto Nacional de Estatística I. Estatísticas Demográficas 2022 [Internet]. 2023. Available from: www.ine.pt,
66. Pordata. Idade média das mulheres ao nascimento de um filho e do 1.º filho [Internet]. 2025 [cited 2025 Sep 2]. Available from: <https://www.pordata.pt/pt/estatisticas/populacao/nascimentos-e-fecundidade/idade-media-das-mulheres-ao-nascimento-de-um-filho>
67. Sarathy L, Chou JH, Romano-Clarke G, Darci KA, Lerou PH. Bilirubin Measurement and Phototherapy Use After the AAP 2022 Newborn Hyperbilirubinemia Guideline. *Pediatrics*. 2024;153(4).
68. Ventura MT, Gomes MDC. Análise descritiva de parturientes e recém-nascidos na Maternidade Hospital Dona Estefânia entre 2005 e 2008. *Acta Med Port*. 2010;23(5):793–802.
69. Marques B, Palha F, Moreira E, Valente S, Abrantes M, Saldanha J. Ser Mãe Depois dos 35 Anos: Será Diferente? *Acta Med Port*. 2017;30(9):615–22.
70. Carolan M, Frankowska D. Advanced maternal age and adverse perinatal outcome: A review of the evidence. *Midwifery* [Internet]. 2011;27(6):793–801. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.midw.2010.07.006>
71. Lampinen R, Vehviläinen-Julkunen K, Kankkunen P. A Review of Pregnancy in Women Over 35 Years of Age. *Open Nurs J*. 2009;3:33–8.
72. Almeida S, Rocha J da S. Ginepedia. 2024 [cited 2025 Sep 20]. Vigilância da gravidez de baixo risco. Available from: <https://www.ginepedia.org/artigo/vigilancia-da-gravidez-de-baixo-risco>
73. Devkota BP. Medscape. 2019 [cited 2025 Aug 27]. Bilirubin. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/2074068-overview#a1?form=fpf>
74. Sun Y, Petersen JP, Wu C, Dreier JW, Maimburg RD, Henriksen TB, et al. Neonatal Phototherapy and Clinical Characteristics: The Danish National Patient Registry 2000–2016. *Clin Epidemiol*. 2023;15(January):123–36.
75. Bhutani VK. Editorial: Building evidence to manage newborn jaundice worldwide. *Indian J Pediatr*. 2012;79(2):253–5.
76. Cardoso T. Recém-nascidos com teste de antiglobulina humana direto positivo que desenvolveram doença hemolítica - prevalência no Hospital prof. Doutor Fernando da Fonseca,



EPE. 2023.

77. Maayan-Metzger A, Schwartz T, Sulkes J, Merlob P. Maternal anti-D prophylaxis during pregnancy does not cause neonatal haemolysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2001;84(1):60–3.
78. Koby L, Grunbaum A, Benjamin A, Koby R, Abenhaim HA. Anti-D in Rh(D)-Negative Pregnant Women: Are At-Risk Pregnancies and Deliveries Receiving Appropriate Prophylaxis? *J Obstet Gynaecol Canada* [Internet]. 2012;34(5):429–35. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1701-2163\(16\)35239-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1701-2163(16)35239-2)
79. Daniels G, Finning K, Martin P, Soothill P. Fetal blood group genotyping from DNA from maternal plasma: An important advance in the management and prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang.* 2004;87(4):225–32.
80. Maraj H, Kumari S. No clarity on the definition of parity: A survey accessing interpretation of the word parity amongst obstetricians and midwives and a literature review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2021;263:15–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.05.042>
81. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens. 2005.
82. Dungan JS. Manual MSD. 2024 [cited 2025 Aug 12]. Exames pré-natais para distúrbios genéticos e defeitos congênitos. Available from: <https://www.msdmanuals.com/pt/casa/problemas-de-saúde-feminina/deteccão-de-distúrbios-genéticos-antes-e-durante-a-gravidez/exames-pré-natais-para-distúrbios-genéticos-e-defeitos-congênitos>



