

Dble

RÉPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

J.-C. BARON

MINISTÈRE
DE LA PRODUCTION ANIMALE

M2 1447Z

**NOTE SUR LE SANG
DE QUELQUES POISSONS MARINS
DE COTE D'IVOIRE**

**CENTRE DE RECHERCHES
Océanographiques**

*Scomber Japonicus, Coryphaena Hippurus
Acanthocybium Solandri, Euthynnus Alleteratus,
Tetrapturus SP.*



F 12258

Document scientifique provisoire
N° 023 — Mai 1968

CENTRE DE RECHERCHES OCEANOGRAPHIQUES
B.P. V 18 - A B I D J A N

NOTE SUR LE SANG DE QUELQUES POISSONS MARINS
DE COTE D'IVOIRE

(*Scomber japonicus*, *Coryphaena hippurus*,
Acanthocybium solandri,
Euthynnus alleteratus, *Tetrapturus* sp.)

par

J.-C. BARON

~~Documentaire~~

N° :

Cote :

~~12258~~
~~A 2x2~~

R E S U M E

Les réactions d'agglutinations entre les globules rouges de divers poissons et des sérums de poissons et de mammifères indiquent que les sangs de ces poissons contiennent des hémagglutinines naturelles susceptibles d'être utilisées pour l'étude sérologique des races et que le sérum humain peut y jouer un rôle intéressant. L'étude électrophorétique des hémoglobines et des sérums nous renseigne sur les diverses fractions protéiques qu'ils contiennent.

A B S T R A C T

Agglutination reactions between erythrocytes from some fishes and serum samples from fishes and mammals indicate that the blood of these fishes contains natural agglutinins which are potential serological reagents for racial studies. The human serum may be very useful in studies of fishes' erythrocyte antigens.

The different components of haemoglobin and serum are revealed by electrophoresis in agarose gel.

1. - INTRODUCTION

Cinq espèces de poissons sont étudiées :

- *Scomber japonicus* (Houttuyn) - maquereau
- *Coryphaena hippurus* (Linné) - Coryphène.
- *Acanthocybium solandri* (Cuvier) - "Wahoo"
- *Euthynnus alleteratus* (Rafinesque) - Bonite
- *Tetrapturus* (Lacépède) sp. - marlin.

Il nous avait paru intéressant de prélever le sang de ces poissons pour étudier ultérieurement les globules rouges de sardinelles. La littérature ne mentionnant aucun travail sérologique sur ces espèces nous avons effectué cette petite étude préliminaire.

2. - MATERIEL -

2.1. - Prélèvement du sang - Les poissons ont été pêchés au large de la Côte d'Ivoire sauf les maquereaux capturés au large du Ghana. Le sang a été prélevé soit par ponction cardiaque stérile sur le poisson vivant à l'aide du système vacutainer Becton Dickinson (corps de seringue indépendant avec aiguille stérile pour chaque prélèvement et tube stérile avec vide partiel aspirant directement le sang) soit non stérilement par section du bulbe (maquereau) ou seringue ordinaire (Tetrapturus).

Le sang a été conservé en glacière de 1 à 4 jours avant d'être centrifugé.

2.2. - Prélèvement du sérum : Les échantillons pris sans anticoagulant ont été mis au repos pour permettre au caillot de se former. Le sang de bonite ne donne pas du tout de caillot et reste fluide, celui d'*Acanthocybium* et de maquereau ne donne qu'un pseudocaillot alors que chez la coryphène et le *Tetrapturus* le caillot est solide, et bien formé.

Le sérum est prélevé en deux fois : directement à la pipette après exudation et il est généralement exempt d'hémoglobine, puis après centrifugation à environ 1000 tours / mn ce qui parfois provoque l'hémolyse des globules et teinte le sérum en rouge. Le sérum est conservé congelé, sans antiseptique, à - 20° jusqu'au moment d'être utilisé.

2.3. - Prélèvement des globules -

Le sang pris sur citrate de soude à 3,8% est centrifugé. Le plasma et le citrate sont éliminés puis le culot globulaire est lavé 4 fois avec une solution d'eau physiologique à 9 g. par litre de Na Cl. Certains globules ont dû être prélevés sur du sang non citraté par agitation du pseudocaillet dans de l'eau physiologique. Les globules sont utilisés immédiatement à une concentration de 3%.

2.4. - Obtention de l'hémoglobine -

Les globules rouges lavés à l'eau physiologique sont centrifugés et un culot globulaire de 1 volume est lysé par 5 volumes d'eau distillée. Après 15 minutes de centrifugation à environ 3000 t/mm (maximum de notre machine) la solution d'hémoglobine est prélevée et utilisée immédiatement. Nous avons constaté que cette solution était encore utilisable après 37 jours à + 4° (Coryphène).

2.5. - Obtention d'extraits végétaux -

Dans le but de rechercher des phytohémagglutinines dans certaines graines et certains fruits nous avons préparé les extraits suivants:

2.5.1. - Graines : Un volume de graines est mis à tremper 48 heures dans de l'eau physiologique (9‰). Après broyage dans un mortier à main (1 volume de graines + 1 volume d'eau de trempage) et incubation pendant 1 heure à 37° la préparation est centrifugée à 3000 t/mm pendant 20 mm. Le surnageant est prélevé pour constituer le premier extrait (1 qui sera utilisé tel quel.

Une partie de cet extrait est purifiée en ajoutant 1 volume d'alcool éthylique (95°) à 3 volumes d'extrait. Par centrifugation on obtient :

- un précipité qui est repris à l'eau physiologique à 37° et centrifugé à nouveau pour donner le surnageant (2.
- un surnageant que l'on précipite par 2 volumes d'acétone et qu'on agite en présence de chloroforme. Après centrifugation on obtient alors un précipité qui est repris à l'eau physiologique pour donner l'extrait (3.

Cette extraction a porté sur des graines de flamboyant (*Delonix regia*, *Caesalpiniciacées*) dont les cotylédons et les "enveloppes" des graines ont été traités séparément après macération de 48 heures dans l'eau physiologique, et

des graines entières d'Acacia (Cassia siamea, Caesalpinziacées)!

Nous avons obtenu tous les extraits 1; les extraits 2 pour les graines d'Acacia entières et les colylédons de flamboyant!

2.5.2. - Fruits : La pulpe des fruits est broyée, mise à macérer dans 1 volume d'eau physiologique à 37° puis centrifugée. Le surnageant est utilisé tel quel! L'extraction a porté sur la pulpe et l'amande de mangue; la pulpe de banane et l'arachide fraîche.

