

Hemorragia Feto Materna – A propósito de um caso clínico

Duarte António Major Mendes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutor Renato Alexandre Silva Martins

Março de 2024

Declaração de Integridade

Eu, Duarte António Major Mendes, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 41700 de Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 21/03/2024

(assinatura conforme Cartão de Cidadão ou preferencialmente
assinatura digital no documento original se naquele mesmo formato)

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador, Dr. Renato Martins, por toda a sua disponibilidade e ajuda ao longo da realização desta dissertação de mestrado.

Em segundo, queria agradecer aos meus pais, Sandra e António, e avós, Ilda, Carlos, Maria e José, por todo o apoio que me deram ao longo desta caminhada de 6 anos que é o curso de Medicina. Estiveram sempre ao meu lado a demonstrar o seu apoio incondicional e deram-me muitas vezes a força que precisava para continuar. Obrigado por me apoiarem em todas as situações e quero que saibam que todas as minhas conquistas são também vossas porque sem vocês nada seria possível.

Queria, também, agradecer à minha namorada, Sara, por estar sempre comigo nos melhores e nos piores momentos, pelo apoio incondicional que me dá e por ser o meu abrigo. Obrigado por partilhares comigo as minhas conquistas e me deixares partilhar contigo as tuas. Sem ti, também, nada disto seria possível.

Resumo

A hemorragia feto-materna é uma condição rara que deriva de uma disrupção na barreira materno-fetal e conseqüente entrada de sangue fetal na circulação materna. Existem vários fatores que podem contribuir para a sua ocorrência, no entanto, na maioria dos casos ocorre espontaneamente sem causa identificável. A sua sintomatologia é reduzida e inespecífica, sendo a diminuição dos movimentos fetais o sintoma mais comum, o que torna o seu diagnóstico uma tarefa desafiante. Os testes de diagnóstico atualmente existentes, apesar de serem um grande auxílio não são completamente fidedignos e nem sempre estão disponíveis nas instituições, o que dificulta ainda mais a identificação destes casos. A gestão da hemorragia feto-materna é, também, bastante difícil sendo necessário avaliar os riscos e os benefícios das diferentes intervenções, como a cordocentese com transfusão intrauterina ou a realização do parto. O prognóstico da hemorragia feto-materna depende de vários fatores como o volume da hemorragia e a hemoglobina neonatal. Esta condição pode levar a anemia neonatal, hidropsia fetal, prematuridade, repercussões ao nível do neurodesenvolvimento e até mesmo morte.

Assim, esta dissertação tem por objetivo reunir conhecimento científico atual relativo às diversas vertentes da hemorragia feto-materna. Para além disso, ao expor e analisar um caso clínico real comparando-o com a literatura científica, procura-se exemplificar a aplicação prática do conhecimento teórico.

A metodologia aplicada na realização desta dissertação tem por base pesquisa bibliográfica entre janeiro e setembro de 2023 nas plataformas *Pubmed* e *Google Scholar* de artigos escritos em inglês ou português e sem aplicação de restrições temporais ou de tipologia do texto.

O caso clínico apresentado diz respeito a uma mulher de 40 anos, sem qualquer intercorrência na presente gravidez, que se apresenta às 37+1 semanas de gestação no serviço de urgência por diminuição dos movimentos fetais. É realizada uma cardiotocografia fetal que revela um padrão pouco reativo e realizada uma cesariana urgente por suspeita de sofrimento fetal. Nasce um recém-nascido com uma hemoglobina neonatal de 3.4 g/dl e hematócrito de 11.6%, compatível com anemia neonatal. Foi realizada pesquisa de hemoglobina fetal na circulação materna por High Performance Liquid Chromatography que revelou 8.5% de hemoglobina fetal. Esta criança ficou com repercussões a nível do neurodesenvolvimento apresentando-se em consulta de follow-up aos 7 meses com achados compatíveis com lesão neurológica.

Desta forma, é fulcral que os profissionais de saúde estejam familiarizados com esta condição para que possam atuar de forma rápida e de acordo com a melhor evidência científica. É, ainda, importante garantir que os teste de diagnóstico estão disponíveis nas instituições e que existem profissionais capacitados para a sua atempada e eficaz utilização. O caso clínico apresentado é sobreponível a outros relatados na literatura científica, o que acentua a necessidade de colaboração entre instituições e comparação de casos clínicos para atingir melhores resultados em saúde, sendo benéfico a criação de uma base de dados global.

Palavras-chave

Hemorragia feto-materna; Teste de Kleihauer-Betke; Citometria de fluxo; Anemia fetal; Transfusão feto-materna;

Abstract

Feto-maternal hemorrhage is a rare condition that results from a disruption in the maternal-fetal barrier and subsequent entry of fetal blood into the maternal circulation. There are several factors that may contribute to its occurrence, however, in most cases, it occurs spontaneously without an identifiable cause. Its symptoms are reduced and nonspecific, with decreased fetal movements being the most common symptom, making its diagnosis a challenging task. Currently available diagnostic tests, although very helpful, are not entirely reliable and may not always be available in institutions, further complicating the identification of these cases. The management of feto-maternal hemorrhage is also quite difficult, requiring an assessment of the risks and benefits of different interventions, such as cordocentesis with intrauterine transfusion or performing delivery. The prognosis of feto-maternal hemorrhage depends on various factors such as the volume of hemorrhage and neonatal hemoglobin. This condition can lead to neonatal anemia, fetal hydrops, prematurity, neurodevelopmental repercussions, and even death.

Thus, this dissertation aims to gather current scientific knowledge regarding the various aspects of feto-maternal hemorrhage. Additionally, by presenting and analyzing a real clinical case and comparing it with scientific literature, the aim is to illustrate the practical application of theoretical knowledge.

The methodology applied in this dissertation is based on a bibliographic research conducted between January and September 2023 on the *PubMed* and *Google Scholar* platforms based, only, on articles written in English or Portuguese, with no use of temporal or text typology restrictions.

The clinical case presented concerns a 40-year-old woman, with no complications in the current pregnancy, who presents at 37+1 weeks of gestation to the emergency department due to decreased fetal movements. A fetal cardiotocography is performed, revealing a mildly reactive pattern, and an urgent cesarean section is performed due to suspected fetal distress. A newborn is delivered with a neonatal hemoglobin of 3.4 g/dl and hematocrit of 11.6%, consistent with neonatal anemia. Fetal hemoglobin research in maternal circulation by High Performance Liquid Chromatography revealed 8.5% fetal hemoglobin. This child had neurodevelopmental repercussions, presenting at a follow-up consultation at 7 months with findings consistent with neurological injury.

Therefore, it is crucial that healthcare professionals are familiar with this condition so they can act quickly and in accordance with the best scientific evidence. It is also important to ensure that diagnostic tests are available in institutions and that there are trained professionals for their timely and effective use. The clinical case presented is comparable to others reported in scientific literature, emphasizing the need for collaboration between institutions and comparison of clinical cases to achieve better health outcomes, making the creation of a global database beneficial.

Keywords

Feto Maternal Hemorrhage; Kleihauer-Betke test; Flow cytometry; Fetal anemia; Fetomaternal transfusion;

Índice

Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Lista de Acrónimos.....	xiii
Capítulo 1 - Introdução.....	1
Capítulo 2 - Metodologia.....	3
Capítulo 3 - Hemorragia Feto-Materna.....	5
3.1 Fisiopatologia.....	5
3.2 Etiologia.....	6
3.3 Apresentação clínica.....	7
3.4 Diagnóstico.....	9
3.4.1 Teste de Rosette.....	12
3.4.2 Teste de Kleihauer-Betke.....	14
3.4.3 Citometria de fluxo.....	16
3.5 Tratamento e gestão da doença.....	18
3.6 Repercussões e prognóstico.....	22
Capítulo 4 - Apresentação do caso clínico.....	27
Capítulo 5 - Discussão do caso clínico.....	35
Capítulo 6 - Conclusão.....	39
Capítulo 7 - Bibliografia.....	41
Anexos.....	47

Lista de Acrónimos

HFM	Hemorragia Feto-Materna
ACM	Artéria Cerebral Média
HbF	Hemoglobina Fetal
Hb	Hemoglobina
CA	Anidrase Carbónica
CHUCB	Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira
PCR	Proteína C Reativa
TP	Tempo de Protrombina
aTPP	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

Capítulo 1

Introdução

A hemorragia feto-materna (HFM) resulta de uma disrupção da barreira materno-fetal que conduz à entrada de sangue fetal na circulação materna.(1,2) Esta condição pode ocorrer tanto durante a gravidez, aumentando a sua incidência com o decorrer da mesma, como no momento do parto.(3,4) Como se considera fisiológico a existência de um fluxo bidirecional de sangue entre a mãe e o feto, houve a necessidade de estabelecer um volume a partir do qual se considera HFM, sendo que geralmente o valor tido em conta são 30ml.(1,5) Apesar da sua incidência variar em função do volume de sangue fetal perdido para a circulação materna, se considerarmos este valor de 30ml, é obtida uma incidência de 3 em cada 1000 gravidezes. (1)

Existem vários fatores que podem contribuir para a ocorrência da HFM como trauma abdominal, placenta abrupta, remoção manual da placenta, pré-eclampsia, gémeos monocoriónicos-monoamnióticos e até procedimentos obstétricos como a versão cefálica externa, amniocentese e cordocentese.(1,3,6) No entanto, 84% das HFM ocorrem espontaneamente, não tendo uma causa identificável. (7)

A HFM é uma condição muito pouco sintomática, o que torna a sua apresentação clínica bastante inespecífica.(1) In útero, a diminuição dos movimentos fetais é o sintoma mais comum e por vezes o único.(1,7) No entanto, de um modo geral a anemia neonatal é o sinal mais frequente.(1,7) Para além destes, a HFM pode, também, apresentar-se sob a forma de nado-morto, restrição de crescimento intrauterino e hidropsia fetal.(1) Alterações nos padrões de bem-estar fetal como a presença de padrões de cardiocografia anormais, em especial o sinusoidal, ou o aumento da velocidade sistólica máxima no doppler da artéria cerebral média (ACM), podem também ser sugestivos de HFM. (5,8,9)

O diagnóstico da HFM é bastante difícil derivado da sua inespecificidade e sintomas limitados, bem como dos teste diagnóstico existentes não serem completamente fidedignos.(1) Ainda assim, o cerne do diagnóstico passa pelo teste qualitativo de Rosette e os testes quantitativos de Kleihauer-Betke e citometria de fluxo.(1,10) No entanto, estes não são realizados por rotina, sendo apenas empregues em situações em que existe uma suspeita de HFM, ou em casos de possível incompatibilidade Rh.(4,7,10,11) Nesta situação, o diagnóstico da HFM assume uma importância acrescida, de modo a garantir a administração de uma dose adequada de imunoglobulina anti-D. (4,12)

A gestão da HFM é bastante complexa e passa, essencialmente, por duas abordagens, a cordocentese com transfusão intrauterina ou o parto.(1) Na escolha da abordagem a adotar deve-se avaliar os riscos e os benefícios de ambas as intervenções, como o risco de prematuridade no parto e as possíveis complicações da cordocentese.(3) Para se fazer uma escolha consciente, devemos ter em conta diversas informações como a idade gestacional, o estado fetal, a existência de profissionais treinados e experientes na realização de transfusões intrauterinas e a dificuldade de ambos os procedimentos. (3)

No pós-parto, independentemente da abordagem escolhida devem ser sempre corrigidas quaisquer alterações presentes, em especial em recém-nascidos pré-termo.(8) Pode haver necessidade de entubação endotraqueal e ventilação mecânica, bem como de transfusões pós-parto e outras medidas de suporte. (6,8)

A HFM é uma condição que pode ter complicações graves, essencialmente, relacionadas com fatores como o volume de sangramento, a taxa de hemorragia, a hemoglobina neonatal e se esta representa um evento crónico, com maior tolerância, ou agudo.(1,13) Hemorragias de pequeno volume são melhor toleradas, podendo não ter quaisquer consequências.(1) Volumes de hemorragias elevados podem resultar em anemia fetal, hidropsia fetal, falência cardíaca, choque hipovolémico, morte intrauterina ou neonatal, prematuridade, encefalopatias ou lesões neurológicas. (1,14)

Relativamente a repercussões relacionadas com o neurodesenvolvimento, apesar de graves, estas parecem não ser uma consequência comum da HFM. (8,15,16)

A gravidade desta condição, aliada ao seu difícil diagnóstico e apresentação clínica inespecífica, tornam imperativo aumentar o conhecimento científico nesta área. Os profissionais de saúde devem estar familiarizados com este diagnóstico e possuir ferramentas que permitam identificar situações que mereçam uma investigação mais aprofundada. Apesar de rara, quando presente, a HFM possui um vasto leque de repercussões graves para o feto. Consequentemente, é de extrema relevância o conhecimento dos vários métodos e testes de diagnóstico, bem como garantir a sua disponibilidade em todas as instituições, permitindo um diagnóstico atempado que auxilie a complexa gestão e tratamento da doença.

Desta forma, esta dissertação tem como objetivo reunir o conhecimento científico atual, abordando as várias vertentes da HFM, desde a fisiopatologia e etiologia à apresentação clínica, diagnóstico, gestão da doença e prognóstico. Ao expor um caso clínico real e fazer a sua análise comparativa com base na literatura científica atual, procura-se exemplificar a aplicação prática do conhecimento teórico.

Capítulo 2

Metodologia

No que diz respeito à metodologia da realização desta dissertação, foi efetuada uma pesquisa bibliográfica entre janeiro de 2023 e setembro de 2023 nas plataformas *Pubmed* e *Google Scholar*.

A pesquisa foi orientada pelas seguintes palavras-chave: “Feto Maternal Hemorrhage”, “Kleihauer-Betke test”, “Flow cytometry”, “Sinusoidal fetal heart rate”, “Fetal anemia”, “Hemolytic disease of the newborn” e “Fetomaternal transfusion”.

Foram apenas incluídos artigos escritos em inglês ou português e não foram aplicadas quaisquer restrições temporais ou de tipologia de texto.

O caso clínico descrito teve por base o processo clínico da paciente, tendo sido obtido parecer favorável da comissão de ética para a saúde do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (anexo 1), bem como o consentimento informado da paciente em questão.

Capítulo 3

Hemorragia Feto-Materna

3.1 Fisiopatologia

A HFM é uma condição que advém da disrupção da barreira materno-fetal e consequente perda de continuidade do trofoblasto durante a gravidez ou o parto.(2) Esta, resulta da passagem de eritrócitos fetais a favor do gradiente de pressão, isto é, da circulação fetal de maior pressão, para a circulação materna de menor pressão.(1) A HFM pode ser observada logo no primeiro trimestre, mas a sua frequência tende a aumentar ao longo da gravidez, atingindo o seu máximo na altura do parto. (3,4)

É frequente e fisiológico a existência de um fluxo sanguíneo bidirecional entre a mãe e o feto e, conseqüentemente, a passagem de algum sangue fetal para a circulação materna. (2)

De acordo com Ravishankar et al.(17), 50-75% das gravidezes cursam com HFM sem que existam quaisquer repercussões para o feto.