ANEXOS

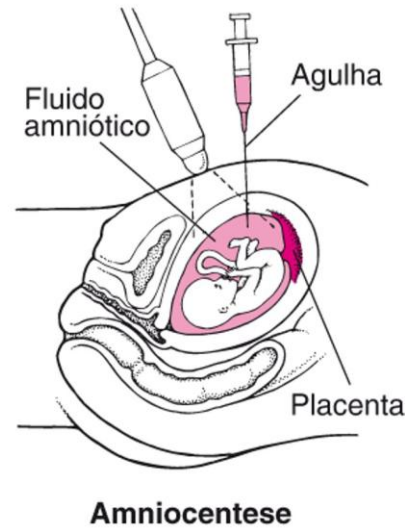
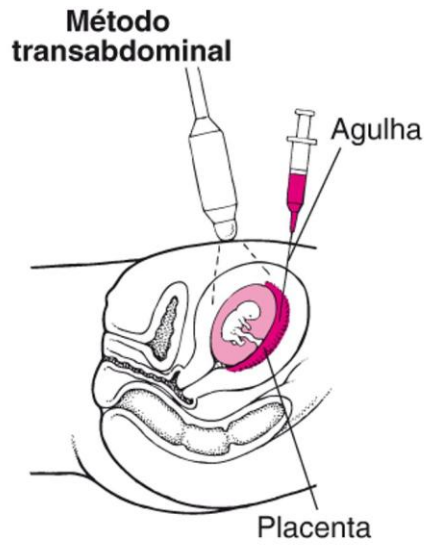
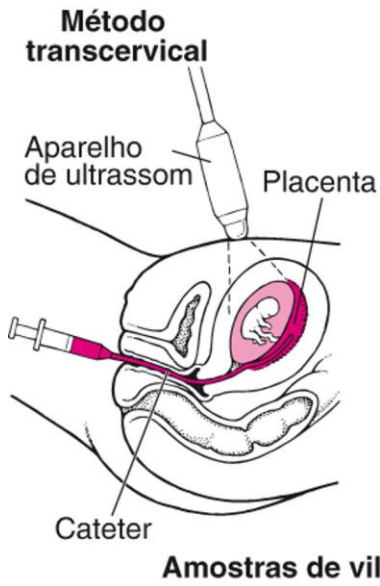


Anexo I – Testes laboratoriais na gravidez de baixo risco. Fonte: George FHM. Exames laboratoriais na Gravidez de Baixo Risco. Norma da Direção-Geral da Saúde(1).

1º Trimestre	
<13 semanas	
1. Citologia cervical – Conforme recomendações do Plano Nacional de Prevenção e Controlo das Doenças Oncológicas 2007-2010 para as mulheres não grávidas	
2. Tipagem ABO e fator Rh 3. Pesquisa de aglutininas irregulares (teste de Coombs indireto) 4. Hemograma completo 5. Glicémia em jejum 6. VDRL 7. Serologia Rubéola - IgG e IgM (se desconhecido ou não imune em consulta preconcepcional)	8. Serologia Toxoplasmose - IgG e IgM (se desconhecido ou não imune em consulta preconcepcional) 9. Ac VIH 1 e 2 10. AgHBs 11. Urocultura com eventual TSA
2º Trimestre	
18-20 semanas	
12. Serologia Rubéola (IgG e IgM, nas mulheres não imunes)	
24-28 semanas	
13. Hemograma completo 14. PTGO c/ 75g (colheita às 0h, 1h e 2horas) 15. Serologia Toxoplasmose - IgG e IgM (não imunes)	16. Urocultura com eventual TSA 17. Pesquisa de aglutininas irregulares (Coombs indireto) nas mulheres Rh negativo ⁽¹⁾
⁽¹⁾ Nas 4 semanas antes da administração da imunoglobulina anti-D	
3º Trimestre	
32 -34 Semanas	
18. Hemograma completo 19. VDRL 20. Serologia Toxoplasmose - IgG e IgM (nas mulheres não imunes) 21. Ac. VIH 1 e 2	22. AgHBs (nas mulheres não vacinadas e não imunes no 1º trimestre) 23. Urocultura com eventual TSA
35-37 Semanas	
24. Colheita (1/3 externo da vagina e ano-retal) para pesquisa de <i>streptococcus</i> β hemolítico do grupo B	