3. - TECHNIQUES -

3.1. - Recherche d'iso et d'hétérohémagglutinines naturelles .

L'étude est effectuée par la méthode d'agglutination en tubes (tubes à hémolyse)! Les globules rouges, lavés quatre fois avec une solution physiologique et centrifugés chaque fois durant trois minutes à environ 1000 tours minute, sont mis en suspension à 3% en eau physiologique. Les sérums sont centrifugés cinq minutes et utilisés purs. Une goutte de sérum à étudier (ou d'extrait végétal) est déposée au fond des tubes et une goutte de suspension de globules rouges y est ajoutée !

Une première lecture d'agglutination est faite à l'aide d'un miroir concave après avoir secoué et centrifugé les tubes pendant 45 secondes. Une deuxième lecture est faite après avoir laissé les tubes une nuit à + 4°. Seuls les résultats de la première lecture sont conservés car nous avons constaté parfois l'hémolyse des globules agglutinés après une nuit à + 4°. Néanmoins la deuxième lecture donne très souvent confirmation de la première.

La force de l'agglutination constatée est évaluée de la façon suivante :

- un tirait (négatif) : aucune agglutination

- une croix (X) : agglutination totale c'est-à-dire que les globules ne forment qu'un seul agglutinat.

- Les chiffres 4 et 3 indiquent une agglutination incertaine en plusieurs agglutinats.

- les chiffres 2 et 1 indiquent une agglutination très faible ou douteuse.

Nous avons arbitrairement considérés comme négatifs dans les interprétations les agglutinations 2!

La lettre H indique que l'échantillon est hémolysé.

Une case hachurée indique, enfin, que le test n'a pas été effectué, soit par manque de sérum soit du fait du groupement en un seul tableau de tests effectués à des moments différents avec des globules différents:

3.2. - Electrophorèse en gel d'Agarose

3.2.1. - Matériel : Nous avons utilisé 2 sortes d'Agarose : Agarose Fluka et Agarose I. B. F. (Industrie Biologique française) ce dernier donnant lieu à un phénomène d'électro-osmose plus important que le premier. Le gel est coulé sur une plaque de verre de 15 cm x 21 cm à une concentration de 1,5%.

Le tampon est celui de Hirschfeld, de type discontinu.

Tampon pour le gel	{	Véronal	3,32 g
		Véronal sodé	21,02 g
		Lactate de Ca	3,07 g
		Eau distillée	3 litres

Tampon pour les bacs	{	Véronal	6,9 g
		Véronal sodé	43,8 g
		Lactate de Ca	1,92 g
		Eau distillée	5 litres.

Les contacts sont assurés par du papier Whatman n°3. La tension aux bornes est constante et contrôlée par un redresseur pour électrophorèse (type ST 3B de chez APELAB)

Les protéines sont fixées dans un bain d'acide acétique à 5%. Le gel est desséché à une température de 75° dans une étuve à dessiccation et coloré puis décoloré dans les bains suivants.

Bain colorant	{	Noir amido 12 BN	1 g
		Acide Acétique N	450 ml
		Acétate de Na 0,1 M	450 ml
		Glycérol	100 ml

Bain décolorant	{	Acide acétique glacial	100 ml
		Glycérol	500 g
		Eau distillée q.p.f.	5 litres

Les enregistrements photométriques sont effectués par un photomètre
JOUAN.

Les photographies des proteinogrammes sont faites sur pellicule Kodachrome avec éclairage latéral au flash électronique et objectif de 100 mm.

3.2.2. -- Technique. Le gel est coulé sur une plaque de verre de 15 cm x 21 cm et les réservoirs sont pratiqués à l'aide d'emporte pièces Apelab de 9,10 ou 12 mm de long sur 1,2 ou 3 mm de large.

Les échantillons à étudier (sérum ou solution d'hémoglobine) sont mélangés en parties égales avec de l'Agarose non tamponné puis inclus dans les réservoirs que l'on recouvre par une goutte d'Agarose à 1,5% tamponné.

Les contacts en papier sont déposés par dessus le gel et le tout est recouvert d'une feuille plastique souple. Une différence de potentiel de 150 à 200 volts au redresseur est appliquée donnant une tension de 3 à 4,3 volts / cm selon les cas.

Après l'électrophorèse la plaque est fixée, séchée et colorée. Les schémas sont relevés sur du papier transparent, la plaque étant éclairée par dessous.

4! - RESULTATS -

4! 1! - MAQUEREAUX :

: Le sang de Vingt six maquereaux de 15 à 20 cm a été pris par section du bulbe le 16 janvier 1968 à 18 miles au large du Cap des Trois Pointes. Quatorze ponctions individuelles ont donné 14 sérums et 14 pseudocaillots d'où l'on a extrait 14 lots de globules rouges (de 1 à 14). Huit ponctions individuelles ont servi uniquement à donner des globules rouges (de 15 à 22). Enfin 4 ponctions ont été mélangées pour donner un sérum mélangé (pool).

1! - RECHERCHE D'ISO ET D'HETERO HEMAGGLUTININES NATURELLES -

Le tableau I résume les différents tests effectués.

1!1! - Isoagglutinines : Le peu de sérum recueilli n'a pas permis une étude complète et seuls les 10 premiers globules (souvent moins) ont été testés. Les réactions croisées n'ont décelé aucune agglutination par isoagglutinine.

1!2! - Hétéroagglutinines : (Tableau I) Les sérums humain et bovin (vache 7 J) agglutinent tous les globules testés. Le sérum de lapin (N°5) agglutine aussi les globules mais moins fortement pour 4 d'entre eux (2) et pas du tout pour le globule 7. Le sérum de Tetrapturus n'a agglutiné que les cinq premiers GR sur les 10 testés. Le pool de sérums de Sardinella aurita (poisson clupéidé), très hémolysé ne donne pas de résultats interprétables. Les sérums d'Acanthocybium permettent une différenciation plus nette des globules. Nous avons arbitrairement considéré comme négatifs les tests < 2.

