

Loote reesusstaatuse mitteinvasiivne diagnostika – prenataalse diagnostika uus võimalus Eestis

Signe Altmäe¹, Anastassia Runina¹, Maris Kuningas¹, Tiina Kahre^{2, 4}, Maire Peters², Aivar Ehrenberg^{2, 3}, Helle Karro^{2, 3}, Andres Salumets^{1, 2}, Andres Metspalu^{1, 4, 5} – ¹TÜ molekulaar- ja rakubioloogia instituut, ²TÜ naistekliinik, ³TÜ Kliinikumi naistekliinik, ⁴TÜ Kliinikumi ühendlabor, ⁵Eesti Biokeskus

reesuskonflikt, mitteinvasiivne sünnieelne diagnostika

Rasedusaegne reesuskonflikt on üks tähtsamaid loote ja vastündinu hemolüütilise haiguse tekkepõhuseid. Reesuskonflikt tekib, kui reesusnegatiivne naine kannab reesuspositiivset loodet. Loote reesusstaatuse määramine, mille kõige täpsemaks meetodiks on invasiivne geneetiline sünnieelne diagnostika (SeD), võimaldab teostada õigeaegset reesuskonflikti profülaktikat ja ravi. Kahjuks kaasneb invasiivse SeD-ga suurem spontaanabordi risk. Invasiivsetele meetoditele on ohutuks alternatiiviks mitteinvasiivne SeD, mille korral analüüsitakse ema vereringes esinevaid loote rakke või rakuvaba DNAd. Käesolevas uuringus töötati välja ning kasutati esmakordselt Eestis mitteinvasiivset loote reesusstaatuse diagnostikat, analüüsides raseda veeniverest eraldatud loote DNAd polümeraasahelreaktsiooni meetodil. Töös kasutatud meetod võimaldas määrata loote reesusstaatuse õigesti 94,4%-l (34/36) rasedatest.

Reesus D (RhD) veregrupp on vererühmasüsteem, mille määramine on tähtis vereülekande ja raseduse korral. Isik võib olla kas RhD-positiivne, s.o erütrotsüütide pinnal esineb RhD-antigeen, või RhD-negatiivne, s.o erütrotsüütidel puudub RhD-antigeen. RhD-negatiivse fenotüübi esinemissagedus valge rassi hulgas on ca 15%. RhD-positiivse fenotüübi korral ekspresseeritakse RHD-geeni. RhD-negatiivsust põhjustab aga RHD-geeni deletsioon või harvematel juhtudel RHD-geenis esinevad mutatsioonid (1).

Raseduse kestel toimub loote rakkude liikumine ema vereringesse. Teatud juhtudel võib see esile kutsuda ohtlikke raseduskomplikatsioone, millest tunnuim on reesuskonflikt ehk reesus sensibilisatsioon. Rasedusaegne reesuskonflikt on üheks tähtsaimaks loote ja vastündinu hemolüütilise haiguse tekkepõhjuseks, mille esinemissagedus on 1–6 juhtu 1000 sünni kohta. Rasedusaegne reesuskonflikt tekib, kui RhD-positiivse loote erütrotsüüdid satuvad RhD-negatiivse naise vereringesse ning kutsuvad esile loote erütrotsüütide RhD pinnaantigeeni vastaste antikehade produktsiooni. Raseda organismis toodetud RhD-vastased IgG-tüüpi antikehad

võivad läbida platsentaarbarjääri ja liikuda loote organismi, seostudes loote erütrotsüütidega ja põhjustades seeläbi nende aglutineerumist ja lagunemist. Nimetatud patoloogilised muutused kutsuvad esile loote aneemiat, hüdropsi ning vastündinu hemolüütilist tõbe, mis omakorda võivad tingida loote üsasisesest hukkumist või kesk-närvisüsteemi kahjustavat vastündinu kernikerust. Loote ja raseda reesuskonflikti on võimalik ennetada anti-D-immunoglobiiniraviga, kuid välja kujunenud reesusimmuunkonflikti ravis annab kõige paremaid tulemusi intrauteriinne erütrotsüütide transfusioon (2).

