

group systems. Another possibility which must be explored in view of our failure to detect the Stobo antigen in either of the parents of the propositus is the presence of a gene modifying the reaction of the Stobo antigen.

This communication is presented in the hope that it may, by an exchange of material with other workers, prove helpful in the investigation of rare antigens.

170

Mise en évidence d'antigènes analogues à ceux des groupes sanguins dans certaines cellules épithéliales

J. DUCOS, J. BROUSSY et J. RUFFIE

Toulouse, France

Les antigènes de groupes sanguins d'abord mis en évidence sur les globules rouges ont été par la suite recherchés dans les cellules fixes de l'organisme, les autres cellules libres du sang et dans les liquides de sécrétion. Si la présence des antigènes A et B y est admise généralement^{1, 2, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 23} celle des antigènes Rh par contre, reconnue dans la plupart des tissus de l'organisme¹ dans les plaquettes sanguines^{4, 8} et les leucocytes est plus contestée en ce qui concerne les cellules épithéliales^{1, 9, 12, 15, 19}. Cependant *Boorman et Dodd*¹, *Witebsky et Mohn*²¹ et *I. von Brocken*¹⁸ avaient observé que la salive, le liquide amniotique et les sécrétions vaginales sont susceptibles d'absorber spécifiquement les anticorps anti-Rh.

Nous avons repris ces recherches d'une part sur les plaquettes sanguines^{4, 8} et d'autre part sur certaines cellules épithéliales: ce sont les résultats concernant ces dernières que nous nous proposons d'exposer ici.

Matériel et méthode

Nous avons recherché les antigènes du système Rhésus dans des cellules provenant: de liquide amniotique (plus de 100 échantillons), d'urines (15 sujets), de salive (19 sujets) et de sécrétions vaginales (16 femmes). Toutefois, compte tenu des tâtonnements de mise au point de la méthode nous n'avons retenu que les résultats provenant des derniers examens: 42 cellules amniotiques, 7 cellules urinaires, 6 cellules salivaires, 12 cellules vaginales.

Les cellules amniotiques sont obtenues par prélèvement de liquide amniotique après ponction transcutanée abdominale (2-3). Elles résultent de la desquamation foetale: cellules épidermiques, de l'arbre urinaire, de la vulve du vagin, etc.¹¹.

Les cellules urinaires proviennent du culot de centrifugation d'urines riches en cellules et pauvres en hématies.

Les cellules salivaires sont recueillies en centrifugeant la salive aussitôt émise et en lavant immédiatement et plusieurs fois le culot de centrifugation (afin d'éliminer les diastases).

Les cellules vaginales sont récoltées par lavage vaginal au sérum physiologique chez des femmes ne présentant ni traces d'infection génitale, ni métrorragies.

Quelle que soit leur provenance, les cellules sont lavées plusieurs fois en eau salée isotonique; le culot de centrifugation est chaque fois bien dissocié et ensuite asséché au papier filtre de façon à ne pas entraîner de dilution des sérums test lorsque ceux-ci seront ajoutés par la suite. On vérifie également au microscope l'absence d'hématies.

La détermination des antigènes se fait par absorption des sérums anti-C, anti-D, anti-E et anti-c. Il faut utiliser des anticorps complets de préférence et dont le titre réel⁶ n'excede pas $1/16$. On laisse incuber 12 h à 37° C le culot de centrifugation contenant les cellules à étudier et 1 volume égal environ d'anticorps; on agite à 2 ou 3 reprises pendant ce temps. On titre ensuite chacun des anticorps avant et après absorption.

Résultats

Ceux-ci sont particulièrement nets et constants avec les cellules vaginales et a un degré moindre avec les cellules provenant de liquide amniotique. Les cellules urinaires sont quelquefois mêlées à d'autres éléments du culot de centrifugation (cristaux en particulier) dont il est difficile de les dissocier: dans ces cas, elles ne sont pas utilisables. Par contre, lorsque les cellules sont obtenues pures, elles donnent des résultats très nets. Les cellules salivaires donnent 2 types de résultats:

– dans le premier cas tous les anticorps mis en présence paraissent absorbés: les résultats ne sont pas valables (nous ne les avons pas conservés). Nous pensons qu'il s'agit de l'action de diastases (non éliminées par un lavage peut être insuffisant) détruisant les anticorps. Nous avons pu vérifier que chez un même sujet on pouvait au cours de prélèvements successifs obtenir tantôt des résultats de ce type, tantôt des résultats du type suivant.

– dans le 2^e cas en effet, seuls sont saturés les anticorps correspondant aux antigènes portés par les globules rouges du sujet ayant fourni la salive. Ce sont ces résultats que nous avons retenus.

Lorsqu'un antigène donné existe dans une cellule, l'anticorps correspondant est absorbé: nous avons observé des absorptions allant de 2 à 5 tubes de dilution.