- Globules agglutinés par le sérum d'Acanthocybium n° 10

a) - sérums 5, 8 et 9 faibles ou négatifs !!!!!..... groupe I

b) - un seul sérum positif, les 2 autres négatifs !..... groupe II

- sérum 5 positif II₁

- sérum 8 positif II₂

- sérum 9 positif II₃

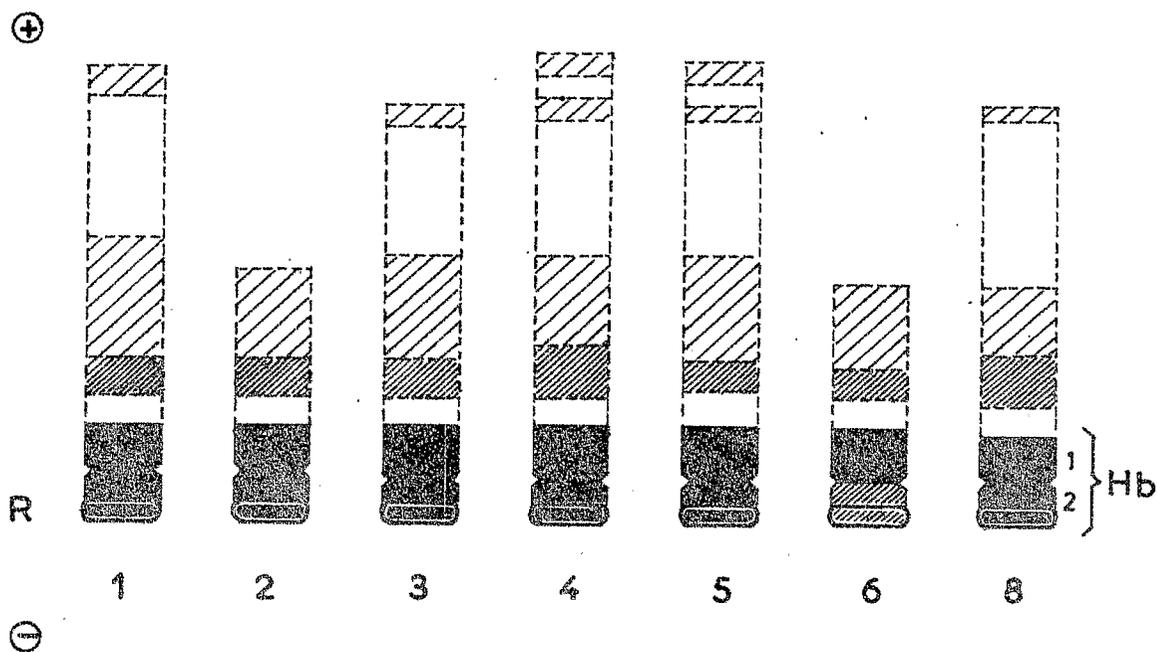
c) - sérum 5 et 8 ou 9 positifs !!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!..... groupe III

- Globules non agglutinés par les sérums d'Acanthocybium !..... Groupe IV

SÉRUMS	GR																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
Humain O Rh+	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	
Vache 7 J	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Lapin 5	x	x	1	3	x	x	-	x	x	x	x	x	x	x	2	x	4	2	2	3	x	4	
Tetrapturus	4	4	4	4	4	1	-	-	1	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	
S. aurita (Pool)	-	1	2	2	1	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Acanthocybium	5	-	2	1	4	x	x	1	4	4	1	1	1	1	-	-	4	4	-	4	4	3	
		8	1	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	4	4	1	1	4	4	-	1	4	2
			9	2	-	4	4	-	-	-	-	3	-	3	-	-	2	-	2	-	-	4	3
		10		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	3	4	x	-
Eau physiologique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

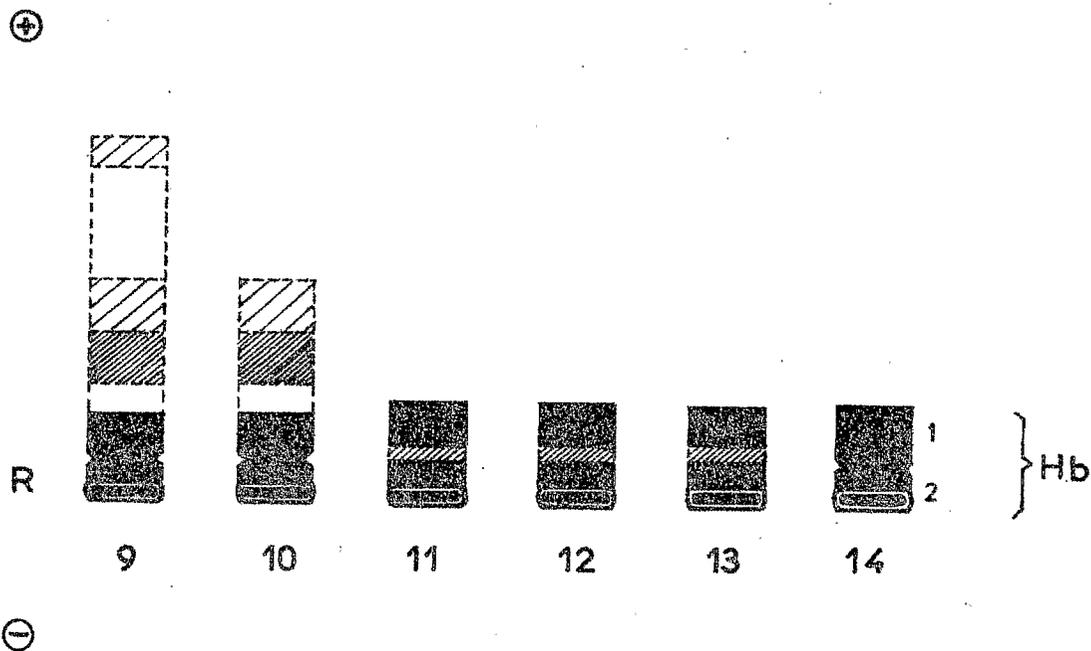
TABIEAU I

Réaction d'agglutination des globules rouges de maquereaux (hétéroagglutinines)



ÉLECTROPHORÉGRAMME DE L'HÉMOGLOBINE DE 13
 MAQUEREAUX (*Scomber Japonicus*).

GEL D'AGAROSE FLUKA A 1.5%. TAMPON DE HIRSCHFELD pH = 8.4 .
 3h30 A 150 VOLTS



Remarque : Les globules 3, 7, 15, 18, et 19 sont remarquables vis à vis du sérum de lapin (Tableau I)

Le tableau II donne la répartition des différents globules en raison de ces critères.

Nature des globules	I	II			III	IV
		1	2	3		
Numéro des globules	1-2-7-10 16-19	5-6-9 17	13-14 15	3-11 12	4, 8, 18 20, 21	22
Total	6	10			5	1

TABLEAU II

1.3. - Conclusion : Il est possible de mettre en évidence des différences antigéniques sur les globules rouges de maquereaux à l'aide de sérum de lapin et de poissons. Les sérums de poissons (Acanthocybium) possèdent des hétéroagglutinines plus adaptées semble-t-il à différencier les globules rouges que les hétéroagglutinines de mammifères et devraient être très utiles dans la recherche des groupes érythrocytaires du maquereaux.

