

# LE GÉNOTYPAGE RHD FŒTAL SUR SANG MATERNEL DANS LE SUIVI PRÉNATAL DES PATIENTES RH D NÉGATIF

J-F. DRICOT (1), J-M MINON (2), J-P SCHAAPS (3, 4), P. DEWEZ (5), J-M. FOIDART (6)

**RÉSUMÉ :** Depuis la mise en route du génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel dans notre service, aucun enfant Rh D positif né de patientes Rh D négatif n'a été prouvé *RHD* négatif. Le génotypage sur sang maternel est un moyen diagnostique aussi fiable que celui sur amniocytes, sans en présenter les risques. Nous proposons une prophylaxie basée sur le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel par injection intramusculaire de 300 µg d'immunoglobulines anti-D à 28 SA chez les patientes Rh D négatif, non allo immunisée dont le fœtus est *RHD* positif.

**MOTS-CLÉS :** *Génotypage RHD fœtal - Plasma maternel - Intégration suivie prénatal - Immunoprophylaxie anti-D*

**FETAL *RHD* IN MATERNAL PLASMA IN PRENATAL FOLLOW-UP.**

**SUMMARY :** Since the beginning of *RHD* genotyping in maternal plasma, no Rh D positive baby was diagnosed *RHD* negative in our institution. Genotyping from circulating DNA in maternal plasma is as efficient as genotyping on amniocytes but without the associated risks. We propose a prophylactic injection based on fetal genotyping *RHD* in maternal blood with 300 µg anti-D immunoglobulin at 28 weeks of amenorrhoea in all of Rh D negative pregnant women whose fetuses positive *RHD*.

**KEYWORDS :** *Fetal *RHD* genotype - Maternal plasma - Prenatal integration - Anti-D immunoprophylaxis*

## INTRODUCTION

C'est en 1609 que la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) est décrite pour la première fois. En 1961, Stern démontre que l'injection d'immunoglobulines anti-D prévient l'allo-immunisation Rh D. Il faut attendre les années 1970 pour que les premières immunoglobulines anti-D soient commercialisées (1). Les patientes Rh D négatif se retrouvent dans 15% de la population caucasienne, 3 à 5% des noires africaines sont Rh D négatif et elles sont rares dans la population asiatique (<1%).

Le passage des hématies fœtales dans la circulation maternelle est bien connu. En situation physiologique, elle se produit dès le premier trimestre chez environ 4% des femmes enceintes. Les fréquences s'élevant respectivement à 12%, puis 45% au cours des deuxième et troisième trimestres et jusqu'à 60% au moment de l'accouchement (2).

De nos jours, l'allo-immunisation anti-D reste la principale cause d'anémie hémolytique fœtale (3). Sans aucune prophylaxie anti-D, celle-ci se retrouve chez 4 à 9 % des primipares à 6 mois du *post-partum*. Elle atteint 20% après la seconde grossesse incompatible (4). Avec une prophylaxie à base d'anti-D dans le *post-partum* ou dans des situations à risque d'allo-immunisation, cette fréquence est de 0,95 %. Dans le cas d'une prophylaxie anténatale par injection d'im-

munoglobulines anti-D au troisième trimestre, cette fréquence chuterait à 0,35%. Cette pratique aurait un coût financier non négligeable. Ce surcoût doit être mis en balance avec les bénéfices qu'engendrerait la diminution de nouvelles allo-immunisation anti-D (5, 6).

La présence d'ADN fœtal libre circulant dans le plasma maternel a été mise en évidence par Lo et coll. (7) en 1997. De cette découverte, découle la possibilité de rechercher le gène SRY précocement ainsi que le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel. L'apparition de cet ADN fœtal dans la circulation maternelle est détectable dès 7 semaines de grossesse (3).

L'origine tissulaire et cellulaire de l'ADN fœtal dans le sang maternel est certainement multiple. Il proviendrait en majeure partie des cellules du cyto et syncytio-trophoblaste (8). L'élimination rapide de cet ADN fœtal circulant après l'accouchement est bien démontrée (9).