Sebring et al.(16), relata que em 96% das gravidezes verifica-se a passagem de 1 ml de sangue fetal para a circulação materna. Segundo Ahmed et al.(18), na altura do parto 50% das grávidas terão eritrócitos fetais detetáveis na circulação materna, ainda que, em 96-98% das gravidezes a hemorragia seja inferior a 2 ml. Também, para Farias et al.(4), 98% das mulheres apresentam sangue fetal na circulação materna, ainda que num volume inferior a 2 ml.

Assim, como se considera fisiológica a passagem de uma pequena quantidade de sangue entre o feto e a mãe, houve necessidade de definir o volume de sangue a partir do qual se considera uma HFM.(5) Apesar de não existir consenso em relação ao valor a utilizar, geralmente o valor de referência tido em conta são os 30 ml.(1,5) Isto, porque é o volume coberto pela imunoglobulina anti-D, administrada às 28 semanas, em grávidas Rh negativas em situações de potencial incompatibilidade Rh. (1,5)

Sendo a hemoglobina fetal (HbF) o tipo predominante de hemoglobina (Hb) no feto, podemos ainda definir HFM como uma percentagem de HbF no sangue materno superior ao valor de referência, que se estabelece entre 0-1%, mas que na grávida pode chegar aos 5%. (6)

A incidência da HFM varia muito em função do volume de hemorragia considerado.(1,18) Para os 30 ml referidos anteriormente, a incidência é de 3 em 1000 nascimentos.(1) No entanto, se considerarmos 80 ml, volume considerado como uma HFM grande, a incidência

é de 0.9 em 1000 e para uma HFM massiva, tida como 150 ml ou mais de metade do volume sanguíneo fetal total, a incidência é de apenas 0.2 em 1000. (1,18)

O volume da HFM pode, também, ser interpretado com base na sua relação com o volume sanguíneo fetoplacentário.(3) Fetos com idade gestacional inferior a 32 semanas, possuem um volume fetoplacentário de 120 ml/kg de peso fetal estimado, já fetos com idades gestacionais superiores a 32 semanas possuem um volume fetoplacentário de 100 ml/kg de peso fetal estimado.(3) Utilizando estas razões, podemos relacionar o volume da HFM com o volume fetoplacentário total, obtendo uma melhor correlação do volume da hemorragia com o peso e idade gestacional do feto. (3)

3.2 Etiologia

De um modo geral, a HFM ocorre espontaneamente e, segundo Markham et al.(7) 82%, não tem causa identificável.

Ainda assim, existem vários fatores que podem contribuir para a sua ocorrência, nomeadamente, versão cefálica externa, trauma abdominal, amniocentese e cordocentese, placenta abrupta, remoção manual da placenta, pré-eclampsia, gémeos monocoriônicos-monoamnióticos e mutações no gene da protrombina.(1–3,6,9,11) Lesões da placenta como tumores (coriocarcinoma intraplacentário), malformações vasculares, trombose ou enfarte placentário e hemorragias retro placentárias são outros fatores que podem conduzir a HFM.(1–3,6,11). Para além destes, é ainda relevante referir o abuso de substâncias, a hipertensão na grávida e o uso de oxitocina para indução de contrações. (17,19)

A versão cefálica externa, como referido, é um dos fatores de risco associados a HFM.(2,6) É um procedimento realizado em gravidez a termo ou perto de termo, que consiste na passagem do feto de uma apresentação pélvica para cefálica.(20) No entanto, devido à força que é necessário administrar esta pode originar complicações como placenta abrupta, nado morto e HFM.(20) Recorrendo ao teste de Kleihauer-Betke, a incidência de HFM subclínica, em pacientes submetidos a versão cefálica externa, varia entre 1.8-28%. (20)

Fernandes et al.(21) realizaram um estudo que procurava determinar se a biópsia das vilosidades coriônicas poderia ser uma causa de HFM. Foi usada uma amostra de 200 mulheres que realizaram biópsia das vilosidades coriônicas por cânula de aspiração ou fórceps, no entanto, os resultados são referentes apenas a 170 mulheres. Para quantificar a HFM foram realizados teste de Kleihauer-Betke e citometria de fluxo, antes e após o procedimento. Nos testes realizados pré procedimento, foi detetada HFM quantificável em 10 casos por Kleihauer-Betke e 26 por citometria de fluxo. Após o procedimento, foram detetados 10 casos por Kleihauer-Betke e 20 por citometria de fluxo. A sobreposição dos

resultados pré e pós procedimento neste ensaio, permite concluir que nenhuma técnica de biópsia das vilosidades coriônicas está associada a HFM. (21)

É, ainda, relevante referir o estudo de Farias et al.(4) que concluiu que num grupo de 101 mulheres que sofreram HFM, as mulheres caucasianas apresentavam volumes de HbF superiores às mulheres de raça negra. Por isto, a raça pode ser um fator relevante a ter em conta. (4)

3.3 Apresentação clínica

A apresentação clínica da HFM é bastante inespecífica, tratando-se de uma condição pouco sintomática. (1)

O diagnóstico pré-natal de HFM é complicado, uma vez que os sintomas são escassos.(1,7) A maioria dos diagnósticos ocorre no pós-parto, na presença de sinais de sofrimento fetal e anemia neonatal. (1,7)

In útero, o sintoma mais comum, apesar de bastante inespecífico, é a diminuição ou ausência dos movimentos fetais, enquanto de um modo geral, a anemia neonatal surge como o sinal proeminente.(2,7) Nado morto, restrição de crescimento intrauterino e hidropsia fetal são também formas de apresentação de HFM que podem surgir. (1)

A hidropsia fetal é uma das formas de apresentação mais graves de HFM, podendo ser causada por anemia fetal, falência cardíaca ou hipoproteinémia.(18) Esta condição, caracteriza-se por edema generalizado do recém-nascido, com edema subcutâneo, ascite e efusão pleural ou pericárdica. (18)

Estes dados são confirmados por um estudo incluído na revisão de Wylie et al.(1), onde numa amostra de 120 casos de HFM superior a 50 ml, os sinais e sintomas de apresentação mais comuns foram anemia neonatal, presente em 35% dos casos, diminuição dos movimentos fetais em 26.7% e nado morto em 12.5%.

A presença de padrões de cardiocotografia fetal anormais, em especial o sinusoidal, e de um doppler da artéria cerebral média (ACM) com aumento da velocidade sistólica máxima, são alterações nos padrões de bem-estar fetal que podem, também, surgir como as únicas alterações sugestivas de HFM. (5,8,9)

Um padrão sinusoidal persistente, cuja frequência cardíaca característica varia entre 120-160 bpm, é a alteração mais comum na cardiocotografia fetal que pode ser sugestiva de HFM, anemia fetal ou hipoxia.(6,7,9) No entanto, um padrão sinusoidal intermitente, apesar de menos comum, levanta as mesmas suspeitas.(9) Um padrão em dentes de serra e outras alterações inespecíficas da cardiocotografia como ausência de acelerações, desacelerações atrasadas recorrentes, baixa variabilidade e taquicardia fetal podem, também, levantar a suspeita de HFM, hipoxia ou hipotensão.(3) Contudo, é importante

ressalvar que em casos de HFM crónica, em que são ativados mecanismos de compensação fetal, a cardiocografia e o perfil biofísico podem ser normais. (3)

Topping et al.(9) relatam dois estudos que visam demonstrar a relevância do padrão sinusoidal intermitente na cardiocografia em situações de anemia fetal. O primeiro, usa uma amostra de 27 pacientes cujos fetos possuíam padrão sinusoidal intermitente e concluiu que 63% destes apresentavam anemia fetal. O segundo, com 12 pacientes cujos fetos possuíam padrão sinusoidal intermitente, relata que 10 destes apresentavam anemia fetal. (9)

Apesar de a cardiocografia fetal ser tida como o exame de bem-estar fetal de primeira linha, alterações no doppler da ACM, como a elevação da velocidade sistólica máxima 1.5 vezes superior à média, levanta, também, a suspeita de anemia fetal e possível HFM.(1,5,22) Este facto, baseia-se no princípio de que em situações de anemia a viscosidade sanguínea diminui e o débito cardíaco e o fluxo sanguíneo cerebral aumentam de modo a manter o aporte de oxigénio para o cérebro.(1,19) Estas adaptações traduzem um aumento da velocidade sistólica máxima da ACM.(1,19) No entanto, este exame não é específico para HFM.(1,22) Para além disso, segundo Zimmermann et al.(22), este exame possui uma taxa de falsos positivos que pode chegar aos 12%. Consequentemente, esta técnica não deve ser realizada por rotina. (1,19,22)

Assim, é importante que perante estas alterações e, especialmente, na presença concomitante de diminuição dos movimentos fetais, se considere a possibilidade de HFM e se realizem testes de diagnóstico. (1)

A tríade composta por diminuição dos movimentos fetais, padrão de cardiocografia sinusoidal e hidropsia fetal é uma forma de apresentação característica de HFM.(7,8) No entanto, é tardia e encontra-se, maioritariamente, relacionada com casos de HFM massiva, com sintomas de anemia severa, choque e falência cardiocirculatória. (7,8)

Normalmente, a grávida apresenta-se assintomática num caso de HFM.(3) Ainda assim, especialmente em casos de HFM de maior volume, esta pode apresentar sintomas inespecíficos consistentes com uma reação transfusional tais como, febre, náuseas e arrepios. (3)

A anemia é definida por um valor de hemoglobina ou hematócrito de pelo menos 2 desvios padrões abaixo da média para a idade.(23) Dito isto, o valor de Hb normal para um recém-nascido a termo fixa-se nos 16.5 g/dl e o hematócrito nos 51% enquanto, num recém-nascido pré-termo, a Hb varia entre os 15-16 g/dl, dependendo da idade gestacional. (23)

Apesar da anemia neonatal ser a forma de apresentação mais comum de HFM, é importante ter em consideração que este é um sinal pouco específico, uma vez que, juntamente com a

policitemia, representam as condições hematológica mais diagnosticadas ao nascimento, mesmo na ausência de HFM. (7,23)

A anemia ao nascimento pode ser dividida em 3 grupos causais.(23) O primeiro, são as anemias hemolíticas, onde se incluem hemoglobinopatias, infecções e situações de incompatibilidade Rh e ABO.(23) O segundo, são as anemias provocadas pela diminuição da produção de eritrócitos, quer seja por déficit de ferro, causas congénitas ou infecções adquiridas.(23) Por último, temos as anemias hemorrágicas, onde se incluem várias formas de perda sanguínea, crónicas e agudas, como placenta abrupta, placenta prévia e HFM. (23)

3.4 Diagnóstico

O diagnóstico de HFM é extremamente desafiante, uma vez que para além dos sinais e sintomas limitados, os testes de diagnósticos atualmente disponíveis não são completamente fidedignos.(1) Para além disso, os eritrócitos fetais apenas são detetados na circulação materna por aproximadamente 70 dias, podendo chegar aos 119 se a técnica utilizada for a citometria de fluxo, o que acaba por limitar temporalmente o diagnóstico. (17,24)

Os testes de diagnóstico existentes não são realizados por rotina, sendo apenas aplicados quando existe uma suspeita de HFM. (7,10)

No entanto, mulheres candidatas a profilaxia com imunoglobulina anti-D devem realizar um teste de diagnóstico de HFM para garantir que lhes é administrada uma dose adequada de imunoglobulina durante a gravidez ou no pós-parto. (4,11)

O diagnóstico e quantificação da HFM assume uma importância ainda maior em casos de incompatibilidade Rh, isto é, uma mãe Rh negativa e um filho que poderá ser Rh positivo.(4,21) Preconiza-se que grávidas Rh negativas realizem profilaxia com imunoglobulina anti-D às 28 semanas de gestação por risco de aloimunização.(4,12) De um modo geral, a dose administrada é de 300 µg conferindo proteção contra uma HFM de até 30 ml, valor que, como referido anteriormente, serve como cut-off de HFM.(4) Consequentemente, em casos de HFM a dose de imunoglobulina anti-D a administrar depende do volume da hemorragia, devendo a imunoglobulina ser administrada preferencialmente até 72 horas após o seu início, de forma a prevenir a aloimunização.(4,12) Esta, é um evento com consequências graves em gravidezes subsequentes, como doença hemolítica do recém-nascido ou morte fetal. (4,12)

Em grávidas que realizaram profilaxia com imunoglobulina anti-D, é possível suspeitar de HFM quando, em análises subsequentes à profilaxia, os anticorpos anti-D que deveriam ser positivos, estiverem diminuídos ou negativos.(25) Esta suspeita deve-se à possibilidade de os eritrócitos fetais Rh positivos, aquando da entrada na circulação materna, consumirem

a imunoglobulina anti-D administrada, levando a que os anticorpos anti-D diminuam ou negativem. (25)

A maioria das HFM são transplacentárias e existem alterações macro e microscópicas na placenta que podem ser associadas à mesma.(17) Trombose placentária, hematomas retro placentários, enfartes da placenta e palidez são algumas delas, no entanto, é importante referir que nenhuma é específica para HFM. (17)

A palidez placentária está associada a uma diminuição da perfusão das vilosidades coriônicas, quer por diminuição do fluxo sanguíneo, quer por perda de sangue e ocorre geralmente em hemorragias de maior volume.(17) Os trombos placentários não estão relacionados com o volume da HFM e podem, também, surgir devido a outras condições como fatores protrombóticos elevados ou um aumento da viscosidade sanguínea. (17)

O aumento de eritroblastos no sangue do cordão umbilical é outra alteração que pode surgir em casos de HFM.(17) Este aumento é superior em casos de hemorragias de maior volume, estando, também, associado a anemia neonatal e doenças infecciosas. (17)

Ravishankar et al.(17) procuram, num estudo retrospectivo, demonstrar a existência de uma relação entre alterações placentárias e o diagnóstico de HFM. Neste estudo, foram incluídas 49 placentas de grávidas com teste de Kleihauer-Betke positivo e, conseqüentemente, diagnosticadas com HFM e 88 placentas de grávidas com teste de Kleihauer-Betke negativo, isto é, sem HFM. A idade gestacional, peso da placenta, frequência de palidez placentária, existência de trombos intravilositários e eritroblastos foram analisados em ambos os grupos. Não foram encontradas diferenças relevantes relativas à idade gestacional e peso da placenta entre as duas populações. No entanto, a palidez placentária, os trombos intravilositários e os eritroblastos foram analisados em ambos os grupos. Não foram encontradas diferenças relevantes relativas à idade gestacional e peso da placenta entre as duas populações. No entanto, a palidez placentária, os trombos intravilositários e os eritroblastos eram muito mais comuns no grupo de grávidas com teste de Kleihauer-Betke positivo. (17)

No seu estudo, Ravishankar et al.(17) comparam, ainda, um grupo de 13 placentas cuja gestação culminou em morte fetal ou neonatal por HFM, com teste de Kleihauer-Betke positivo, a um grupo de 162 placentas resultantes de morte fetal ou neonatal não relacionada com HFM, com teste de Kleihauer-Betke negativo. Também aqui, a palidez placentária, os trombos intravilositários e os eritroblastos eram mais comuns no grupo com teste de Kleihauer-Betke positivo. (17)