2. - ETUDE DE L'HEMOGLOBINE :

L'électrophorèse en gel d'Agarose des hémoglobines de 13 maquereaux révèle deux fractions de mobilités relatives positives. Aucune différence individuelle n'a été notée (PLANCHE I)

4. 2. - CORYPHENES :

Cette étude porte sur 15 Coryphènes toutes pêchées au large de la Côte d'Ivoire. Trois furent capturées le 16 décembre 1967 (C₁, C₂, C₃), trois autres le 16 janvier 1968 (C₄, C₅, C₆) et neuf le 11 avril 1968 (C₇ à C₁₅). Le sang a été prélevé stérilement par ponction cardiaque soit sur citrate soit nature; dans ce cas il donne alors un caillot solide bien formé et un sérum ambré laissant parfois un léger dépôt blanchâtre après centrifugation. Les globules rouges se conservent bien et n'hémo lysent pas.

Le sexe des coryphènes 7 à 15 a été relevé : mâles 7, 12, 13 : féelles 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15.

I. - RECHERCHES D'ISO ET D'HÉTÉROHÉMAGGLUTININES NATURELLES

1.1. - Isoagglutinines (Tableau I). Nous avons mis en évidence la présence d'une isoagglutinine dans le sérum 9 vis à vis des globules rouges 7 et 14.

1.2. - Hétéroagglutinines (Tableau II)

Le sérum humain possède des hétéroagglutinines capables d'agglutiner certaines globules de coryphènes. Les sérums de vache et de lapin agglutinent les 3 globules testés. Les sérums de Tetrapturus et de bonite sont capables de différencier les globules de coryphène. Le sérum du thonidé Auxis thazard possède de fortes agglutinines ainsi qu'Acanthocybium solandri. Les globules rouges des 12 dernières coryphènes peuvent être groupés de la façon suivante :

- globules rouges agglutinés par le sérum humain (O, A, B ou A B) :
N° 4, 5, 6, 7.

- globules rouges non agglutinés par le sérum humain :

! non agglutinés par Acanthocybium 8 ou 12 : N° 12, 13, 14, 15.

! agglutinés par Acanthocybium 8 ou 12 : N° 8, 9, 10, 11.

Remarque : Les globules 1, 2, 3, agglutinés par Tetrapturus différent des globules 4, 5, 6, qui ne le sont pas.

1.3. - Agglutinines du sérum de Coryphène

Les sérums de coryphènes possèdent des hétéro-hémagglutinines naturelles capables de déceler des différences antigéniques sur les globules rouges de bonite (C₂ et C₃ agglutinent les globules de E₁ et C₂ agglutine les globules de E₄) et sur les globules rouges de Sardinella aurita (C₅ agglutine les globules 8 et 9 de Sardinella aurita).

1.4. - Phytoagglutinines : Les divers extraits utilisés provenaient de graines de "Elamboyant" et d'"Acacia", d'arachide, de mangue et de banane. Aucun n'a révélé de phytoagglutinines vis à vis des globules rouges de Coryphène.

1.5. - Conclusion : Il existe des iso et des hétérohémagglutinines naturelles chez les coryphènes et le groupage érythrocytaire est possible par des hétéroagglutinines d'homme et de poissons.

GR sérums	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	-	-	-	-	-	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///
2	-	-	-	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	///	///	///	///	-	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///
5	///	///	///	-	///	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///
6	///	///	///	-	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
7	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	///	///	///	///	///	///	x	-	-	-	-	-	-	x	-
10	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABEAU I - Réactions croisées d'agglutination des globules rouges de Coryphène (isoagglutinines)

Serums		GR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Homme	0	///	///	///	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A	///	///	///	///	///	///	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AB	///	///	///	///	///	///	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vache 7J		///	///	///	x	x	x	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
Lapin 5		///	///	///	3	3	3	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
Tetrapturus		x	x	x	1	-	1	3	3	4	4	4	4	4	2	3	3
Auxis Th.		x	x	x	x	x	x	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
Bonite	1	-	-	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
	3	-	-	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
	4	-	-	-	-	-	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
	6	///	///	///	4	4	4	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
Acanthocybium	1	///	///	///	///	///	///	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3	///	///	///	///	///	///	x	x	x	x	x	x	x	x	///	///
	4	///	///	///	///	///	///	x	x	x	x	///	///	///	///	///	///
	5	///	///	///	x	x	x	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
	6	///	///	///	///	///	///	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	8	///	///	///	4	x	x	4	4	4	4	4	4	2	2	2	4
	9	///	///	///	x	x	x	x	x	x	x	x	4	x	x	x	x
	10	///	///	///	2	1	1	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///
	11	///	///	///	///	///	///	x	2	x	x	3	x	4	4	4	4
	12	///	///	///	///	///	///	x	3	4	3	4	3	2	2	2	2
13	///	///	///	///	///	///	4	3	4	4	4	4	4	x	x	3	

TABLEAU II - Réactions d'agglutination des globules rouges de Coryphènes (hétéroagglutinines)

2! - ETUDE DE L'HEMOGLOBINE :

