

LE CAS CLINIQUE DU MOIS

Maladie hémolytique néonatale modérée due à un anticorps anti-Wr^a

A. KEUTGENS (1), M. MONFORT (1), D. WAGEMANS (2), J-R. VAN CAUWENBERGE (3), C. GÉRARD (4)

RESUME : Une femme de type caucasien, de phénotype A+ CCD.ee K neg, sans antécédent transfusionnel accouche d'un premier enfant présentant une anémie légère. Les hématies du nouveau-né de groupe A+ CCD.ee K neg présentent une réaction à l'antiglobuline fortement positive, de type IgG. Durant la grossesse et à l'accouchement, la recherche d'anticorps irréguliers (RAI) chez la mère s'est toujours avérée négative. Toutefois, à la naissance, en utilisant une collection de globules rouges de phénotype rare (antigènes privés) décongelés, le laboratoire met en évidence dans le sérum de la mère un anticorps de spécificité anti-Wr^a. L'activité de l'anticorps maternel de titre 16 est totalement inhibée par le dithiothréitol indiquant la nature IgM de l'anticorps circulant. La présence de l'antigène Wr^a à la surface des hématies du bébé et du père est ensuite confirmée. La concentration des IgG anti-Wr^a sur les hématies de l'enfant est démontrée par la mise en évidence aisée de l'anticorps dans l'éluat. Ce cas clinique illustre les difficultés à mettre en évidence les anticorps dirigés contre les antigènes privés présents à la surface des hématies des nouveau-nés, responsables de maladies hémolytiques du nouveau-né. En effet, les panels standards d'érythrocytes utilisés pour la recherche d'anticorps irréguliers n'expriment généralement pas ces antigènes privés.

MOTS-CLÉS : *Wright a - Allo-immunisation - Maladie Hémolytique du Nouveau-Né (MHNN)*

MILD HEMOLYTIC DISEASE OF THE NEWBORN DUE TO AN ANTI-WR^a ANTIBODY

SUMMARY : A Caucasian woman, with a A+ CCD.ee K neg erythrocyte phenotype and no history of blood transfusion, delivered a first child who developed mild anemia. The direct antiglobulin test performed on the newborn red blood cells belonging to the A+ CCD.ee K neg group, was strongly positive for IgG. During the pregnancy and after the delivery, the woman had a negative irregular antibody screening test, using standard red blood cells. However, at birth, using a collection of thawed red blood cells with rare phenotypes (private antigens), the lab showed an antibody anti-Wr^a in the maternal serum. The activity of the maternal antibody, with a titer of 16, was completely inhibited by dithiothreitol, indicating the nature IgM of the circulating antibody. The presence of the antigen Wr^a on the surface of the newborn and its biological father red blood cells was confirmed. The concentration of IgG anti-Wr^a on baby erythrocytes was demonstrated by the presence of the antibody anti-Wr^a in the eluate. This case illustrates the difficulties to detect antibodies against private antigens on baby erythrocytes, responsible of hemolytic diseases of newborn. Indeed, standard red blood cell panels used for irregular antibodies screening test do not express generally those private antigens.

KEYWORDS : *Wright a - Allo-immunisation - Hemolytic Disease of Newborn*

INTRODUCTION

Le système de groupe sanguin Diego (ISBT 010) comporte 21 antigènes dont 2 paires indépendantes d'antigènes antithétiques, nommés Di^a/Di^b et Wr^a/Wr^b et 17 antigènes de faible fréquence (Wd^a, Rb^a, WARR, ELO, Wu, Bp^a, Mo^a, Hg^a, Vg^a, Tr^a, Jn^a, Sw^a, BOW, NFLD, KREP, Fr^a and SW1). Tous ces antigènes sont portés par la glycoprotéine membranaire (Bande 3) présente à la surface des érythrocytes.

Sur le plan fonctionnel, la bande 3 est impliquée dans les phénomènes de transport transmembranaire des anions chlorures et bicarbonates, dans le maintien de la structure et de la flexibilité membranaires par ses interactions

avec le cytosquelette ainsi que dans l'élimination des érythrocytes sénescents.

Sur le plan génétique, les antigènes Wr^a et Wr^b se différencient par un acide aminé (Lys658Glu) lié à la substitution nucléotidique A1972G (1).