La détermination du statut Rh D fœtal chez les patientes Rh négatif allo-immunisées anti-D se faisait jusqu'à présent par génotypage sur amniocytes ou par réalisation du phénotype érythrocytaire Rh D sur sang de cordon. Ces deux techniques sont des techniques invasives et associées à des risques de pertes fœtales ou d'aggravation d'une allo-immunisation préexistante.

Notre étude montre qu'une technique non invasive d'exploration du statut Rh D fœtal chez des patientes Rh D négatif est aussi fiable, sensible et spécifique que les techniques invasives actuelles. Elle discute de l'intérêt médical et économique d'une prophylaxie anténatale par injection d'immunoglobulines anti-D à partir de 28 semaines d'aménorrhée (SA) chez les patientes Rh D négatif et propose d'intégrer le génotypage *RHD* sur sang maternel tôt dans leur suivi de grossesse.

(1) Assistant gynécologie-obstétrique, (3) Chef de service adjoint, (6) Professeur ordinaire, Chef de service, Service de gynécologie-obstétrique, CHR Citadelle, Liège.

(2) Chef de service, Laboratoire de biologie clinique, CHR Citadelle, Liège.

(5) Pharmacien Chef de Service, Pharmacie, CHR Citadelle, Liège.

(4) Chef de service, Service d'embryologie humaine, ULg Sart-Tilman, Liège.

TABLEAU I : RÉSULTATS DU GÉNOTYPAGE FOETAL MATERNEL EN RAPPORT AVEC LE PHÉNOTYPE DES NOUVEAUX NÉS

	Génotypage <i>RHD</i> <i>RHD</i> + / <i>RHD</i> -	Phénotype des nouveaux nés Rh D+ / Rh D -	Génotypage <i>SRY</i> +	Phénotype masculin
1er trimestre (n=10)	8/2	8/2	7	7
2ème trimestre (n=48)	32/16	31/17	23	23
3ème trimestre (n=12)	7/5	7/5	7	7
Total (n=70)	47/23	46/24	37	37

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

La recherche du *RHD* foetal était basée sur l'amplification des exons 4, 5, 10 du gène *RHD* en PCR multiplex temps réel du gène Rh D sur sang maternel de février 2004 à janvier 2006. Les échantillons, amorces et sondes utilisées étaient identiques à celles utilisées par Minon et al (10).

70 femmes enceintes Rh D négatif suivies à la consultation prénatale ont été incluses dans notre étude. 10 patientes ont subi un prélèvement au premier trimestre (<14 SA), 48 au deuxième trimestre (<28 SA) et 12 au cours de leur troisième trimestre de grossesse.

L'accord écrit des patientes a été obtenu selon le protocole approuvé par le comité d'éthique de l'institution.

Un fœtus était considéré comme porteur du gène *RHD* lorsqu'une amplification concomitante des trois exons était positive. Le statut *RHD* déterminé sur sang maternel a été confronté au phénotype érythrocytaire Rh D de l'enfant déterminé à la naissance sur sang de cordon.

La technique PCR développée permet d'identifier également les patientes Rh D faibles (Du +). Dans ce cas, la cinétique de développement de la fluorescence au cours des cycles d'amplification montre des valeurs de cycle seuil (Ct) basses. Elles correspondent à des quantités d'ADN cibles de départ importantes et incompatibles avec celles de l'ADN foetal circulant dans le sang maternel. L'origine maternelle du gène *RHD* a pu être confirmée sur la couche leuco-plaquettaire maternelle et par sérologie érythrocytaire (Fig. 1).

Dans deux cas, la première amplification génomique n'a pas permis de conclure sur le statut *RHD* du fœtus. Ceci nécessitant un deuxième prélèvement sanguin maternel.

Dans le même temps, nous avons comptabilisé le nombre d'injections d'immunoglobulines anti-D réalisées auprès de ces patientes au long de leur grossesse et à leur accouchement.