Anexo II – Exames invasivos para diagnóstico pré-natal. Fonte: Dungan JS. Manual MSD. 2024 [cited 2025 Aug 12]. Exames pré-natais para distúrbios genéticos e defeitos congênitos(82).





Anexo III – Algoritmo para a gestão clínica de gravidezes não aloimunizadas, aloimunizadas para o antígeno D e/ou para outros antígenos. Fonte: Fasano RM. Hemolytic disease of the fetus and newborn in the molecular era(38).

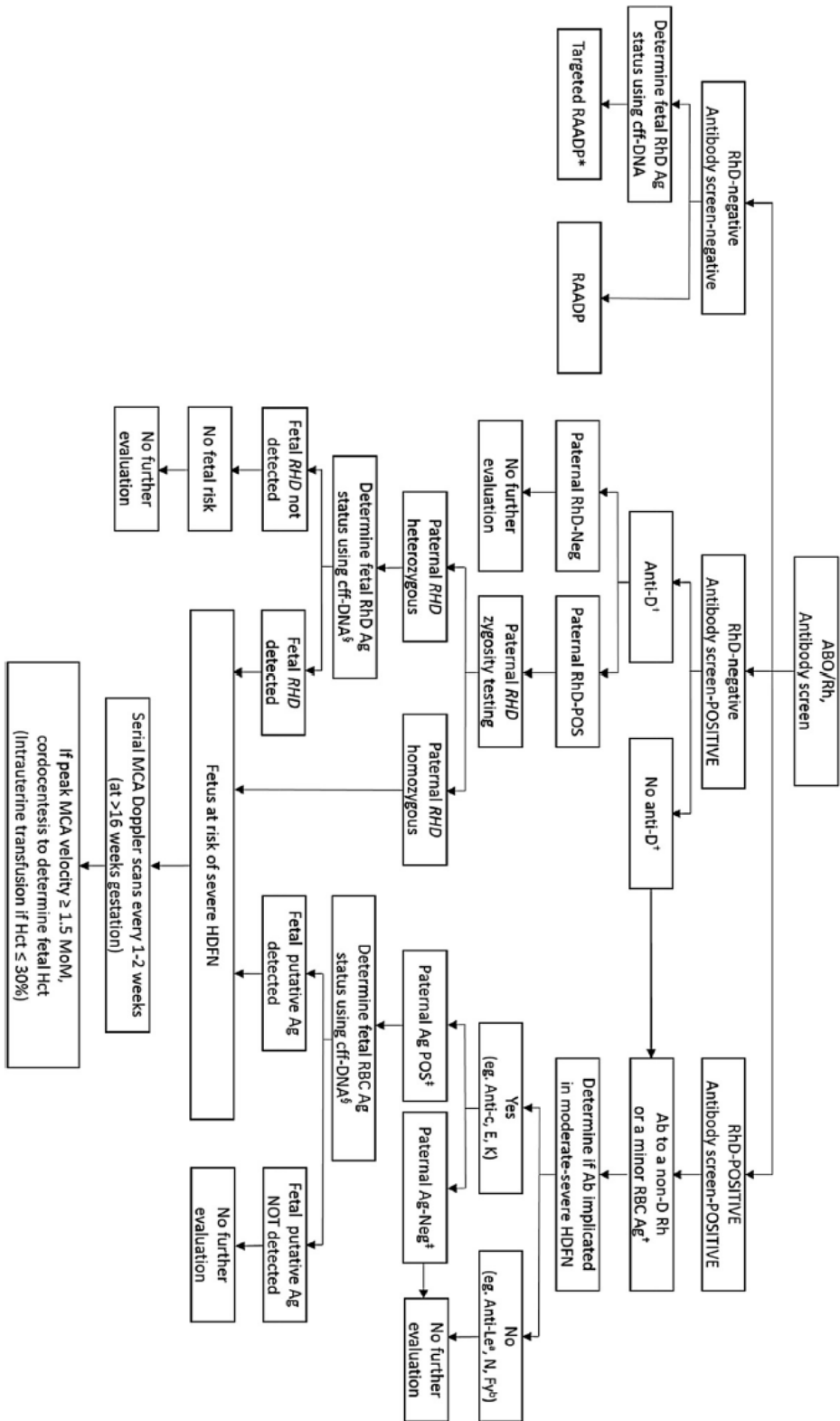


Fig. 2. Algorithm for the clinical management of non-alloimmunized RhD-negative, and alloimmunized RhD and non-RhD pregnancies. *Targeted RAADP is a proposed alternative option to universal RAADP for all RhD-negative pregnant women. ¹In addition to RBC antibody identification, antibody titers are determined and repeated every four weeks until 24 weeks of gestation, and every two weeks thereafter when a fetus is determined at risk. ²Paternal antigen detection and zygosity testing can be done either serologically or molecularly for most non-D Rh and minor RBC antigens. ³Non-invasive fetal molecular diagnostic approaches are preferred to invasive methods which include: amniocentesis, cordocentesis, or chorionic villus sampling; Cf-DNA, cell-free fetal DNA; RAADP, routine antenatal anti-D prophylaxis; RBC, red blood cell; HDFN, hemolytic disease of the fetus and newborn; MCA, middle cerebral artery; MoM, multiples of the median; Ag, antigen; Hct, hematocrit [9,11].



Anexo IV – Vantagens e desvantagens dos diferentes métodos de diagnóstico laboratorial, clínico e opções de tratamento pré-natal. Fonte: van 't Oever RM, et al. Identification and management of fetal anemia due to hemolytic disease(43).

		Advantages	Disadvantages
Laboratory diagnostics	<i>Titers</i>	Highly adopted worldwide Simple techniques	Low specificity
