

Tipagem Sanguínea Fetal Não Invasiva: Impacto e precisão no Diagnóstico da Doença Hemolítica Perinatal (DHPN).

Non-invasive fetal blood typing: impact and accuracy in the diagnosis of perinatal hemolytic disease (PHD).

Maria Isabela Pereira de Farias Lojo; Eliana Cláudia Perroud Morato Ferreira

¹UNILUS – Curso de Graduação em Biomedicina – graduando (a) do 4º ano
isabelalojo@gmail.com.br – Santos, SP – Brasil;

²UNILUS – Professora Mestre – docente da UNILUS
elianaperroud@gmail.com.br – Santos, SP – Brasil.

Resumo

Introdução: A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) ocorre devido à incompatibilidade Rh entre mãe RhD negativa e feto RhD positivo, podendo causar anemia, icterícia e danos neurológicos. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é apresentar a Tipagem Sanguínea Fetal Não Invasiva (NIPT RhD) como alternativa segura e eficaz para o diagnóstico da DHPN. **Metodologia:** A pesquisa analisou a eficácia do NIPT RhD, considerando sua viabilidade para implementação no SUS, O presente estudo foi realizado por através de revisão da literatura. **Conclusão:** A adoção do NIPT RhD no SUS pode reduzir custos com imunoglobulina anti-D, melhorar a alocação de recursos e garantir mais segurança para gestantes e bebês.

Palavra-chave: Genotipagem RHD fetal não invasiva, Princípio da Técnica e Metodologia genotipagem RHD fetal, custo-efetividade genotipagem fetal RHD SUS, Diagnóstico fetal não-invasivo

Abstract

Introduction: Perinatal Hemolytic Disease (PHND) occurs due to Rh incompatibility between a RhD-negative mother and a RhD-positive fetus, which can cause anemia, jaundice, and neurological damage. **Objective:** This study aims to present Non-Invasive Fetal Blood Typing (RhD NIPT) as a safe and effective alternative for the diagnosis of PHND. **Methodology:** The research analyzed the efficacy of RhD NIPT in multiethnic populations, considering its feasibility for implementation in the SUS (Brazilian Unified Health System), focusing on reducing invasive tests and ensuring the appropriate use of resources. **Conclusion:** The adoption of RhD NIPT in the SUS (Brazilian Unified Health System) can reduce costs with anti-D immunoglobulin, improve resource allocation, and ensure greater safety for pregnant women and babies.

Keywords: Non-invasive fetal RHD genotyping, Principle of the technique and methodology of fetal RHD genotyping, cost-effectiveness of fetal RHD genotyping (SUS), Non-invasive fetal diagnosis

Introdução

A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) é causada pela destruição de hemácias fetais ou do recém nascido devido a aloimunização materna contra antígenos eritrocitários presentes nas células vermelhas do feto. Por mais que a profilaxia universal com imunoglobulina anti-D tenha reduzido muito a incidência, a incompatibilidade RhD permanece sendo a causa mais frequente e grave de aloimunização. Essa incompatibilidade manifesta-se normalmente após a segunda gestação com um feto RhD positivo em uma mãe RhD negativo, levando a sensibilização materna primária. Em gestações posteriores, os aloanticorpos atravessam a placenta, atingindo as hemácias fetais, o que leva ao quadro de hemólise e conseqüente anemia fetal. Em situações graves, pode ocorrer hidropsia fetal, e exigir transfusões intra uterinas para que o feto atinja o melhor desenvolvimento possível e o tempo ideal de parto (entre 37 e 38 semanas) (Ont Health Technol Assess Ser, 2020). Após o nascimento, o neonato pode apresentar sequelas que comprometem o seu desenvolvimento neuropsicomotor como hiperbilirrubinemia, anemia e infecções.

Historicamente, o acompanhamento e a determinação do fenótipo do RhD fetal, juntamente com a avaliação da gravidade da anemia, exigiam a realização de procedimentos invasivos, como a amniocentese, biópsia de vilo corial e a cordocentese. Esses procedimentos eram necessários para quantificar a bilirrubina no líquido amniótico ou para obter sangue fetal e diretamente avaliar a hemoglobina fetal e programar a realização de transfusões. Apesar de serem vitais para a avaliação do desenvolvimento fetal no passado, a utilização destes métodos levavam ao risco significativo de morbidade fetal e materna. Este risco incluía a possibilidade de aborto espontâneo e a indução de hemorragia feto-materna (HFM), agravando o quadro de aloimunização existente (Ont Health Technol Assess Ser, 2020).