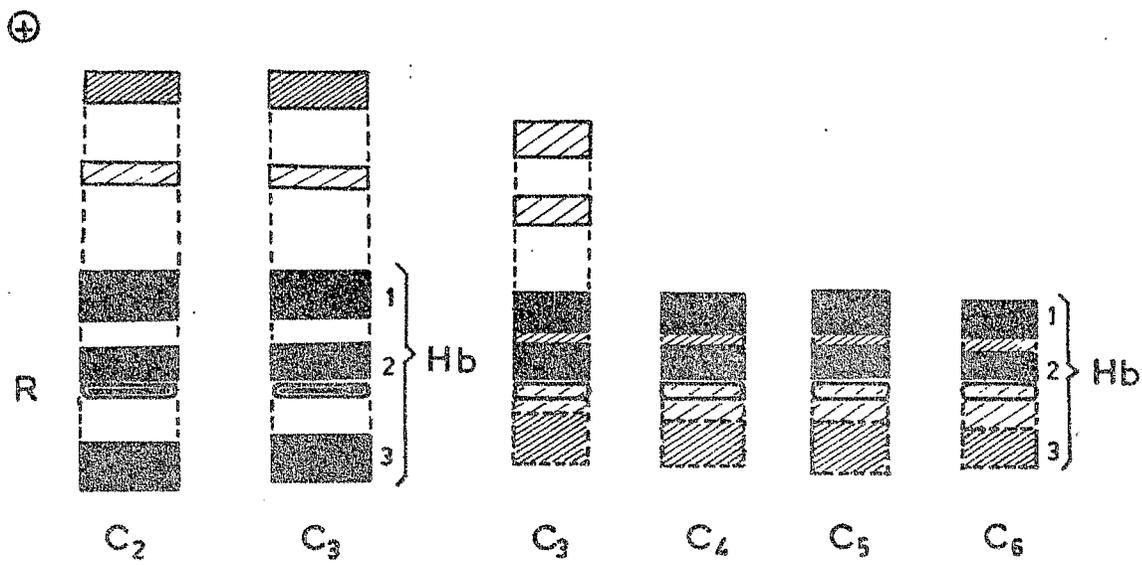
Les 12 échantillons étudiés donnent invariablement 3 fractions très bien distinctes de mobilités relatives nettement différentes : positive pour la première fraction, légèrement négative pour la seconde et négative pour la troisième (en Agarose I. B. F.). La migration conjointe de sérum humain permet de repérer ces fractions par rapport aux bêta et aux gamma globulines humaines. (PLANCHE II)

3! - ETUDE DU SERUM (PLANCHE III)

L'électrophorèse en gel d'agarose révèle au moins 10 fractions. Les plus importantes sont l'Albumine (1), trois fractions de mobilité alpha (4, 2 et 3) et une fraction de mobilité bêta (7). Deux autres fractions sont bien visibles aussi (5 et 6).

La fraction 9, bien nette quoique très faible, a une mobilité identique à la fraction 3 de l'hémoglobine. On remarque en outre une fraction de mobilité relative fortement négative (10) et difficilement observable (elle semble plus nette chez les 2 mâles étudiés).

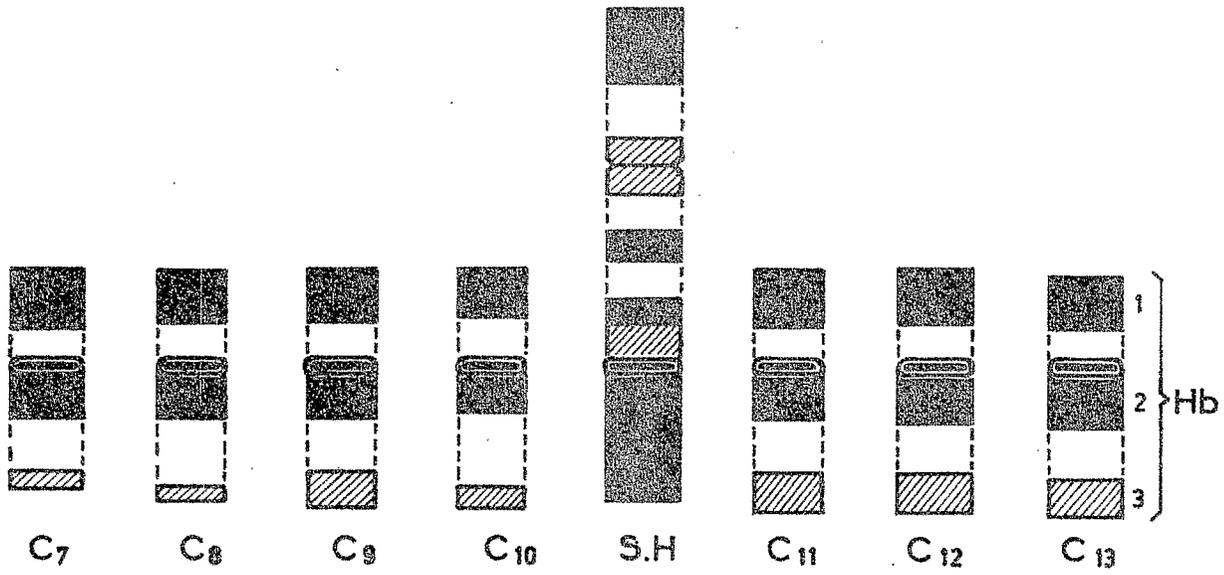
Il est difficile de constater une variation individuelle sur les échantillons présents étant donné la différence de champ électrique constatée d'un bord de la plaque à l'autre et se traduisant par une différence de migration de 1 cm entre les échantillons extrêmes 15 et 7!



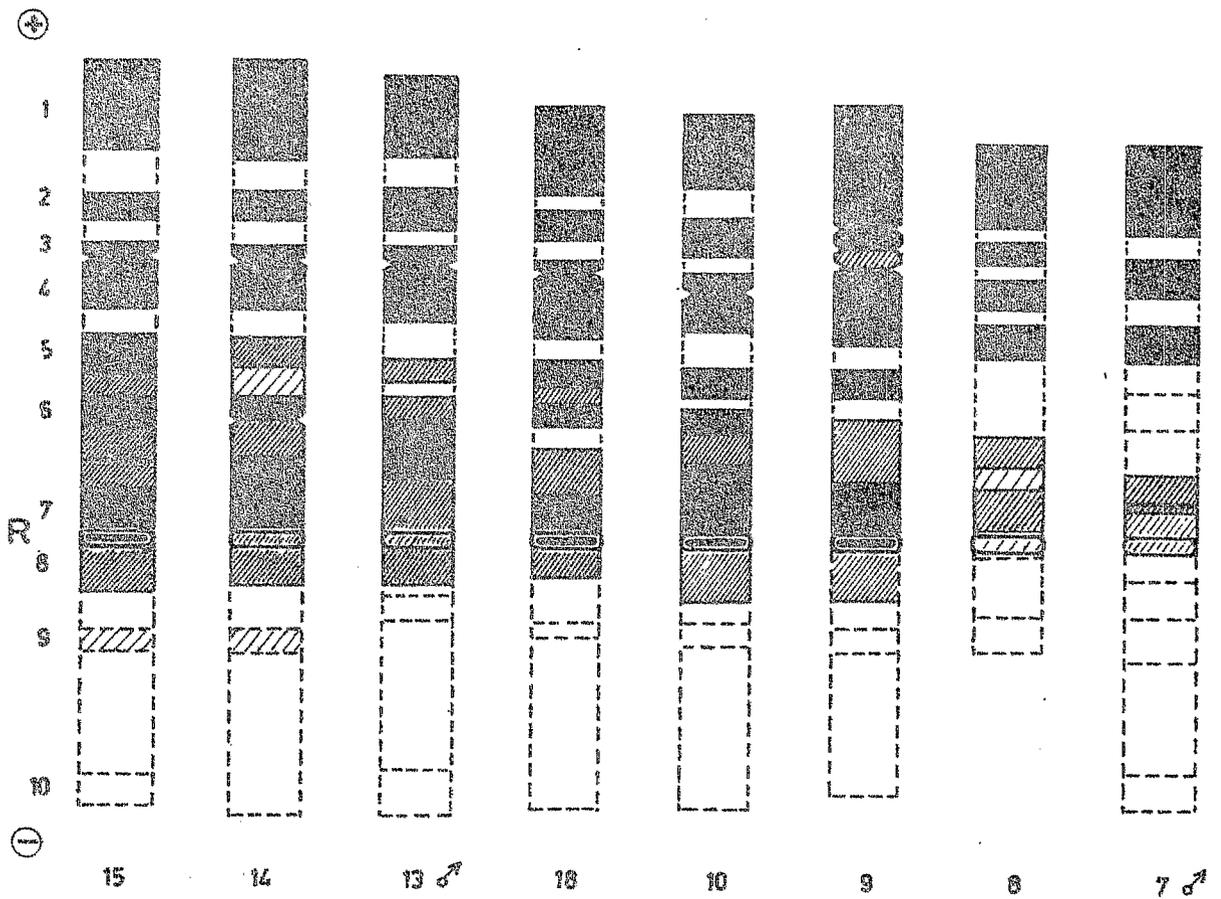
⊕ Gel d'Agarose FLUKA 1,5%
 Tampon de Hirschfeld pH = 8,4
 1h + 2h30 à 150 puis 100 volts