	<i>Bioassays</i>	Increases predictive value compared to titers alone	Limited adopted due to complex techniques or limited added value
	<i>Fetal antigen typing PCR</i>	Non-invasive High sensitivity and specificity	Requires high level laboratory knowledge and technical infrastructure
Clinical diagnostics	<i>PSV-MCA Doppler</i>	Non-invasive Very low false negative rate	Highly skilled sonography required False positive rate
	<i>Fetal blood sampling</i>	Accurate Hb evaluation	Invasive method associated with risks
Antenatal therapies	<i>Immunosuppressants</i>	Effect not proven	Effect not proven Possible harmful effects Use in alloimmunized pregnancies not recommended
	<i>IVIg</i>	Early started therapy delays onset need for IUTs	High costs Adverse maternal side effects
	<i>Therapeutic plasma exchange</i>	Early started therapy may delay onset need for IUTs	Evidence based on limited case series
	<i>Intrauterine transfusions</i>	Proven therapy	Requires experienced staff and high quality equipment
	<i>Preterm delivery</i>	May reduce antibody load in neonate	Preterm delivery gives neonatal related possible severe risks

**Anexo V – Guidelines para a transfusão de eritrócitos em RN com menos de 4 meses de idade(13)**

-
1. Hematocrit <20% with low reticulocyte count and symptomatic anemia (tachycardia, tachypnea, poor feeding).

 2. Hematocrit <30% and any of the following:
 - a. On <35% oxygen hood.

 - b. On oxygen by nasal cannula.

 - c. On continuous positive airway pressure and/or intermittent mandatory ventilation or mechanical ventilation with mean airway pressure <6 cm of water.

 - d. With significant tachycardia or tachypnea (heart rate >180 beats/minute for 24 hours, respiratory rate >80 beats/minute for 24 hours).