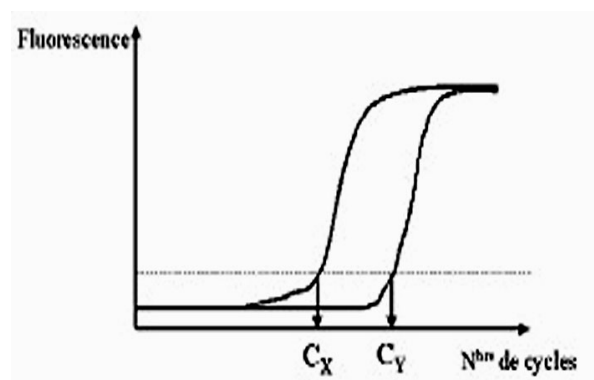


Figure 1 : Exemple de courbe PCR et différents Cx

## RÉSULTATS

Le gène *RHD* était présent dans 47 cas, le gène *SRY* recherché dans le même temps était présent dans 37 cas.

De ces 70 patientes caucasiennes présentant toutes une grossesse unifœtale, sont nés 37 garçons et 33 filles. Le groupe sanguin Rh D des nouveau-nés montre 24 enfants Rh D négatif et 46 enfants Rh D positif, en accord avec la loi de Hardy-Weinberg (qui prédit 49 enfants Rh D positif) (Tableau I).

Un enfant est né Rh D négatif alors que le gène *RHD* était présent dans le plasma maternel en cours de grossesse. Une prise de sang a été réalisée à distance de l'accouchement chez la patiente ainsi qu'un écouvillonnage buccal chez elle et son enfant afin d'éviter chez ce dernier un prélèvement sanguin.

Le groupe sanguin de la mère recherché par sérologie et biologie moléculaire confirme les résultats antérieurs. La recherche du gène *RHD* sur les cellules buccales de la petite fille reste positive.

Deux hypothèses peuvent être envisagées. La première, la plus probable, est une erreur d'identité dans le sang de cordon reçu au laboratoire ou une forte contamination par le sang maternel. La seconde est la présence d'un gène non fonctionnel amplifié par les trois couples d'amorces ce

qui semble peu vraisemblable vu la haute spécificité de la technique utilisée.

Pour confirmer la première hypothèse, idéalement un prélèvement sanguin de l'enfant devrait être réalisé ou à défaut un prélèvement du géniteur afin d'exclure que l'enfant ait hérité du gène non fonctionnel de son père. Toutefois les parents ont décliné cette demande.

Septante sept doses de RhoGAM® ont été commandées auprès de la pharmacie de notre institution dans le cadre de la surveillance de ces 70 patientes, 16 patientes ont bénéficié de plus d'une injection (amniocentèses, métrorragies, traumatismes obstétricaux et doses répétées d'immunoglobulines suite à l'accouchement). Ces immunoglobulines anti-D ont toutes été administrées après 12 SA. Parmi ces 16 patientes, 15 d'entre elles ont reçu une ou plusieurs doses complémentaires avant leur accouchement. Six patientes des 24 dont le fœtus était Rh D négatif ont reçu une injection de RhoGAM® en cours de grossesse.

Les résultats de notre étude confirment une sensibilité et une valeur prédictive positive (VPP) de 100%. La spécificité est de 100%, en excluant la discordance génotypo-phénotypique observée dans notre série dont l'origine est probablement liée à une erreur de tube. Elle nous apparaît aussi fiable que les techniques invasives sans en présenter les risques. La recherche du gène SRY montre également une VPP de 100%, la sensibilité et la spécificité étant de 100%.

Avec une bonne connaissance du système Rh, tant sur son versant phénotypique que génotypique, le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel avec utilisation de sondes multiples permet de dépister avec un indice d'erreur nul les enfants de statut Rh D positif.

Deux expressions phénotypiques de variants du gène *RHD* doivent être mentionnées : le D faible (Du) et le D partiel. Les érythrocytes Rh D normaux sont définis comme des érythrocytes possédant tous les épitopes de l'antigène Rh D et environ 21.000 copies de la protéine Rh D par cellule (11). Certains individus peuvent développer des anti-D bien que porteurs partiellement du gène Rh D, ces individus sont désignés Rh D partiel. Les anti-D produits sont dirigés contre les épitopes de l'antigène Rh D, absent des érythrocytes de ces individus. Contrairement aux Rh D partiels, les individus Rh D faible présentent des diminutions de la quantité de molécules Rh D sur les membranes des érythrocytes. Ils ne produisent qu'exceptionnellement des anticorps anti-D lorsqu'ils sont en contact avec le sang d'individus Rh D positif. Vu la rareté d'allo

immunisation des patientes Rh D faible et le manque de preuve de l'efficacité d'une injection d'immunoglobulines anti-D dans cette indication (12), les patientes porteuses du phénotype Rh Du peuvent être considérées comme des patientes Rh D positif.