Com esses riscos associados à invasividade, o diagnóstico da DHPN passou por inovação tecnológica com a introdução da Tipagem Sanguínea Fetal Não Invasiva. Este método se baseia na identificação do DNA fetal livre, de células (cfDNA) circulante no plasma materno, para determinar o gene RhD ou outros genes que codificam antígenos eritrocitários do feto. O teste pode ser realizado a partir da 10ª semana de gestação em pacientes não aloimunizados e a partir da 16ª semana em gestantes já sensibilizadas. Este método é considerado atualmente o mais seguro e menos invasivo, pois elimina os riscos de perda fetal e HFM associados à punção abdominal (Ont Health Technol Assess Ser, 2020).

A alta precisão e confiabilidade da genotipagem RHD fetal livre de células, com resultados superiores a 99% de precisão, têm permitido que os sistemas de saúde adotem abordagem de profilaxia anti-D apenas quando houver necessidade. A administração da imunoglobulina anti-D é direcionada apenas às gestantes RhD negativas que comprovadamente carregam um feto RhD positivo. Esta estratégia não apenas reduz o uso desnecessário de um hemoderivado de custo elevado, mas prioriza a segurança fetal ao evitar a exposição a procedimentos invasivos desnecessários (Ont Health Technol Assess Ser, 2020; Jackson et al., 2020).

Objetivo

O objetivo principal deste estudo é analisar o impacto e a precisão da tipagem sanguínea fetal não invasiva na prevenção e acompanhamento da DHPN. Comparar risco de morbidade e morte fetal associado aos métodos diagnósticos tradicionais, segurança e confiabilidade oferecidas pela genotipagem RHD fetal por DNA livre. Além de abordar os desafios de acesso e a relação custo-benefício para a implementação no cenário brasileiro (Ont Health Technol Assess Ser, 2020; Jackson et al., 2020).

Metodologia

Este trabalho é uma Revisão Bibliográfica, que consiste em analisar e organizar informações de artigos e estudos já publicados. A pesquisa foi feita em bases de dados científicas como SciELO, PubMed, MDPI e em repositórios de universidades (UFMG). Para garantir que as informações fossem atuais, a busca se limitou a artigos, teses e documentos publicados entre os anos de 2015 a 2025.

Foram utilizados os descritores para a busca: Genotipagem (RHD) fetal não-invasiva, Princípio da Técnica e Metodologia genotipagem (RHD) fetal, Custo-efetividade genotipagem fetal (RHD) (SUS) e Diagnóstico fetal não-invasivo. Os materiais encontrados foram lidos de forma crítica e organizados para fundamentar os argumentos do trabalho.

Doença Hemolítica Perinatal (DHPN)

A Doença Hemolítica Perinatal (DHPN) pode ser desencadeada por mais de 50 antígenos eritrocitários. Embora o RhD seja o mais conhecido, outros antígenos do sistema Rh (c, C, E, e), assim como os dos sistemas Kell, Duffy, MNS, Kidd e P também podem causar a doença (tabela 1) (Jackson et al., 2020).

Tabela 1: Outros tipos de antígenos que causam a doença hemolítica do recém nascido.

DHPN leve:	DHPN moderada:	DHPN grave:
ABO (A e B)	Rh (EW, horas, Tar, Rh32, HrBe, Hro)	Rh (D, c, f, Ce, Cw, cE)
Rh (C, e , Cx, VS, CE, Nea, JAL)	Diego (Dia, Dib, Wra, ELO)	Kell (K, k, Ku, Jsb)
kell (Kap, jsa, Ula)	Duffy (Fya)	Globoside (PP1Pk)
júnior (Jra)	Gerbich (Ge3)	MNSs (Vw, Mur, MUT)
Kidd (Jka, Jkb, Jk3)	H (H)	Mittenberger (Mia)
Duffy (Fyb)	kell (K, k, Ku, Jsb)	Gerbich (PP1PK)
Lingeries (Lan)	MNSs (U, Ss, S, s, Mta, Mv)	(HJK)
MNSs (M, N Hil, Or)	Colton (Coa)	
Colton (Cob, Co3)	(Kg)	
Scianna (Estrada, SC2)	(Sara)	
Xg (Xga)		
(Ata)		

Fonte: Adaptado de Jackson e Baker, Melanie et al., 2021.

