

---

## ETIOLOGIA, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA ICTERICIA DO RECÉM-NASCIDO

OSWALDO MELLONE \*

O aparecimento de icterícia nas primeiras horas ou nos primeiros dias de vida da criança é causa freqüente de preocupação do pediatra do berçário, cabendo a êle tomar as medidas que permitam esclarecer a etiologia, o diagnóstico e orientar o tratamento.

Para a exata compreensão do que se passa nos primeiros dias de vida da criança, torna-se necessário lembrar os seguintes fatos, já esclarecidos<sup>13</sup> na etiologia da hiperbilirrubinemia, verificada, em maior ou menor intensidade, na maioria dos recém-nascidos: a) a matéria-prima das bilirrubinas é a hemoglobina, presente no feto em quantidade maior do que a necessária para a vida extra-uterina, motivo porque há uma desintegração fisiológica do pigmento em excesso;

b) a desintegração da hemoglobina se realiza ao nível do sistema retículo-endotelial de vários órgãos (medula óssea, linfáticos, baço, fígado, etc.), dando origem à chamada *bilirrubina indireta* ou *não conjugada* que, em sua passagem pelo fígado, se transformará em *bilirrubina direta* ou *bilirrubina conjugada*;

c) sua produção é contínua, no ritmo diário de 3 a 4 mg por quilo de peso, o que vale dizer, 10,5 a 14 mg para um recém-nascido de 3500 g;

d) na circulação, as bilirrubinas se encontram unidas às proteínas plasmáticas (sobretudo à fração albumina), em concentrações aproximadas de 0,5 a 0,8 mg/100 ml de sôro;

e) em sua passagem pelo fígado, conjugam-se ao ácido glicurônico pela ação de enzimas hepáticas (glicuronil-transferase) e se eliminam pela bile sob forma de bilirrubina direta ou conjugada;

f) no intestino, transformam-se, pela ação de bactérias, em uro e estercobilinogênio, a maior parte dos quais se elimina pelas fezes e o restante é absorvido, dando origem ao chamado circuito êntero-hepático.

---

\* Médico-diretor do Serviço de Transfusão do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

*Hiperbilirrubinemia ou Icterícia Fisiológica* — Durante a vida intra-uterina, a imaturidade dos sistemas enzimáticos do fígado e a ausência de secreção biliar fazem com que o organismo do feto utilize a via placentária para eliminar, através do organismo materno, os pigmentos biliares produzidos normalmente ou em excesso, quando estão em jôgo mecanismos patológicos que acentuam a formação das bilirrubinas. Ao nascer a criança, a brusca supressão dessa via de excreção e a imaturidade hepática fisiológica são suficientes para ocasionar o acúmulo do pigmento em níveis acima dos normais em grande parte dos recém-nascidos e de modo mais pronunciado nos prematuros, nos quais a imaturidade hepática é mais acentuada. Billing<sup>3</sup> demonstrou que, nos primeiros dias de vida, a capacidade hepática de conversão da bilirrubina indireta representa apenas 2% dessa capacidade do fígado do adulto. Portanto, o mecanismo da chamada icterícia fisiológica é resultante da soma de dois fatores: produção maior de bilirrubina em uma fase da vida em que a sua eliminação está diminuída.

Nos recém-nascidos de termo, entre 3200 e 3800 g de peso, a icterícia surge em geral no segundo dia, acentua-se por mais um ou dois dias, declinando rapidamente. Nos recém-nascidos de menor peso e, sobretudo, nos prematuros, a hiperbilirrubinemia é mais tardia, atinge níveis mais elevados e perdura por tempo mais longo. Na maioria dos casos, o estado geral e a evolução ponderal não são afetados; não há anemia nem hepato-esplenomegalia; as fezes são de coloração normal e a urina clara.

Em um pequeno número de casos, a icterícia torna-se muito intensa, os níveis de bilirrubina ultrapassam 25 a 30 mg%, o estado geral da criança é afetado, podendo chegar ao comprometimento cerebral, traduzido pela perda de vitalidade, perda do reflexo de sucção, hipertonia generalizada, opistótono, nistagmo e outros sinais graves que acompanham, com freqüência, a icterícia determinada pela incompatibilidade sangüinea materno-fetal. Embora os exames de sangue demonstrem tão somente hiperbilirrubinemia, tais casos podem evoluir para seqüelas neurológicas graves<sup>5</sup> ou mesmo para óbito, sendo, pois, indicadas as mesmas medidas terapêuticas aconselhadas para o tratamento da doença hemolítica do recém-nascido, que serão estudadas mais adiante.

*Hiperbilirrubinemia ou Icterícia Patológica* — Havendo causa de hemólise mais intensa, haverá oferta maior de hemoglobina para se desintegrar e maior acúmulo de pigmento sob forma não conjugada (bilirrubina indireta), mais tóxica para o sistema nervoso desde que ultrapasse níveis prejudiciais para o metabolismo dos centros nervosos. Conforme será visto adiante, característica importante de icterícia hemolítica é a *precocidade* do seu aparecimento, explicada pela superprodução de pigmento, compensada pela eliminação placentária durante a vida intra-uterina, mas que, logo após o nascimento, supera a capacidade de eliminação do recém-nascido.

Face a criança que apresenta icterícia muito evidente nas primeiras horas ou nos primeiros dias de vida, deverá o pediatra orientar os exames no sentido de excluir, inicialmente, as causas patológicas de hiperbilirrubinemia, devendo pensar, em primeiro lugar, na doença hemolítica

do recém-nascido (eritroblastose fetal) que, por ser a causa mais frequente, será focalizada em primeiro lugar.

*Doença hemolítica do recém-nascido:* é condição patológica que pode atingir o feto na vida intra-uterina, mas, na maioria das vezes, atinge o recém-nascido que, quando não nasce clinicamente doente, manifesta os sintomas da doença nas primeiras horas ou nos primeiros dias que se seguem ao nascimento. Como o próprio nome indica, a doença tem por base um processo hemolítico que pode levar o feto à morte ou o recém-nascido às formas mais ou menos graves de anemia, acompanhada de icterícia de intensidade variável.