Il existe un passage d'hématies fœtales vers la circulation maternelle dès la 8<sup>ème</sup> SA, celui-ci augmente au 3<sup>ème</sup> trimestre (3, 4). Comme signalé dans l'introduction, en l'absence de prévention et dans les six mois suivant le premier accouchement, le pourcentage de femmes immunisées anti-D est de 4 à 9%. Elle atteint 20% dès la seconde grossesse D incompatible (4).

En France et en Hollande, l'incidence de la maladie hémolytique du nouveau-né liée à l'allo-immunisation Rh D est, depuis l'introduction de la protection prophylactique par injection d'immunoglobulines anti-D post-natales, de 0,66% chez les patientes Rh D négatif (13, 14). Avec une prophylaxie anti-D post-natale, le risque d'une allo-immunisation chez les patientes Rh D négatif est d'environ 0,95% en Angleterre. Elle pourrait diminuer à 0,35% en y associant une prophylaxie anténatale systématique (5, 6), ce qui éviterait 2/3 de ces nouvelles allo-immunisations.

Si l'on envisage l'importance d'une prophylaxie anténatale systématique d'un point de vue économique, nous devons introduire la notion de Quality Age Life Year (QALY), qui est une mesure de l'utilité perçue par les patients, d'une action médicale qui modifie leur état de santé. Il correspond, à un nombre d'années de vie gagnées pondérées par la valeur accordée à ces années par les patients, en fonction de l'état dans lequel ce temps est vécu sur le plan des handicaps et de la souffrance (physique et psychologique). De tels choix implicites apparaissent également au niveau collectif, chaque fois que des décisions d'allocation des ressources médicales sont effectuées. Chilcott et la Health Technology Assessment (15) signalent que la prophylaxie par injection anténatale d'immunoglobulines anti-D chez les primigestes, a un surcoût par QALY gagné acceptable, par rapport à la prévention classique. Néanmoins, ils font remarquer que cette prophylaxie anténatale élargie à toutes les patientes Rh D négatif ne semble pas être aussi intéressante. Ces considérations ne prenaient pas en compte les MHHN évitées et leurs coûts financiers obstétricaux et néonataux. Selinger fait une évaluation du rapport coûts-bénéfices entre prophylaxie anténatale et soins néonataux suites à une allo immunisation Rhésus. Selon son étude, la prévention par injection systématique anténatale d'immunoglobulines

anti-D serait plus avantageuse de 37% par rapport aux soins néonataux (16). Ces chiffres s'appliquent si l'on considère que le taux d'allo-immunisation avec une telle prophylaxie anténatale est de 0%. Néanmoins nous observons malgré celle-ci 0,35% de nouvelles allo-immunisations (5, 6). Cet avantage est donc à revoir à la baisse.

En mars 2005, la NICE Technology Appraisal Guidance a publié le tableau II (17).

Ce modèle suggère que le coût par sensibilisation évitée ne diffère pas significativement entre la première grossesse et les suivantes. Le coût par complication fœtale ou néonatale évitée est moindre dans le groupe des primigestes. Le coût par QALY, pondéré par les gains fœtaux et néonataux, semble acceptable dans le cas d'une injection systématique d'anti-D anténatale à chaque grossesse (inférieur à 60.000 Euros). Remarquons que malgré de nombreuses études économiques dont les résultats sont discordants, la prévention systématique anténatale est toutefois proposée aux femmes Rh D négatif en Angleterre et dans de nombreux pays occidentaux.

Lors de notre étude, 15 patientes (21,5%) ont bénéficié d'au moins 1 injection de RhoGAM® durant leur grossesse (amniocentèse, métrorragies, traumatisme obstétrical,...). Parmi celles-ci des patientes porteuses d'enfants Rh D négatif. En évitant des injections d'immunoglobulines

anti-D chez des patientes Rh D négatif porteuses d'un enfant *RHD* négatif en utilisant le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel, nous économiserions dans notre étude 6 doses de RhoGAM® (8% des doses utilisées) à condition de ne pas faire d'injection systématique à 28 SA.