Ravishankar et al.(17), concluíram, assim, que a existência de palidez, trombos intravilositários e um aumento de eritroblastos no sangue do cordão umbilical, podem estar relacionados com a HFM. No entanto, é importante ressaltar que este estudo tem por base o teste de Kleihauer-Betke para o diagnóstico de HFM, o que em várias situações pode dar origem a falsos positivos, como vai ser abordado mais à frente nesta dissertação. (17)

Existem três tipos principais de testes diagnósticos para HFM, cada um com as suas vantagens e desvantagens.(10) Estes meios de diagnóstico podem ser agrupados em duas grandes categorias.(26) Por um lado, os que se baseiam na deteção hemoglobina fetal ou antígeno HbF na circulação materna, onde se insere o teste de Kleihauer-Betke.(10,26) Por outro, os que procuram detetar células Rh positivas ou antígenos RhD, na circulação materna, como o teste de Rosette.(10,26) A citometria de fluxo é outro método de diagnóstico de HFM, que pode ser inserido em ambas as categorias dependendo se o seu alvo for o antígeno HbF ou RhD. (10,26)

Por fim, é importante ter em conta que em qualquer um dos testes de diagnóstico pode haver uma subestimação do volume de HFM ou falsos negativos, em casos de incompatibilidade sanguínea ABO.(2,27) Nestes casos, na presença de anticorpos anti-A ou anti-B maternos, os eritrócitos fetais que entram na circulação materna, vão ser destruídos através de hemólise intravascular ou removidos da circulação pelo sistema reticulo endotelial materno.(2,27) Consequentemente, muitos dos eritrócitos fetais não vão ser detetados nos testes de diagnóstico. (27)

A hemólise dos eritrócitos fetais na circulação materna, pode decorrer entre horas a semanas, sendo evidenciada pela diminuição dos níveis de haptoglobina e aumento da lactato desidrogenase na mãe.(11) Quanto mais tempo decorrer entre a HFM e a testagem, maior será a subestimação.(11) Para além disso, é ainda importante ter em consideração que esta reação pode ocorrer numa primeira gravidez.(27) Como tal, é importante identificar o tipo sanguíneo materno e paterno de modo a termos em conta possíveis situações de incompatibilidade ABO entre mãe e feto. (11,27)

Dana et al.(27) realizaram um estudo que procurou ilustrar a possibilidade de subestimação de HFM em situações de incompatibilidade sanguínea ABO. Para isso, foram recolhidas amostras de sangue de recém-nascidos, que continham apenas eritrócitos fetais, e amostras de sangue de adultos. Posteriormente, foram realizadas as respetivas tipagens sanguíneas. De seguida, amostras de sangue neonatal do tipo A foram misturadas com sangue adulto compatível, tipo A, e incompatível, tipo O. Foi possível visualizar em apenas alguns minutos hemaglutinação na amostra incompatível, mas não na compatível. Após uma incubação durante a noite, ambas as amostras foram submetidas a citometria de fluxo. A citometria de fluxo demonstrou a existência de HbF na amostra compatível, mas não na incompatível. Foram ainda testadas todas as combinações possíveis de compatibilidade e incompatibilidade ABO, obtendo-se sempre os mesmo resultados. Desta forma, o estudo conclui que em situações de incompatibilidade ABO, a HFM pode ser subestimada ou até mesmo não diagnosticada devido à hemólise dos eritrócitos fetais. (27)

Na HFM para além dos eritrócitos fetais, também ADN fetal livre está presente na circulação materna.(20) Este ADN resulta da passagem direta do feto para a mãe ou da destruição de células fetais na circulação materna. (20)

Numa gravidez normal, o ADN fetal constitui cerca de 3.4% do ADN total presente no plasma materno no início da gravidez e 6.2% perto do seu termo.(20) Para além disso, a quantidade de ADN fetal na circulação materna tende a aumentar em casos de distúrbios da integridade placentária, como a HFM.(20) Assim, a medição da concentração de ADN fetal presente na circulação materna pode também ser utilizada como um marcador para detetar HFM.(20) Casos de HFM de pequeno volume, em que os eritrócitos fetais são mais raros na circulação materna são os que mais beneficiam desta utilização.(20) Além do mais, o ADN fetal livre tem uma semivida de apenas 16.3 minutos na circulação materna o que, com recurso à polymerase chain reaction, permitiria inferir quase em tempo real a existência de hemorragia.(20) Para além disso, a polymerase chain reaction é um método automatizado e objetivo, não sujeito a erros de operador, contrariamente ao teste de Kleihauer-Betke. (20)

Para comprovar a hipótese de que o ADN fetal presente na circulação materna tende a aumentar quando existe um distúrbio da integridade placentária, nomeadamente HFM, Lau et al.(20) realizaram um estudo prospetivo ao longo de 20 meses. O estudo tinha o intuito de verificar se a versão cefálica externa, que pode causar um distúrbio na integridade placentária, provocava um aumento da concentração de ADN fetal livre na circulação materna. Os autores selecionaram 45 grávidas com fetos de sexo masculinos que foram submetidos, em média, a versão cefálica externa às 37.6 semanas de idade gestacional. Foram colhidas 2 amostras de sangue a cada grávida, uma antes da versão cefálica externa e outra dentro de 10 minutos após o procedimento. De seguida, foi extraído ADN de ambas as amostras, tendo sido o gene SRY, presente no cromossoma Y, o marcador escolhido. A concentração do gene SRY foi medida com recurso a polymerase chain reaction. Os resultados do estudo demonstraram que em 65% das grávidas houve um aumento da concentração de ADN fetal na circulação materna da amostra pré versão para amostra pós versão. Assim, o estudo concluiu que parece existir uma relação entre o aumento do ADN fetal na circulação materna e a presença de um distúrbio da integridade placentária. (20)

Desta forma, o aumento do ADN fetal na circulação materna pode ser usado como marcador indicativo de dirupção da interface materno-placentária e, conseqüentemente, possível HFM subclínica. (20)

3.4.1 Teste de Rosette

O teste de Rosette é um teste qualitativo para deteção de HFM em casos de incompatibilidade Rh.(1,10) Ele consiste na pesquisa de células fetais Rh positivas na

circulação de mães Rh negativas, através da mistura de sangue materno Rh negativo com anticorpos anti-D.(1,10) Estes anticorpos vão aderir a células Rh positivas existentes na circulação materna.(1,10) De seguida, são introduzidos na amostra eritrócitos indicadores Rh positivos, que na presença de células Rh positivas, vão formar rosetas ou agregados que podem ser observadas ao microscópio ótico. (1,10)

Deste modo, a formação de rosetas numa amostra de sangue materno Rh negativo, indica a presença de eritrócitos fetais Rh positivos e, conseqüentemente, a existência de HFM. (1,10) O teste de Rosette só é positivo em casos de HFM superior a 10 ml ou uma percentagem de eritrócitos fetais superior a 0.2% na circulação materna.(10) Por isto, na presença de um teste de Rosette negativo, não é possível excluir a existência de HFM.(10) No entanto, se o teste de Rosette for negativo, a dose de 300 µg de imunoglobulina anti-D, administrada a grávidas em casos de incompatibilidade Rh, é suficiente para prevenir aloimunização nos casos em que poderá ter ocorrido passagem de eritrócitos fetais para a circulação materna.(10) Por outro lado, se o teste de Rosette for positivo, é necessário a realização de um teste quantitativo, para determinar o volume da HFM e a dose de imunoglobulina a administrar. (1,10)

Este teste tem várias limitações, não constituindo, por isso, a escolha de primeira linha no diagnóstico de HFM, na maioria das situações.(1) Primeiro, só pode ser usado em casos de incompatibilidade Rh.(1,10) Segundo, sendo um teste qualitativo, não quantifica a hemorragia, apenas revela a sua presença, havendo sempre a necessidade da realização de um teste quantitativo. (1,10)

Não obstante, nas situações em que o seu uso é recomendado, o teste de Rosette é rápido, demorando 1 a 2 horas, fácil de realizar, relativamente barato e apresenta elevada sensibilidade. (10)

Lafferty et al.(26) realizaram um estudo com intuito de determinar a sensibilidade e especificidade dos vários teste de diagnóstico na deteção e quantificação de HFM. Participaram 14 laboratórios que realizaram testes de Rosette e 48 que realizaram métodos quantitativos, quer fossem teste de Kleihauer-Betke ou citometria de fluxo. Aos diversos laboratórios foram enviadas 3 amostras, com diferentes volumes de HFM ou sem HFM. No que diz respeito à deteção da HFM, para volumes superiores a 10 ml, o teste de Rosette obteve uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 75%. Comparativamente, os métodos quantitativos, para volumes superiores a 10 ml, obtiveram uma sensibilidade de 96% e uma especificidade de 92%. Desta forma, este estudo conclui que ambos os métodos são boas escolhas para o diagnóstico de HFM. (26)

3.4.2 Teste de Kleihauer-Betke

O teste de Kleihauer-Betke é um teste quantitativo de diluição ácida utilizado para o diagnóstico de HFM, que serve, geralmente, como primeira linha. (1,10)

Este método diagnóstico parte do princípio de que a hemoglobina presente nos eritrócitos fetais é, essencialmente, HbF e que esta é ácido resistente, contrariamente à hemoglobina presente no eritrócitos adultos que é ácido sensível.(1,2,10) Para a realização do teste de Kleihauer-Betke uma amostra de sangue materno é incubada numa solução ácida e posteriormente, corada com eritrosina b.(1,2,10) Os eritrócitos que contêm HbF (origem fetal), por esta ser ácido resistente, surgem vermelhos ao microscópio ótico, enquanto os eritrócitos maternos (adultos), surgem descolorados, uma vez que a Hb adulta é ácido sensível.(1,2,10) Por fim, os eritrócitos de origem fetal são contabilizados ao microscópio ótico, obtendo-se uma percentagem de eritrócitos fetais em relação aos eritrócitos adultos. (1,2,10)

O tamanho dos eritrócitos também pode ser utilizado para auxiliar na distinção entre células maternas e fetais, dado que as células fetais são visivelmente maiores ao microscópio ótico pois possuem um volume celular médio superior. (28)

De seguida, é importante passar da percentagem de células fetais para uma estimativa de volume da HFM.(1,10) Para isto, existem diversas fórmulas sendo a mais comumente utilizada: $(\% \text{ eritrócitos fetais}/100) \times \text{volume materno médio} = \text{volume HFM}$, assumindo-se um volume sanguíneo materno médio de 5000 ml.(1,10) No entanto, é de notar que esta fórmula pode subestimar o volume da HFM ao assumir sempre o mesmo volume sanguíneo materno, pois este varia com a idade gestacional e o peso da grávida.(1,10) Por exemplo, grávidas com mais de 70 kg, apresentam volumes sanguíneos superiores, de aproximadamente 70 ml/kg.(10) Para além disso, o volume sanguíneo materno aumenta ao longo da gravidez podendo chegar aos 94 ml/kg perto de termo. (1)

Apesar de ser o teste mais frequentemente usado para o diagnóstico de HFM, o teste de Kleihauer-Betke apresenta, ainda assim, diversas desvantagens.(1,10) Primeiro, é importante notar que este é um teste complexo que requer uma contagem manual ao microscópio ótico de 2000 a 10000 eritrócitos.(1,10) Consequentemente, pode demorar dias até serem conhecidos os resultados, o que é extremamente inconveniente em casos que necessitem de uma intervenção rápida. (1)

Para além disso, este teste é subjetivo sendo dependente da competência e experiência dos técnicos e respetivos laboratórios, levando a uma precisão de resultados muito variável.(1,10,28) Este facto, aliado à ausência de um protocolo standard relativamente à fórmula a usar para calcular o volume da HFM ou aos parâmetros utilizados no teste, como o valor de pH ou de temperatura, leva a uma grande disparidade de resultados entre

instituições, entre técnicos da mesma instituição e inclusive na mesma amostra.(1,10,28) Consequentemente, a comparação de resultados e dados estatísticos, já dificultada por se tratar de uma condição relativamente rara, torna-se um grande desafio. (10)

Ao falar do teste de Kleihauer-Betke é imprescindível notar as suas especificidades que podem conduzir a sub ou sobrestimações da HFM.(1,10) A subestimação, apesar de menos comum, é potencialmente mais grave, uma vez que em casos de incompatibilidade Rh pode levar a erros no cálculo da dosagem de imunoglobulina anti-D a administrar, culminando no uso de doses que não cobrem o volume da hemorragia. (10)

Existem diversas causas possíveis para a subestimação do volume de HFM.(1,2,10) Algumas, estão relacionados com a fórmula de cálculo do volume da HFM utilizada, como o valor de 5000 ml de volume sanguíneo materno que é assumido.(1,2,10) Para além disso, a diferença entre o volume corpuscular materno e fetal, parâmetro também incluído noutras fórmulas de cálculo, deve ser corrigida tendo em conta que os eritrócitos fetais são 30% maiores que os adultos. (10)

Outras vertentes do teste de Kleihauer-Betke podem, também, conduzir a subestimação.(10) Primeiro, cerca de 10% das células fetais não vão corar durante o teste e consequentemente não são contabilizadas.(10) Segundo, a quantidade de HbF presente nos eritrócitos fetais tende a diminuir com a progressão da idade gestacional, sendo que num recém-nascido a termo a HbF constitui apenas 70% da Hb presente na totalidade dos eritrócitos fetais.(1) Por fim, é ainda importante notar, que casos de incompatibilidade ABO entre mãe e feto podem, também, provocar uma subestimação da HFM devido à destruição imunomediada de eritrócitos fetais, tal como referido anteriormente. (1,2,10)

A sobrestimação da HFM é uma situação mais comum no teste de Kleihauer-Betke.(10) Essencialmente, ela ocorre na presença de uma grande quantidade de eritrócitos maternos que contenham entre 20-25% de HbF, as chamadas células F.(10,29) Em adultos normais cerca de 0.5-7% dos eritrócitos são células F.(10) No entanto, estes valores aumentam na presença de hemoglobinopatias hereditárias, nomeadamente beta talassemia, persistência hereditária de hemoglobina fetal, eritropoiese de stress aguda, mielofibrose, leucemia e diversos tipos de anemia, como anemia de células falciformes, megaloblástica ou aplástica. (10,28)

Para além disso, também em 25% das mulheres grávidas existe um aumento na quantidade de células F, que surge a partir das 8 semanas de gestação e atinge o seu pico pelas 18-22 semanas.(10,30) Este aumento é derivado da maior demanda de eritrócitos e do aumento do volume circulatório materno em cerca de 40%. (10,29,30)

Nestas situações, como consequência da elevada presença de HbF nos eritrócitos maternos, ao realizar o teste de Kleihauer-Betke as células F vão também corar de vermelho, sendo confundidas com eritrócitos fetais conduzindo, assim, à sobrestimação da HFM. (28)

Por fim, é ainda importante referir que os eritrócitos maternos normais, sem HbF, que surgem descolorados ao microscópio ótico podem ser difíceis de observar.(10) Este facto, é dependente do técnico em questão, da sua experiência e capacidades, e pode conduzir ao aumento da proporção de eritrócitos fetais para eritrócitos adultos, culminando, também aqui, na sobrestimação. (10)

Qualquer uma destas situações que conduzem ao cálculo de um volume de HFM erradamente excessivo levam à administração de doses de imunoglobulina anti-D excessivas. (28)

Devido a todas estas limitações inerentes ao teste de Kleihauer-Betke, Kush et al.(28) defendem que em situações de grande variabilidade de resultados, se os valores obtidos não se correlacionarem com a situação clínica ou na presença de hemoglobinopatias hereditárias, a citometria de fluxo deve ser realizada para confirmar os resultados e calcular doses precisas de imunoglobulina anti-D.