Reesuskonflikti õigeaegse ravi eelduseks on korrektne diagnostika. Reesuskonflikti diagnostikas kasutatakse kõige sagedamini RhD-vastaste antikehade tiitri määramist raseda vereplasmast. Lisaks on võimalik loote aneemia raskusastet hinnata nabavädi punktsioonil ehk kordotsenteesil saadud loote vereproovi analüüsi tulemuste alusel ning amniotsenteesil saadud lootevee bilirubiini kontsentratsiooni määramisel (2). Kõige täpsemaks võimaluseks rasedusaegse reesuskonflikti kindlaks-

tegemiseks on aga geneetiline sünnieelne diagnostika (SeD), mille käigus määratakse loote RHD-geeni olemasolu. Rasedusaegse reesuskonflikti diagnoosimisel on senini kõige sagedamini kasutatud invasiivsete SeD-meetodite (amniotsenteesi või koorioni biopsia) abil saadud loote rakkude analüüsi. Invasiivsete SeD-meetodite kasutamise peamiseks puuduseks on aga protseduurijärgsete spontaanabortide sagenemine, mistõttu on viimasel aastakümnel väga palju tegeletud mitteinvasiivsete SeD-meetodite arendamisega. Ema vereringes esinevate loote rakkude ning rakuvaba DNA analüüs on üheks perspektiivsemaks mitteinvasiivse SeD võimaluseks. Arvestades mitteinvasiivse SeD suurt meditsiinilist potentsiaali, püstitati käesoleva **töö esmämrgiks** 1) välja töötada ning esmakordselt Eestis rakendada mitteinvasiivset loote reesusstaatus määramise meetodit, kasutades selleks ema vereplasmast eraldatud loote DNA analüüsi ning 2) hinnata erinevatel raseduse trimestritel loote DNA kontsentratsiooni raseda naise vereplasmas.

Uurimismaterjal ja -meetodid

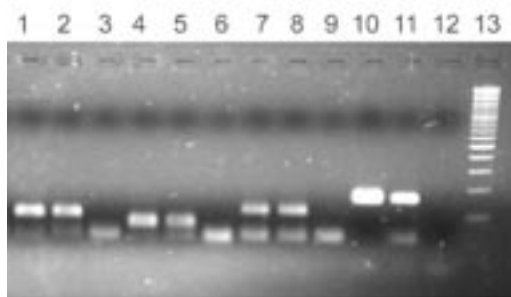
Reesusnegatiivsete rasedate naiste ($n = 36$) vereproovid pärinesid Tartu Ülikooli Kliinikumi naistekliinikust. Kõik uuringus osalenud naised täitsid Tartu Ülikooli inimuuringute eetika komitee poolt heaks kiidetud teadliku nõusoleku vormi. Uuring tehti 83%-l ($n = 30$) juhtudest raseduse II trimestril ja 17%-l ($n = 6$) juhtudest raseduse III trimestril. Uuritavatelt võeti 9–18 ml venooset verd EDTAd sisaldavatesse katsufittesse. Vereplasma eraldati kahe tunni jooksul vereproovi andmisest, tsentrifugides verd 10 minutit 1600 g juures ja 10 min 16 000 g juures. Igalt uuritavalt saadi 4–10 ml vereplasmast, mis külmutati ja säilitati $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Loote DNA eraldati külmutatud ja sulatatud vereplasmast QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN, Saksamaa) komplekti abil. Loote DNAd analüüsiti kohe pärast DNA eraldamist, kasutades paralleelselt polümeraasahelreaktsiooni ehk PCRi ja kvantitatiivset PCRi ehk Q-PCRi. DNA eraldamise efektiivsuse kontrolliks lisati raseda naise

vereplasmale enne DNA eraldamist *Arabidopsis thaliana* (harilik müürlook) DNAd.