La probabilité de porter un enfant Rh D positif pour une mère Rh D négatif, caucasienne dont le groupe du géniteur est inconnu est de 61% (10). La possibilité de connaître le statut *RHD* fœtal grâce au génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel dans le suivi prénatal modifie les calculs économiques réalisés précédemment. En effet, au sein de notre établissement, les patientes Rh D négatif jusque 2005 bénéficiaient d'une injection de RhoGAM® uniquement en *post-partum* lorsque le *conceptus* était Rh D positif.

Dans le cas d'une prophylaxie systématique anténatale par injection de RhoGAM®, 100% des patientes Rh D négatif reçoivent depuis 2006 une injection d'immunoglobulines anti-D à 28 SA en plus de la dose préconisée à la naissance nécessaire chez 61% d'entre-elles.

En utilisant la recherche systématique du *RHD* fœtal sur sang maternel, nous épargnons les injections anténatales de RhoGAM® dans le groupe de patientes dont le fœtus est *RHD* négatif. 24% de la totalité des doses administrées seraient donc économisés par rapport à une politique d'injection systématique d'immunoglobu-

TABEAU II : SURCÔÛT ENGENDRÉ PAR UNE PROPHYLAXIE ANTÉNATALE CHEZ LES PATIENTES RH D NÉGATIF :

Coût (Euros)	Prophylaxie chez des primigestes vs injection <i>post-partum</i> d'anti-D	Prophylaxie chez toutes les patientes gravides Rh D – vs les primigestes Rh D -
Par sensibilisation évitée	23.360	24.820
Par cas d'anémie hémolytique du nouveau né évité	20.440	67.160
Par perte fœtale ou néonatale évitée	306.600	992.800
Par QALY, pour les cas de sensibilisations, anémie hémolytique du nouveau né évitées (sans tenir compte des gains fœtaux et néonataux)	17.520	71.540
Par QALY, pour les cas de sensibilisation, anémie hémolytique du nouveau né et problèmes fœtaux et néonataux évités (en considérant que la perte d'un fœtus ou d'un nouveau né équivalait à 10 QALY)	11.096	<b>40.880</b>
*QALY: Quality adjusted life year		



lines anti-D anténatale. De cette économie, nous devons soustraire le prix du dépistage *RHD* fœtal sur sang maternel que nous effectuons chez 100% des patientes. (Pour information, le remboursement de ce test n'est pour l'instant pas pris en charge par la sécurité sociale belge).

La bonne utilisation du test de Kleihauer permet de quantifier le passage de sang fœtal dans la circulation maternelle. Celui-ci doit être utilisé dans toutes les situations où une hémorragie foeto-maternelle peut arriver dès le début du second trimestre ainsi qu'à la naissance. L'injection d'immunoglobulines anti-D doit être modulée par le résultat de ce test. 10 hématies fœtales pour 10.000 hématies maternelles correspondent environ à un passage de 5 ml de sang fœtal dans le sang maternel (14). Dix µg de RhoGAM® sont nécessaires pour couvrir 1 ml de sang fœtal.

Suite à ces considérations médicales et économiques, nous proposons aux patientes Rh D négatif une injection systématique mais orientée d'immunoglobulines anti-D à la dose de 300 µg à partir de 28 SA (5, 17). Une information complète sur le risque d'une allo-immunisation, sur les produits utilisés pour l'éviter et sur les conséquences pour le futur obstétrical de la patiente doit être donnée à la femme enceinte (18). La prophylaxie orientée, basée sur le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel a sa place dans la prise en charge obstétricale de la patiente Rh D négatif. La connaissance de l'origine ethnique, la présence d'un phénotype D faible ou partiel sont nécessaires à l'interprétation correcte du résultat. Il est important de connaître également les antécédents médico-chirurgicaux de la patiente. Dans une précédente série, une patiente Rh D négatif, greffée rénale chez qui la recherche du *RHD* fœtal sur sang maternel était positif a accouché d'un enfant Rh D négatif. Le greffon provenait d'un donneur Rh D positif. Dans ce cas de discordance génotypo-phénotypique, la PCR amplifiait les exons du gène *RHD* du greffon (19).