3.4.3 Citometria de fluxo

A citometria de fluxo é um método de diagnóstico de HFM quantitativo que pode ser usado em alternativa ao teste de Kleihauer-Betke.(1,21) Contrariamente a este, a citometria é um teste muito mais rápido, sendo possível obter resultados em cerca de 60 minutos e menos complexo, uma vez que é automatizado não requerendo uma contagem manual.(1) Por esta razão, apresenta uma maior precisão, permitindo um cálculo mais objetivo do volume de HFM e da necessidade e dose de imunoglobulina anti-D.(1,21) Para além disto, a citometria de fluxo tem uma sensibilidade superior ao teste de Kleihauer-Betke, especialmente notável quando a percentagem de eritrócitos fetais na circulação materna é baixa. (21)

Consequentemente, a citometria de fluxo permite comparar resultados e dados entre diversas instituições tendo uma maior aplicação ao nível da investigação, o que era uma falha major do teste de Kleihauer-Betke. (1,10)

Wylie et al.(1) relatam um estudo com 4 laboratórios hospitalares que procurava comparar a reprodutibilidade dos teste de Kleihauer-Betke e citometria de fluxo. A cada laboratório foi atribuída uma amostra de sangue adulto impregnado com uma quantidade conhecida de sangue fetal. Foi-lhes pedido, que usando o teste de Kleihauer-Betke e a citometria de fluxo, determinassem o volume de sangue fetal presente. Os resultados obtidos revelaram uma variação de 153% entre os testes de Kleihauer-Betke, mas de apenas 10% entre as citometrias de fluxo, demonstrando desta forma a maior reprodutibilidade de resultados desta técnica. (1)

Em contrapartida, a citometria de fluxo é um teste relativamente caro e que, conseqüentemente, não está disponível em todas as instituições, o que torna o teste de Kleihauer-Betke a técnica mais comumente utilizada, apesar das suas limitações. (2)

É importante ter em conta que a citometria de fluxo vai obter, tal como o teste de Kleihauer-Betke, uma percentagem de eritrócitos fetais em relação aos eritrócitos maternos.(11) Conseqüentemente, é necessário calcular o volume da HFM a partir dela.(11) A fórmula mais frequentemente utilizada para este efeito é: $(\% \text{ eritrócitos fetais} \times 1800 \text{ ml}) / 100 \times 122 / 100 = \text{volume eritrocitário perdido.}$ (11) O volume da HFM será o dobro do volume eritrocitário, uma vez que o hematócrito fetal médio é de 51%.(11) Esta fórmula assume um volume de eritrócitos maternos de 1800 ml e parte do princípio de que o volume dos eritrócitos fetais é 22% maior que o materno.(11) No entanto, o facto de se assumir um volume de eritrócitos maternos de 1800 ml pode levar a imprecisões no cálculo do volume da HFM, uma vez que em mulheres cujo volume eritrocitário seja superior, a HFM vai ser subestimada. (11)

Como referido anteriormente, a citometria de fluxo pode ser englobada em ambas as categorias de testes diagnósticos.(10,26) Isto ocorre, porque o seu alvo tanto pode ser o antigénio citoplasmático, HbF, ou o antigénio de superfície, RhD. (10,21)

A citometria de fluxo, cujo alvo é o antigénio HbF, baseia-se na avaliação da intensidade de fluorescência de anticorpos monoclonais que se ligam aos antigénios da HbF.(1,10) Uma vez que os antigénios HbF são citoplasmáticos, é necessário um procedimento de permeabilização para que os anticorpos possam penetrar na membrana celular dos eritrócitos e ligarem-se aos antigénios.(1,10,21) De seguida, são contabilizados os eritrócitos fetais presentes na circulação materna tendo em conta que estes têm uma intensidade de fluorescência superior aos eritrócitos adultos e às células F. (1,10)

Este facto, permite à citometria distinguir os eritrócitos fetais mesmo na presença de um grande quantidade de células F maternas.(1,10) Esta, é uma das grandes vantagens da citometria de fluxo em relação ao teste de Kleihauer-Betke que não consegue efetuar esta distinção e pode conduzir a situações de sobrestimação da HFM. (1,10)

Isto, aliado ao facto de a citometria de fluxo também efetuar a distinção entre células fetais e células adultas, com base no seu tamanho, contribui, também, para um eficaz diagnóstico e quantificação da HFM. (1)

Já a citometria de fluxo, cujo alvo é o antígeno RhD, consiste na avaliação da intensidade de fluorescência de anticorpos anti-D que se ligam aos antigénios RhD.(10) Uma vez que o antígeno RhD encontra-se na superfície dos eritrócitos, não vai ser necessária a permeabilização da membrana celular, o que facilita o procedimento. (10)

Uma das desvantagens desta citometria de fluxo, tal como no teste de Rosette que tinha por base o mesmo princípio, é que apenas poder ser utilizada em casos de incompatibilidade Rh. (10)

Este tipo de citometria pode não ser capaz de detetar eritrócitos de origem fetal em grávidas que tenham realizado profilaxia com imunoglobulina anti-D, pois esta vai bloquear os locais de ligação dos eritrócitos fetais onde se ligariam os anticorpos anti-D.(10,11) Nestes casos é vantajoso optar pela citometria de fluxo cujo alvo é o antígeno HbF. (11)

Ambas as técnicas de citometria de fluxo são bastantes eficazes na deteção e quantificação de HFM. (10)

No entanto, segundo Kennedy et al.(31) para HFM com uma percentagem de eritrócitos fetais na circulação materna maior ou igual a 1%, a citometria de fluxo com alvo no antígeno HbF tende a subestimar a HFM, quando comparada à com alvo no antígeno RhD. Este facto, pode estar relacionado com variações na concentração de HbF nos eritrócitos fetais, uma vez que a transição de HbF para hemoglobina adulta tem início várias semanas antes do nascimento, de modo que, ao nascimento apenas 70% da Hb no cordão umbilical é HbF.(31) Contrariamente, o antígeno RhD é detetado em todos os indivíduos Rh positivos a partir das 6 semanas de gestação e para o resto da vida. (32)

Outras técnicas de citometria de fluxo que utilizam anticorpos direccionados a outros antígenos expressos de forma diferente em eritrócitos fetais e adultos, têm vindo a ser desenvolvidas. (10)

A anidrase carbónica (CA) é uma enzima que apenas começa a ser produzida após o nascimento e cujos antígenos de superfície também podem ser utilizados para o diagnóstico de HFM.(1,4) Neste caso, a citometria de fluxo baseia-se na diferente expressão de HbF e CA em eritrócitos fetais e adultos para os distinguir, tendo os eritrócitos fetais HbF elevada e CA baixa e os eritrócitos adultos HbF baixa e CA elevada.(4,27) Desta forma, podemos distinguir 3 populações de células, os eritrócitos fetais (HbF elevada, CA baixa), os eritrócitos adultos (HbF baixa, CA elevada) e as células F maternas (HbF elevada, CA elevada). (4,27)

É ainda de notar a aplicabilidade da microscopia de fluorescência, uma técnica com precisão semelhante à citometria de fluxo e com várias vantagens como a sua rapidez e custo inferior. (28)

3.5 Tratamento e gestão da doença

Após o diagnóstico e quantificação da HFM, deve ser realizado, se ainda não foi, um doppler da ACM com o intuito de avaliar a velocidade sistólica máxima e identificar anemia fetal.(1) Como esta técnica não é realizada por rotina deve, apenas, ser efetuada após termos um

teste de diagnóstico de HFM positivo.(1,5,19) Ainda assim, dado tratar-se de um exame de bem-estar fetal, em situações com elevada suspeição de HFM ou anemia fetal, mas, em que o tempo de realização dos teste de diagnóstico seria demasiado elevado para a situação em causa, podemos optar inicialmente pela realização do doppler da ACM.(1,19) Nomeadamente, em casos de hidropsia fetal ou na presença de um padrão de cardiocografia sinusoidal, indicador de anemia fetal severa.(1) Deve, ainda, ser tido em consideração que em gravidezes gemelares a avaliação ecográfica da velocidade sistólica máxima da ACM pode ser difícil de realizar devido à posição dos fetos.(6) Nestes casos, opta-se por uma monitorização seriada da cardiocografia fetal de forma a procurar um padrão sinusoidal associado a anemia fetal. (6)

Existem duas abordagens para a HFM a considerar, a cordocentese com transfusão intrauterina ou o parto. (1)

A escolha da abordagem deve sempre efetuar um balanço entre os riscos da prematuridade e as complicações que podem advir da cordocentese.(3) Para isto, é importante ter em conta diversos fatores como a idade gestacional, o estado fetal, a existência de profissionais treinados e experientes na realização de transfusões intrauterinas e a dificuldade de ambos os procedimentos. (3)

Tendo em consideração a idade gestacional, está preconizado que em fetos com idade gestacional inferior a 32 semanas se deve optar pela cordocentese e transfusão in útero para correção da anemia.(3,14) Já em fetos com idade gestacional superior a 34 semanas o parto é a abordagem preferida.(3,14) No entanto, a partir das 32 semanas de gestação devemos sempre pesar os risco e benefícios de ambas as abordagens.(3,14) Watanabe et al.(6) refere, no seu estudo de caso, que é recomendado parto urgente e tratamento neonatal, ao invés da cordocentese em fetos com idade gestacional superior a 32 semanas.

Existem medidas que podem ser tomadas para minimizar os riscos destas abordagens.(1) Por exemplo, a administração de corticoides pré-natais tem o intuito de acelerar a maturação fetal e, conseqüentemente, minimizar os riscos da prematuridade no caso de se optar pelo parto. (1)

Nos casos em que se tenha optado pela cordocentese com transfusão in útero, a posterior gestão da HFM é bastante desafiante.(1) Mesmo que a transfusão inicial tenha sido bem-sucedida, a velocidade da HFM é variável, o que dificulta a previsão da sua evolução e a determinação da necessidade e periodicidade de transfusões posteriores. (1,19)

Após a primeira transfusão in útero, a realização de um novo teste de Kleihauer-Betke pode subestimar a HFM ou até mesmo ser negativo, uma vez que os eritrócitos transfundidos são de origem adulta.(1,7) Relativamente ao doppler da ACM, por os eritrócitos transfundidos serem de origem adulta e, portanto, possuírem um tamanho e rigidez diferente dos

eritrócitos fetais, a relação entre a velocidade sanguínea e a concentração de Hb é alterada.(1,19) Detti et al.(33) sugere, em fetos com anemia grave e já submetidos a um transfusão intrauterina, aumentar o cutoff da velocidade sistólica máxima da ACM para 1.69 vezes superior ao valor médio. Com este ajuste o doppler da ACM apresenta uma sensibilidade de 100% e especificidade de 94% para detecção de anemia fetal.(33) No entanto, após 2 transfusões intrauterinas, o doppler da ACM perde a sua capacidade de distinguir diferentes graus de anemia, em consequência de o volume fetal ser na sua maioria de origem adulta. (1)

No entanto, é importante notar que esta situação não se verifica em casos de doença hemolítica causada por incompatibilidade Rh.(1) Nestes casos, o hematócrito fetal diminui a uma taxa de 1% por dia após a transfusão inicial, o que permite estimar o momento das transfusões subsequentes. (1)

Gică et al.(3) refere, no seu estudo de caso, um estudo retrospectivo que procurou demonstrar a necessidade de transfusões intrauterinas recorrentes em casos de HFM. Nesse estudo, 71.4% dos casos de HFM necessitaram de múltiplas transfusões in útero. O intervalo de tempo entre a primeira e a segunda transfusão era, aproximadamente, 7 dias. Este tempo ia aumentando entre transfusões subsequentes. (3)

Na HFM a morbidade e mortalidade está muitas vezes associada ao grau de choque hipovolémico e anemia do feto ou recém-nascido.(7,8) Consequentemente, estes devem ser rapidamente identificados de forma a permitir uma ressuscitação adequada e transfusões atempadas. (7,19)

Após o parto, em situações de HFM grave os recém-nascidos exibem, geralmente, sinais de choque como palidez, anemia neonatal, défice de perfusão, extremidades frias, hipotensão, hipoglicémia, diminuição do débito urinário, dificuldade respiratória, hipóxia, alteração do estado de consciência e flacidez.(7–9) Para além disso, podem também apresentar acidose metabólica uma vez que o bicarbonato está armazenado nos eritrócitos e a anemia fetal conduz a uma depleção das reservas de bicarbonato do recém-nascido. (8,9)

Consequentemente, no pós-parto devemos sempre procurar corrigir quaisquer alterações existentes, tendo em atenção que recém-nascidos pré-termo podem necessitar de cuidados mais diferenciados.(8) Devemos, ainda, ter em conta a necessidade de suplementação com oxigénio, entubação endotraqueal, ventilação mecânica, administração de surfactante e bólus de solução salina.(6,8,18) A administração de bicarbonato de sódio para correção da acidose metabólica, glicose para correção da hipoglicémia e agentes inotrópicos positivos e corticosteroides para correção da hipotensão devem, também, ser considerados.(7,18) É, ainda, importante averiguar a necessidade de transfusões pós-parto para tratamento da anemia e hipotensão. (6,8,18)

Estas apresentações e abordagens são compatíveis com as apresentadas no estudo de caso de Ahmed et al.(18) que descreve um recém-nascido que nasce por cesariana às 35 semanas de gestação com um peso de 2800 g. Estava pálido, com dificuldade respiratória e score de Apgar 2/3 necessitando de reanimação com intubação endotraqueal. Apresentava anemia neonatal com Hb 3,2 g/dl e hematócrito 10%, bem como acidose metabólica com pH 7.063. Necessitou, ainda, de ventilação mecânica, bólus de solução salina e transfusão de concentrado eritrocitário. (18)

Também, Markham et al.(7), descreve, no seu estudo de caso, um recém-nascido que nasce por cesariana às 35 semanas de gestação com um peso de 2860 g. Exibia palidez, dificuldade respiratória, hipotensão, fraca perfusão, acidose metabólica e um score de Apgar de 8/8. Apresentava, também, anemia neonatal com Hb 4 g/dl e hematócrito 14%. Houve necessidade de intubação endotraqueal e ventilação mecânica, administração de surfactante, bicarbonato de sódio, bólus de solução salina e transfusão de concentrado eritrocitário. (7)

O objetivo terapêutico inicial em casos de HFM com choque e hipotensão é restaurar a perfusão tecidual e restabelecer o volume.(7) Este, deve ser realizado nos primeiros 10-15 minutos pós-parto para evitar efeitos adversos derivados do déficit perfusional prolongado, no entanto, a taxa de restituição de volume não pode ser excessivamente elevada.(7) Isto, porque a administração de volume de forma excessivamente rápida, leva a um aumento abrupto da pressão sanguínea conduzindo a lesão dos capilares, hemorragia intracraniana e edema pulmonar. (7)