⊖ Gel d'Agarose FLUKA 1,5%
 Tampon de Hirschfeld pH = 8,4
 3h.10 à 150 volts.

ÉLECTROPHORÉGRAMMES DE L'HÉMOGLOBINE DE 12 CORYPHÈNES (*Coryphaena hippurus*).



Gel d'Agarose de l'Industrie Biologique Française. Tampon de Hirschfeld pH = 8,2
 4 heures à 200 volts au redresseur soit 4,3 volts / cm.



ÉLECTROPHORÉGRAMME DU SÉRUM DE CORYPHAENA
HIPPURUS.

Gel d'Agarose I.B.F. a 1.5%. Tampon de Hirschfeld pH = 8,2 4h à 4 V/cm.

4. 3. - ACANTHOCYBIUM SOLANDRI

Treize ponctions individuelles de sang ont été effectuées sur des Acanthocybium pris au large de la Côte d'Ivoire (11 du 15 au 18 janvier et 2 le 11 avril 1968). Pour chaque individu on a prélevé stérilement 5 à 10 cm³ de sang brut et 5 cm³ de sang sur citrate. Les globules rouges se sont très bien conservés. Les sérums exudés des "Pseudocailots" liquides n'étaient pas hémolysés (N° 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, et 13) ou très peu (n° 1 et 7). Le sérum n°2 n'a pu être récupéré. Une évaluation de la teneur en protéines du sérum a été effectuée par la méthode de Kjeldhal qui donne 61 grammes par litre.

I. - RECHERCHE D'ISO ET D'HÉTÉROHEMAGGLUTININES NATURELLES :

1.1. - Isoagglutinines (Tableau I). La présence d'isoagglutinines a été découverte dans le sérum de 3 individus (n° 4, 6 et 8). L'isoagglutinine du sérum n°4 est particulièrement forte. Les sérums 6 et 8 semblent avoir la même isoagglutinine, plus faible que celle de 4.

1.2. - Hétéroagglutinines (Tableau II) Les sérums de lapin, de vache et d'homme agglutinent les globules rouges d'Acanthocybium du mois de janvier et non ceux du mois d'avril.

Les globules 12 et 13 sont donc différents des 10 autres et agglutinés par les sérums 6 et 8 d'Acanthocybium. Le sérum de Tetrapturus possède une hétéroagglutinine contre le globule n° 5. Les coryphènes ne possèdent pas d'hétéroagglutinine pour les globules testés.

On remarque donc 3 sortes de globules rouges :

- agglutinés par le sérum humain :

• agglutinés par le sérum de Tetrapturus : N° 5

• non agglutinés par le sérum de Tetrapturus : n° 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, et 11.

- non agglutinés par le sérum humain : n° 12 et 13.

1.3. - Agglutinines du sérum d'Acanthocybium

Les sérums d'Acanthocybium possèdent des hétéroagglutinines contre les globules rouges de Sardinella aurita, Sardinella eba, coryphène, bonites et maquereaux, qui permettent de différencier chacun des sérums (7 hétéroagglutinines contre S. aurita et 5 contre les maquereaux).

1.4. - Phytoagglutinines : Les essais identiques à ceux effectués sur les globules de coryphène donnent des résultats négatifs.

1.5. - Conclusion : Il existe dans le sérum d'Acanthocybium des isoagglutinines naturelles et des hétéroagglutinines vis à vis d'autres poissons. Les globules rouges possèdent des sites antigéniques décelables par les sérums de mammifères et de Tetrapturus.

GR sérum	1	3 H	4	5	6	7	8	9	11	12	13
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	x	x	-	x	x	x	x	x	x	///	///
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	///	///
6	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	3
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	///	///
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	///	///
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	///	///	///	///	///	///	///	///	///	5	-
13	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-

TABLEAU I - Réactions croisées d'agglutination des globules rouges d'Acanthocybium. (Isoagglutinines)

Sérum		GR	1	3 H	4	5	6	7	8	9	11	12	13
Homme	0	x	H	x	x	x	x	x	x	x	x	-	-
	A	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	2	-
	B	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	2	-
	AB	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
Vache 7 J		x	H	x	x	x	x	x	x	x	x	///	///
Lapin 5		x	H	x	x	4	4	x	x	4	///	///	///
Tetrapturus		-	-	-	3	-	2	-	-	-	-	-	-
Coryphène	2	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	3	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	7	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	8	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	9	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	10	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	11	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	12	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	13	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-
	14	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	2	-
15	///	///	///	///	///	///	///	///	///	///	-	-	
eau physiologique		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