Não existe uma taxa correta de morbidade e mortalidade fetal conhecida, principalmente em países de baixa e média renda, devido à falta de dados, informações e recursos para um diagnóstico (Jackson et al., 2020).

Historicamente, antes de 1945, quando não havia diagnóstico preciso, a taxa de mortalidade em países de alta renda era cerca de 4.000 óbitos por 100.000 nascimentos. Desse total, aproximadamente 10% eram atribuídos ao antígeno D do sistema Rh, sendo que cerca de 1% das gestações eram afetadas pela DHPN. Destas, 40% a 50% resultaram em natimorto ou morte neonatal (Jackson et al., 2020). Após 1945, a introdução de técnicas como a exsanguineotransfusão, procedimento que substitui o sangue do recém-nascido para diminuir o grau de hemólise e de bilirrubina livre, foi importante para reduzir o número de mortalidade neonatal (Jackson et al., 2020).

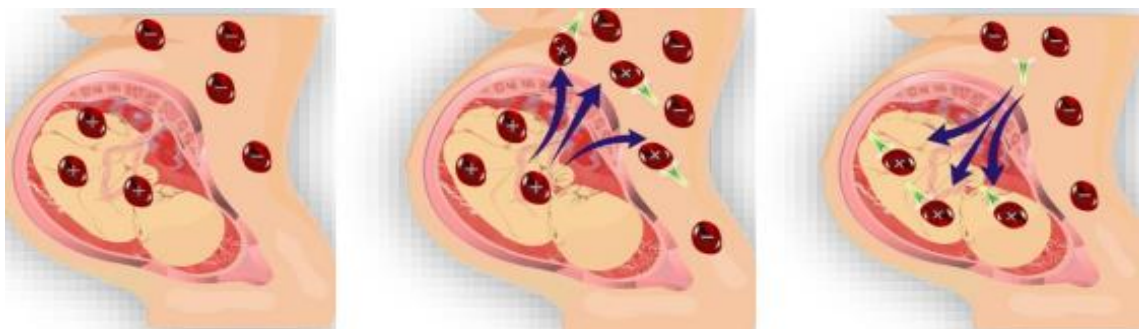
A prevalência de indivíduos RhD negativo varia globalmente conforme a etnia, sendo observada uma taxa de 15% em indivíduos caucasianos, 5% em afrodescendentes, 0,5% em chineses e 7% na população indígena. Contudo, em países de baixa renda e grandes populações, a carga da doença permanece desproporcionalmente alta, devido à falta de dados e recursos (Jackson et al., 2020).

Quando o feto herda o gene paterno que codifica o antígeno D do sistema Rh, pode gerar uma incompatibilidade com a mãe RhD negativo, esta será sensibilizada, desenvolvendo anticorpo anti-D, levando à aloimunização materna apenas no final da gestação ou durante o parto, quando acontece maior troca sanguínea entre a mãe e feto (Jackson et al., 2020).

A DHPN ocorrerá então a partir da mãe previamente sensibilizada por volta da 12^a a 14^a semana de gestação. O anticorpo de classe IgG atravessa a barreira placentária e é direcionado as hemácias fetais com a presença do antígeno D, levando ao processo de hemólise (Jackson et al., 2020).

A destruição das hemácias ocorre quando os macrófagos, presentes no fígado e no baço do feto, identificam a presença de anticorpo IgG na membrana das células, e realizam a fagocitose. O feto tenta compensar essa destruição pelo processo de hematopoiese extramedular. Se a destruição for leve, o processo extramedular consegue compensar a perda; porém se for intensa, a produção não será suficiente, e o feto desenvolverá anemia severa (Figura 1) (Jackson et al., 2020).

Figura 1: Aloimunização por incompatibilidade materna RhD.



Fonte: HARMENING, Denise M. **Modos e mecanismos de Doenças**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2005.