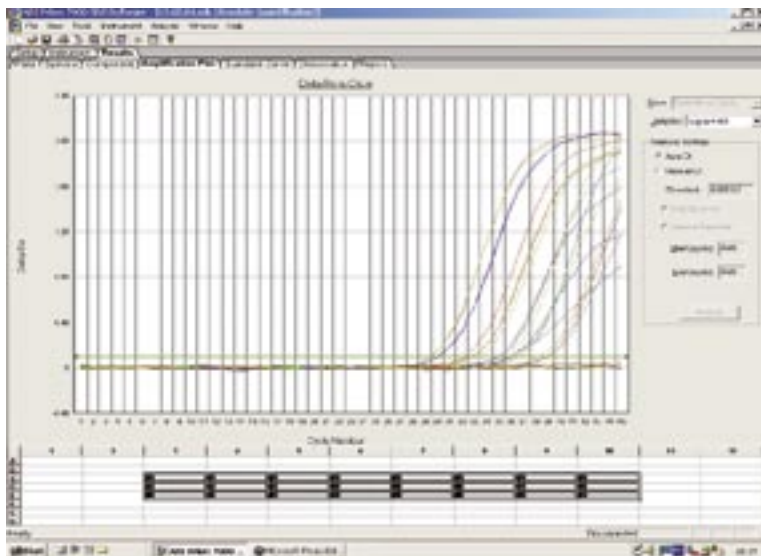
PCR tehti 25 μl mahus, kasutades 38 amplifikatsiooni tsükli ja RHD-geeni 7. ja 10. eksoni spetsiifilisi primereid (3, 4). Reesusnegatiivsel rasedal puudub RHD-geen, ning juhul kui PCRi abil õnnestub reesusnegatiivse raseda naise vereplasmast tuvastada RHD-geeni spetsiifilisi järjestusi, kuuluvad need reesuspositiivsele lootele. RHD-spetsiifilise produkti puudumisel on aga nii uuritav rase naine kui ka loote reesusnegatiivsed. Iga proovi korral kasutati PCRis DNA eraldamise kontrollina *Arabidopsis thaliana* RIB-geeni spetsiifilisi primereid ning DNA amplifikatsiooni kontrollina kõikidel indiviididel esineva RHCE-geeni 7. eksoni spetsiifilisi primereid. PCRi amplifikatsiooniproduktid visualiseeriti elektroforeesil 1,7% agarosgeelis.

Loote DNA Q-PCR-analüüsil kasutati TaqMan (Eurogentec, Belgia) PCRi süsteemi ja analüsaatorit ABI Prism 7000 Sequence Detector. Q-PCRis kasutati 4. eksonile spetsiifilist primereite paari ning fluorestsentsmärgisega sondi (5). Q-PCR maht oli 25 μl ning analüüsil teostati 45 amplifikatsioonitsükli. Lisaks kvalitatiivsele analüüsile võimaldab Q-PCR määrata ka DNA kontsentratsiooni uuritavas proovis. Q-PCR tulemused väljendati genoomiekvivalentides (g.e.), mis vastab DNA kogusele (6,6 pg) ühes diploidises rakus.

PCR ja Q-PCR analüüsil tehti iga DNA-prooviga 5 paralleelreaktsiooni ja kaks negatiivset kontrolli-



Joonis 1. Loote DNA analüüs PCR-meetodil. Rajad: 1 ja 2 – RHD-geeni 7. eksoni produkt (99 aluspaari ehk bp); 4 ja 5 – RHD-geeni 10. eksoni produkt (74 bp); 7 ja 8 – RHCE-geeni produkt (113 bp); 10 ja 11 – RIB-geeni produkt (165 bp); 3, 6, 9 ja 12 – negatiivsed kontrollid ja 13 – DNA fragmentide pikkuse määramise markerid.



Joonis 2. Loote DNA analüüs Q-PCR-meetodil. Q-PCRil amplifitseeriti RHD-geeni 4. eksoni spetsiifilisi järjestusi. Graafiku kõverad kujutavad erinevate DNA-proovide amplifitseerumist. Graafiku x- ja y-teljed tähistavad vastavalt Q-PCR amplifikatsioonitsükli arvu ja fluorestsentssignaali tugevust.

reaktsiooni. Tulemust peeti positiivseks (reesuspositiivne loode), kui RHD-geeni amplifikatsiooniprodukt esines vähemalt kahes reaktsioonis viiest. Ühe positiivse reaktsiooni esinemisel korraldi DNA eraldamist raseda vereplasmast ja loote DNA analüüsi. PCR ja Q-PCRi abil määratud loote reesusstaatust võrreldi pärast sündi seroloogiliselt määratud vastsündinu reesusstaatusega. Loote RHD-geeni PCR ja Q-PCR analüüsi tundlikkust (*sensitivity*) ja täpsust (*specificity*) võrreldi χ^2 -testi kasutades.

Tulemused

Loote reesusstaatust määrati 36 reesusnegatiivsel rasedal naisel. Loote RHD-geeni analüüs tehti paralleelselt tavalist PCR (vt jn 1) ja Q-PCR (vt jn 2) kasutades.

Sünnijärgsed seroloogilised uuringud näitasid, et uuritavatel esines 58%-l (21/36) juhtudest reesuspositiivne ja 42%-l (15/36) juhtudest reesusnegatiivne loode. Loote mitteinvasiivse reesusstaatuse määramise tulemused on esitatud tabelis 1.