 - e. With significant apnea or bradycardia (>6 episodes in 12 hours or 2 episodes in 24 hours requiring bag and mask ventilation while receiving therapeutic doses of methylxanthines).

 - f. With low weight gain (<10 g/day observed over 4 days while receiving ≥ 100 kcal/kg/day).

 3. Hematocrit <35% and either of the following:
 - a. On >35% oxygen hood.

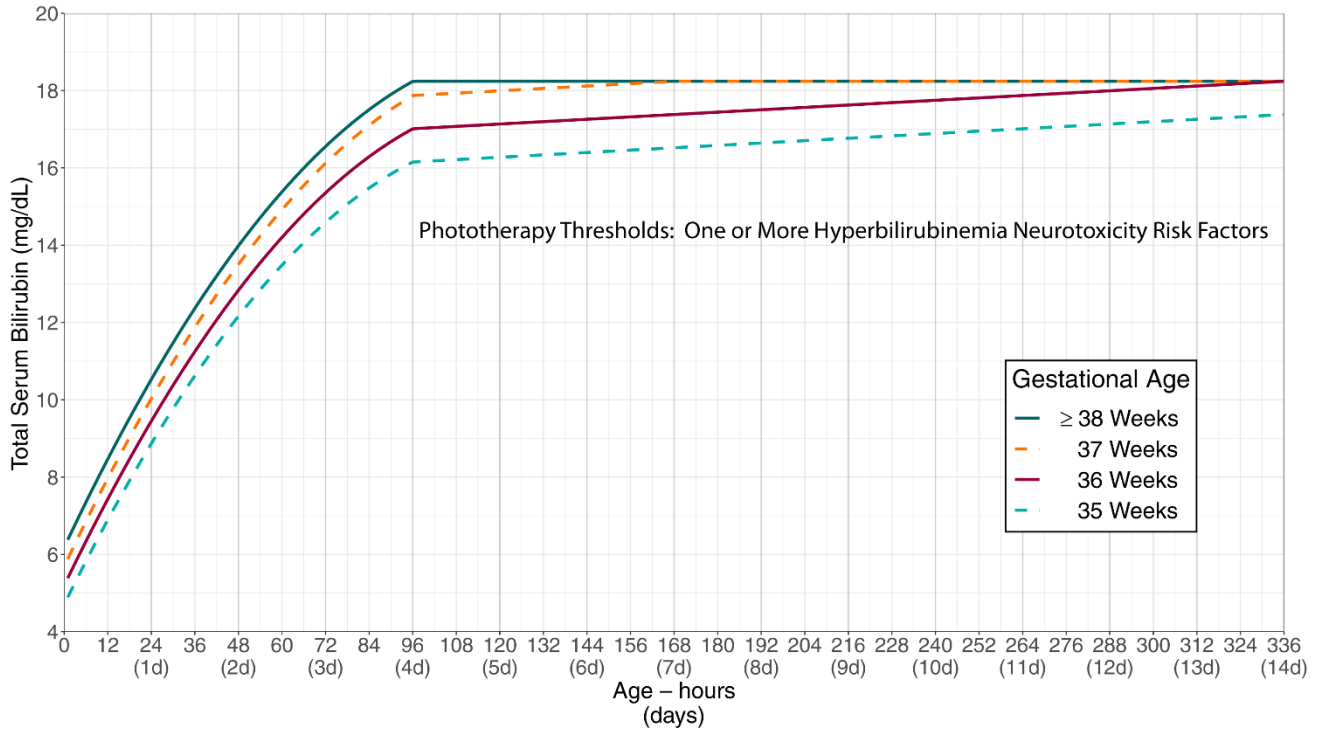
 - b. On continuous positive airway pressure/intermittent mandatory ventilation with mean airway pressure $\geq 6-8$ cm of water.