Tableau I

Absorptions réalisées par des cellules CcDec (R_{1F})

		1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Anti-C	Témoin	+++	++	++	+	±	–
	Cellules	–	–	–	–	–	–
Anti-D	Témoin	+++	+++	+++	++	+	±
	Cellules	++	+	(+)	–	–	–
Anti-E	Témoin	++	++	+	±	–	–
	Cellules	++	++	+	–	–	–
Anti-c	Témoin	++	++	+	–	–	–
	Cellules	(+)	–	–	–	–	–

Les anticorps ne correspondant pas aux antigènes du sujet dont on étudie les cellules ne sont jamais absorbés ou très légèrement: 0 à 1 tube de dilution.

Les tableaux I et II illustrent l'absorption des 4 sérums utilisés vis-à-vis de 2 types de cellules. A noter que l'antigène D^u ne s'est pas manifesté sur des cellules urinaires et salivaires provenant d'un sujet le possédant: l'anticorps anti-D n'est pas absorbé.

Tableau II

Absorptions réalisées par des cellules CcD^{uee} (R₁^{ur})

		1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Anti-C	Témoin	+++	+++	++	++	+	-
	Cellules	+	±	-	-	-	-
Anti-D	Témoin	+++	+++	++	++	+	-
	Cellules	+++	+++	++	+	(+)	-
Anti-E	Témoin	+++	+++	++	+	-	-
	Cellules	+++	+++	++	+	-	-
Anti-c	Témoin	++	++	++	+	±	-
	Cellules	(+)	-	-	-	-	-

Le graphique I résume l'ensemble de nos résultats. Nous avons fait la moyenne des absorptions réalisées par les cellules provenant des sujets ayant le même génotype, quelle que soit l'origine de ces cellules: urinaires, salivaires, vaginales, amniotiques. On voit que les absorptions réalisées sont significatives et spécifiques et qu'elles traduisent bien la présence des antigènes CcDE du système Rhésus sur les cellules épithéliales que nous avons étudiées.

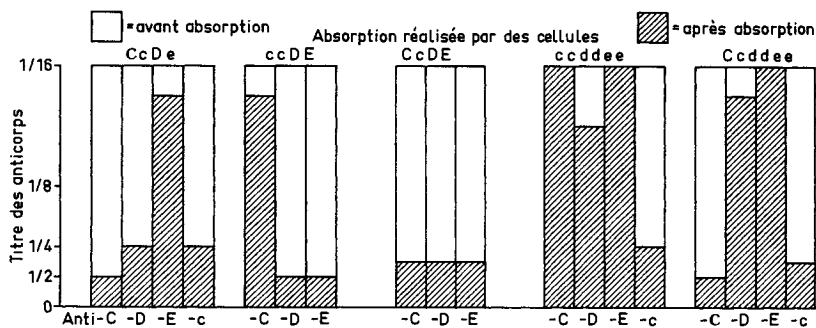


Fig. 1

Conclusions

La mise en évidence des facteurs CcDE dans certaines cellules épithéliales nous semble d'un grand intérêt théorique car, associée aux recherches ayant démontré leur présence dans divers tissus, elle prouve que les antigènes de groupe

sanguin sont des constituants universels de toutes les cellules de l'organisme. Ceci est confirmé d'ailleurs par des recherches en cours qui nous ont donné des résultats comparables en ce qui concerne les antigènes A₁, H et Kell.

En pratique cette possibilité de déterminer le génotype des cellules épithéliales est mise à profit pour déterminer le groupe de fœtus pendant la grossesse^{2, 3, 7} par ponction amniotique, ce qui rend de grands services au cours d'iso-immunisations fœto maternelles aux facteurs A, B ou Rh.

Remerciements: Nous tenons à remercier les Médecins qui ont bien voulu nous procurer les cellules épithéliales que nous avons étudiées et en particulier Messieurs les Professeurs *Guilhem, Meriel et Pontonnier* et Messieurs les Docteurs *Baux, Ferrier et Sardou*.

Summary

Antigens A, B, H, M, N, D, C, and E were tested for in various types of epithelial cells. Some came from the urinary system and vagina of adults.

Others were obtained from the fetus by puncture into the amniotic fluid after placental localization: they consisted of cutaneous cells, cells of the urinary system, vaginal cells of the female fetus and cells from the digestive tract.

Our studies mainly dealt with antigens A and B on the one hand and D on the other. They were revealed by absorption methods. Furthermore, antigens A and B may be revealed by the mixed agglutination method (*Coombs, Freiesleben*).