L'antigène Wr^a a été découvert par Holman en 1953 (2) dans le contexte d'une Maladie Hémolytique du Nouveau-Né (MHNN), définissant le dixième système de groupes sanguins connus à l'époque. L'antigène Wr^a présente une fréquence de 1/1.000 individus dans la population caucasienne et est donc considéré comme un antigène privé dans nos régions, tandis que l'antigène Wr^b est un antigène de grande fréquence dans toutes les populations (3). Tous les sujets Wr(a-) sont Wr(b+) sauf les individus déficients en glycoporphine A fonctionnelle qui présentent le phénotype rarissime Wr(a-b-). Ces 2 antigènes sont résistants au traitement par les enzymes protéolytiques.

L'incidence des anticorps anti-Wr^a chez des sujets normaux Wr(a-) est de l'ordre de 1 sur 100 à 1 sur 200 (4-6). Cet anticorps est plus

(1) Assistante en Biologie clinique, Laboratoire d'Immunologie-Hématologie, Secteur Hématologie, CHU de Liège.

(2) Chef de Laboratoire, Biologie clinique, CHBA de Seraing.

(3) Médecin, Service de Gynécologie et de Sénologie, CHBA de Seraing.

(4) Chef de Laboratoire, Laboratoire d'Immunologie-Hématologie, Secteur Hématologie, CHU de Liège.

fréquemment rencontré chez les polytransfusés, chez les femmes ayant eu des enfants (incidence de l'ordre de 1 sur 14 à 1 sur 50) et chez des patients atteints d'anémie hémolytique autoimmune (incidence de l'ordre de 1 sur 2 à 1 sur 3).

Les anti-Wr^a apparaissent souvent comme des anticorps naturels agglutinants, réagissant mieux à 20°C qu'à 37°C et ne fixant pas le complément mais ce sont aussi parfois des anticorps incomplets. Selon une étude (5), 43% des anti-Wr^a seraient de type IgG, 36% de type IgM et 20% de type mixte, IgG + IgM. Dans 9 cas sur 9 étudiés en 1981, les anti-Wr^a étaient portés par des IgG1 uniquement (7).

Sur le plan immuno-hématologique, en cas de transfusion incompatible, les anti-Wr^a peuvent être responsables de réactions transfusionnelles hémolytiques légères ou sévères, immédiates ou retardées. Ils ont rarement été décrits comme responsables de Maladies Hémolytiques du Nouveau-Né de gravité variable.

Le cas clinique présenté ici est celui d'une maladie hémolytique du nouveau-né modérée causée par un anticorps anti-Wr^a et observée chez un enfant présentant une réaction à l'antiglobuline fortement positive et une anémie légère qui a régressé spontanément sans traitement.

CAS CLINIQUE

Une jeune femme de type caucasien, âgée de 25 ans et sans antécédent transfusionnel, a accouché de son premier enfant (poids = 3,025 kg, taille = 50 cm, score apgar = 9 - 10) par voie naturelle après 38 semaines de gestation. Le phénotype de la mère était A+ CCD.ee K neg. Durant la grossesse, la recherche d'anticorps irréguliers (RAI) réalisée en utilisant des erythrocytes standards en milieu enzymatique et en LISS/Coombs (Diamed) à la 14^{ème} et à la 34^{ème} semaine était négative. Après l'accouchement, la recherche d'anticorps irréguliers dans le sérum de la mère restait toujours négative.

Deux jours après la naissance, le taux d'hémoglobine du nouveau-né était légèrement diminué (14,1 g/dl; valeurs normales 15-19 g/dl), mais il ne présentait pas d'hyperbilirubinémie (bilirubine totale égale à 102,9 mg/l, bilirubine conjuguée égale à 5,3 mg/l; pour des valeurs normales respectives de < 120 mg/l et < 6 mg/l). Les hématies du bébé, de phénotype A+ CCD.ee K neg, présentaient une réaction à l'antiglobuline fortement positive (3+), de type IgG (3+). Au fil des jours, le taux d'hémoglobine a diminué progressivement pour atteindre 13,1 g/

dl à J5. Dans le même temps, le taux de bilirubine totale diminuait à 96,5 mg/l et la bilirubine directe augmentait pour atteindre 7,8 mg/l, 5 jours après la naissance. La bilirubine libre restant inférieure à 10% du taux de bilirubine totale, le nouveau-né ne présentait pas d'hyperbilirubinémie et ne nécessitait pas de photothérapie (8). Le nouveau-né ayant quitté le centre hospitalier au 6^{ème} jour, aucune biologie de suivi de l'anémie légère n'a été réalisée.