 4. Hematocrit <45% and either of the following:
 - a. On extracorporeal membrane oxygenation.

 - b. With congenital cyanotic heart disease.
-

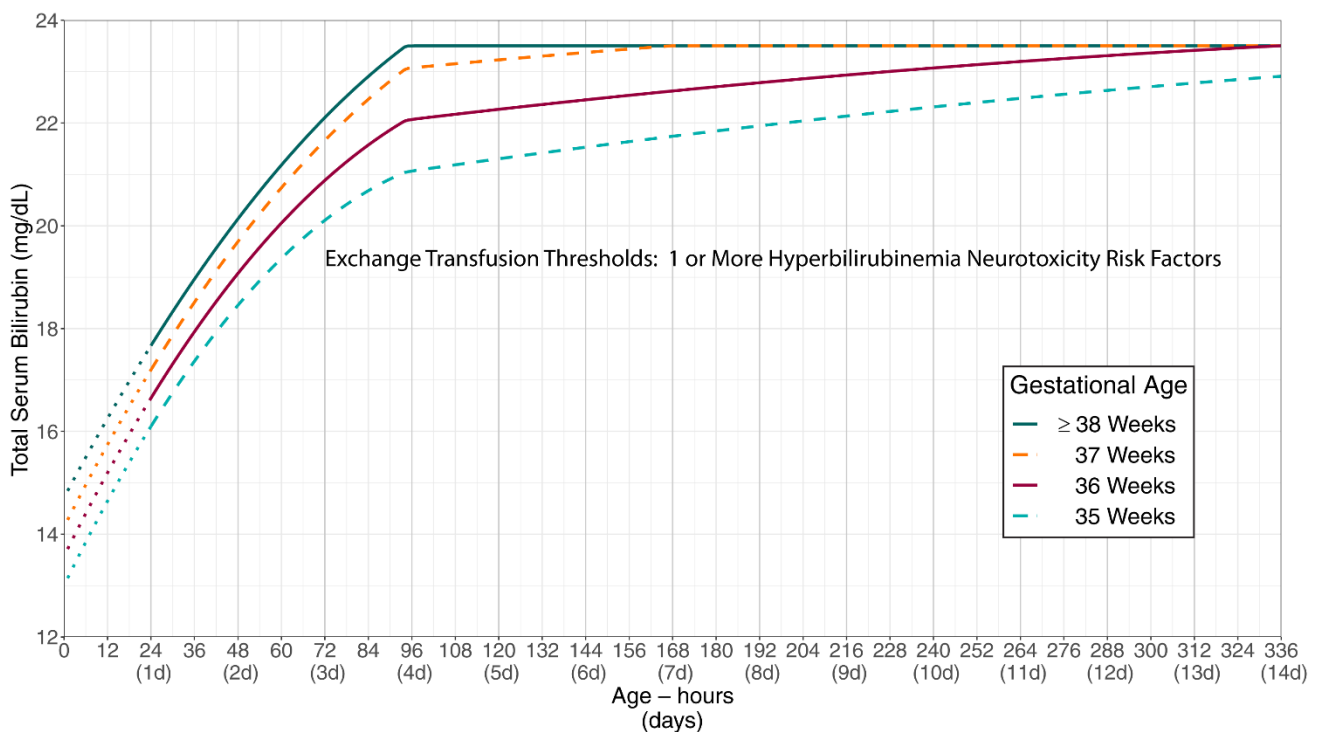
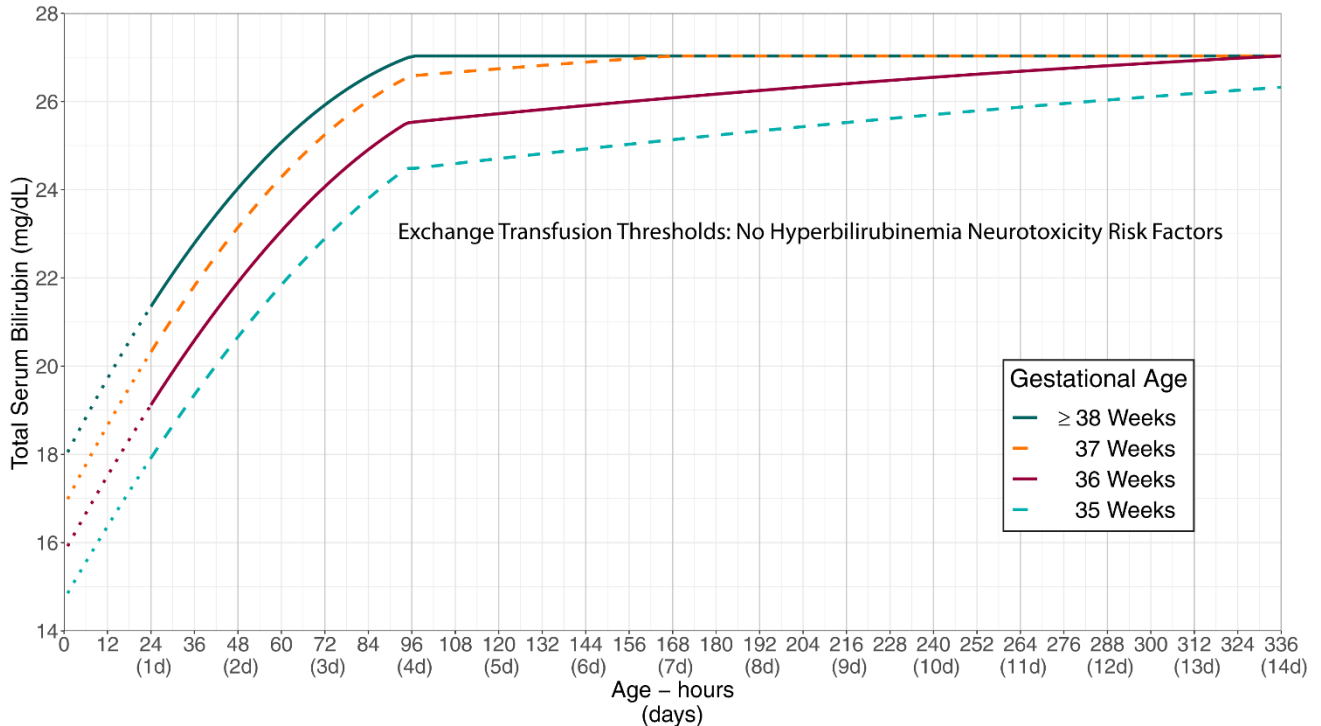