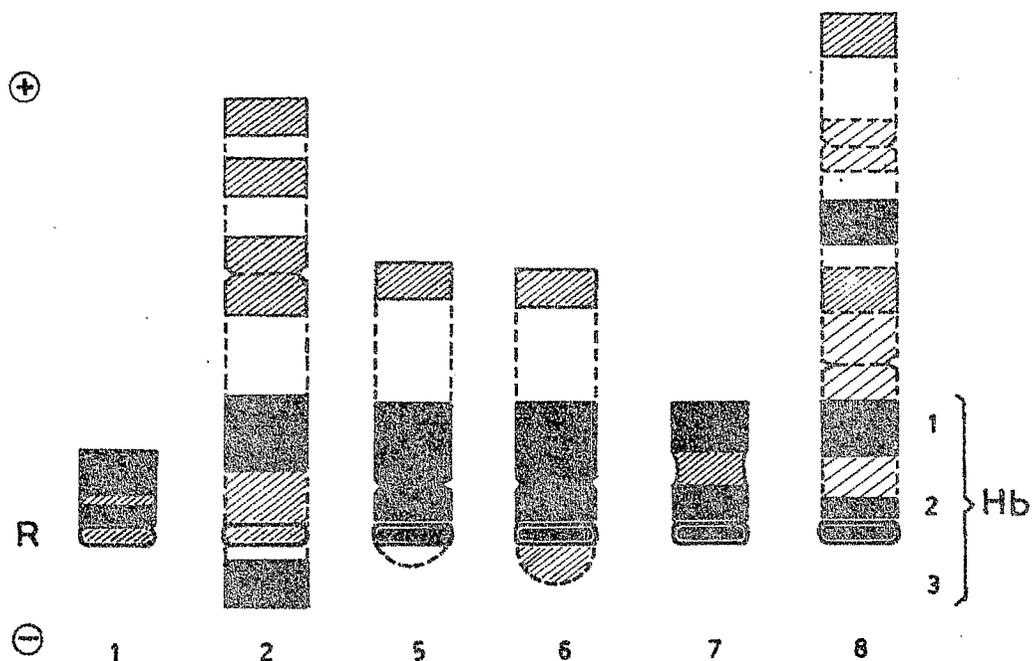
TABLEAU II. - Réaction d'agglutination des globules rouges d'*Acantocybium* (hétéroagglutinines)

2. - ETUDE DE L'HEMOGLOBINE :

L'électrophorèse en gel d'Agarose des hémoglobines de 6 *Acanthocybium* révèle deux fractions de mobilités relatives positives chez les 6 individus étudiés ainsi qu'une troisième fraction de mobilité relative négative chez le n° 2 . Il y aurait donc une possibilité de variation individuelle des diverses fractions de l'hémoglobine. Des composés sériques mal éliminés sont présents sur l'électrophorégramme. (PLANCHE)IV)

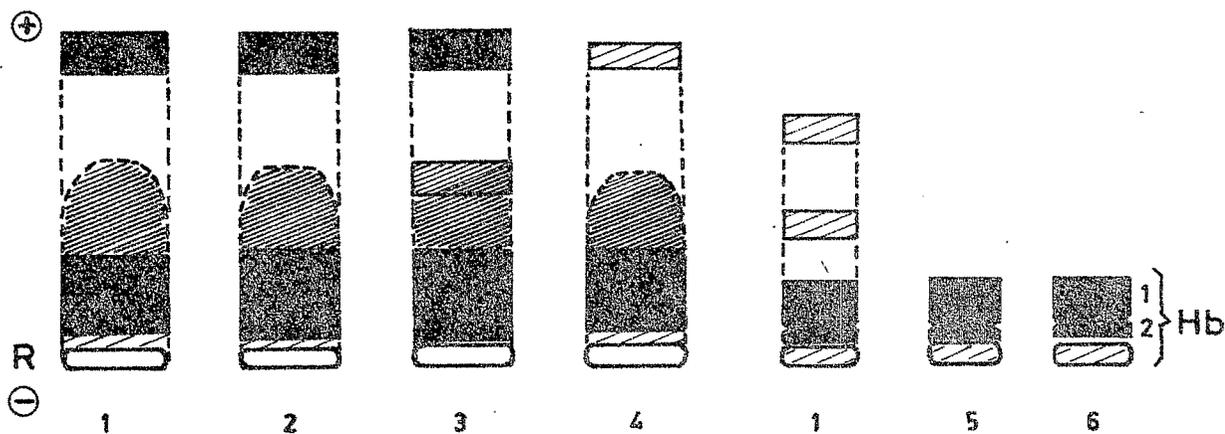
3. - ETUDE DU SERUM (PLANCHE V)

L'électrophorèse révèle au moins 10 fractions dont les 4 premières sont les plus importantes. La fraction 9 de faible importance est très bien individualisée. La fraction 10 de très faible importance n'est décelable que sur l'échantillon 12. Il est enfin remarquable de constater que les fractions 9 et 10 de même caractère chez la coryphène ont des mobilités relatives négatives comparables. Il serait intéressant de pouvoir identifier ces fractions à des gamma protéines.



ÉLECTROPHORÉGRAMME DE L'HÉMOGLOBINE DE 6
ACANTHOCYBIUM SOLANDRI

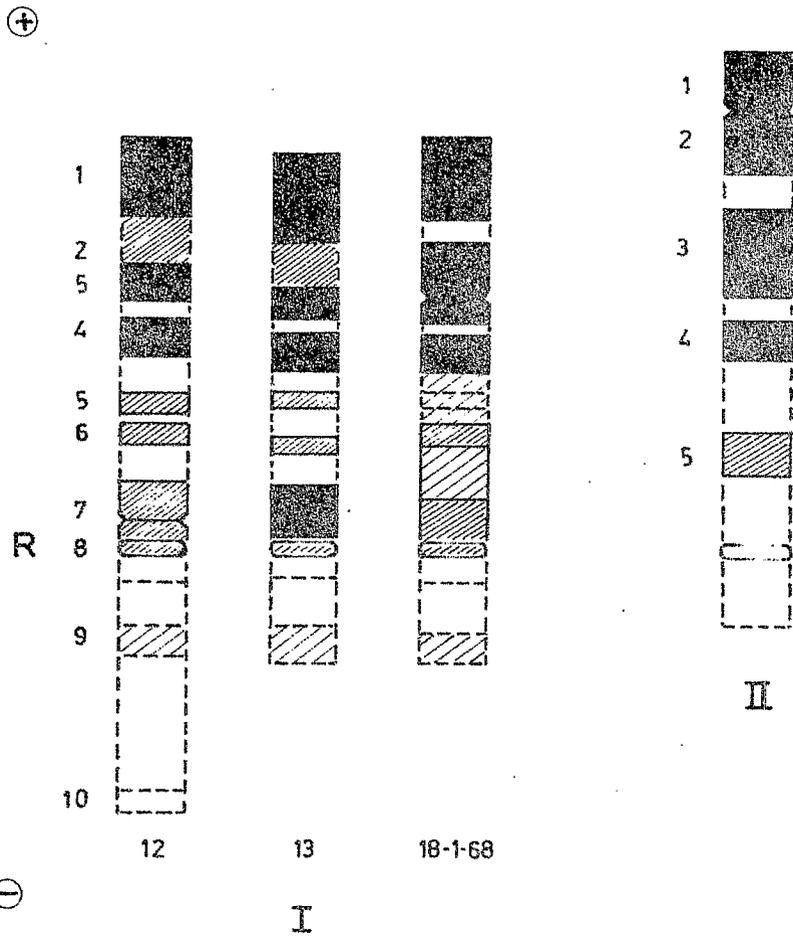
Gel d'Agarose FLUKA à 1,5%. Tampon de HIRSCHFELD pH = 8,4
3h.30 à 150 volts.