## CONCLUSIONS

Au vu des résultats de notre étude, le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel nous semble incontournable dans l'évolution de la prise en charge obstétricale des patientes Rh D négatif.

Des études coûts-bénéfices existent. Malgré la difficulté d'affirmer le gain économique d'une prophylaxie anténatale par injection d'immunoglobulines anti-D, force est de constater que la plupart des pays occidentaux préconisent une telle pratique dont l'efficacité clinique est bien démontrée (5, 6, 17).

La place du génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel dans la prise en charge des patientes Rh D négatif n'a pas encore été bien étudiée d'un point de vue économique dans nos populations. Celui-ci permettrait de réduire les doses de RhoGAM® administrées à 28 SA et de ce fait rendre la prophylaxie anténatale orientée moins onéreuse.

La mise à jour de la prise en charge des patientes Rh D négatif reposant sur la recherche du *RHD* fœtal sur sang maternel est dans notre service établie comme suit :

1. La recherche systématique du génotype *RHD* fœtal sur sang maternel selon la technique utilisée par Minon et al. (10) à partir de 12 SA.

2. Dès lors que le fœtus ne présente pas le gène *RHD*, la patiente peut bénéficier d'un suivi identique à celui d'une patiente Rh D positif. L'injection d'immunoglobulines anti-D ne serait plus nécessaire lors des métrorragies gravidiques, la recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) doit être demandée en début de grossesse et à 28 SA.

3. Les patientes dont le fœtus est porteur du gène *RHD* avec RAI négative continuent à bénéficier d'une surveillance accrue, l'injection d'immunoglobulines anti-D lors de métrorragies est dans ce cas nécessaire pour éviter un risque d'allo immunisation. Une RAI est recommandée au premier trimestre et à 28 semaines d'aménorrhée.

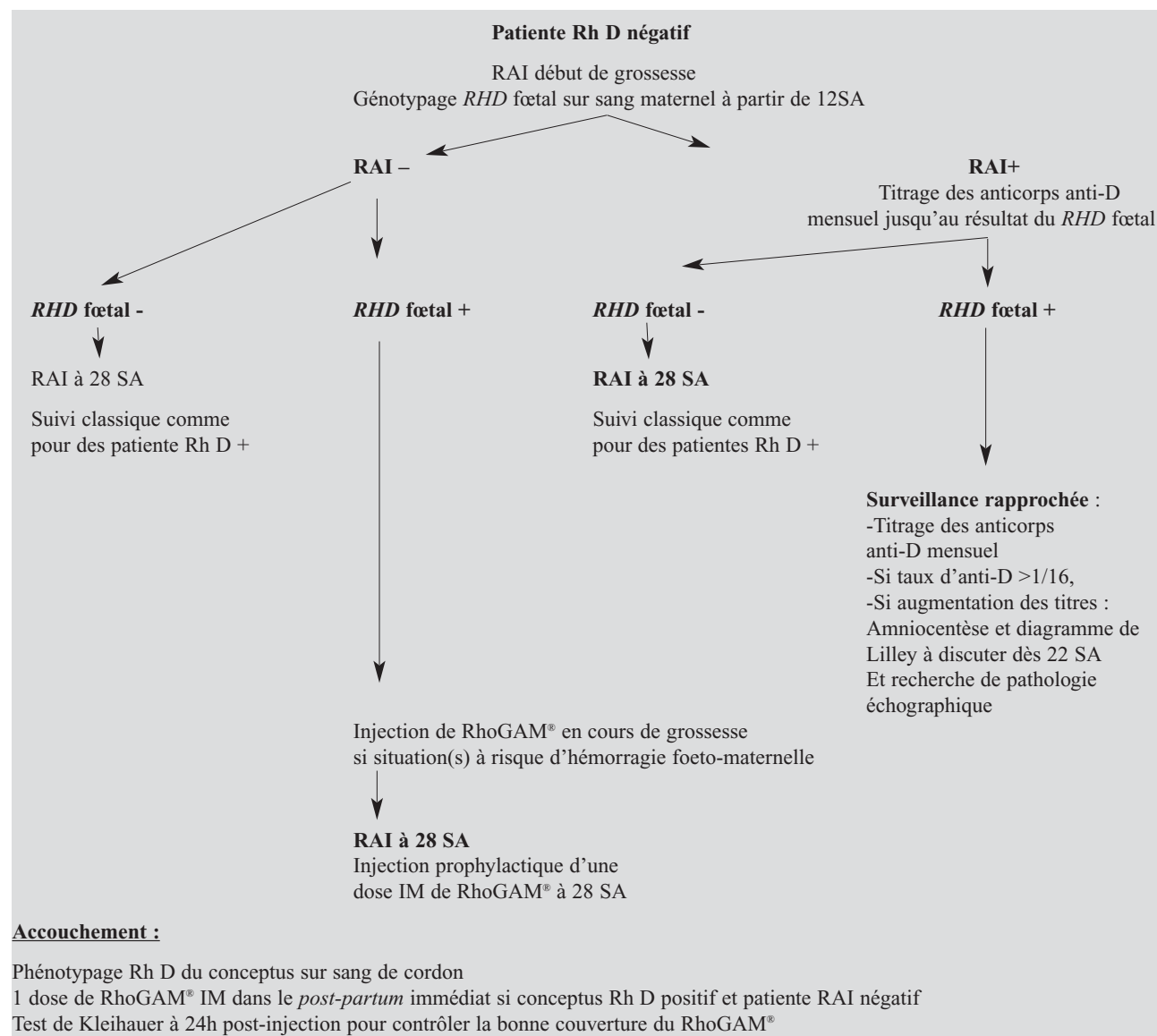
Nous proposons l'injection prophylactique orientée d'immunoglobuline anti-D à la dose de 300 µg chez ces patientes à partir de 28 SA. Les patientes doivent être informées des risques bénéfices d'une telle prophylaxie.