Anexo VI – Limiares de Fototerapia para RN com um mais fatores de risco para neurotoxicidade por hiperbilirubinémia. Fonte: Kemper AR, Newman TB, Slaughter JL, Maisels MJ, Watchko JF, Downs SM, et al. Clinical Practice Guideline Revision: Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation(44).





Anexo VII – Limiares para Exsanguinotransfusão em RN sem e com fatores de risco para neurotoxicidade por hiperbilirubinémia. Fonte: Kemper AR, Newman TB, Slaughter JL, Maisels MJ, Watchko JF, Downs SM, et al. Clinical Practice Guideline Revision: Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation(44) .





Anexo VIII – Análise estatística comparando as mães RhD negativo que fizeram profilaxia com variáveis qualitativas.

Variáveis	Teste Estatístico	Valor de p	Estimativa de risco (OR)	IC: 95%
Resultado da PAI	Teste Exato de Fisher	1,000	1,408]0,170; 11,639[
Icterícia	Qui-quadrado de Pearson	0,848	1,068]0,547; 2,084[
Resultado da TAD	Teste Exato de Fisher	0,452	0,638]0,638; 2,369[
Fototerapia	Qui-quadrado de Pearson	0,812	0,905]0,391; 2,094[
Anti-D no eluado	Teste Exato de Fisher	0,124	0,318]0,076; 1,325[

P.PORTO

ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE



M

MESTRADO

ANÁLISES CLÍNICAS E SAÚDE PÚBLICA