Também, a anemia neonatal deve ser corrigida lentamente, através de transfusões, para evitar exacerbações da falência cardíaca ou sobrecarga de volume.(3,8) Um hematócrito superior a 40% deve ser o alvo a obter uma vez que garante a perfusão tecidual. (7)

O volume a transfundir pode ser calculado com recurso à fórmula: volume de concentrado eritrocitário = $1.6 \times \text{peso do paciente} \times (\text{hematócrito desejado} - \text{hematócrito do paciente})$. (3)

Aquando da necessidade de efetuar transfusões neonatais, é importante ter em conta que podemos optar por uma transfusão normal ou por uma exchange transfusion consoante a situação.(7,8,34) Em casos de hipovolémia devemos optar pela transfusão normal, no entanto, em casos de recém-nascidos normovolémicos ou com anemia severa, a exchange transfusion deverá ser a opção escolhida.(7,8,34) Isto, porque permite a correção da Hb sem causar descompensação cardíaca ou sobrecarga de volume e conseqüente hemorragia intravascular.(8,34) É, ainda, importante ter em consideração que nos casos em que se opte pela exchange transfusion, proteínas, gluconato de cálcio e outros produtos sanguíneos podem necessitar de ser repostos. (8)

Num caso de HFM, em que um recém-nascido nasce com anemia inesperada é sempre necessário considerar diagnósticos diferenciais tais como doenças autoimunes, anemia hemolítica por incompatibilidade Rh, defeitos da estrutura ou função eritrocitária ou hemoglobinopatias congénitas.(8) Devemos, ainda, considerar a hipótese de infeções congénitas ou sépsis bacteriana e, conseqüentemente, ponderar a administração de antibioterapia empírica. (8)

É, também, importante referir que existe risco de recorrência de HFM em gravidezes posteriores.(1) Conseqüentemente, mulheres grávidas que já tenham sofrido uma HFM numa gravidez anterior devem prestar especial atenção ao seus principais sinais e sintomas.(1) Os movimentos fetais devem ser cuidadosamente monitorizados e avaliados se alguma alteração for sentida.(1) Ainda assim, não se preconiza a realização por rotina quer do teste de Kleihauer-Betke, quer do doppler da ACM devido ao risco de falsos positivos que estes acarretam. (1,19,22)

Também no caso de HFM em gravidez de gémeos monocoriônicos é relevante ter conta que ambos os fetos estão sujeitos a desenvolver anemia, devido às anastomoses vasculares existentes em mais de 90% das placentas monocoriônicas.(6) Não está comprovado se a HFM afeta de igual modo ambos os fetos ou se a HFM de um feto é compensada por transfusões intrafetais derivadas das anastomoses placentárias.(6) No entanto, nos dois casos a HFM culmina em anemia em ambos os fetos.(6) Conseqüentemente, se existir suspeita de HFM ou anemia num dos fetos é necessário avaliar, também, o outro. (6)

Para além disto, numa gravidez gemelar considera-se a cordocentese um procedimento bastante difícil pelo que se preconiza nestes casos o parto e tratamento neonatal.(6) É, ainda, importante referir que em gravidezes gemelares a HFM faz diagnóstico diferencial com o síndrome transfusão feto fetal uma vez que ambos causam anemia fetal severa.(6) No entanto, enquanto na HFM o volume de fluido amniótico é igual em ambos os fetos, no síndrome transfusão feto fetal o volume de líquido amniótico é discordante entre os fetos. (6)

3.6 Repercussões e prognóstico

A HFM pode ter diversas repercussões e originar complicações maternas, fetais e neonatais.(1,7,14) O seu prognóstico é difícil de prever, no entanto, a gravidade da HFM está relacionada, essencialmente, com fatores como o volume de sangramento, a taxa de hemorragia e se esta representa um evento crónico, com maior tolerância, ou agudo. (1)

O volume sanguíneo total do feto, bem como a idade gestacional devem ser tidos em conta para entender as repercussões relacionadas com o volume da hemorragia.(11) De um modo geral, admite-se que o volume sanguíneo fetal total divide-se em duas componentes, o

volume em circulação no feto e o volume em circulação na placenta.(11) O primeiro corresponde a cerca de 9% do peso fetal e o segundo é, aproximadamente, 1/3 do volume em circulação no feto. (11)

De acordo com Dziegiel et al.(11), uma HFM aguda de 20% do volume fetal total apresenta uma taxa de mortalidade de 50%, enquanto uma HFM de 40% do volume fetal total apresenta uma taxa de mortalidade de 100%.

Uma hemorragia de pequeno volume é, de um modo geral, bem tolerada pelo feto não apresentando grandes consequências.(1) No entanto, hemorragias significativas se não tratadas e de volume considerável, podem ter repercussões graves como anemia fetal, hidropsia fetal, falência cardíaca, choque hipovolêmico, morte intrauterina ou neonatal, prematuridade, encefalopatias, lesão neurológica, paralisia cerebral e hipertensão pulmonar persistente.(1,7,14) De salientar que a anemia fetal é a consequência mais comum da HFM e que a sua presença, em especial se significativa, aumenta a probabilidade de ocorrência dos outros outcomes. (1)

Rubod et al.(15) realizaram um estudo retrospectivo com uma amostra de 48 casos de HFM com o objetivo de determinar outcomes fetais e neonatais. As HFM foram diagnosticadas com recurso ao teste de Kleihauer-Betke. Foram considerados como outcomes adversos, morte neonatal, necessidade de transfusão, necessidade de internamento em unidade de cuidados intensivos neonatais e necessidade de indução de parto pré-termo. Os resultados revelaram que, para uma HFM de volume igual ou superior a 20 ml/kg, 17.4% dos fetos necessitaram de indução de parto pré-termo, 21.7% necessitaram de transfusões neonatais, 26.1% foram nados-mortos e 34.8% foram admitidos na unidade de cuidados intensivos neonatais. Para volumes superiores a 80 ml/kg os outcomes adversos eram inevitáveis e 2/3 dos casos eram nados-morto. Desta forma, este estudo concluiu que para uma HFM de volume igual ou superior a 20 ml/kg existe um aumento da morbimortalidade e quanto maior for o volume da hemorragia maior o risco de eventos adversos. (15)

Também, para King et al.(25), a partir dos 20 ml/kg de volume de HFM, a probabilidade de ocorrência de eventos adversos aumenta.

Os resultados anteriormente apresentados são semelhantes aos encontrados por Sebring et al.(16). Este autor utilizou uma amostra de 64 casos de HFM superior a 30 ml e verificou que 15.6% eram nados-mortos e 10.9% correspondem a fetos que morreram em menos de 72h. Se apenas forem consideradas HFM superiores a 150 ml, obtemos uma mostra de 41 casos e uma taxa de morte perinatal de 36.6%. (16)

Ainda assim, é importante notar que, segundo Wylie et al.(1), a possibilidade de prever repercussões da HFM com base no seu volume não é completamente realista.

Um sangramento agudo, com uma taxa de hemorragia elevada, leva a situações de maior gravidade, pois conduz a descompensação circulatória, situação que pode culminar em morte intrauterina, enfarte cerebral, coagulação intravascular disseminada e choque hipovolémico.(7,11) No entanto, para que surjam sinais de choque é necessária a perda aguda de pelo menos 20% do volume sanguíneo fetal total.(7) Em contrapartida, um sangramento crónico, com baixa taxa de hemorragia, ao ocorrer ao longo do tempo, permite ao feto ativar mecanismos de adaptação cardiovascular compensatórios, sendo consequentemente melhor tolerado.(11) O sangramento crónico é o mais comum em casos de HFM e conduz, também, a um aumento da atividade hematopoiética. (7)

Para além disto, a presença de um fluxo de sangue bidirecional entre mãe e feto, existente em qualquer gravidez, exerce um efeito protetor para a sobrevivência do feto. (1)

Nenhum dos testes de diagnóstico, quer seja o teste de Kleihauer-Betke ou a citometria de fluxo, é capaz de determinar parâmetros como o momento de início da HFM ou a presença de hemorragia crónica ou aguda. Este facto, dificulta bastante a possibilidade de prever repercussões da HFM. (3,19)

No entanto, a deteção de eritroblastos e reticulócitos na circulação fetal, derivados do aumento da atividade da medula óssea fetal numa tentativa de compensar a HFM, são característicos de um sangramento crónico.(11) Esta deteção pode ser feita com recurso a citometria de fluxo, 1 a 2 dias após a HFM.(11) Para além disso, o não desenvolvimento de hipovolémia é, também, característico de um sangramento crónico, indicando que mecanismos compensatórios fetais foram ativados. (34)

Um outro fator prognóstico a ter em conta é o valor da hemoglobina neonatal. (13)

Christensen et al.(13) realizaram um estudo retrospectivo com o objetivo de determinar repercussões em casos de HFM com anemia neonatal. Os critérios de inclusão deste estudo foram a presença, à nascença, de Hb < 10 g/dl ou hematócrito < 30% e a existência de HFM confirmada pelos teste de Kleihauer-Betke ou citometria de fluxo, originando uma amostra de 24 casos para o estudo. Foram considerados como outcomes adversos, morte neonatal, hemorragia intravascular disseminada, leucomalacia periventricular, encefalopatia hipóxico isquémica e displasia broncopulmonar. Verificou-se a presença destes outcomes em 71% dos casos. Para além disso, para valores de Hb neonatal inferiores a 5 g/dl a taxa de outcomes adversos era de 100%. Desta forma, os autores concluíram que valores de Hb neonatal inferiores a 5 g/dl inferem um prognóstico negativo com elevado risco de morbimortalidade, necessidade de reanimação e suporte transfusional. (13)

O nado morto é uma das repercussões mais graves da HFM.(1,7,35) Estima-se que esta é responsável por 1-13% de todos os nados mortos.(35) Quanto maior for o volume da HFM,

maior é o risco sendo este, especialmente elevado para volumes de hemorragia superiores a 20 ml/kg. (35)

Os testes diagnósticos de HFM devem ser realizados mesmo em casos de nado morto, uma vez que podem conferir informações importantes relativas à causa de morte em cerca de 6.4% dos casos, o que pode ajudar a apaziguar o sofrimento dos pais.(35) Apesar destes testes poderem ser realizados até várias semanas após a HFM, devem ser realizados o mais precocemente possível. (35)

Page et al.(35) incluíram no seu artigo de revisão um ensaio com 512 casos de nados mortos em que 43.6% realizaram um teste de diagnóstico de HFM e em 4.6% destes, este teste foi positivo. Os autores referem, ainda, um outro estudo com 1025 casos de nados mortos. Aqui, 12% foram diagnosticados com HFM e esta foi considerada a causa de morte em 1.3%. (35)

Relativamente às repercussões a longo prazo da HFM, em especial as relacionadas com o neurodesenvolvimento, o estudo retrospectivo de Rubod et al.(15), debateu-se, também, sobre este assunto. Inicialmente, a amostra incluía 42 crianças que sobreviveram a HFM superior a 20 ml. Porém, apenas foram avaliados os outcomes em 31. A idade média dos participante era de 59 meses e não se verificou qualquer sequela neurológica em 30/31. A única criança com sequelas neurológicas, era também portadora de uma alteração mitocondrial à qual se atribuiu o atraso no desenvolvimento. (15)

No estudo de Sebring et al.(16), num total de 64 casos de HFM superior a 30 ml sobreviveram apenas 41 crianças. Nestas, foram detetados danos neurológicos em apenas 1 delas. (16)

Solomon et al.(8), na sua revisão de literatura, relatam ainda uma outra série em que foram avaliados os outcomes neurológicos a longo prazo de 26 crianças que sofreram HFM. Aqui, 46% apresentaram outcomes adversos, sendo que 10 faleceram nos primeiros 6 meses de vida e 1 desenvolveu sequelas neurológicas. (8)

Miyahara et al.(34), no seu estudo de caso, descreve um caso de uma HFM de 986 ml submetida a cesariana de emergência às 27+1 semanas de gestação. A cardiocografia fetal apresentava um padrão sinusoidal e o recém-nascido possuía um peso à nascença de 998 g e anemia neonatal com Hb de 1.2 g/dl e hematócrito 4.5% necessitando de transfusão de concentrado eritrocitário. Estava pálido, sem respiração espontânea, com score de Apgar de 2/2 necessitando de reanimação e intubação endotraqueal. Apresentava, ainda, acidose metabólica (pH 7.14), mas sem hipovolémia. A criança apresentou um neurodesenvolvimento normal e continuava sem sequelas aos 18 meses de vida. (34)

Estes dados não corroboram as afirmações de Christensen et al.(13), segundo o qual, valores de Hb neonatal inferiores a 5 g/dl são indicativos de mau prognóstico e de Rubod et al.(15)

que afirma que para volumes de hemorragia superiores a 80 ml/kg os outcomes adversos são inevitáveis.

Gică et al.(3) relata, também, no seu estudo de caso uma HFM de 490 ml em que se optou, igualmente, por uma cesariana de emergência às 37+2 semanas de gestação. O doppler da ACM revelava uma velocidade sistólica máxima 1.5 vezes superior à média e a cardiocotografia fetal baixa variabilidade. O recém-nascido apresentava um peso à nascença de 3050 g e uma anemia neonatal com Hb de 3.6 g/dl e hematócrito 12.8% necessitando de transfusão de concentrado eritrocitário. Encontrava-se pálido, com acidose metabólica (pH 7.12), hipovolémia, movimentos respiratórios reduzidos e score de Apgar de 4/6 necessitando de reanimação com ventilação mecânica. Apesar de esta criança possuir, igualmente, os mesmo indicadores de mau prognóstico que o caso anterior, apresentava um neurodesenvolvimento normal e uma completa ausência de sequelas aos 6 meses. (3)

Em contrapartida, Solomonia et al.(8) descreve um caso de HFM de 190 ml submetido a cesariana de emergência às 28 semanas de gestação. O recém-nascido apresentava um peso à nascença de 1335 g e uma anemia neonatal com Hb de 1.4 g/dl e hematócrito 5% necessitando de transfusão de concentrado eritrocitário. Estava pálido, com acidose metabólica (pH 6.8), baixa perfusão, hipovolémia, movimentos respiratórios reduzidos e score de Apgar de 1/3/3 necessitando de reanimação com entubação endotraqueal e ventilação mecânica. Neste caso, a criança desenvolveu uma lesão cerebral hipóxica que conduziu a hidrocefalia, pelo que o seu prognóstico neurológico permaneceu reservado. (8)

Também Topping et al.(9), relata um caso de HFM de 268 ml submetido a cesariana de emergência às 35 semanas de gestação. A cardiocotografia fetal apresentava variabilidade moderada com ausência de acelerações e desacelerações. O recém-nascido apresentava um peso à nascença de 2370 g e uma anemia neonatal com Hb 3.2 g/dl necessitando de transfusão de concentrado eritrocitário. Estava pálido, com acidose metabólica (pH 7.33), dificuldade respiratória e score de Apgar 1/4/4 necessitando de reanimação com entubação endotraqueal e ventilação mecânica. Neste caso a criança tinha uma ressonância magnética com achados compatíveis com encefalopatia hipóxico isquémica, no entanto, às 22 semanas de idade não apresentava qualquer tipo de sequelas neurológicas. (9)

Capítulo 4

Apresentação do caso clínico

Grávida de 40 anos, grupo sanguíneo A positivo, G3P1. Teve um parto eutócico de um recém-nascido de 3070 g, sem intercorrências, em 2017 e um aborto espontâneo em 2022. Sem outros antecedentes pessoais de relevo e com antecedentes familiares de hipertensão, diabetes, glaucoma congénito e carcinoma gástrico e prostático. Marido de 42 anos não consanguíneo, saudável e sem antecedentes pessoais de relevo.