Entretanto, a anemia severa leva a consequências que podem ser fatais para o feto, como insuficiência circulatória e hepática. A falência desses órgãos, combinada com a redução de proteínas no sangue e o aumento da pressão venosa, leva ao edema generalizado (hidropsia fetal), que está associada a alta mortalidade perinatal. A insuficiência hepática também está diretamente ligada à icterícia grave decorrente do quadro de hiperbilirrubinemia no período neonatal (Jackson et al., 2020).

Atualmente, a principal estratégia de prevenção da sensibilização RhD é a profilaxia com imunoglobulina anti-D (Ig anti- D). Essa profilaxia é realizada de forma universal em gestantes RhD negativas, dividida em duas etapas principais, a profilaxia de rotina, recomendada por volta da 28^a semana de gestação para prevenir a sensibilização espontânea; e a profilaxia pós-evento, administrada dentro de 72 horas após o parto, se o recém-nascido for RhD positivo, ou após qualquer evento com risco de hemorragia feto-materna (Jackson e Baker, 2021).

Métodos Tradicionais no Diagnóstico Fetal de DHPN: Limitações e Riscos

Antigamente o diagnóstico definitivo tipo sanguíneo fetal e da avaliação da gravidade da DHPN dependiam exclusivamente de procedimentos invasivos como a amniocentese e a cordocentese, que levavam risco significativos de morbidade e mortalidade fetal e, até mesmo agravando a doença já existente (Ont Health Technol Assess Ser, 2020).

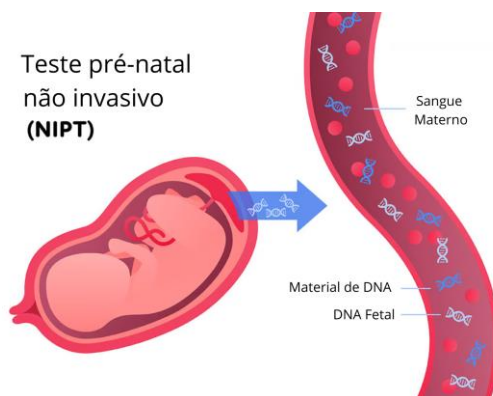
A Amniocentese é realizada para medir indiretamente o grau de hemólise fetal através da determinação da diferença de densidade óptica do líquido amniótico (OD450). O risco de aborto ou perda fetal associado à amniocentese é estimado em cerca de 0,3% a 1% dos casos (risco de 1 em 300 a 1 em 500). Por ser um procedimento invasivo que atravessa a parede abdominal e o útero, apresenta risco de sensibilização Rh ou de induzir hemorragia feto-materna (HFM), aumentando o volume de sangue fetal na circulação materna e, assim agravando a aloimunização já presente (Ont Health Technol Assess Ser, 2020).

Já a cordocentese, punção do percutânea do sangue umbilical era o padrão-ouro para o diagnóstico direto, pois permitia a coleta de sangue fetal para determinar a hemoglobina (Hb) e o RhD fetal. Este é o procedimento de maior risco. A taxa de perda fetal associada à cordocentese é estimada em 1% a 3% (até 3 em cada 100 procedimentos) Além disso, há risco de bradicardia fetal, sangramento no local da punção e o aumento da HFM, que pode agravar ainda mais a sensibilização materna. Devido aos riscos citados, tornou-se necessária a busca por uma solução segura e não invasiva (Jackson et al., 2020).

Tipagem Sanguínea Fetal Não Invasiva: A Revolução pelo DNA Livre

A metodologia para a tipagem sanguínea fetal não invasiva é um protocolo rigoroso que se inicia com a Extração e Preparo do DNA Livre de Células (cfDNA). Esse exame baseia-se na captação de fragmentos de material genético que circulam no sangue materno e outros fluidos corporais, mas que não estão contidos em células. A Figura 2 ilustra esse princípio fundamental da técnica.

Figura 2. Técnica do Teste Pré-Natal Não Invasivo (NIPT).



Fonte: BY BLOOM OBGYN. What is a Non-Invasive Prenatal Test (NIPT)?

A partir da coleta do sangue materno, que contém tanto DNA materno livre quanto DNA fetal proveniente da placenta, o plasma é extraído e purificado. Após a purificação, o DNA é dissolvido em um tampão de eluição com o objetivo de concentrá-lo antes da análise (Ahmadi et al., 2022).