Vu l'identité entre les phénotypes érythrocytaires ABO, Rhésus et Kell du bébé et de la mère, d'une part, et la négativité de la RAI chez la mère, d'autre part, une maladie hémolytique sur incompatibilité ABO, Rhésus ou Kell a été exclue d'emblée.

La RAI dans le sérum maternel s'étant avérée négative pendant la grossesse et à l'accouchement avec les réactifs commerciaux classiques (méthode en gel DiaMed; 3 érythrocytes), les investigations se sont focalisées sur l'analyse de l'éluat obtenu à partir d'un culot de globules rouges de l'enfant. La RAI dans l'éluat des globules du nouveau-né était négative également pour les antigènes présents sur les cellules érythrocytaires standards du panel.

Cependant, l'épreuve de compatibilité réalisée avec le sérum de la mère et les érythrocytes du nouveau-né en présence du réactif à l'antiglobuline s'est avérée fortement positive. Parallèlement, la même incompatibilité était observée entre le sérum de la mère et les globules rouges du père biologique indiquant que l'anticorps impliqué devait être dirigé contre un antigène privé absent chez la mère, mais transmis par le père à son enfant.

Afin de déterminer la spécificité des anticorps fixés sur les hématies du nouveau-né et responsables de la réaction à l'antiglobuline fortement positive, le sérum de la mère a été testé avec une collection de globules rouges de phénotype rare (antigènes privés) décongelés. Grâce à ces cellules, une spécificité anti-Wr^a a pu être identifiée dans le sérum maternel. L'activité de l'anticorps (de titre 16) était cependant totalement inhibée par le dithiothréitol, indiquant une composante IgM majoritaire dans le sérum maternel.

La présence de l'antigène Wr^a à la surface des hématies du nouveau-né et du père biologique a été confirmée par un phénotypage au moyen de réactifs spécifiques, de même que la spécificité anti-Wr^a dans l'éluat des hématies du nouveau-né.

DISCUSSION

La grossesse constitue un des risques d'allo-immunisation, tout comme les transfusions et les greffes. Le passage de cellules érythrocytaires fœtales dans la circulation maternelle peut déclencher la production d'anticorps maternels dirigés contre les antigènes présents à la surface des cellules fœtales et absentes des hématies maternelles. La majorité des Maladies Hémolytiques du Nouveau-Né (MHNN) légères à modérées sont dues à une incompatibilité ABO alors que les MHNN sévères sont dues à une allo-immunisation aux antigènes Rh (D, c, ...) et Kell. Le système Diego et plus particulièrement les anticorps anti-Di^a et anti-Di^b sont largement décrits comme étant également responsables de MHNN (9-10). Par contre les anticorps anti-Wr^a, en plus de leur faible incidence, ont rarement été rapportés comme responsables de réactions transfusionnelles (11-15) ou de MHNN sévères. En effet, la majorité de ces anticorps semble sans signification clinique.

Le premier cas de maladie hémolytique du nouveau-né due à un anticorps dirigé contre l'antigène Wr(a) - qui, contrairement aux antigènes A et B, fait partie des antigènes érythrocytaires bien exprimés dès la naissance - a été rapportée par Holman en 1953 (2). La même année, Wiener et Brancoto ont également publié un cas d'anémie hémolytique du nouveau-né engendrée par un anti-Wr^a (16). Dans les années suivantes, 4 autres cas seulement ont été rapportés (5, 17-19). Selon le SHOT report 1999-2000 (20), des cas de MHNN existent, mais seraient sous-estimés parce que ne se manifestant que par une hyperbilirubinémie modérée et une anémie légère. De plus, la présence d'anticorps anti-Wr^a dans la circulation sanguine de la mère n'est, le plus souvent, pas mise en évidence par des investigations prénatales et postnatales, car l'antigène Wr^a étant un antigène privé dans la population caucasienne, il est généralement absent des cellules érythrocytaires commerciales utilisées pour le dépistage des anticorps anti-érythrocytaires (RAI, Panel).