Na atual gravidez a utente foi encaminhada pelo seu centro de saúde para seguimento hospitalar por aborto anterior e idade materna superior a 40 anos, sendo seguida em consulta de obstetrícia no Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira (CHUCB) desde as 15 semanas de gestação. As serologias de 1º, 2º e 3º trimestre não apresentavam alterações mostrando, apenas, ausência de imunidade à toxoplasmose.

A ecografia do 1º trimestre, realizadas às 13 semanas de gestação, não apresentava alterações e continha risco reduzido (1:485) no rastreio bioquímico. Foi realizada amniocentese às 18 semanas de gestação, por opção da grávida, revelando cariótipo 46 XX, sem outras alterações.

A ecografia do 2º trimestre, realizada às 22 semanas de gestação, era, também, normal.

A ecografia do 3º trimestre, realizada às 32 semanas de gestação, revelou parâmetros anatómicos normais, estudo de doppler umbilical e da ACM sem alterações e índice de líquido amniótico normal. Feto em apresentação cefálica com crescimento fetal adequado, apesar de se encontrar no percentil 9, devido ao comprimento reduzido do fémur que se encontrava no percentil 1.

A grávida recorre ao serviço de urgência do CHUCB a 25 de outubro de 2022, às 37+1 semanas de gestação, por diminuição dos movimentos fetais com um dia de evolução. À entrada, cardiotocografia fetal pouco reativa e *Streptococcus* do grupo B e covid-19 negativos. É realizada profilaxia antibiótica endovenosa e cesariana urgente por suspeita de sofrimento fetal e restrição de crescimento intrauterino.

Nasce no dia 25 de outubro às 17:25h, um recém-nascido de sexo feminino com um peso à nascença de 2620 g (P3-P15), um comprimento de 44 cm (<P3), um perímetro cefálico de 32 cm (P3-P15) e um índice de Apgar de 1/3/8 com necessidade de reanimação e intubação endotraqueal com FiO₂ a 21%.

A criança nasce impregnada de mecónio espesso, pálida, sem movimentos respiratórios, hipotónica e com uma frequência cardíaca de 40 bpm. São iniciadas ventilações com PP 5+5 mas com fraca resposta, pelo que se opta por intubação endotraqueal aos 8 minutos de vida, dificultada por retrognatismo e secreções meconiais. Verificando-se, no seu seguimento, uma elevação da frequência cardíaca para 100 bpm. Recém-nascido mantém movimentos respiratórios pouco eficazes e é enviada para o serviço de neonatologia em ventilação modo CPAP com PEEP 6.

Aquando do parto, foi realizada colheita de sangue do cordão umbilical para gasimetria que revelou pH 7.2, pCO₂ 48 mmHg, HCO₃⁻ 18.8 mmHg, Na⁺ 131 mmol/L, K⁺ 3.8 mmol/L, glicose 182 mg/dl e lactatos 10.9 mmol/L.

No pós-operatório, foi realizada colheita de sangue do recém-nascido para hemocultura, tipagem sanguínea e realização de teste de Coombs direto, por suspeita de HFM.

Na neonatologia foram realizadas análises clínicas e gasimetria às 18:34h do dia 25.

As análises clínicas revelaram uma anemia severa com Hb 3.4 g/dl e hematócrito de 11.6%, bem como PCR 0.15 mg/dl, glicose 24 mg/dl, plaquetas 169000, leucócitos 32000, neutrófilos 10500 linfócitos de 19500.

Na gasimetria foi identificada acidose metabólica grave com pH 7.09, pCO₂ 31 mmHg, pO₂ 36 mmHg, HCO₃⁻ 9.4 mmol/L, lactatos 135 mg/dl, uma hiponatrémia com Na⁺ 130 mmol/L e uma hipocaliémia com K⁺ 2.6 mmol/L.

Na neonatologia, mantém ventilação mecânica com CPAP, inicia antibioterapia empírica com ampicilina mais gentamicina e faz bólus de 6 ml de bicarbonato de sódio 8.4% em 2 horas. É, ainda, pedida 1 unidade de concentrado eritrocitário por anemia aguda com Hb<4g/dl e iniciada transfusão de 45 ml pelas 19:44 do dia 25. Posteriormente, a tipagem sanguínea revelou grupo sanguíneo A Rh positivo e conseqüente compatibilidade Rh com a mãe. Teste de Coombs direto veio negativo.

Às 5h de vida, o recém-nascido apresentava como problemas anemia neonatal grave, acidose metabólica grave com marcadores de asfixia elevados, hipoglicémia e hipocaliémia. Estava em respiração espontânea com CPAP 8 cmH₂O, mantendo SpO₂ de 99-100% com FiO₂ a 78%.

Frequência cardíaca entre 130-140 bpm, com palidez melhorada, tempo de reperfusão capilar inferior a 3 segundos e pressão arterial média de 26 mmHg que subiu para 30 mmHg, após bólus de 10 ml/kg de soro fisiológico. Após a primeira transfusão de concentrado eritrocitário, a pressão arterial média subiu para 39 mmHg, altura em que iniciou 2.5 mg de furosemida.

Repete controlo analítico às 21:42h do dia 25, após a transfusão de 45 ml de concentrado eritrocitário, que revelou Hb 6.9 g/dl e hematócrito de 21%, Na⁺ 134 mmol/L, K⁺ 3 mmol/L,

glicose 33 mg/dl e marcadores de asfixia elevados (lactato 135 mg/dl, LDH 5408 U/L, CK 2560 U/L) congruentes com hipóxia. Na gasimetria mantém acidose com pH 7.19, pO₂ 90 mmHg, pCO₂ 29 mmHg e Hco₃⁻ 11.1 mmol/L.

Recém-nascido sob bólus de soro com 6 ml/h de dextrose 10% que, posteriormente, passou para 12.5%. Realizou, também, 1 ml/h de soro heparinizado.

Foi iniciada mais uma transfusão de 52 ml de concentrado eritrocitário e adicionado cloreto de potássio ao soro para correção da hipocaliémia. Após 5º bólus de 6ml/h de dextrose, quatro a 10% e um a 12.5%, a glicemia capilar normalizou, atingindo 76 mg/dl.

A nível neurológico recém-nascido irritável e alerta, ficando mais tranquilo após administração de hidrato de cloral 90 mg. Escala de Thompson de 5 em 7 sob CPAP. Reflexo de sucção vigoroso, reflexo de Moro fraco, tónus no limiar inferior do normal e preensão fraca.

Recém-nascido em pausa alimentar, sem dejeções pós-parto, reduz CPAP de 8 para 6 cmH₂O e inicia desmame de FiO₂.

O controlo analítico foi, novamente, repetido às 23:24, após transfusão de um total de 45+52ml de concentrado eritrocitário.

Às 9h de vida, já no dia 26 de outubro, recém-nascido mantém como problemas ativos anemia neonatal grave, acidose grave com marcadores de asfixia elevados, hipoglicémia e hipocaliémia, continuando em respiração espontânea com CPAP a 6 cmH₂O e FiO₂ a 67%. Apresentava agora, também, alterações da coagulação.

A nível cardiocirculatório, frequência cardíaca 120-130 bpm e pressão arterial média de 40 mmHg, pele rosada, tempo de reperfusão capilar inferior a 3 segundos, edema ligeiro dos membros inferiores e nádegas. Já realizou 2 tomas de furosemida 2.5 mg após cada uma das transfusões de concentrado eritrocitário.

O controlo analítico realizado às 23:24 de dia 25, revelou Hb 13.1 g/dl, hematócrito 39.3%, plaquetas 86000, glicose 80 mg/dl, Na⁺ 131 mmol/L, K⁺ 3.6 mmol/L, albumina 1.8 g/dl, 30400 leucócitos, 14500 neutrófilos e 13600 linfócitos. Foi, ainda, realizado estudo de coagulação que revelou INR 3.04, TP ratio 3.2, APTT ratio 1.23 e fibrinogénio inferior a 150 mg/dl.

Gasimetria mantém acidose metabólica com pH 7.12, pO₂ 33 mmHg, pCO₂ 45 mmHg, HCO₃⁻ 14.6 mmHg e lactato 107 mg/dl.

Iniciou-se 26 ml de plasma fresco e 1 mg de vitamina K para correção da hipofibrinogenemia.

Mantém perfil neurológico, ainda sem micções ou dejeções e continua em pausa alimentar. Foi suspensa a transfusão de concentrado eritrocitário. No total foram realizadas 2 transfusões 45+52ml. Foi pedido o doseamento de hemoglobina fetal na mãe por suspeita de HFM às 01:22 do dia 26 de outubro.

Após administração dos 26ml de plasma fresco é realizado novo controlo analítico às 03:12 do dia 26. Aqui, Hb 12.8 g/dl, hematócrito 37.8%, plaquetas 83000, leucócitos 22800, neutrófilos 11800 e linfócitos 8900. No estudo de coagulação INR 2.42, TP ratio 2.5, aPTT ratio 1.1 e fibrinogénio inferior a 150 mg/dl.

Na gasimetria permanece acidose com pH 7.27, pO₂ 90 mmHg, pCO₂ 28 mmHg e HCO₃⁻ 12.9 mmol/L, Na⁺ 122 mmol/L e K⁺ 2.8 mmol/L, glicose 90 mg/dl e lactatos 86 mg/dl.

Recém-nascido iniciou bicarbonato no soro para correção da acidose metabólica, mantém edema ligeiro e aporte de soro com cloreto de potássio 7.5% e dextrose 12.5%.

Na madrugada do dia 26 continua com hiponatrémia, hipocaliémia, hipoalbuminemia, trombocitopenia, hipofibrinogenemia, APTT ratio normal, mas TP ratio prolongado. Diurese desde nascimento de 1.9 ml/kg/h.

A nível respiratório, frequência respiratória de 60-70 rpm com ligeira tiragem intercostal inferior, passa para CPAP 5 cmH₂O com FiO₂ de 52%, mantendo SpO₂ de 99%. A nível cardiocirculatório, frequência cardíaca e pressão arterial normais e edema generalizado sobretudo nos membros inferiores. Abdómen depressível e pulsos palpáveis e simétricos. É realizada radiografia de tórax que sugere hipotransparência da base direita. Recém-nascido com ligeiro gemido na manipulação e continua em pausa alimentar.

É realizado novo controlo analítico às 5:10, do dia 26, que revelou Hb 13 g/dl, hematócrito 39.3%, plaquetas 75000, leucócitos 19500, neutrófilos 11700, linfócitos 6300, glicose 86 mg/dl, Na⁺ 131 mmol/L, K⁺ 3.6 mmol/L, albumina 2 g/dl e PCR 0.46 mg/dl. A nível de coagulação INR 2.56, TP ratio 2.6, aPTT ratio de 1.07 e fibrinogénio 76 mg/dl.

Na gasimetria mantém acidose com pH 7.27, pO₂ 48 mmHg, pCO₂ 40 mmHg, HCO₃⁻ 18.4 mmol/L e lactatos 85 mg/dl.

A pesquisa de hemoglobina fetal na circulação materna por High Performance Liquid Chromatography (HPLC), pedida à 1:22 do dia 26, revelou 8.5% de HbF, resultado este congruente com a suspeita de HFM.

Recém-nascido realizou 3 mg de furosemida e repete bólus de bicarbonato para tentar corrigir acidose metabólica em agravamento. CHUCB entra em contacto com hospital pediátrico de Coimbra, acabando por se optar pela transferência do recém-nascido a decorrer, ainda, no dia 26 de outubro.

Antes da transferência é, ainda, realizado um novo controlo analítico e gasimétrico no CHUCB às 11:06 do dia 26 de outubro. Aqui, Na⁺ 129mmol/L, K⁺ 3.6 mmol/L e albumina 1.9 g/dl. Gasimetria com pH 7.28, pCO₂ 36 mmHg, pO₂ 41 mmHg, HCO₃⁻ 16.9 mmol/L e lactatos 74 mg/dl.

A última gasimetria, ainda realizada no CHUCB às 15:54, revela pH 7.3, pCO₂ 36 mmHg, pO₂ 42 mmHg, HCO₃⁻ 17.7 mmol/L, Na⁺ 128 mmol/L, K⁺ 3.8 mmol/L e lactatos 80 mg/dl. Recém-nascido é transferido para o Hospital Pediátrico de Coimbra realizando, antes do transporte, mais 1 ml/kg de bicarbonato e iniciando perfusão de dopamina 5 µg/kg/m. A hemocultura realizada no momento do parto veio negativa no dia 30 de outubro.

Relativamente à puérpera, no pós-operatório é realizado às 20:30 do dia 25 de outubro um teste confirmatório de tipagem sanguínea, confirmando-se o grupo sanguíneo A Rh positivo, assim como um teste de Coombs indireto, por suspeita de HFM, que veio negativo. A placenta foi enviada, após a cesariana, para análise pela anatomia patológica. O relatório revelou, no dia 16 de novembro, uma placenta completa com imaturidade multifocal, coocorrência de macrófagos com pigmento no amnio-corion e eritroblastos em circulação, o que apoia o diagnóstico de hipóxia e anemia fetal. Para além disso, a placenta não apresentava critérios patológicos nem de infeção e possuía um peso de 364 g que corresponde ao percentil 50, bem como um cordão umbilical de 28 cm.

No primeiro dia pós cesariana, dia 26 de outubro, a utente encontrava-se bem, sem queixas e apirética, sem sinais de trombose venosa profunda dos membros inferiores, mamas com colostro e sem sinais inflamatórios, lóquios sero hemáticos escassos, abdómen mole e depressível, útero tónico infra-umbilical e penso limpo e seco.

Ao segundo dia de internamento, dia 27 de outubro, a utente tem alta.

Durante o internamento na unidade de cuidados intensivos do Hospital Pediátrico de Coimbra o recém-nascido realizou otoemissões acústicas, no dia 7 de novembro, passando bilateralmente e colheita de exoma em trio, no dia 10 de novembro. Realizou hemograma, a 10 de novembro, que revelou Hb 9.3 g/dl, hematócrito 27.5%, plaquetas 214000, leucócitos 8800, reticulócitos de 7.7% com um índice de produção de reticulócitos de 3.14%, o que revela eritropoiese adequada. Recém-nascido estava sob antibioterapia empírica com ampicilina e gentamicina desde dia 26 de outubro que passou para metronidazol, a 31 de novembro, por suspeita de enterocolite necrotizante.