Bibliographie

1. *Boorman, K. E. and Dodd, B. E.*: The group specific substances A, B, M, N, and Rh: their occurrence in tissues and body fluids. *J. Path. Bact.* 55: 329 (1943).
2. *Broussy, J.; Ducos, J. et Baux, R.*: Mise en évidence des antigènes A et B dans le liquide amniotique humain et en particulier dans certaines cellules de desquamation fœtale. *Soc. Biol., Toulouse* 17/1/58.
3. *Id.*: Mise en évidence des antigènes du système Rh dans les cellules de desquamation fœtale obtenues par ponction amniotique. *Soc. Biol., Toulouse* 14/3/58.
4. *Broussy, J.; Ducos, J. et Ruffie, J.*: Mise en évidence des facteurs sanguins D, C, c, C^w, E sur les plaquettes sanguines. *Soc. Biol., Toulouse* 2/5/58.
5. *Coombs, R. R. A.*: Antigènes A et B dans les cellules humaines épidermiques montrées par la technique d'agglutination mélangée. *Brit. J. Haemat.* 2: 84 (1956).
6. *Ducos, J.*: Etude de l'absorption des anticorps anti-Rh par le sang sec. Application au groupage des taches de sang. Thèse, Toulouse 1954, imprimerie Cléder.
7. *Ducos, J. et Bierné, R.*: La détermination du groupe fœtal avant la naissance. *Communic. 7^e Congr. int. d'Hémat. (Rome 1958)*.
8. *Ducos, J.; Broussy, J. et Ruffie, J.*: Les antigènes de groupes sanguins dans les plaquettes humaines (recherches personnelles). *Revue d'Hématologie (sous presse)*.
9. *Freiesleben, E.; Fuchs, F.; Knudsen, E. et Riis, P.*: Determination of foetal blood group before birth. *Proc. 6th Congr. int. Soc. Blood Transf., Boston 1956*, p. 24 (*Karger, Basel/ New York 1958*).
10. *Gurevitch, J. and Nelken, D.*: ABO groups in blood platelets. *J. Lab. clin. Med.* 44: 562 (1954).
11. *Hanon, F.; Coquoin-Carnot, M. et Mignard, P.*: Le liquide amniotique (*Masson, Paris 1955*).
12. *Kabat, E. A.*: Blood group substances (*Academic Press., N.Y. 1956*).
13. *Kritschewski und Schwarzmann*: *Klin. Wschr.* 6: 2090 (1927).
14. *Nelken, E.; Michaelson, I. C.; Nelken, D. and Gurevitch, J.*: ABO antigens in the human cornea. *Nature, Lond.* 177: 840 (1956).

15. *Nelken, D.; Gurevitch, J. and Neuman, Z.*: A et B antigens in the human epidermis. J. clin. Invest. 36: 749 (1957).
16. *Putkonen*: Acta med. Fenn. Duodecim A 14, part 2 (1930).
17. *Schiff*: Klin. Wschr. 3: 16 (1924).
18. *Von Brocken, I.*: Z. ImmunForsch. n° 3 (1954).
19. *Walker, W.*: Impossibilité de détecter la substance Rh dans le liquide amniotique. J. clin. Path. 9: 52 (1956).
20. *Weinberg, C.; Nelken, D. and Gurevitch, J.*: A et B antigens in bone tissue. Bull. R. Council of Israel 6: 13 (1957).
21. *Witebsky, E. und Okabe*: Z. ImmunForsch. 52: 359 (1927).
22. *Witebsky, E. and Mohn, J. F.*: J. exp. Med. 82: 143 (1945).
23. *Yamakami, J.*: Immunol. 12: 185 (1926).

171

Isosensitization to the *U* Factor, with Special Reference to the Blocking Test

LESTER J. UNGER AND ALEXANDER S. WIENER

New York City, New York, USA

In 1953, *Wiener, Unger and Gordon*¹ reported a fatal hemolytic transfusion reaction. In the patient's serum was found an antibody specific for a blood factor not corresponding to any previously described blood factor. Because the blood factor proved to be of almost universal occurrence, it was designated as blood factor *U*, and to the specific antibody was assigned the corresponding symbol anti-*U*.

Subsequent studies by *Wiener, Unger and Cohen*² showed that all blood specimens of a series of 1100 Caucasoids contained blood factor *U*, while in a series of 989 Negroids, 12 were encountered which lacked the *U* factor.

The second example of sensitization to blood factor *U* was reported by *Greenwalt et al.*⁴.

Recently, we had occasion to test the serum of a third woman sensitized by the blood factor *U*. The purpose of this report is to describe the behavior of the antibody in this patient's serum, with special reference to the blocking test.

Case history: The patient was a 37-year-old Negro female, pregnant for the eighth time, and under the care of Dr. S. V. Squicquero of Youngstown, Ohio. She had received blood transfusions 13 years previously, and had recently had an antepartum hemorrhage. Preparation was made for a blood transfusion, but difficulty was encountered in the crossmatch tests, because every random blood donor proved to be incompatible by the indirect anti-globulin technic.