4. Les patientes Rh D négatif présentant des anticorps anti-D et dont le fœtus est de génotype *RHD* négatif ne doivent plus subir d'examen invasif, ni de surveillance accrue. Une RAI en début de grossesse et à 28 SA sera demandée.

5. Quant aux patientes allo-immunisées anti-D dont le fœtus est porteur du gène *RHD*, la prise en charge reste inchangée à celle proposée précédemment : suivi mensuel du titre des anticorps anti-D associé à l'échographie avec explorations invasives le cas échéant. Signalons que certaines équipes obstétricales utilisent l'étude échographique du doppler fœtal de l'artère cérébrale moyenne dans le suivi de ces patientes sans avoir recours à l'amniocentèse et le diagramme de Lilley d'emblée (20, 21, 22).

6. Le test de Kleihauer doit être prescrit largement et utilisé afin de moduler le nombre d'injections d'immunoglobulines anti-D.

TABLEAU III : SCHÉMA DE PRISE EN CHARGE DES PATIENTES RH D NÉGATIF :



7. Lors de l'accouchement, le groupe sanguin du nouveau né doit être prélevé au cordon. Si le nouveau né est Rh D positif, une injection de RhoGAM® est indiquée chez les patientes RAI négatif. Un Kleihauer sera prescrit 24h après l'accouchement afin de discuter d'injection(s) supplémentaire(s) d'immunoglobulines anti-D ou non (Tableau III).

## REMERCIEMENTS

A tout ceux et celles qui ont participé à cette étude : médecins gynécologues et assistants, aux accoucheuses, aux infirmières de polyclinique ainsi qu'aux secrétaires de la consultation prénatale du CHR de la Citadelle. Aux infirmières préleveuses et aux techniciennes de transfusion

du service de biologie clinique du CHR de la Citadelle.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Mannessier L.— Suivi de l'allo-immunisation foeto-maternelle. *Transfus Clin Biol*, 2003, **10**, 258-262.
2. Bowman JM, Pollock JM, Bigins KR.— Antenatal studies and the management of hemolytic disease of the newborn. *Methods in hematology*. Churchill, Livingston, 1988, **2**, 129-150.
3. Daniels G.— Blood group antibodies in haemolytic disease of the fetus and newborn, in Hadley A, Soothill P, eds Alloimmune disorders of pregnancy. *Cambridge University Press*, 2002, 21-40.
4. Mannesier L.— Prévention de l'allo-immunisation foetomaternelle. *Transfus Clin Biol*, 2000, **7**, 525-526.