A icterícia neonatal que acompanha as formas graves da doença hemolítica já fôra objeto de descrições anátomo-patológicas e clínicas desde o século passado, quando Orth (1875) descreveu a impregnação amarela do cérebro de recém-nascidos mortos com icterícia intensa, quadro a que Schmorl (1904) deu o nome de *Kernicterus*, termo ainda hoje empregado para designar o quadro de seqüelas neurológicas decorrentes da doença. São também dignas de registro as observações de Ashby (1884), Arkwright (1902) e Pfannenstiel (1908) que descreveram o caráter familiar de formas graves de icterícia atingindo sucessivamente os últimos filhos de mulheres múltiparas. Rautmann (1902) descreveu outra característica importante da doença — focos extramedulares de eritropoese e presença de grande número de eritroblastos no sangue periférico, acompanhando formas graves de icterícia neonatal — e criou o termo *eritroblastose fetal*, ainda hoje empregado como sinônimo da doença. Gierke (1921) publicou estudo anátomo-patológico completo de um neonato com hepato-esplenomegalia, icterícia nuclear, eritroblastemia intensa, repetindo-se o mesmo quadro em outra criança da mesma mulher com intervalo de 9 anos. Também muito interessante foram os trabalhos de Diamond, Blackfan e Baty (1932) que, com base no estudo anátomo-patológico de natimortos em anasarca e neonatos com icterícia ou anemia grave, concluíram pela unificação das três formas clássicas da doença: a hidrôpsia fetal, a icterícia grave e a anemia grave do recém-nascido, atribuindo-as a variações de intensidade de ação do mesmo agente causal, ainda desconhecido na época. O mecanismo etiopatogênico, já entrevisto pela pediatra americana Ruth Darrow (1938) que atribuía a doença a processo de imunização materna por antígeno provavelmente ligado à hemoglobina fetal, foi definitivamente esclarecido após a descoberta do fator Rh, em 1940.

Inoculando hemácias do macaco Rhesus no coelho, Landsteiner e Wiener obtiveram neste animal o desenvolvimento de um anticorpo anti-Rhesus ou anti-Rh, com o qual se pôde identificar, no sangue humano, o aglutinogênio ou o fator Rh, presente em 85% dos indivíduos da raça branca. Logo a seguir, demonstrou-se que os 15% de indivíduos desprovidos daquele fator (Rh negativo) podem desenvolver anticorpos anti-Rh quando submetidos a injeções intramusculares, ou transfusões de sangue Rh-positivo. Outro mecanismo de imunização a esse fator ocorre na mulher Rh negativo quando gera filhos portadores do fator Rh, conforme já fôra demonstrado por Levine e Stetson (1939), os quais estudando a

causa de uma reação hemolítica pós-transfusional ocorrida em uma parturiente que gerara um natimorto, encontraram em seu sôro um anticorpo que aglutinava as células do marido e de cerca de 80% de pessoas do mesmo grupo sanguíneo. Esses autores emitiram a hipótese da mulher ter adquirido êsses anticorpos através de imunização a um aglutinogênio desconhecido, existente no sangue do marido e do feto. Êsse caso foi mais tarde revisto por Levine e Stetson e explicado pela incompatibilidade materno-fetal ao fator Rh.

A teoria da iso-imunização ou sensibilização ao fator Rh, foi desde logo demonstrada por Levine e colaboradores (1941) que, estudando o sangue de 153 mulheres que haviam gerado filhos doentes, encontraram 93% Rh negativo e apenas 7% Rh positivo. Além disso, demonstraram a presença do fator Rh em todos os maridos examinados e a presença de anticorpos anti-Rh em cerca da terça parte das mulheres examinadas. Com métodos mais aperfeiçoados de investigação, é possível que, nos dias atuais, seriam demonstráveis anticorpos na totalidade das gestantes sensibilizadas. Outros argumentos foram logo acrescentados, tais como: a ocorrência de filho Rh negativo são, em mulheres Rh negativo sensibilizadas, mas casadas com homens Rh positivo heterozigóticos; a gemiparidade com filho Rh positivo afetado pela doença e filho Rh negativo ileso; a inseminação artificial de mulheres portadoras de formas graves da doença com sêmen de homem Rh negativo, permitindo obter filhos Rh negativos, livres da doença<sup>22</sup>. A etiopatogenia da doença ficou assim bem esclarecida, explicando-se a hemólise pela ação de anticorpos maternos que atuam contra um aglutinogênio das hemácias do feto. Após a descoberta dêsse mecanismo, outros antígenos da hemácia humana foram responsabilizados pela doença, sendo mais freqüentes, além da incompatibilidade Rh, os casos de incompatibilidade ABO, sobretudo entre mães do grupo O e fetos do grupo A. Em casos mais raros, têm sido identificadas incompatibilidades por sub-grupos do sistema Rh (fatores Rh' ou C e Rh" ou E), fatores Hr' (c), Kell, Lewis e outros.

*Incompatibilidade Rh:* O diagnóstico da doença hemolítica por incompatibilidade Rh tem como ponto de partida o binômio: marido Rh positivo e esposa Rh negativo. Levando-se em conta a freqüência dêsse aglutinogênio na raça branca, tal situação é encontrada uma vez em cada 10 casais, porém, por motivos ainda não bem identificados, a imunização materna por gestações atinge apenas 5% das mulheres Rh negativo, o que explica a incidência de um caso em cada 200 partos, apresentada pela maioria dos autores. A possibilidade de imunização ao fator aumenta extraordinariamente quando a mulher recebeu sangue Rh positivo por via intramuscular ou intravenosa em qualquer época da sua vida, dado importante de anamnese que deve constar da ficha obstétrica. Além dêsse, outro fator que favorece a imunização é o abortamento seguido de curetagem, que pode facilitar a penetração do antígeno na circulação materna. Por vêzes a anamnese é bastante sugestiva, referindo a gestante ocorrência de filhos anêmicos, ictericos, natimortos ou hidrópicos, mas casos há nos quais a doença surge em forma grave já no produto da segunda gestação, sem outros antecedentes, sendo, pois, limitado o

valor que se deve atribuir ao interrogatório. Em simpósio realizado no Rio de Janeiro sobre o assunto<sup>17</sup>, apresentamos dados relativos a 143 gestantes sensibilizadas ao fator Rh, mães de recém-nascidos portadores da doença hemolítica em forma grave, de molde a exigir o tratamento pela exsangüíneo-transfusão. Nesse grupo, 53 (37%) não relataram história significativa da doença, estando entre elas 21 que apresentaram sensibilização na 2.ª gestação, sem outro antecedente. Em 42 (29%) havia história de filhos atingidos pela doença em graus de maior ou menor gravidade (anêmicos, ictericos, natimortos, sobreviventes com seqüelas neurológicas). Nas 48 restantes (34%) havia história de transfusões ou injeções intramusculares de sangue de outra pessoa, aliadas ou não a gestações. Nesse grupo havia 18 primíparas, 3 das quais sensibilizadas na infância por injeções intramusculares de sangue de familiares que se constatou serem Rh positivo.