Realizou ecografia abdominal que revelou vesícula biliar marcadamente distendida com 4.7 cm de maior diâmetro, mas com parede fina e sem alterações de conteúdo e um ligeiro derrame peritoneal livre homogéneo, sem outras alterações de relevo. Efetuou também uma ecografia pulmonar no dia 28 de outubro que revelou um síndrome intersticial bibasal ligeiro com fina lamina de derrame pleural bibasal e subfrênico.

A 29 de outubro realizou uma ressonância magnética crânio encefálica que revelou insulto vascular por possível quadro de encefalopatia hipóxica, alterações de sinal do corpo caloso, micro-hemorragia na substância branca periventricular, discreto alargamento do espaço

subaracnoideu laterocerebeloso de predomínio direito e espessamento dos tecidos moles epicranianos a traduzir possível edema.

No dia 10 de novembro é realizado uma avaliação pela cardiologia pediátrica onde é relatado um ecocardiograma com forâmen oval patente, shunt E-D e comunicação interauricular, sem outras alterações. Foi, também, realizado um eletroencefalograma, que revelou um traçado adequado à idade com registo de atividade paroxística e crises focais frontais esquerdas. Em consequência destes achados foi iniciada terapia com fenobarbital endovenoso, durante o internamento, passando a posologia oral de 10 mg por dia, aquando da alta, terapêutica que mantém na atualidade.

Aos 18 dias de vida, no dia 11 de novembro, o recém-nascido retorna da unidade de cuidados intensivos do Hospital Pediátrico de Coimbra sendo admitido no serviço de neonatologia do CHUCB. Utente possui como diagnósticos anemia severa por HFM e encefalopatia hipóxico-isquémica. Apresenta como antecedentes restrição crescimento intrauterino, aspiração meconial, insuficiência respiratória, choque hipovolémico, distúrbios eletrolíticos, acidose metabólica e insuficiência hepática e renal aguda.

Aqui, recém-nascido apirético, em respiração espontânea com SpO₂ 97-98% em ar ambiente, hemodinamicamente estável, frequência cardíaca de 130 bpm, tempo de reperfusão capilar < 2 segundos com extremidades bem perfundidas. Diurese regular, com trânsito intestinal presente, algumas cólicas abdominais e sem movimentos sugestivos de crises focais. Sob terapêutica com fenobarbital 10 mg por dia oral, aleitamento materno por sonda orogástrica e mama. Gasimetria com glicose 90 mg/dl e lactatos de 1.8 mg/dl. Iniciou vitamina D, uma gota por dia.

Ao longo dos 5 dias de internamento no CHUCB, de 11 a 15 de novembro, recém-nascido manteve parâmetros hemodinâmicos e respiratórios estáveis. Tolerância alimentação por sonda orogástrica e tetina e vai à mama com bons reflexos. Micções e dejeções presentes, auscultação cardiopulmonar sem alterações e abdómen normal. Bom controlo cefálico e contacto ocular adequado, fixa e segue. Tônus muscular normal, mas ligeira hipertonia dos membros inferiores bem como, fraca prensão palmar e plantar. Ao longo do internamento, recém-nascido sob fenobarbital 1 mg por dia, leite materno por sonda orogástrica e vitamina D. No dia 14 de novembro, dia 4 de internamento, retirou sonda orogástrica.

No dia 15 de novembro, dia 5 de internamento, apresentava um peso de 2645 g, um comprimento de 47 cm e um perímetro cefálico de 32.5 cm, estando no percentil 3 em todos os parâmetros. Recém-nascido com alta programada para o dia seguinte, mantendo fenobarbital 1 mg/dia.

Criança realizou controlo analítico no dia 7 de fevereiro de 2023, apresentando Hb 9.5 g/dl, hematócrito 29.8%, plaquetas 395000, leucócitos 7800, neutrófilos 1600 e linfócitos 5000.

Estudo das anemias com ferro 19 µg/dl, transferrina 353.4 mg/dl e saturação transferrina 3.8%.

Criança vem aos 7 meses, no dia 16 de junho de 2023, a consulta externa de pediatria no CHUCB. Aqui, apresenta peso de 6.2 Kg (P3-15), comprimento 62 cm (P3-15) e perímetro cefálico de 40 cm (P3-15). Exame neurológico com boa impressão clínica. Contacto ocular adequado, reage de forma adequado a estímulos sonoros, reflexo do olho vermelho presente bilateralmente, pupilas isocóricas isoreativas. Possui hemangioma frontal e occipital centrais e fontanela anterior aberta. No choro apresenta padrão de paresia facial direita do tipo central. Reflexos miotáticos simétricos e vivos, preensão palmar e plantar presente e língua sem fasciculações. Esboça marcha automática com reflexo de Moro assimétrico com elevação menos eficaz do membro superior direito. Boa sustentação cefálica e hipertonia axial e apendicular. Mobiliza menos eficazmente o membro superior direito. Relatório de ecografia transfontanelar realizada no CHUCB a 11 de janeiro revela uma boa evolução ecográfica. Criança sob medicação com clozapina, fisioterapia e terapia ocupacional para otimização do desenvolvimento e do padrão de movimento à direita.

Capítulo 5

Discussão do caso clínico

O caso clínico apresentado retrata um caso de HFM ocorrido no CHUCB. Neste caso, apesar de a grávida ter realizado amniocentese, um dos fatores de risco para a ocorrência de HFM(1,6), esta parece estar incluída nos 82% que, segundo Markham et al.(7), ocorrem espontaneamente e sem causa identificável.

Aqui, a grávida surge às 37+1 semanas de gestação com diminuição dos movimentos fetais como único sintoma, recorrendo por isto ao serviço de urgência do CHUCB. Esta apresentação é consistente com a inespecificidade e pouca sintomatologia associada à HFM, sendo, efetivamente, a diminuição dos movimentos fetais o sintoma in útero mais comum. (1,2,7)

Já no CHCUB foi realizada uma cardiocografia fetal que revelou um padrão pouco reativo. Este achado vai de encontro ao que é evidenciado pela literatura científica, pois padrões anormais de cardiocografia fetal levantam a suspeita de HFM, anemia fetal ou hipóxia. (3,6,9)

Apesar de os teste de diagnóstico de HFM não se realizarem por rotina, perante esta grávida que se apresenta com diminuição dos movimentos fetais e uma cardiocografia fetal pouco reativa, existe suspeita de HFM e, conseqüentemente, indicação para a sua realização imediata.(4,7,10,11) No entanto, como gestão da HFM, optou-se pelo parto por cesariana e realização de testes de diagnóstico a posteriori, uma vez que nesta situação se considerou que o tempo de realização e obtenção dos resultados dos testes seria demasiado elevado. Contudo, segundo a literatura, nestas situações deve-se optar pela realização do doppler da ACM para deteção de anemia fetal, antes de se efetuar a escolha da abordagem a adotar, com o intuito de permitir uma rápida atuação sobre a anemia aquando do parto. (1,19)

A escolha de realização de parto por cesariana, vai de encontro às recomendações da literatura científica, uma vez que se preconiza que para idades gestacionais superiores a 34 semanas se opte pelo parto.(3,14) Neste caso, a idade gestacional era de 37+1 semanas.

Uma vez que este caso clínico trata de uma gestação a termo, sem risco de incompatibilidade Rh não houve necessidade de administração de corticoides pré-natais ou imunoglobulina anti-D. (1,4,12)

A criança nasceu impregnada de mecónio espesso, pálida, sem movimentos respiratórios, hipotónica e com uma frequência cardíaca de 40 bpm. Apresentava anemia severa (Hb 3.4 g/dl e hematócrito 11.6%), acidose metabólica grave (pH 7.09) e hipoglicémia (24 mg/dl).

Possuía, ainda, um índice de Apgar de 1/3/8 com necessidade de reanimação com entubação endotraqueal. Esta apresentação é semelhante à descrita na literatura onde fetos com HFM nascem, geralmente, pálidos, com déficit de perfusão, hipotensão, dificuldade respiratória, hipoglicémia, acidose metabólica e anemia neonatal.(7–9) Nestes casos, são muitas vezes necessárias várias medidas de suporte como entubação endotraqueal, ventilação mecânica, bólus de solução salina e transfusões pós-parto (6–8,18), tal como realizado na abordagem deste caso. Para além disso, pode ser necessário a correção da acidose metabólica com bicarbonato de sódio e da hipoglicémia com dextrose(7,18), abordagens também aqui efetuadas.

Assim, este caso clínico é idêntico aos descritos por Ahmed et al.(18), Solomon et al.(8), Topping et al.(9) e Markham et al.(7), anteriormente abordados.

A análise da placenta pela anatomia patológica revelou um aumento de eritroblastos na circulação, o que vai de encontro aos achados de Ravishankar et al.(17) que afirma que esta é uma das alterações placentárias associadas a HFM.

Neste caso clínico, o diagnóstico de HFM foi determinado a partir da percentagem de HbF no sangue materno por HPLC. No entanto, segundo a literatura científica, os métodos diagnósticos mais indicados para a HFM são o teste Kleihauer-Betke ou a citometria de fluxo, que permitem a quantificação da hemorragia. (1,10)

A HPLC é uma técnica que se baseia na separação e quantificação dos tipos de Hb presentes numa amostra de sangue hemolisada. Esta técnica, segundo Chambers et al.(36), é menos sensível e específica para diagnosticar HFM quando comparada aos testes Kleihauer-Betke ou citometria de fluxo. Isto, porque os teste Kleihauer-Betke e a citometria de fluxo determinam a quantidade de HbF em cada eritrócito individual, enquanto a HPLC o faz na amostra total de sangue hemolisado, que contém HbF tanto proveniente de células fetais como de células F maternas. Para este autor, a HPLC tem pouco interesse como teste diagnóstico qualitativo ou quantitativo de HFM. (36)

Também para Stefanovic et al.(19), devido à possibilidade de existência de hemoglobinopatias, a HPLC não deve ser utilizada para o diagnóstico de HFM.

O prognóstico da HFM depende, essencialmente, de fatores como o volume da hemorragia, a taxa de hemorragia, o valor de hemoglobina neonatal e se o sangramento é crónico ou agudo. (1,13)

Neste caso, não foi possível calcular o volume da HFM, uma vez que o método diagnóstico utilizado, a HPLC, não o permite quantificar. Consequentemente, o prognóstico com base no volume da hemorragia não pode ser previsto.

Contudo, é possível prever o prognóstico deste caso clínico com base no valor da hemoglobina neonatal. Segundo Christensen et al.(13) valores de Hb neonatal inferiores a 5 g/dl podem conduzir a um prognóstico negativo com desenvolvimento de encefalopatia hipóxico isquêmica. (13)

O recém-nascido apresentava uma Hb neonatal bastante diminuída (3.4 g/dl) desenvolvendo, posteriormente, encefalopatia hipóxico isquêmica, o que corrobora a afirmação supracitada.

O prognóstico neurológico e do neurodesenvolvimento são dos outcomes mais relevantes em casos de HFM.(1,14) No caso clínico apresentado, a ressonância magnética crânio encefálica, realizada durante o internamento no Hospital Pediátrico de Coimbra, revelou um insulto vascular por possível quadro de encefalopatia hipóxica. Esta, é uma das repercussões do foro neurológico que podem ser consequência de HFM. (1,8,9,14)

No follow up aos 7 meses de idade, em consulta de pediatria, a criança apresentava um padrão de paralisia facial à direita do tipo central, marcha automática e reflexo de moro assimétrico com elevação menos eficaz do membro superior direito. Estes achados do exame objetivo são consistentes com lesão neurológica resultante da HFM e possivelmente da encefalopatia hipóxico isquêmica desenvolvida. Em consequência, a criança encontra-se a realizar fisioterapia e terapia ocupacional.

Este caso clínico é semelhante ao descrito no estudo de caso de Solomon et al.(8) onde, também, estavam presentes fatores de mau prognóstico como Hb neonatal inferior a 5 g/dl e o recém-nascido desenvolveu uma encefalopatia hipóxico isquêmica com sequelas neurológicas.

No entanto, como evidenciado em estudos anteriormente citados, as sequelas neurológicas não parecem ser comuns em casos de HFM. (8,15,16)

Por tudo isto, é essencial que os profissionais de saúde tenham o diagnóstico de HFM em consideração mesmo na ausência de fatores de risco, especialmente, em recém-nascidos que se apresentam com anemia neonatal.(37) O diagnóstico desta condição é importante, não só, para a determinação do prognóstico do recém-nascido e organização familiar em função deste, mas, também, para o aumento da vigilância obstétrica em futuras gravidezes. (37)

Stroustrup et al.(37) realizaram um estudo retrospectivo entre 1998 e 2010, com o objetivo de determinar se o diagnóstico de HFM era mais frequente após a educação dos profissionais de saúde sobre esta condição. A educação dos profissionais foi realizada em 2008 e consistiu em 2 sessões educativas com base na literatura científica atual acerca de HFM. (37)

Durante este período, foram selecionados para o estudo recém-nascidos com anemia fetal nas primeiras 4 horas de vida, indicada por um hematócrito fetal inferior a 50%. Assim, a

amostra foi constituída por 572 recém-nascidos anémicos. Destes, 506 casos foram identificados no intervalo de tempo entre 1998-2007 e 61 entre 2008-2010. (37)

De seguida, foram consideradas como HFM, recém-nascidos com anemia neonatal nas primeiras 4 horas de vida e com teste de Kleihauer-Betke positivo. Do total de 572 recém-nascidos com anemia neonatal foram identificados 23 casos de HFM no período de 1998-2010. Antes da sessão educativa (1998-2007), foram diagnosticados 11 casos de HFM em 506 casos de anemia neonatal, obtendo-se uma incidência de HFM de 22 em 1000 recém-nascidos anémicos. Depois da sessão educativa (2008-2010), registaram-se 12 casos de HFM entre os 66 casos de anemia neonatal, o que corresponde a uma incidência de HFM de 182 em 1000 recém-nascidos anémicos. (37)

Usando a incidência de HFM em recém-nascidos anémicos no período após a sessão educativa como a incidência mínima possível, os autores estimaram que no período de 1998-2007 o diagnóstico de HFM não foi realizado em 81 casos. Assim, os autores concluíram que a educação dos profissionais de saúde para a HFM contribui para um diagnóstico mais adequado e uma diminuição de casos de HFM não diagnosticados. (37)

Capítulo 6

Conclusão

A HFM é uma condição rara que, na maioria das vezes, ocorre espontaneamente e sem causa identificável.

Esta condição pode apresentar consequências de extrema gravidade e pode conduzir, a curto prazo, a situações como anemia neonatal, choque, falência cardíaca, encefalopatias ou até mesmo morte intrauterina ou neonatal. A longo prazo, apesar de não serem tão comuns, as repercussões mais relevantes desta condição são as lesões neurológicas e as perturbações do neurodesenvolvimento, devido ao enorme impacto que têm na vida das crianças e das suas famílias.

O caso clínico apresentado nesta dissertação é semelhante a outros casos relatados na literatura científica, o que significa, que apesar da HFM apresentar sintomas limitados e inespecíficos, existem achados clínicos transversais a todos os estudos, que levantam a suspeita deste diagnóstico.