PCR-meetodiga määrati loote reesusstaatust õigesti 91,7%-l (33/36) juhtudest ning meetodi tundlikkus ja täpsus olid vastavalt 95,2% (20/21) ja 86,7% (13/15). PCR-analüüsil esines üks valenegatiivne tulemus ja kaks valepositiivset tulemust. Q-PCR-analüüsil määrati loote reesusstaatust õigesti 94,4%-l (34/36) juhtudest ning analüüsi tundlikkuseks ja täpsuseks saadi vastavalt 95,2% (20/21) ja 93,3% (14/15). Q-PCR-analüüsil esines üks valenegatiivne tulemus ning üks valepositiivne

Tabel 1. Loote reesusstaatuse (RhD-staatuse) määramise tulemused PCR ja Q-PCR meetodil. Uuritavate arv tähistab seroloogiliselt määratud vastsündinu RhD-staatust

Loode	Uuritavate arv	PCR			Q-PCR		
		Tõene vastus	Väär vastus	Tulemus (%)	Tõene vastus	Väär vastus	Tulemus (%)
RhD-positiivne	21	20	1	95,2 [*]	20	1	95,2 [*]
RhD-negatiivne	15	13	2	86,7 ^{**}	14	1	93,3 ^{**}
Kokku	36	33	3	91,7 ^{***}	34	2	94,4 ^{***}

^{*} – analüüsi tundlikkus (*sensitivity*); ^{**} – analüüsi täpsus (*specificity*); ^{***} – analüüsi üldine tulemuslikkus

tulemus. Statistiline analüüs ei tuvastanud erinevusi PCR-analüüsi täpsuse ja üldise tulemuslikkuse (86,7% ja 91,7%) ning Q-PCR-analüüsi vastavate näitajate (93,3% ja 94,4%) vahel. Loote DNA keskmine kontsentratsioon raseduse II trimestril oli 87 (4–243) g.e. 1 ml-s raseda vereplasmas ja III trimestril 160 (37–282) g.e. 1 ml-s vereplasmas. Loote reesusstaatuse määramise tundlikkus paranes raseduse arenedes, olles raseduse II trimestril 93,8% (15/16) ja raseduse III trimestril 100% (5/5).

Arutelu

Raseda naise vereringes esinevad nii loote rakud (trofoblastid, erütroblastid ja leukotsüüdid) kui ka rakuvaba DNA. Loote rakkude kontsentratsioon ema veres on väga väike: keskmiselt esineb 1 loote rakk 10^5 – 10^7 ema vereraku kohta. Raseda vereplasmas esinev loote rakuvaba DNA tekib tõenäoliselt ema vereringesse liikunud loote rakkude lagunemise või apoptoosi tagajärjel. Eelnevad uuringud on näidanud, et loote rakuvaba DNA kontsentratsioon ema vereplasmas kasvab raseduse arenedes ning moodustab keskmiselt 3,4% üldisest DNA-kontsentratsioonist (25,4 g.e. 1 ml raseda vereplasmas) raseduse varases staadiumis (raseduse I ja II trimester) ja 6,2% (292,2 g.e. 1 ml raseda vereplasmas) raseduse hilises staadiumis (raseduse III trimester) (6). Käesolevas töös saadi Q-PCR-analüüsil sarnased tulemused: loote DNA keskmised kontsentratsioonid raseduse II ja III trimestril olid vastavalt 87 g.e. ja 160 g.e. 1 ml-s raseda vereplasmas.

Loote rakkude ja rakuvaba DNA eraldamine raseda naise venoossest verest on parimaks võimaluseks saada mitteinvasiivselt loote bioloogilist materjali geneetilise SeD tegemiseks. Loote rakkude kasutamisel geneetilises SeD-s esineb siiski kaks olulist puudust võrreldes loote rakuvaba DNA eraldamise ja analüüsiga. Esimeseks oluliseks puuduseks on loote rakkude väga väike kontsentratsioon ema veres ning see raskendab loote rakkude kasutamist mitteinvasiivselt SeD-s. Samuti on teada, et loote rakud võivad püsida pärast sünnitust naise