Constatado o binômio mencionado, costumam os obstetras bem orientados, solicitar a pesquisa e titulação de anticorpos na gestante, nos últimos meses da gravidez, principalmente naquelas com história transfusional ou obstétrica sugestiva de imunização ao fator Rh. O título de anticorpos e suas alterações no decurso da gestação poderão fazer prever a gravidade da doença no recém-nascido e, em casos selecionados, títulos elevados de anticorpos poderão levar o obstetra a antecipar o parto, procedendo a cesárea, ou o parto induzido no 8.º mês de gestação, a fim de proteger o feto da ação mais intensa dos anticorpos na fase final da gestação.

Com êsses dados, torna-se mais fácil ao pediatra diagnosticar a doença hemolítica do recém-nascido, por incompatibilidade Rh. Quando a situação materna já é conhecida, o obstetra deverá colher o sangue do cordão umbilical para submetê-lo a exame para determinação do grupo sangüíneo, fator Rh e teste de Coombs direto. Êste último é de grande importância, sobretudo quando a gestante está imunizada ao fator, pois através dêle se demonstra a presença de anticorpos no sangue do neonato e, segundo sua intensidade, pode-se prognosticar a gravidade da doença. É um sinal imuno-hematológico de excepcional importância, pois permite, freqüentemente, prever a hemólise antes que ela se exteriorize clinicamente.

Quando o recém-nascido apresenta sinais clínicos de anemia ou icterícia, pode-se executar no sangue do cordão dois outros exames: o hemograma e a dosagem das bilirrubinas, na maioria das vezes realizados no sangue periférico, algumas horas ou dias depois do nascimento quando se tornam mais evidentes os sinais da doença. Nas formas graves, o hemograma pode revelar graus extremos de anemia, apresentando alguns dos nossos casos valores de eritrócitos entre 1,3 e 2 milhões e taxa de hemoglobina entre 4 e 8 g (25 a 50%). Essas formas de anemia grave se acompanham de grande número de células jovens no sangue periférico (eritroblastos), que traduzem o esforço dos órgãos eritropoéticos na tentativa de substituição dos eritrócitos destruídos pela ação dos anticorpos. Essa eritroblastemia decorre da presença de focos de eritropoese extramedulares, localizados sobretudo no baço e no fígado, que se apresentam nas formas graves, bastante volumosos, palpáveis, vários dedos abaixo da reborda costal. Os recém-nascidos que apresentam anemia, eritroblastemia, hepa-

to-esplenomegalia e, por vêzes, icterícia já no momento do nascimento constituem o quadro clássico da eritroblastose fetal, de diagnóstico clínico fácil, dada a exuberância de sintomas. Entretanto, na maioria dos casos, o neonato não sofre agressão tão intensa na vida intra-uterina, motivo porque não mais se justifica aquela denominação, pois o diagnóstico é feito por outros dados de laboratório que identificam a hemólise, mesmo na ausência de eritroblastemia. Assim, mais da metade dos recém-nascidos afetados pela doença hemolítica nasce com discreta anemia e icterícia apenas perceptível que vai se acentuando rapidamente, tornando-se muito evidente nas primeiras horas de vida, sendo a precocidade da icterícia uma das principais características da doença hemolítica por incompatibilidade Rh.

Quando não submetida ao tratamento adequado, parte dessas crianças evolui para o quadro de icterícia grave do recém-nascido, apresentando com 24 horas de vida valores de bilirrubina indireta acima de 20 a 30 mg%. A dosagem desse pigmento, repetida a intervalos de 6 a 8 horas, poderá dar idéia da velocidade com que se está processando a hemólise e a necessidade de se adotar esta ou aquela medida terapêutica. Em um pequeno número de recém-nascidos, apesar da positividade do teste de Coombs, a icterícia mantém-se pouco acentuada, mas a hemólise continua lentamente, evoluindo a criança para quadro de anemia intensa. São os pacientes que chegam ao pediatra aos 20 ou 30 dias de vida, alertados os pais pela intensa palidez da criança, inapetência e falta de aumento ponderal. Em nossa casuística, figuram várias observações de crianças que nasceram com valores hematológicos normais, ou pouco abaixo dos normais para apresentarem anemia de cerca de 2 milhões de glóbulos vermelhos e hemoglobina entre 6 e 8 g%, aos 20 ou 30 dias de vida, algumas apresentando ainda o teste de Coombs levemente positivo.

*Incompatibilidade ABO:* Em 1925, Hirschfeld e Zborowski<sup>11</sup> criaram o termo de *gravidez hetero-específica* para designar as gestações de mãe e filho pertencentes a grupos sanguíneos diferentes do sistema ABO. Atualmente, o emprêgo deste termo está limitado às gestações em que o recém-nascido apresenta aglutinogênios A ou B, ausentes no sangue materno, e para os quais este apresenta anticorpos, podendo, assim, a mãe pertencer aos grupos sanguíneos O, A ou B e o recém-nascido aos grupos A, B ou AB, este último caso somente possível quando a mãe pertencer aos grupos A ou B. Estudos ulteriores mostram que, de acordo com a incidência dos grupos sanguíneos em determinada população, a ocorrência de gestações hetero-específicas é de 20 a 25%, o que vale dizer que, em cada 4 ou 5 gestações, há uma com incompatibilidade sanguínea materno-fetal aos fatores do sistema ABO. Assim sendo, pelo menos teoricamente, deveria haver incidência muito maior de doença hemolítica determinada pela incompatibilidade ABO do que aquela registrada para a incompatibilidade Rh, sendo, entretanto, relativamente raros os casos graves determinados por esse mecanismo. A razão invocada inicialmente foi a falta de permeabilidade placentária às aglutininas anti-A e anti-B do soro materno, que somente conseguiriam transpor essa barreira quando presentes em título muito elevado. Assim sendo, os primeiros casos de icterícia intensa e precoce atribuídos à incompatibilidade ABO foram