Neste estudo de caso, a atuação ao nível de diagnóstico e gestão da HFM foi, de um modo geral, de encontro à evidência científica e práticas atuais. A sua sobreposição com outros estudos de caso, acentua a necessidade de colaboração entre instituições e comparação de casos clínicos para atingir melhores resultados em saúde. Para isso, seria benéfico a criação de uma base de dados global onde diversas instituições pudessem relatar casos clínicos, incluindo diagnóstico, gestão, tratamento e prognóstico. Estes dados iriam contribuir para melhorar a abordagem a casos de HFM e aumentar o conhecimento da comunidade científica relativamente a esta condição.

No entanto, é de realçar uma limitação encontrada na análise do caso clínico presente nesta dissertação que diz respeito ao teste diagnóstico de HFM utilizado, a HPLC. Este método diagnóstico não é adequado de acordo com a literatura científica, sendo pouco sensível e específico para HFM e não permite a sua quantificação. Este facto dificulta a análise comparativa com outros casos clínicos, nomeadamente ao nível do prognóstico.

É, portanto, fulcral garantir que os meios de diagnóstico de HFM estejam disponíveis em todas as instituições e existam profissionais capacitados para a sua atempada e eficaz utilização. Isto evitaria o recurso a testes menos apropriados e permitiria efetuar um diagnóstico mais fiável e quantificar o volume da HFM. Esta quantificação é de extrema importância tanto ao nível do prognóstico como da gestão da doença.

Seria, também, de grande relevância conseguir determinar se numa HFM o sangramento é crónico ou agudo. Atualmente, nenhum dos métodos diagnóstico utilizados, consegue fazer esta determinação, que teria grandes impactos ao nível da gestão da doença e do prognóstico.

Por fim, é imperativo que os profissionais de saúde estejam familiarizados com o diagnóstico de HFM e com a sua gestão e tratamento para que possam reconhecer os seus escassos sintomas e atuar de forma rápida e de acordo com a melhor evidência científica. É, também, importante educar os pais quanto aos possíveis sinais de alarme a ter em conta, como a diminuição ou ausência de movimentos fetais. A realização do teste de Kleihauer-Betke, em grávidas com fatores de risco para HFM ou que já tenham tido uma HFM em gravidez anterior, poderá ter algum interesse. No entanto, é preciso ter em conta a possibilidade de falsos negativos e positivos.

Capítulo 7

Bibliografia

1. Wylie BJ, D'alton ME. Clinical Expert Series Fetomaternal Hemorrhage. *Obstetrics & Gynecology* [Internet]. 2010 [citado 25 de Setembro de 2023];115(5):1039–51. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20410781/>
2. Singh P, Swanson T. Acute and Chronic Fetal Anemia as a Result of Fetomaternal Hemorrhage. *Case Rep Obstet Gynecol* [Internet]. 2014 [citado 25 de Setembro de 2023];2014:1–4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24804127/>
3. Gică N, Botezatu R, Demetrian M, Vayna AM, Cimpoca-Raptis BA, Ciobanu AM, et al. Severe neonatal anemia due to spontaneous massive fetomaternal hemorrhage at term: An illustrative case with suspected antenatal diagnosis and brief review of current knowledge. *Medicina (Lithuania)* [Internet]. 2021 [citado 21 de Novembro de 2023];57(12):1–8. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8704460/>
4. Farias MG, Dal Bó S, Castro SM de, da Silva AR, Bonazzoni J, Scotti L, et al. Flow Cytometry in Detection of Fetal Red Blood Cells and Maternal F Cells to Identify Fetomaternal Hemorrhage. *Fetal Pediatr Pathol* [Internet]. 2016 [citado 7 de Setembro de 2023];35(6):385–91. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27494244/>
5. Munoz JL, Schleicher M, Bowersox N. Integration of Fetal Middle Cerebral Arterial (MCA) Ultrasonography in Acute Fetal-Maternal Hemorrhage. *Case Rep Obstet Gynecol* [Internet]. 2019 [citado 4 de Novembro de 2023];2019:1–3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31737386/>
6. Watanabe N, Jwa SC, Ozawa N, Sago H. Sinusoidal heart rate patterns as a manifestation of massive fetomaternal hemorrhage in a monochorionic-diamniotic twin pregnancy: A case report. *Fetal Diagn Ther* [Internet]. 2010 [citado 7 de Setembro de 2023];27(3):168–70. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20145386/>
7. Markham LA, Charsha DS, Perelmuter B. Case Report of Massive Fetomaternal Hemorrhage and a Guideline for Acute Neonatal Management. *Advances in Neonatal Care* [Internet]. 2006 [citado 6 de Dezembro de 2023];6(4):197–207. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16890132/>
8. Solomon N, Playforth K, Reynolds E. Fetal-Maternal Hemorrhage: A Case and Literature Review. *American Journal of Perinatology Reports* [Internet]. 2011 [citado

- 23 de Novembro de 2023];2(1):7–14. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3653511/>
9. Topping M, Lett C, Thorp L. Intermittent Sinusoidal Fetal Heart Rate and Massive Maternal-Fetal Hemorrhage: A Case Report. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* [Internet]. 2019 [citado 4 de Novembro de 2023];41(11):1619–22. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30948336/>
 10. Kim YA, Makar RS. Detection of fetomaternal hemorrhage. *Am J Hematol* [Internet]. 2012 [citado 7 de Setembro de 2023];87(4):417–23. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22231030/>
 11. Dziegiel MH, Nielsen LK, Berkowicz A. Detecting fetomaternal hemorrhage by flow cytometry. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 2006 [citado 7 de Setembro de 2023];13(6):490–5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17053464/>
 12. Pourazar A, Homayouni V, Rezaei A, Andalib A, Oreizi F. The Assessment of Feto-Maternal Hemorrhage in an Artificial Model Using Anti-D and Anti-Fetal Hemoglobin Antibody by Flow Cytometry. *Iran Biomed J* [Internet]. 2008 [citado 23 de Novembro de 2023];12(1):43–8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18392094/>
 13. Christensen RD, Lambert DK, Baer VL, Richards DS, Bennett ST, Ilstrup SJ, et al. Severe neonatal anemia from fetomaternal hemorrhage: Report from a multihospital health-care system. *Journal of Perinatology* [Internet]. 2013 [citado 29 de Dezembro de 2023];33(6):429–34. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23196720/>
 14. Troia L, Al-Kouatly HB, McCurdy R, Konchak PS, Weiner S, Berghella V. The Recurrence Risk of Fetomaternal Hemorrhage. *Fetal Diagn Ther* [Internet]. 2019 [citado 7 de Setembro de 2023];45(1):1–12. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30223274/>
 15. Rubod C, Deruelle P, Le Goueff F, Tunez V, Fournier M, Subtil D. Long-Term Prognosis for Infants After Massive Fetomaternal Hemorrhage. *Obstetrics & Gynecology* [Internet]. 2007 [citado 29 de Dezembro de 2023];110(2):256–60. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17666598/>
 16. Sebring ES, Polesky HF. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurrence, and clinical effects. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 1990 [citado 29 de Dezembro de 2023];30(4):344–57. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2190367/>
 17. Ravishankar S, Migliori A, Struminsky J, Has P, Sung CJ, He M. Placental findings in feto-maternal hemorrhage in livebirth and stillbirth. *Pathol Res Pract* [Internet].


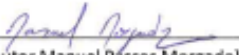
- 2017 [citado 9 de Novembro de 2023];213(4):301–4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28238383/>
18. Ahmed M, Abdullatif M, Abdellatif M. Fetomaternal Transfusion as a Cause Of Severe Fetal Anemia Causing Early Neonatal Death: A Case Report. *Oman Med J* [Internet]. 2011 [citado 7 de Dezembro de 2022];26(6):444–6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3251192/>
 19. Stefanovic V. Fetomaternal hemorrhage complicated pregnancy: Risks, identification, and management. *Curr Opin Obstet Gynecol* [Internet]. 2016 [citado 24 de Novembro de 2023];28(2):86–94. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26866844/>
 20. Lau TK, Lo KWK, Chan LYS, Leung TY, Lo YMD. Cell-free fetal deoxyribonucleic acid in maternal circulation as a marker of fetal-maternal hemorrhage in patients undergoing external cephalic version near term. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2000 [citado 23 de Novembro de 2023];183(3):712–6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10992198/>
 21. Fernandes BJ, Von Dadelszen P, Fazal I, Bansil N, Ryan G. Flow cytometric assessment of feto-maternal hemorrhage; a comparison with Betke-Kleihauer. *Prenat Diagn* [Internet]. 2007 [citado 6 de Novembro de 2023];27(7):641–3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17441223/>
 22. Zimmermann R, Durig P, Carpenter RJ, Mari G. Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. *BJOG* [Internet]. 2002 [citado 19 de Dezembro de 2023];109(7):746–52. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12135209/>
 23. Coe KL. Case Report of Anemia Following Fetal-Maternal Hemorrhage. *Advances in Neonatal Care* [Internet]. 2019 [citado 25 de Setembro de 2023];19(3):198–204. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30969944/>
 24. Dziegiel MH, Koldkjaer O, Berkowicz A. Massive antenatal fetomaternal hemorrhage: evidence for long-term survival of fetal red blood cells. *Transfusion (Paris)* [Internet]. 2005 [citado 24 de Novembro de 2023];45(4):539–44. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15819674/>
 25. King JR, Zeger GD, Plaza N, Lee RH, Shulman IA. Fetal-maternal hemorrhage detected by sudden disappearance of rh immune globulin-related anti-D. *Obstetrics & Gynecology* [Internet]. 2015 [citado 25 de Setembro de 2023];126(6):1301–2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26375716/>
 26. Lafferty JD, Raby A, Crawford L, Anne Linkins L, Richardson H, Crowther M. Fetal-Maternal Hemorrhage Detection in Ontario. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2003

- [citado 7 de Setembro de 2023];119(1):72–7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12520700/>
27. Dana M, Fibach E. Elimination of ABO Blood Group Incompatible Fetal Red Blood Cells in the Maternal Circulation: Relevance to the Diagnosis of Fetal-Maternal Hemorrhage. *Neonatology* [Internet]. 2018 [citado 7 de Setembro de 2023];114(4):303–6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30011398/>
 28. Kush ML, Muench M V., Harman CR, Baschat AA. Persistent fetal hemoglobin in maternal circulation complicating the diagnosis of fetomaternal hemorrhage. *Obstetrics and Gynecology* [Internet]. 2005 [citado 7 de Setembro de 2023];105(4):872–4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15802419/>
 29. Rochette J, Craig JE, Thein SL. Fetal Hemoglobin Levels in Adults. *Blood Rev* [Internet]. 1994 [citado 17 de Dezembro de 2023];8(4):213–24. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7534152/>
 30. Yamada T, Morikawa M, Yamada T, Nishida R, Takeda M, Kawaguchi S, et al. Changes in hemoglobin F levels in pregnant women unaffected by clinical fetomaternal hemorrhage. *Clinica Chimica Acta* [Internet]. 2013 [citado 17 de Dezembro de 2023];415:124–7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23073220/>
 31. Kennedy GA, Shaw R, Just S, Bryson G, Battistutta F, Rowell J, et al. Quantification of feto-maternal haemorrhage (FMH) by flow cytometry: anti-fetal haemoglobin labelling potentially underestimates massive FMH in comparison to labelling with anti-D. *Transfusion Medicine* [Internet]. 2003 [citado 17 de Dezembro de 2023];13(1):25–33. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12581451/>
 32. Urbaniak SJ. The scientific basis of antenatal prophylaxis. *Br J Obstet Gynaecol* [Internet]. 1998 [citado 17 de Dezembro de 2023];105:11–8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9863973/>
 33. Detti L, Oz U, Guney I, Ferguson JE, Bahado-Singh RO, Mari G. Doppler ultrasound velocimetry for timing the second intrauterine transfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2001 [citado 24 de Novembro de 2023];185(5):1048–51. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11717631/>
 34. Miyahara J, Sugiura H, Ohki S. Survival of an infant with massive fetomaternal hemorrhage with a neonatal hemoglobin concentration of 1.2 g/dL without evident neurodevelopmental sequelae. *SAGE Open Med Case Rep* [Internet]. 2020 [citado 7 de Setembro de 2023];8:1–3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32733681/>

35. Page JM, Silver RM. Evaluation of stillbirth. *Curr Opin Obstet Gynecol* [Internet]. 2018 [citado 6 de Novembro de 2023];30(2):130–5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29489503/>
36. Chambers E, Davies L, Evans S, Birchall J, Kumpel B. Comparison of haemoglobin F detection by the acid elution test, flow cytometry and high-performance liquid chromatography in maternal blood samples analysed for fetomaternal haemorrhage. *Transfusion Medicine* [Internet]. 2012 [citado 17 de Dezembro de 2023];22(3):199–204. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22429383/>
37. Stroustrup A, Plafkin C, Savitz DA. Impact of physician awareness on diagnosis of fetomaternal hemorrhage. *Neonatology* [Internet]. 2014 [citado 24 de Novembro de 2023];105(4):250–5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24526231/>

Anexos

Anexo 1 – Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira

		IMPRESSO Parecer da Comissão de Ética para a Saúde	
Código: CHUCB.IMP.COMET.01		Edição: 5 Revisão: 1	
Parecer nº: 08/2023		Data: 2023/02/27	
Assunto: Estudo nº 02/2023 - "Hemorragia Feto Materna - A propósito de um caso clínico"			
Membros da CE do CHUCB: Prof. Doutor Manuel Passos Morgado (Presidente, Farmacêutico) Dra. Ana Paulo Torgal Carreira (Vice-Presidente, Assistente Social) Dr. Luís Manuel Ribeiro (Médico) Enf. Maria Gabriela Ramalhinho (Enfermeira) Dra. Maria Teresa Bordalo Santos (Psicóloga) Dr. Luís Manuel Carreira Fiadeiro (Jurista) Dr. António Luciano Costa (Teólogo)	Exmo. Senhor Investigador: Duarte António Major Mendes A Comissão de Ética do Centro Hospitalar Universitário Cova da Beira, em reunião realizada em 2023/02/23 deliberou emitir parecer relativamente à realização do Estudo nº 02/2023 - "Hemorragia Feto Materna - A propósito de um caso clínico". Membros da CES do CHUCB presentes: Prof. Doutor Manuel Passos Morgado Dra. Ana Paula Torgal Carreira Dr. Luís Manuel Carreira Fiadeiro Dr. António Luciano Costa Parecer: Apreciado o projeto do estudo, foi decidido por unanimidade dos votantes emitir parecer favorável à sua realização. Este parecer não dispensa eventuais requisitos ou procedimentos por parte do Responsável pelo Acesso à Informação (RAI) ou do Encarregado de Proteção de Dados (EPD) desta instituição, no âmbito do previsto no Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados (RGPD) ou noutra legislação aplicável quanto a acesso, tratamento e proteção de dados. A realização do estudo carece da necessária autorização por parte do Exmo. Conselho de Administração do CHUCB e no seu decurso pode ser sujeito a auditorias. <p style="text-align: center;">O Presidente da Comissão de Ética do CHUCB</p> <p style="text-align: center;">  (Prof. Doutor Manuel Passos Morgado) </p>		