organismis aastakümneid, komplitseerides seetõttu järgnevate raseduste geneetilist SeD-d (7). Loote DNA kasutamist mitteinvasiivselt SeD-s soodustab seevastu aga loote DNA suurem kontsentratsioon raseda vereplasmas, mis ületab loote rakkude kontsentratsiooni rohkem kui 20 korda. Lisaks on uuringud näidanud, et loote rakuvaba DNA lagundatakse naise organismis sünnituse järel väga kiiresti ning enamikul naistest ei ole võimalik loote DNAd vereplasmas tuvastada juba kahe tunni möödudes sünnitusest (8). Kuna raseda naise vereproovist eraldatud DNA sisaldab ka ema enda DNAd, siis on mõistetav, et loote DNA analüüsi saab kasutada ainult isalt lootele pärandunud DNA-järjestuste tuvastamiseks. Seetõttu saab loote DNA analüüsi edukalt kasutada loote reesuskuuluvuse (isalt lootele pärandunud RHD-geeni spetsiifiliste järjestuste tuvastamine) ning soo (isalt lootele pärandunud Y-kromosoomi spetsiifiliste järjestuste) määramisel.

Uurimistö eesmärgiks oli välja töötada ning esmakordselt Eestis rakendada loote mitteinvasiivset reesusstaatuse diagnostikat, kasutades selleks raseda veenivere proovist eraldatud loote DNA analüüsi. Loote rakuvaba DNA analüüsi saab loote reesusstaatuse määramisel kasutada raseduse I–III trimestril (3). Selles uuringus osalenud 36 RhD-negatiivsele rasedale naisele teostati loote reesusstaatuse diagnostika 83%-l juhtudest raseduse II ja 17%-l juhtudest raseduse III trimestril. Loote DNA analüüsil PCR-meetodiga määrati loote reesusstaatust tõeselt 91,7% (33/36) ning Q-PCRi meetodil 94,4% (34/36) rasedal naisel. PCR ja Q-PCR analüüsides tulemusi võrreldes selgub, et loote reesusstaatuse määramise tundlikkus oli mõlema meetodi korral sarnane (95,2%), kuid meetodi täpsus oli Q-PCR-analüüsil parem kui PCR-analüüsil (93,3% *versus* 86,7%) (vt tabel 1).

Finning jt (2004) analüüsisid Q-PCRi abil 233 RhD-negatiivse raseda loote reesusstaatust (9). Loote reesusstaatust määrati tõeselt 95,7% rasedatel naistel, mis on sarnane meie uuringu Q-PCR-analüüsi tulemustega. Veelgi paremaid tulemusi saadi aga teises mahukamas uuringus, milles analüüsiti

893 RhD-negatiivse raseda naise loote reesusstaatus Q-PCR-tehnoloogia abil ning loote reesuskuuluvus määrati õigesti 99,5%-l juhtudest (10). Paremad tulemused olid ilmselt tingitud sellest, et nimetatud töös analüüsiti paralleelselt RHD-geeni 7. ja 10. eksoni spetsiifilisi järjestusi, samas kui meie uuringus kasutati Q-PCR-analüüsil ainult 4. eksoni spetsiifilisi primereid. Samuti on varasemad uuringud kinnitanud, et raseduse arenedes paranevad loote reesusstaatus määramise tulemused (3). Sarnast tendentsi kinnitab ka meie uuring, kuna loote reesusstaatus diagnostika tundlikkus oli raseduse II trimestril 93,8% ja III trimestril 100%.

Loote reesuskonflikti tekke seisukohast on oluline tuvastada loote RhD-positiivsus RhD-negatiivsetel naistel. Valepositiivse tulemuse korral tehakse rasedale naisele reesuskonflikti profülaktikat, mis teadaolevalt ei ole kahjulik rasedale ega ka arenevale lootele. Valenegatiivse tulemuse korral on aga olukord komplitseeritum. Sellisel juhul on loode RhD-positiivne ning tema erütrotsüütide RhD-antigeenid võivad ema organismi sattumisel aktiveerida raseda immuunsüsteemi. Valenegatiivse tulemuse korral on võimalik, et patsient ei saa õigel ajal reesuskonflikti profülaktikat ega ravi. Üks valenegatiivne tulemus esines ka selles töös teostatud PCR ning Q-PCR analüüsil. Nimetatud valenegatiivse tulemuse põhjuseks võis olla loote DNA liiga väike kontsentratsioon ema

vereproovis. Valepositiivseid tulemusi tuvastati tavalise PCRi meetodil kahel rasedal naisel ning Q-PCRi meetodil ühel uuritava. Valepositiivsed tulemused võivad teoreetiliselt olla tingitud naise varasematest rasedustest säilinud loote rakkudest. Samuti võib valepositiivne tulemus olla tingitud rasedal esinevatest RHD-geeni mutatsioonidest, mille korral määratakse uuritav isik seroloogiliselt RhD-negatiivseks, kuid DNA analüüs näitab RHD-geeni olemasolu.