sempre relacionados ao encontro de títulos elevados de aglutininas anti-A e anti-B no sêro materno. Mais tarde, verificou-se que a passagem das aglutininas maternas através da placenta é fenômeno natural, não sendo atingidas as hemácias do recém-nascido por serem os anticorpos absorvidos e neutralizados pelos aglutinogênios A e B existentes nos tecidos e nos fluidos do organismo fetal. Sabe-se hoje que os antígenos A e B, além de presentes nas hemácias, existem nos tecidos e nos líquidos de 80% dos indivíduos desses grupos sangüíneos (indivíduos secretores das substâncias A ou B), ao passo que o aglutinogênio Rh está presente apenas nas hemácias, motivo porque estas são mais facilmente atingidas quando há incompatibilidade para êsse fator. O problema da incompatibilidade ABO passou a ser melhor compreendido nos últimos anos, com a descoberta dos imuno-anticorpos anti-A e anti-B, de natureza semelhante aos chamados anticorpos incompletos, desenvolvidos na imunização ao fator Rh. Estes diferem das aglutininas comuns em vários aspectos: ao contrário destas, atuam melhor a 37°C e em meio albuminoso, sendo reveláveis pelo teste de Coombs indireto, após a absorção das aglutininas naturais por diferentes técnicas. Desenvolvem-se em pessoas de ambos os sexos, sob a ação de diversos estímulos imunológicos: transfusão ou injeções intramusculares de sangue incompatível, injeções de saliva de indivíduos secretores dos antígenos A ou B, injeções das substâncias grupo-específicas A e B de Witebsky e ação de diversas vacinas e sêros, sobretudo o sêro antitetânico. Na mulher, a gravidez hetero-específica é o mecanismo mais comum de formação desses anticorpos. Podem existir em título menor, igual ou superior ao título das aglutininas comuns; são mais agressivos do que estas e responsabilizados pela doença hemolítica do recém-nascido. Os mecanismos de defesa do feto contra a ação das aglutininas comuns não têm ação sobre êsses imuno-anticorpos, desenvolvendo-se, então, a doença hemolítica por mecanismo semelhante ao do fator Rh.

Ao contrário do que ocorre com os imuno-anticorpos do fator Rh, por motivos de constituição protéica diferente, na incompatibilidade ABO raramente é positivo o teste de Coombs direto realizado no sangue do recém-nascido, fato que torna mais difícil o diagnóstico e a conduta terapêutica a ser seguida. O quadro clínico apresenta caracteres diferentes da incompatibilidade pelo fator Rh, sendo menos precoces a icterícia e a anemia e também menos freqüente a hepato-esplenomegalia, motivo porque o diagnóstico se confunde muito com a chamada icterícia fisiológica. Nossa experiência permite-nos estabelecer como mais comum o aparecimento da icterícia, na incompatibilidade Rh, nas primeiras 12 horas, entre 12 e 24 horas na incompatibilidade ABO, enquanto que a icterícia fisiológica aparece depois de 24 a 48 horas de vida. Apesar disso, a confusão é muito comum, fazendo com que o pediatra solicite exames tardiamente, quando a icterícia já progrediu de modo a pôr em perigo a integridade do sistema nervoso da criança. Concorre para essa falha de diagnóstico a determinação do fator Rh materno, quase sempre positivo, o que leva a afastar a doença hemolítica, quando não é lembrada a interferência de outros fatores sangüíneos na sua gênese. Em um número limitado de casos, a incompatibilidade ABO pode exteriorizar-se mais intensamente, surgindo então icterícia intensa e precoce, acompa-

nhada de anemia, com ou sem eritroblastemia e, raramente, hepato-esplenomegalia. Em formas mais graves, o estado geral da criança é seriamente comprometido, surgindo torpor, irregularidade térmica e respiratória, coma e morte, ou sobreviva com seqüelas neurológicas (kernicterus), tal como sucede com a incompatibilidade Rh.

Um das primeiras publicações sobre a incompatibilidade ABO foi a de Halbrecht<sup>9</sup> que estudou 60 casos de icterícia intensa surgida nas primeiras 24 horas, acompanhada ou não de anemia. Analisando esses casos, a que deu o nome de "icterus neo-natorum praecox", verificou que em 57 dos 60, isto é, em 95% dos nascimentos havia incompatibilidade materno-fetal ABO. Em 160 casos de icterícia menos precoce e menos intensa, habitualmente rotulada de icterícia fisiológica, somente em 48 (30%) ocorria a incompatibilidade. Nos antecedentes de 2 000 recém-nascidos sem icterícia havia 530 gestações hetero-específica, ou sejam, 26,5%, incidência dentro dos números normais.

Em trabalho mais recente, Halbrecht<sup>10</sup> relata a incidência de 90 casos de icterícia precoce em 16 000 partos, o que dá a incidência de 1 caso para 180 nascimentos. Naquele total, o número de gestações hetero-específicas foi de 1 250, o que dá a incidência de 1 caso de icterícia grave para cada 25 gestações hetero-específicas. Esses números são bem próximos da incidência da doença pelo fator Rh, de vez que, segundo Weiner e Hallum<sup>25</sup>, uma gestante em cada 32 mulheres Rh negativo se sensibiliza ao fator após a primeira gestação de filho Rh positivo. Os dados de Rosenfield<sup>24</sup>, relativos a exames realizados em 4 036 amostras de sangue do cordão umbilical, no Mount Sinai Hospital, em 1955, demonstram também a incidência alta da doença hemolítica por incompatibilidade ABO, prestando-se ao mesmo tempo para confirmar a relativa benignidade dessa incompatibilidade em relação à incompatibilidade Rh, avaliada pela necessidade de tratamento mais drástico, transfusão de substituição ou exsanguíneo-transfusão, muito maior na incompatibilidade pelo fator Rh:

|  |            |
|--|------------|
| Total de amostras de sangue do cordão examinadas | 4 036      |
| Doença hemolítica por Rh                         | 20 (1:202) |
| Tratados pela exsanguíneo-transfusão             | 12 (1:336) |
| Doença hemolítica por ABO                        | 96 (1:46)  |
| Tratados pela exsanguíneo-transfusão             | 6 (1:673)  |
| Relação da doença por Rh: ABO                    | 1:2,8      |
| Relação de exsanguíneo Rh: ABO                   | 2:1        |

#### DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Apesar da quase totalidade de icterícia dos primeiros dias de vida se enquadrar entre a icterícia fisiológica e a doença hemolítica do recém-nascido, há ainda a considerar no diagnóstico diferencial, outras causas determinantes desse sinal, embora em incidência muito menor, constituindo algumas delas autênticas raridades.