5. Fung Kee Fung K, Eason E.— Prevention of Rh Alloimmunisation. SOCG *Clinical practice Guidelines*, 2003, **133**, 765-773.
6. Chilcott J, Tappenden P, Lloyd Jones M, et al.— The economics of routine antenatal anti-D prophylaxis for pregnant woman are rhesus negative. *BJOG*, 2004, **111**, 903-907.
7. Lo Y, Tein M, Lau TK, et al.— Quantitative analysis of foetal DNA in maternal plasma and serum : implications for non-invasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet*, 1998, **62**, 768-775.
8. Flori E, Doray B, Gautier E, et al.— Circulating cell-free fetal DNA in maternal serum likely originates from cyto- and syncytiotrophoblastic cells. *Hum Reprod*, 2004, **19**, 723-724.
9. Lo YMD, Zhang J, Leung TN, et al.— Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet*, 1999, **64**, 218-224.
10. Minon JM, Schaaps JP, Retz M, et al.— Utilisation en routine clinique du génotypage foetal *RHD* sur plasma maternel : bilan de deux ans d'activité. *J Gynecol Biol Reprod*, 2005, **34**, 448-453.
11. St-Amour I.— Les antigènes du groupe sanguin Rhésus, in St-Amour I. : Utilisation de banque combinatoire d'anticorps phagiques afin de modifier la réactivité d'un anticorps dirigé contre l'antigène Rh D Bibliothèque nationale du Canada Ed., Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître ès sciences, Ottawa, Août 1999, 15.
12. Domen R.— Policies and procedures related to weak D phenotype testing in and Rh Immune globuline administration. Result from supplementary questions to the Comprehensive Transfusion Medicine Survey of the College of American Pathologists. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, **124**, 118-121.
13. Brossard Y, Parnet-Mathieu F, Larsen M.— Incompatibilité foeto-maternelles érythrocytaires, Lefèvre J et Rouger P. Ed., Transfusion sanguine : une approche sécuritaire, John Libbey Eurotext, Montrouge, 2000, 294.
14. Van Dijk BA, Hirasing RA, Overbeeke MAM.— Hemolytic disease of the newborn and irregular blood group antagonism in the Netherlands : prevalence and morbidity. *Ned Tijdschr Geneesk*, 1999, **143**, 1465-1469.
15. Chilcott J, Lloyd Jones M, Wight J, et al.— A review of the clinical effectiveness of routine anti-D prophylaxis for pregnant woman who are rhesus-negative. *Health Technology Assessment*, 2003, **7**, 4.
16. Selinger M.— Immunoprophylaxis for rhesus disease— expensive but worth it? *Br J Obstet Gynaecol*, 1991, **98**, 509-512.
17. National Institute for Clinical Excellence.— Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative woman. *Technology Appraisal*, 2005, 41.
18. Poissonier MH.— Imunisation sanguine foeto-maternelle – dépistage, prévention *La revue du praticien*, 2000, **50**, 1029-1034.
19. Minon JM, Senterre JM, Schaaps JP, et al.— An unusual false positive result in fetal *RHD* typing using DNA derived from maternal plasma of a solid organ transplant recipient. *Transfusion*, 2006, in press.
20. Detti L, Mari G.— Noninvasive diagnosis of fetal anemia. *CI Obstet Gynecol*, 2003, **46**, 923-930.
21. Mari G, Abuhamad A, Cosmi E, et al.— Middle cerebral artery peak systolic velocity, techniques and variability. *J Ultrasound Med*, 2005, **24**, 425-430.
22. Minon J-M, Gerard Ch, Dricot J-F, et al.— Nouvelles stratégies dans la prise en charge de l'allo-immunisation anti-Rh D maternelle. *Revue Méd Liège*, 2006, **61**, 756-762.

Les demandes de tirés à part sont à adresser à Dr. Dricot J-F, Résidence Artigny, Place de l'étang 11 bis, 6900 Marche en Famenne, Belgique.  
email : jf\_dricot@hotmail.com