Kokkuvõte

Raseda naise vereproovist eraldatud loote DNA analüüs on perspektiivne mitteinvasiivne loote reesuskuuluvuse määramise võimalus, mille tähtsus sünnitusabis on viimaste aastate jooksul oluliselt suurenenud. Uurimistöös töötati välja ning rakendati esmakordselt Eestis loote DNA PCR ning Q-PCR analüüsil põhinevat mitteinvasiivset loote reesusstaatus diagnostikat. Välja töötatud Q-PCR-metodit kasutades määrati loote reesusstaatus tõeselt 94,4% rasedatel.

Tänuavaldus

Töö valmis Eesti Teadusfondi grandid nr 4578 ("Uute geenidiagnostika meetodite väljatöötamine pärilike haiguste varajaseks avastamiseks") ning TÜ naistekliiniku sünnitusabi ja günekoloogia õppetooli sihtfinantseeringu nr 0182582Cs03 toel.

Kirjandus

1. Singleton BK, Green CA, Avent ND, Martin PG, Smart E, Daka A. The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in africans with the Rh D-negative blood group phenotype. *Blood* 2000; 95:12–8.
2. Moise KJJ. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002;100:833.
3. Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med* 1998;339:1734–8.
4. Van den Veyver IB, Moise KJJ. Fetal RhD typing by polymerase chain reaction in pregnancies complicated by rhesus alloimmunization. *Obstet Gynecol* 1996;88:1061–7.
5. Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusion* 2002;42:1079–85.
6. Lo YM, Tein MS, Lau TK, Haines CJ, Leung TN, Poon PM. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet* 1998;62:768–75.
7. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;23:705–8.
8. Lo YM, Zhang J, Leung TN, Lau TK, Chang AM, Hjelm NM. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999;64:218–24.

9. Finning K, Martin P, Daniels G. A clinical service in the UK to predict fetal Rh (Rhesus) D blood group using free fetal DNA in maternal plasma. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1022:119–23.

10. Rouillac-Le Sciellour C, Puillandre P, Gillot R, Baulard C, Metral S, Le Van Kim C. Large-scale pre-diagnosis study of fetal RHD genotyping by PCR on plasma DNA from RhD-negative pregnant women. *Mol Diagn* 2004;8:23–31.

Summary

Non-invasive prenatal diagnosis of fetal rhesus D status by analysis of maternal plasma

Objective. Feto-maternal rhesus D (RhD) incompatibility is a serious and potentially life-threatening condition for the growing fetus. Correct determination of the fetal RhD status is useful in the treatment of sensitised RhD-negative pregnant women. Traditionally, determination of the fetal rhesus D status has been accomplished by invasive prenatal diagnosis (amniocentesis and chorionic villus sampling). Recently, non-invasive prenatal diagnosis, established by using fetal DNA isolated from maternal peripheral blood, became available for antenatal determination of the fetal RHD genotype.

The aim of the current study was to develop a non-invasive prenatal diagnosis method for fetal RhD typing using fetal DNA separated from maternal plasma.

Methods. Peripheral blood samples were obtained from 36 pregnant women during the second and the third trimesters of pregnancy. DNA was extracted from maternal plasma and fetal RHD genotyping was performed in parallel using conventional PCR and real-time PCR (Q-PCR). The results of RHD genotyping were retrospectively compared with newborn's serology tests to determine the accuracy of the applied methods.

Results. Fetal RHD genotyping was performed for 36 RhD-negative women being pregnant with 21 RhD-positive and 15 RhD-negative fetuses. The fetal RhD status was correctly determined in 91,7% (33/36) and 94,4% (34/36) of pregnancies using PCR and Q-PCR techniques, respectively. The sensitivity and specificity for the conventional PCR analysis of fetuses of the RhD-negative pregnant women were 95.2% and 86.7%, and for Q-PCR analysis were 95.2% and 93.3%, respectively. The analysis of our results did not reveal any statistical differences between the outcomes of the fetal RhD determinations using either PCR or Q-PCR methods.

Conclusions. The results of the current study demonstrate that non-invasive fetal RHD genotyping can be performed rapidly and reliably with the use of fetal DNA obtained from maternal plasma. The high level of accuracy of this technique would allow to suggest it for use on a routine basis for the management of pregnant RhD-negative patients.

salumets@ebc.ee