Essas hiperbilirrubinemias patológicas não determinadas pela incompatibilidade sangüínea materno-fetal foram bem analisadas em recente artigo de Alagille<sup>1</sup>, que assim as classifica:

a) *Ictericias hemolíticas neonatais*: 1) doença de Minkowski-Chauffard; 2) ictericias hemolíticas de origem tóxica (vitamina K); 3) ictericias hemolíticas de origem infecciosa: a) doença de inclusões citomegálicas; b) sífilis congênita.

b) *Ictericia por más-formações das vias biliares*: 1) más-formações das vias biliares extra-hepáticas; 2) más-formações das vias biliares intra-hepáticas.

c) *Ictericia por hepatites virais neonatais*: 1) hepatites icterógenas banais; 2) doença herpética.

d) *Ictericias por hepatites neonatais diversas*: 1) toxoplasmose; 2) tuberculose congênita; 3) hepatites piogênicas.

e) *Ictericias metabólicas*: 1) dislipidoses icterógenas; 2) doença de Crigler-Najjar; 3) síndrome de Dubin-Johnson; 4) galactosemia.

Na doença de Minkowski-Chauffard, a icterícia pode aparecer precocemente, por vêzes dentro das primeiras 12 horas, assumindo características de hiperbilirrubinemia patológica. A falta de sinais imuno-hematológicos de incompatibilidade sangüínea materno-fetal, a história familiar e, sobretudo, a evolução da doença, caracterizada pela anemia grave com recidivas periódicas, esplenomegalia, estigmas hematológicos, levam ao diagnóstico exato.

A ação tóxica da vitamina K, provocando a hemólise no recém-nascido, foi bem comprovada pelos trabalhos de Allison<sup>2</sup> e de Laurence<sup>14</sup>. Esses autores mostraram que o uso de vitamina K hidrossolúvel, empregada na profilaxia da hipoprotrombinemia do recém-nascido, em doses de 5 a 10 mg, repetidas 2 a 3 vêzes, em alguns berçários, é seguida de icterícia intensa, podendo favorecer o aparecimento de sinais neurológicos, principalmente nos prematuros submetidos a doses maiores. Atualmente, recomendam-se doses bem menores, pois Lehman<sup>15</sup> mostrou que uma simples dose de 0,5 mg atua sobre o tempo de protrombina tal qual a dose de 5 mg. Também tem sido preconizado o uso da vitamina K<sub>1</sub>, desprovida de efeitos tóxicos.

A citomegalia ou doença de inclusões citomegálicas, pode confundir-se com formas graves da doença hemolítica: icterícia precoce, hepato-esplenomegalia, síndrome hemorrágica, anemia com plaquetopenia e eritroblastemia. O diagnóstico poderá ser confirmado pela biópsia hepática ou exame de urina, pela identificação de grandes células epiteliais contendo inclusões citoplasmáticas e nucleares típicas. Em nosso meio foram descritos dois casos<sup>23</sup>, ambos de evolução fatal, sendo o diagnóstico confirmado pelo exame anátomo-patológico. Nos dois havia icterícia intensa, com índices muito elevados de bilirrubinas direta e indireta, sendo um deles submetido ao tratamento pela exsangüíneo-transfusão, sem resultado.

A sífilis congênita também pode apresentar quadro grave de septicemia com icterícia, anemia, síndrome hemorrágico e acentuada hepatoesplenomegalia. A coexistência de lesões cutâneo-mucosas e a sorologia permitem firmar o diagnóstico.

A icterícia por obstrução das vias biliares por máis-formações extra ou intra-hepáticas começa nos primeiros dias, simulando a icterícia fisiológica, e, contra a expectativa habitual, não se reduz com o passar dos dias. Embora o estado geral e a curva de peso evoluam satisfatoriamente nas primeiras semanas, a icterícia não se reduz e o diagnóstico é suspeitado pelas fezes inteiramente descoradas. O exame de sangue mostra bilirrubinemia elevada, sobretudo à custa de bilirrubina direta e aumento acentuado do colesterol. O diagnóstico da causa da retenção biliar somente pode ser assegurado por exploração cirúrgica.

Nas hepatites por vírus, a icterícia é acompanhada de perturbações do estado geral (febre, desidratação, prostração) e de perturbações digestivas (anorexia, vômitos, diarreia). A dosagem das bilirrubinas mostra, igualmente, elevação mais acentuada da bilirrubina direta em relação à bilirrubina indireta. Evolução lenta para cura, para óbito ou para cura com seqüelas hepáticas.

A hepatite pode ser também uma das manifestações da toxoplasmose e se apresentar com o aspecto clínico da doença hemolítica: icterícia precoce, associada a hepatoesplenomegalia e sintomas hemorrágicos. O diagnóstico é firmado pelo achado de calcificações intracranianas, de cório-retinite e microftalmia.

As hepatites neonatais por infecções bacterianas têm por porta de entrada a via umbilical, sendo mais comum a identificação de estrepto, estafilococo e colibacilo. Após incubação de algumas horas ou de alguns dias, surgem os sinais clínicos de septicemia grave, com icterícia acentuada e anemia. Evolução quase sempre mortal apesar do uso intensivo de antibióticos.

As icterícias metabólicas são ainda mais raras, decorrendo de deficiências funcionais, eletivas do fígado. Assim, na doença de Crigler-Najjar, a icterícia correria por conta de deficiência enzimática, responsável pela gluco-conjugação da bilirrubina indireta, e, no síndrome de Dubin-Johnson, a icterícia decorre da incapacidade excretora do fígado. Na galactosemia, a icterícia aparece associada à incapacidade congênita de metabolizar a glicose.

#### TRATAMENTO

*Icterícia fisiológica* — A icterícia fisiológica evolui, na maioria das vezes, sem necessidade de tratamento, ficando a critério e na dependência da experiência do pediatra a necessidade ou não de controle de laboratório, orientando-se o médico pela coloração muito acentuada da pele a fim de tomar alguma medida terapêutica visando evitar a sobrevida com seqüelas neurológicas.

*Fototerapia:* Um recurso recentemente introduzido no tratamento da hiperbilirrubinemia do recém-nascido e que tem dado resultados muito satisfatórios consiste no aproveitamento da ação fotoquímica da luz, expondo a criança icterica a um foco de luz intensa (fototerapia, super ou hiper-iluminação).