Para a Confirmação da Presença do DNA Fetal, utiliza-se o gene beta-globulina para avaliar o DNA total extraído. A confirmação do cfDNA fetal é feita pela presença do gene SRY em fetos do sexo masculino. Quando o DNA fetal e o SRY não confirmam a presença, é utilizado o marcador epigenético RASSF1A. Esse marcador é utilizado devido a diferença em seu padrão de metilação entre os tecidos da mãe e da placenta. O RASSF1A no DNA fetal possui a marcação química hipermetilação, que o protege. Já no DNA materno, existe a hipometilação, ausência dessa marcação. A enzima BstUI, sensível à metilação, é utilizada para destruir o DNA materno, garantindo que o DNA que segue para a reação de polimerase em cadeia (PCR) seja prioritariamente de origem fetal (Ahmadi et al., 2022).

A partir da confirmação da presença do DNA fetal, o próximo passo é a análise de PCR em tempo real. Para a detecção do gene RHD, é utilizado o sistema LightCycler 96, que amplifica os fragmentos de DNA extraídos. A análise é feita com a tecnologia de sondas Taq-Man, que são fluorescentes e se ligam ao gene RHD. Quando a PCR amplifica o gene, a sonda libera um sinal de luz, e o LightCycler mede essa luz, confirmando a presença do RHD fetal. O protocolo exige três éxons diferentes do gene RHD, éxons 5, 7 e 10, para garantir o máximo de sensibilidade (Ahmadi et al., 2022).

O exame é interpretado como positivo, negativo ou inválido. Para o RHD ser positivo, é necessário que pelo menos dois dos três éxons tenham amplificação consistente. Para ser classificado como RHD negativo, nenhum éxon pode apresentar amplificação. Por fim, a acurácia clínica do NIPT é validada ao comparar o resultado do teste com a análise sorológica do RHD feita no sangue do cordão umbilical do recém-nascido, realizada dentro de 24 horas após o parto, por meio dos reagentes Anti-D Duoclone Monoclonal (Ahmadi et al., 2022).

O uso da NIPT determina o tipo RhD do feto e faz com que ele seja o melhor método não invasivo na área. E a confiabilidade do teste é atestada por grandes Avaliações de Tecnologia em Saúde (HTA) e revisões que analisam muitos estudos, mostrando que a qualidade da metodologia utilizada alcança resultados clínicos quase perfeitos (Ontario Health, 2020)

Entretanto, o principal desafio técnico é a baixa concentração de DNA fetal no sangue materno, podendo levar a resultado falso-negativo. Por isso, é importante garantir a segurança de todas as etapas do exame, desde a coleta, transporte, armazenamento e a própria extração do DNA. O uso de equipamentos automatizados e a

automação da extração do DNA junto com os controles de qualidade ajudam a garantir que o teste funcione bem e evitam os erros humanos (Kjeldsen-Kragh e Hellberg, 2022).

Segundo Ontario Health, 2020, a sensibilidade e a especificidade do teste é de 99,7%, levando o médico a ter segurança de não aplicar a vacina (anti-D) desnecessariamente na mãe. Com a introdução do teste NIPT para o RhD mudou completamente a forma de cuidar das gestantes RhD negativas. Ao invés de tratar todas as mães como se o bebê fosse um risco, o teste acabou permitindo tratamentos menos invasivos; com benefícios de reduzir o uso desnecessário da terapia anti-D. O teste consegue identificar, com precisão, cerca de 40% das mães RhD negativas que estão carregando um feto RhD negativo (Ontario Health, 2020). Desse modo, o uso da imunoglobulina anti-D é utilizada apenas em gestantes que realmente precisam, o cuidado se torna mais seguro para a mãe, reduz custos para o sistema de saúde e evita o desperdício de um medicamento importante. Além disso, o teste ajuda a evitar exames altamente invasivos. O NIPT também se aplica em gestantes já sensibilizadas anteriormente por anticorpos anti-D, e é de extrema importância para detectar a possível DHPN caso o feto seja RhD positivo (Ontario Health, 2020).