L'anticorps anti-Wr^a observé dans le sérum de la mère est de type IgM avec un titre de 16. Pourtant, seules les IgG sont capables de passer la barrière placentaire et de se fixer sur les érythrocytes fœtaux. Grâce aux antiglobulines spécifiques (anti-IgG, IgM, IgA, C3c et C3d ; Diamed), nous avons mis en évidence que les globules rouges de l'enfant étaient sensibilisés par des IgG uniquement. L'hypothèse la plus probable est que les IgG produites par la mère ont traversé la barrière placentaire pour se concen-

trer dans la circulation fœtale et se fixer sur les globules de l'enfant, laissant les IgM s'accumuler dans le plasma de la mère.

Sur le plan clinique, l'anémie hémolytique du nouveau-né était modérée et a régressé spontanément, ne nécessitant pas de transfusion. Cette anémie légère, malgré une réaction à l'antiglobuline fortement positive, peut être expliquée par le fait que la patiente a pris un traitement préventif à base d'acide folique durant la grossesse.

On pourrait raisonnablement craindre qu'une deuxième grossesse avec un fœtus Wr(a+) engendre une réponse anamnestique et une production accrue d'anticorps avec un titre et une avidité plus élevés susceptibles de déclencher une anémie hémolytique néonatale plus sévère. Pour la petite histoire, le suivi à long terme nous a permis de constater que le problème immuno-hématologique potentiel de la patiente avait été résolu par le choix d'un autre géniteur. En effet, un deuxième enfant né 2 ans après la naissance du premier, s'est présenté avec un tableau biologique tout à fait normal et un test à l'antiglobuline parfaitement négatif.

L'origine de l'immunisation anti-Wr^a, plus fréquente chez les femmes ayant eu des enfants et chez les personnes atteintes d'anémie hémolytique auto-immune par rapport aux sujets normaux, reste obscure. En effet, l'incidence de l'antigène Wr^a chez les enfants nés de mère développant des anticorps anti-Wr^a, mais également chez les personnes atteintes d'anémie hémolytique auto-immune et possédant des anticorps anti-Wr^a, n'est pas différente de celle observée dans la population normale. Selon une hypothèse émise par Issitt, un système immunitaire plus actif et une exposition plus importante à des débris d'hématies Wr(a-) fœtales (chez les femmes enceintes portant un fœtus ABO et/ou Rhesus incompatible) ou sénescentes (chez les personnes souffrant d'anémie hémolytique auto-immune) pourraient expliquer la formation accrue d'anticorps anti-Wr^a chez les sujets Wr(a-)(21).

Au niveau transfusionnel, le problème lié aux anticorps anti-Wr^a est quasi négligeable, puisque le phénotype Wr(a+) est rare dans la population caucasienne donc chez les donneurs de sang. En théorie, le risque de transfuser du sang Wr(a+) à une personne Wr(a-) possédant des anti-Wr^a serait inférieur à 1/50.000 transfusions (15), voire même de l'ordre de 1/420.000 selon une publication récente (22). Par conséquent, l'addition de cellules Wr(a+) à la liste des antigènes

érythrocytaires présents dans les cellules de panel ne présente pas un intérêt clinique réel.

CONCLUSION

Tout comme le démontrent d'autres cas similaires (23-24), il est important de garder en mémoire qu'une réaction à l'antiglobuline positive, même sans signe d'hyperbilirubinémie et d'anémie chez un nouveau-né, peut être due à une allo-immunisation maternelle vis-à-vis d'un antigène érythrocytaire de faible fréquence présent sur les érythrocytes de l'enfant et qui ne peut donc pas être mise en évidence avec les cellules érythrocytaires classiques disponibles dans le commerce. Dans ce cas, il s'avère particulièrement utile de tester le sérum de la mère avec les cellules érythrocytaires du bébé et du père biologique, pour autant que la compatibilité ABO le permette.