Cremer, Perryman e Richards<sup>4</sup> haviam observado, em 1957, que a bilirrubina é altamente foto-sensível. Sob a ação da luz êsse pigmento sofre uma foto-oxidação ou deidrogenação no sentido da biliverdina e outros produtos intermediários, mais facilmente elimináveis pelo organismo do recém-nascido. A bilirrubina indireta mostrou-se cêrca de duas a três vêzes mais foto-sensível que o pigmento direto. Referem os autores que amostras de sôros de pacientes ictericos expostos à luz clara do dia podem perder até 30% do seu pigmento em uma hora, motivo porque recomendam proteger os tubos da ação da luz quando as dosagens não podem ser feitas imediatamente pelo laboratório. A êsses conhecimentos juntou-se a observação de uma enfermeira, encarregada de um berçário de prematuros, que notara regressão rápida da ictericia quando os prematuros eram expostos ao sol. Êsses dados de observação clínica e experimental levaram aquêles autores a expor 13 prematuros à ação da luz solar, obtendo, após exposições de 2 a 4 horas, quedas de 2 a 12 mg nos valores da bilirrubina. Em seguida, a fim de obter maior uniformidade de luz, construíram aparelho contendo 8 lâmpadas de luz tubular fria de 40 watts, sendo a criança colocada sob essa luminosidade intensa durante 3 períodos de 6 horas, separados por intervalos de 2 horas. Submeteram à luz artificial 9 outros recém-nascidos, obtendo sempre regressão da ictericia, com queda de 2 a 8 mg nos valores da bilirrubina. Dois casos de incompatibilidade Rh não responderam ao tratamento, sendo submetidos à exsangüíneo-transfusão.

O método foi empregado com êxito entre nós por Ferreira, Barbieri e Berezin<sup>7</sup> que reproduziram as condições e a aparelhagem daqueles autores ingleses. A experiência obtida no Hospital das Clínicas de São Paulo foi relatada por Ferreira, Cardim e Mellone<sup>8</sup>. Nossa experiência em clínica privada foi objeto de exposição em simpósio realizado na Academia de Medicina de São Paulo, em fevereiro de 1960<sup>18</sup>. O aparelho empregado por nós difere daquêle utilizado pelos autores ingleses, pois, com o intuito de torná-lo mais transportável, foi confeccionado com 8 lâmpadas tubulares de 20 watts montadas em caixa de metal ou de madeira, adaptando-se, pelas suas dimensões menores exatamente sôbre um berço comum. A criança permanece sob a ação da luz inteiramente despida, apenas com proteção dos olhos por pequena máscara de gaze ou com atadura de crepe. A temperatura do berço, sob a ação do arco de lâmpadas, mantém-se em redor de 30°C. Durante a exposição à luz, a criança é retirada apenas para amamentação e colheita de sangue para exame, devendo ser constantemente vigiada pela enfermagem que deverá modificar a posição do recém-nascido, alternando os decúbitos dorsal e ventral, para expor tôda a superfície corporal à ação da luz. Ao contrário do sistema adotado pelos autores precedentes, temos mantido os recém-nascidos sob a luz, sem interrupção, por períodos de 24, 48 horas

e por vêzes durante dias seguidos, sem inconvenientes. Algumas crianças, submetidas a exposição mais prolongada, têm apresentado hiperpigmentação cutânea, provavelmente pela ação de pequena quantidade de raios ultravioleta emitidos pelas lâmpadas empregadas. Em outras, temos observado evacuações diarréicas, com eliminação de material verde escuro, não havendo inconveniente maior desde que se procure hidratar por via oral, nôs intervalos das mamadas.

Todos os recém-nascidos destinados ao tratamento pela super-iluminação sòmente devem ser submetidos à luz depois da execução dos seguintes exames: 1) determinação do grupo sangüíneo, fator Rh e teste de Coombs direto; 2) determinação do grupo sangüíneo e do fator Rh maternos, procedendo-se à pesquisa de anticorpos em meio salino, albuminoso e pelo teste de Coombs, a fim de comprovar alguma incompatibilidade sangüínea materno-fetal; 3) dosagem de bilirrubinas e, eventualmente, 4) hemograma, quando há evidência clínica de anemia e outros sinais graves de doença hemolítica.

Os resultados obtidos com a superiluminação na hiperbilirrubinemia sem incompatibilidade e mesmo em casos de incompatibilidade ABO têm sido constantemente favoráveis, a ponto de tornar rara a indicação de outras formas de tratamento; também em casos não muito graves de incompatibilidade Rh, o resultado tem sido satisfatório. Nas formas graves, a fototerapia, aplicada em seguida ou conjuntamente à exsangüíneo-transfusão, tem proporcionado regressão mais rápida da icterícia. Em uma ou outra forma é indispensável o contrôle das bilirrubinas durante o tratamento, pois a coloração da pele da criança exposta à luz nem sempre corresponde à dosagem do pigmento no sangue.

A fototerapia proporcionou resultados superiores aos obtidos com o ácido glicurônico<sup>6, 19</sup> e com a sôro-albumina<sup>21</sup>, cuja administração foi proposta recentemente para tratamento da hiperbilirrubinemia do recém-nascido.

*Doença hemolítica do recém-nascido* — Constituinto a anemia um dos principais sintomas da doença hemolítica, compreende-se que a transfusão de sangue tenha sido empregada como meio de tratamento da mesma já antes da descoberta do fator Rh, mas foi sòmente depois de conhecido o mecanismo de incompatibilidade sangüínea materno-fetal que tal terapêutica pôde ser realizada com bases mais seguras, proporcionando melhores resultados. Conhecido o fato da anemia ser conseqüente à destruição dos glóbulos Rh positivos do recém-nascido pelos anticorpos maternos passivamente recebidos pelo seu organismo, firmou-se desde logo a necessidade do emprêgo das transfusões de sangue Rh negativo, a fim de não expor os glóbulos transfundidos à ação dos anticorpos maternos existentes no recém-nascido. Melhores resultados se obtêm empregando idêntico volume de concentrado de glóbulos Rh negativos, pois a remoção da parte plasmática permite administrar quase duas vêzes o mesmo número de glóbulos por transfusão. As transfusões são realizadas habitualmente na dose de 30 ml por quilo de pêso, ficando o número delas na dependência do grau de anemia.

No caso da incompatibilidade ABO, os glóbulos a serem transfundidos deverão ser de preferência do grupo O, embora a criança seja do grupo A ou B, pois a introdução de glóbulos homólogos pode ser seguida de hemólise pela ação dos imuno-anticorpos anti-A ou anti-B provenientes do organismo materno e ainda presentes no sangue do recém-nascido.