Considerações do Cenário Brasileiro e o SUS

Para que este teste seja instalado no SUS, é fundamental que ele seja validado em populações multiétnicas. Essa necessidade surge porque a maioria dos testes e kits disponíveis foi validada em populações brancas europeias, o que levanta dúvidas sobre sua precisão em outros grupos. No entanto, estudo realizado no Brasil demonstrou que o teste RhD pode ser confiável, apresentando resultados positivos na população geneticamente mista (Kjeldsen-Kragh e Hellberg, 2022).

A imunoglobulina anti-D é utilizada no Brasil como profilaxia universal para gestantes RhD negativas, evitando a sensibilização e consequente Doença Hemolítica Perinatal (DHPN). No entanto, essa estratégia implica o uso do imunobiológico mesmo em casos desnecessários, já que cerca de 40% das gestantes RhD negativas geram fetos também RhD negativos (Schmidt, 2018).

Com a introdução da tipagem fetal RhD não invasiva, seria possível identificar precocemente essas gestantes e direcionar o uso da imunoglobulina apenas para os casos realmente indicados, reduzindo custos e otimizando a gestão do medicamento pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O estudo realizado por Schmidt (2018) analisou o custo e o uso da imunoglobulina anti-D no SUS, mostrando que o fornecimento universal representa um alto impacto financeiro e logístico, considerando que o imunobiológico é derivado de plasma humano e depende de doações. Nesse contexto, com a nova técnica da tipagem fetal RhD não invasiva surge como uma alternativa viável para racionalizar o uso do medicamento e evitar desperdícios, melhorando a alocação dos recursos públicos e a disponibilidade do medicamento.

Estudos brasileiros mostraram que a economia gerada pela profilaxia direcionada pode chegar a milhões de reais, além de que o medicamento anti-D é de origem humana e dependente de doações. Evitar o desperdício de um medicamento essencial, direcionando-o apenas para quem realmente precisa e garantindo o estoque para todas as regiões (Schmidt, 2018).

Além disso, a aplicação desse teste permitiria um monitoramento mais eficiente dos estoques e demandas regionais, contribuindo para a gestão estratégica da profilaxia anti-D. Assim, a análise de custo-benefício demonstra que a integração do diagnóstico molecular ao pré-natal brasileiro é vantajosa tanto no aspecto econômico quanto na segurança materno-fetal, fortalecendo a sustentabilidade do SUS (Schmidt, 2018).

Considerações Finais

A Tipagem Sanguínea Fetal Não Invasiva para o gene RHD (NIPT RhD) no sangue da mãe é um método seguro e não invasivo, que detecta precocemente o gene fetal em gestantes RhD negativas que, muitas vezes são submetidas se necessidade a procedimentos invasivos de alto risco, como a Amniocentese e a Cordocentese à profilaxia universal com imunoglobulina anti-D. O teste demonstra boa especificidade e sensibilidade, podendo ser aplicada no cenário nacional.

A implantação desse teste no SUS é fundamental, não apenas pela segurança da mãe e do bebê, mas por sua vantagem econômica, pois ao usar a NIPT RhD para direcionar o tratamento, o SUS pode reduzir custos e evitar a exposição da gestante à imunoterapia anti-D.

Referências

AHMADI, S.; MIRFAKHRAIE, R.; BEHJATI, F. et al. *Non-invasive prenatal diagnosis of RHD status: a review of current approaches and challenges*. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, v. 48, n. 1, p. 5-14, 2022.

BY BLOOM OBGYN. What is a Non-Invasive Prenatal Test (NIPT)?

HARMENING, Denise M. *Modos e Mecanismos de Doenças*. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2005.

JACKSON, M. E.; BAKER, J. M. *Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn: Historical and Current State*. Clinical Laboratory Medicine, v. 41, n. 1, p. 133-151, 2021.

KJELDSEN-KRAGH, J.; HELLBERG, A. *Implementation of non-invasive prenatal RHD typing in RhD-negative pregnant women: advantages and challenges*. Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica, v. 101, n. 4, p. 427-434, 2022.

ONTARIO HEALTH (QUALITY). *Noninvasive Fetal RhD Blood Group Genotyping: A Health Technology Assessment*. Ontario Health Technology Assessment Series, v. 20, n. 15, p. 1-160, 2020.

SCHMIDT, L. R. *Implantação e análise da custo-efetividade da genotipagem RHD fetal não invasiva no Brasil*. 2018. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.