BIBLIOGRAPHIE

- Bruce LJ, Tanner MJ.— Structure-function relationships of band 3 variants. *Cell Mol Biol*, 1996, **42**, 953-973.
- Holman CA.— A new rare human blood group antigen Wr^a. *Lancet*, 1953, **265**, 119-120.
- Cleghorn TE.— The frequency of Wr^a, By and Mg antigens in blood donors in the south of England. *Vox Sang*, 1960, **5**, 556-560.
- Greedyke RM, Banzhaf JC.— Occurrence of anti-Wr^a in blood donors and selected patient groups with a note on the incidence of Wr^a antigen. *Transfusion*, 1997, **37**, 621-624.
- Lubenko A, Contreras M.— Incidence of hemolytic disease of the newborn attributable to anti-Wr^a. *Transfusion*, 1992, **32**, 87-88.
- Wallis JP, Hedley GP, Charlton D, et al.— The incidence of anti-Wr^a and Wr^a antigen in blood donors and hospital patients. *Transfusion Med*, 1996, **6**, 361-364.
- Hardman JT, Beck ML.— Hemagglutination in capillaries: correlation with blood group specificity and IgG subclass. *Transfusion*, 1981, **21**, 343-346.
- American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia.— Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. *Pediatrics*, 2004, **114**, 297-316.
- Layrisse M, Arends T, Dominguez SR.— Nuevo grupo sanguíneo encontrado en descendientes de Indios. *Acta Med Venez*, 1955, **3**, 132-138.
- Thompson PR, Childers DM, Hatcher DE.— Anti-Di^b-first and second examples. *Vox Sang*, 1967, **13**, 314-318.
- Van Loghem JJ, Hart M, Bok J, et al.— Two further examples of the antibody anti-Wr^a. *Vox Sang*, 1955, **5**, 130-134.
- Metaxas M, Metaxas-Bühler M.— Studies on the Wright blood group system. *Vox Sang*, 1963, **8**, 707-716.
- Shulman IA.— The risk of an overt hemolytic transfusion reaction following the use of an immediate spin crossmatch. *Arch Pathol Lab Med*, 1990, **114**, 412-414.
- Bunting-Lewis K, Ebbs A.— Transfusion reaction caused by anti-Wr^a in a unit issued by electronic crossmatch. *Transfusion Med*, 2005, **15**, 54.
- Cherian G, Search S, Thomas E, et al.— An acute haemolytic transfusion reaction caused by anti-Wr^a. *Transfusion Med*, 2007, **17**, 312-314.
- Wiener AS, Brancato GJ.— Severe erythroblastosis fetalis caused by sensitization to a rare human agglutinogen. *Am J Hum Genet*, 1953, **5**, 350-355.
- Daw E.— Haemolytic disease of the newborn due to the Wright antigen. *J Obstet Gynaecol Br Commonw*, 1971, **78**, 377-378.
- Jorgensen J, Jacobsen L.— Erythroblastosis fetalis caused by anti-Wr^a (Wright). *Vox Sang*, 1974, **27**, 478-479.
- Monestier M, Juron-Dupraz F, Meyer F, et al.— A case of hemolytic disease in a newborn associated with anti-Wr^a (WRIGHT) antibodies. *Rev Fr Transfus Immunohematol*, 1984, **27**, 271-275.
- Serious Hazards of Transfusion Steering Group (2001). Serious Hazards of Transfusion Annual Report 1999-2000. — <http://www.shotuk.org> — Consultation du 3 décembre 2010.
- Issitt PD.— Applied Blood Group Serology. 3rd Edition, Montgomery Scientific Publications, Miami Floride USA, 1985, 409-411.
- Lange J, Selleng K, Heddle NM, et al.— Coombs' crossmatch after negative antibody screening – a retrospective observational study comparing the tube test and the microcolumn technology. *Vox Sang*, 2010, **98**, 269-275.
- Linz WJ, Fueger JT, Allen S et al.— Role for serial prenatal anti-Vel quantitative serologic monitoring with 2-ME serum treatment during pregnancy : case report. *Immunohematol*, 2010, **26**, 8-10.
- Stanworth S, Fleetwood P, De Silva M.— Severe haemolytic disease of the newborn due to anti-Jsb. *Vox Sang*, 2001, **81**, 134-135.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr. Ch. Gérard, Laboratoire d'Immunologie-Hématologie, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique
E-mail : Christiane.Gerard@chu.ulg.ac.be