Embora a mortalidade da doença hemolítica tenha decrescido sensivelmente com o emprêgo das transfusões de sangue, ou de glóbulos selecionados segundo o critério estabelecido acima, os casos mais graves, nos quais a rapidez da hemólise se revela pela icterícia precoce e intensa, não se beneficiam com essa terapêutica, pois a ação dos anticorpos prossegue, acentua-se a icterícia, podendo levar o recém-nascido à morte, ou à sobrevida com lesões neurológicas de maior ou menor gravidade. A fim de evitar a ação dos produtos tóxicos da hemólise sobre o organismo da criança, instituiu-se, desde 1946, o tratamento pela remoção parcial ou total do sangue do recém-nascido e sua substituição por sangue não sujeito à ação dos anticorpos maternos, através da chamada *exsangiúneo-transfusão* ou *transfusão de substituição*.

Atinge-se êsse objetivo por diversas técnicas, sendo a mais simples e mais fácil a que aproveita a veia umbilical, através da qual se introduz um cateter de polietileno que permite a introdução e retirada de pequenas porções de sangue, 10 a 20 ml por vez, obtendo-se, assim, a substituição progressiva do sangue do recém-nascido pelo sangue dos doadores. No caso da incompatibilidade Rh usa-se, pelos motivos já expostos, sangue homólogo Rh negativo de preferência fresco ou no máximo com 48 horas de conservação, procedendo-se sempre à retirada de 100 ml do plasma sobrenadante com o fim de compensar a diluição do sangue na solução anticoagulante. Em 1955 realizamos a exsangiúneo-transfusão com sangue Rh positivo em 12 casos, a título experimental. Com exceção de dois dêles, nos demais o resultado foi comparável aos obtidos com sangue Rh negativo, embora tenha sido necessário empregar maior volume de sangue para esgotar os anticorpos maternos existentes na circulação da criança<sup>17</sup>

Na incompatibilidade ABO usa-se concentrado de glóbulos do grupo O, suspensos em quantidade pouco menor de plasma A ou B, de acôrdo com o grupo sangüíneo do recém-nascido, evitando-se assim a introdução de aglutininas anti-A e anti-B do plasma dos doadores de grupo O que poderiam ser nocivas para os glóbulos do recém-nascido. A quantidade de sangue utilizada no tratamento é calculada em proporção ao pêso da criança, procurando-se usar 150 a 200 ml de sangue por quilo de pêso, o que corresponderá à substituição de 70 a 85% do sangue da criança, em geral suficiente para interromper a hemólise em curso e remover apreciável quantidade de bilirrubina. Quando insuficiente, o tratamento deverá ser repetido dentro de 24 a 48 horas, caso a bilirrubina ainda se mantiver elevada.

O critério para indicação da transfusão de substituição ainda está sujeito a variações segundo os centros onde se estuda o problema, mas os casos que se apresentam com mais freqüência em nossa experiência têm sido assim orientados:

1) recém-nascidos de mães com antecedentes transfusionais ou obstétricos de filhos atingidos pela doença hemolítica (filhos ictericos, anêmicos, natimortos ou sobreviventes com seqüelas neurológicas) encontrando-se no pré-natal títulos elevados de anticorpos anti-Rh (iguais ou superiores a 1:128), levando até à antecipação do parto em casos selecionados. São os casos de indicação imediata do tratamento pela exuberância dos sinais clínicos e de laboratório, apresentando o recém-nascido anemia, icterícia, hepato-esplenomegalia, encontrando-se no sangue do cordão: teste de Coombs fortemente positivo, taxas baixas de hemoglobina e dosagem de bilirrubinas acima do normal. A contagem específica assinala, por vezes, grande número de eritroblastos. Em nossa experiência, recém-nascidos atingidos pela doença hemolítica com tal gravidade só têm sido observados na incompatibilidade pelo fator Rh;

2) recém-nascidos de mães com ou sem antecedentes transfusionais ou obstétricos nos quais o exame pré-natal mostrou títulos de anticorpos oscilando entre 1:32 e 1:64. Costumam nascer em bom estado geral, podendo apresentar anemia e icterícia discretas com teste de Coombs nitidamente positivo. Em tais casos, o tratamento poderá ser protelado desde que se exerça vigilância sobre a criança através de dosagens de bilirrubinas com intervalos de 6, 8 ou 12 horas, condicionando o intervalo dos exames ao aspecto clínico. O tratamento deverá ser executado quando as dosagens mostrarem aumento acima de 0,5 mg de bilirrubina indireta por hora de vida, nas primeiras 24 horas. O hemograma, repetido a intervalos, também poderá dar informações úteis sobre a marcha da hemólise quando há redução dos glóbulos vermelhos e da taxa de hemoglobina e aumento da eritroblastemia, quando presente no primeiro exame. Porém, na maioria das vezes, esses dados são de importância secundária porque, quando significativos, a progressão do processo hemolítico é revelada pela dosagem das bilirrubinas;

3) recém-nascidos de mães levemente sensibilizadas ao fator Rh ou casos de incompatibilidade ABO, sendo em geral os exames solicitados após 24 a 48 horas do nascimento. O exame fundamental para indicar a transfusão de substituição é a dosagem de bilirrubina, procedendo-se ao tratamento sempre que atinjam níveis superiores a 25 mg de bilirrubinas indiretas nas crianças eutróficas e 20 mg nos prematuros e hipotróficos, até o quinto dia de vida.

Os casos dos dois últimos grupos, que até há pouco eram mantidos sem tratamento, enquanto se aguardava a progressão da doença, são atualmente submetidos à fototerapia que, concorrendo para eliminar o excesso de pigmento, poderá evitar o tratamento pela transfusão de substituição.

Esse mesmo critério é obedecido também em casos de hiperbilirrubinemia sem incompatibilidade materno-fetal demonstrável, com a finalidade de proceder à profilaxia do kernicterus. A importância da bilirrubina indireta na gênese das complicações neurológicas é hoje universalmente aceita, sendo pois a dosagem desse pigmento de grande valor na orientação

do tratamento. Em fevereiro de 1953<sup>16</sup>, analisando os resultados de 24 casos de doença hemolítica tratados pela exsangiúneo-transfusão, assinalamos a ocorrência de seqüelas neurológicas graves em dois recém-nascidos, nos quais o tratamento havia sido iniciado com níveis de bilirrubina indireta de 34,8 e 39,3 mg por 100 ml de sôro. Os dados de Hsia e col.<sup>12</sup> obtidos em 217 recém-nascidos são altamente significativos, motivo porque são reproduzidos no quadro abaixo:

| <i>Bilirrubinas</i> | <i>Casos</i> | <i>Kernicterus</i> |
|---------------------|--------------|--------------------|
| 0 — 5 mg            | 76           | 0 (0%)             |
| 6 — 15 mg           | 88           | 3 (3,3%)           |
| 16 — 30 mg          | 41           | 9 (18%)            |
| acima de 31 mg      | 12           | 6 (50%)            |

Os dados de Mollison e Cutbush<sup>20</sup> são bastante concordantes com os referidos acima, mostrando, igualmente, o perigo de níveis elevados de bilirrubina nos primeiros dias de vida:

| <i>Bilirrubinas</i> | <i>Casos</i> | <i>Kernicterus</i> |
|---------------------|--------------|--------------------|
| 10 — 18 mg          | 24           | 0 (0%)             |
| 19 — 24 mg          | 13           | 1 (8%)             |
| 25 — 29 mg          | 12           | 4 (30%)            |
| 30 — 40 mg          | 11           | 8 (70%)            |

Baseados nesses dados, autores há que preconizam o uso sistemático de transfusão de substituição quando a bilirrubina indireta atinge 20 mg sem levar em conta dados de outra natureza, o que não nos parece conduta acertada pois a exsangiúneo-transfusão é método de tratamento delicado, sujeito a acidentes fatais mesmo em mãos experimentadas, não podendo sua indicação ficar na dependência de um único exame de laboratório. Assim, quando êsse nível crítico é atingido, em casos que não se enquadram nos revistos acima, costumamos levar em conta: 1) o número de horas de vida; 2) o estado geral da criança, avaliado pela sua vitalidade, reação aos estímulos, sucção, sonolência e 3) a progressão da icterícia estimada pela dosagem das bilirrubinas, com intervalos de 8, 12 a 24 horas, indicando o tratamento quando a bilirrubina indireta ultrapassar os dados mencionados anteriormente, isto é, 25 mg nos eutróficos e 20 mg nos hipotróficos e prematuros até o 5.º dia de vida.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ALAGILLE, D. — Les ictères neonataux en dehors de la maladie hemolytique neonatale. *Transfusion (Paris)*, 1:199-217, 1958.
2. ALLISON, A. C. — Danger of vitamin K to newborn. *Lancet*, 1:669, 1955.
3. BILLING, B. H. — The three serum bile pigments in obstructive jaundice and hepatitis. *J. clin. Path.*, 8:130-131, 1955.
4. CREMER, R. J.; PERRYMAN, P. W.; RICHARDS,

- D. H. — Influence of light on the hyperbilirubinemia of infants. *Lancet*, 4:1094, 1958. 5. CROSO, E.; REFINETTI, P.; DELASCIO, D.; LUISI, A. — Kernicterus não associado com a doença hemolítica do recém-nascido. *Matern. e Inf. (S. Paulo)*, 15:81-102, 1956. 6. DANOFF, S.; GRANTZ, C.; BOYER, A.; HOLT JR., E. — Reduction of indirect bilirubinemia in vivo. *Lancet*, 4:316, 1958. 7. FERREIRA, H.; BARBIERI, D.; BEREZIN, A. — Tratamento da hiperbilirubinemia do recém-nascido pela super-iluminação. *Rev. paul. Med.*, 56:239, 1960. 8. FERREIRA, H.; CARDIM, W.; MELLONE, O. — Fototerapia. Novo recurso terapêutico na hiperbilirubinemia do recém-nascido. *Pediatr. (Rio de J.)*, 25:347-391, 1960. 9. HALBRECHT, I. — Role of hemoagglutinins anti-A and anti-B in pathogenesis of jaundice of the newborn (icterus neonatorum precox). *Amer. J. Dis. Child.*, 68:248-249, 1944. 10. HALBRECHT, I. — Icterus precox. Further studies on its frequency, etiology, prognosis and the blood chemistry of the cord blood. *J. Pediat.*, 39:185-190, 1951. 11. HIRSCHFELD, L.; ZBOROWSKI, H. — Gruppenspezifische Beziehungen zwischen Mutter und Frucht und elektive Durchlässigkeit der Placenta. *Klin. Wschr.*, 4:1152-1157, 1925. 12. HSIA, Y.; D.; ALLEN JR., F. H.; GELLIS, S. S.; DIAMOND, L. K. — Erythroblastosis fetalis. VIII. Studies of serum bilirubin in relation to kernicterus. *New Engl. J. Med.*, 247:668-671, 1952. 13. KUMATE, J. — Ictericia en el recién nacido y lactante. *Bol. méd. Hosp. infant. (Méx.)*, 17:313-317, 1960. 14. LAURENCE, B. — Danger of vitamin-K analogues to newborn. *Lancet*, 1:819, 1955. 15. LEHMAN, J. — Vitamin K as a prophylactic in 13000 infants. *Lancet*, 1:493, 1944. 16. MELLONE, O.; LACAZ, C. S.; YAHN, O.; JAMRA, M. — Doença hemolítica do recém-nascido. Considerações sobre segunda série de 24 casos tratados pela exsanguíneo-transfusão. *Rev. paul. Med.*, 42:89-96, 1953. 17. MELLONE, O. — Tratamento da doença hemolítica do recém-nascido pela transfusão de substituição. *Resen. clín.-cient.*, 27:49-55, 1958. 18. MELLONE, O. — Tratamento da hiperbilirubinemia do recém-nascido por foco de luz intensa. *Rev. paul. Med.*, 57:47-54, 1960. 19. MELLONE, O.; LOPES, A.; ROSALES, T.; MEDEIROS, G. A. — Tratamento da hiperbilirubinemia do recém-nascido pelo glucoronato de sódio. *Hospital*, 59:215-222, 1961. 20. MOLLISON, P. — *Blood Transfusion In Clinical Medicine*. Blackwell Scientific Publications. Oxford, 1956. 21. ODELL, G. — The dissociation of bilirubins from albumin and its clinical implications. *J. Pediat.*, 55:268-279, 1959. 22. POTTER, E. L.; WILSON, J. R. — Artificial insemination as a means of preventing erythroblastosis. *J. Amer. med. Ass.*, 127:458-459, 1945. 23. REFINETTI, P.; LOUISE, A.; DELASCIO, D.; FONTANESI, D. — Dois casos anátomo-clínicos de doença de inclusão citomegálica em recém-nascidos. *Rev. paul. Med.*, 55:255, 1959. 24. ROSENFELD, R. E. — The antiglobulin test in AB hemolytic disease of the newborn. *Proceedings of the Sixth Congress of the International Society of Blood Transfusion*. 1956. 25. WEINER, W.; HALLUM, J. L. — Follow-up of Rhesus-negative primigravidae; development of Rhesus immunization. *Brit. med. J.*, 2:868-869, 1958.