Gel d'Agarose FLUKA à 1,5%
Tampon de Hirschfeld pH = 8,4
1h + 2h30 à 150 puis 100 volts

Gel d'Agarose FLUKA à 1,5%
Tampon de Hirschfeld pH = 8,4
3h10 à 150 volts.

ÉLECTROPHORÉGRAMMES DE L'HÉMOGLOBINE DE 6
BONITES (Euthynnus Alleteratus).



ÉLECTROPHORÉGRAMME DU SÉRUM D'ACANTHOCYBIUM
Solandri (I) ET DE TÉTRAPTURUS sp (II).

Gel d'Agarose I.B.F. A 1,5%. Tampon de HIRSCHFELD pH=8,2 4h à 4v/cm.

4. 4. - BONITES :

Etude portant sur 6 bonites prises au large de la Côte d'Ivoire :
4 le 16 décembre 1967 (E₁ à E₄) et 2 le 16 janvier 1968.

Le sang de bonite offre des particularités : sa couleur est rouge très foncé presque noir et les prises brutes bien que stériles, ne donnent pas lieu à la formation de caillot (même après 3 jours de repos à + 4°). De ce fait l'extraction du sérum est mal aisée et celui-ci est souvent hémolysé. Il présente parfois un dépôt blanchâtre à la centrifugation.

Le sang E₂ n'a pu être utilisé.

I. - RECHERCHE D'ISO ET D'HETEROHEMAGGLUTININES.

1.1. - Isoagglutinines

La présence d'isoagglutinines n'a pas été décelée sur le trop petit nombre d'individus étudiés.

1.2. - Hétéroagglutinines (Tableau I)

Les sérums de mammifères testés ainsi que ceux de Tetrapturus et de Thazard possèdent de fortes hétéroagglutinines. Acanthocybium et coryphènes ont des hétéroagglutinines capables de déceler des différences antigéniques sur les globules rouges de bonite. Les 3 premières bonites peuvent être séparées en deux groupes E₁ - E₄ et E₃ selon que leurs globules sont agglutinés ou non par le sérum de C₂. Le sérum de C₃ est en outre capable de différencier E₁ de E₄. Le sérum d'Acanthocybium différencie les globules 5 et 6.

1.3. - Agglutinines du sérum -

Le sérum de E₆ contient une hétéroagglutinine vis à vis des globules C₄, C₅ et C₆ alors que E₄ n'en possède pas. En outre E₁, E₃ et E₄ n'agglutinent pas C₁, C₂ et C₃.

1.4. - Conclusion :

Le sang d'Euthynnus alleteratus ne forme pas de caillot. Il contient au moins une hétéroagglutinine vis à vis des coryphènes testés et ses globules peuvent donner lieu à un groupage sanguin.

Serums	GR	1	3	4	5	6
	Homme 0		///	///	///	x
Vache 7J		///	///	///	x	x
Lapin 5		///	///	///	3	x
Tetrapturus		x	x	x	x	x
Thazard		x	x	x	x	x
Coryphènes	1	-	-	-	-	-
	2	x	-	x	///	///
	3	x	-	-	///	///
	4	///	///	///	-	-
	5	///	///	///	-	-
	6	///	///	///	-	-
Acanthocybium	5	///	///	///	x	3
	8	///	///	///	-	3
	9	///	///	///	-	-
	10	///	///	///	x	x

TABLEAU I. - Réactions d'agglutination des
des globules rouges de bonite (hétéroagglutinines)

2. - ETUDE DE L'HEMOGLOBINE :

Les hémoglobines de 6 bonites ont donné lieu à une analyse électrophorétique, malgré la présence de constituants du sérum et la forte concentration des échantillons on reconnaît deux fractions de mobilités relatives positives. (PLANCHE IV)

Ce poisson communément nommé "marlin" a été pêché à la ligne le 16 décembre 1967 à environ 10 milles au large d'Abidjan. Ses mensurations ont été effectuées sous la direction de E. G. MARCHAL. Poids : 42 kg. Longueur totale : 219 cm. Rayons des nageoires $D_1 = 3 + 38$; $D_2 = 7$, $A_1 = 2 + 9$ et $A_2 = 7$.

Le sang a été pris non stérilement, à l'aide d'une seringue, par ponction cardiaque et a très bien coagulé en 5 à 6 heures. Le serum exudé en grande quantité est opalescent et sans trace d'hémolyse, il laisse un important dépôt blanchâtre après centrifugation. Aucune prise sur anticoagulant n'a été effectuée.

I. - RECHERCHE DES HEMAGGLUTININES DU SERUM.

Le serum de marlin possède des hétéroagglutinines puissantes, qui permettent de différencier les divers globules rouges de nombreux poissons. Il agglutine 5 globules rouges de maquereaux sur 10 testés, 11 globules de coryphène sur 15, 31 globules de *S. ayrita* sur 42, 35 globules de *S. eba* sur 67, 1 globule d'*Acanthocybium* sur 11, tous les globules d'*Euthynnus alleteratus*.

II. - ETUDE DU SERUM

L'étude électrophorétique du serum révèle 5 fractions importantes dont les deux premières mal séparées représenteraient l'albumine. Aucune fraction n'a été décelée du côté cathodique (PLANCHE V).

5! - REMERCIEMENTS :

Nous tenons à remercier ici la Direction des Pêches de Côte d'Ivoire pour le laboratoire et les facilités mis à notre disposition ainsi que le Docteur Sy Baba, Directeur du Centre de Transfusion sanguine qui nous a fourni le sérum humain.

B I B L I O G R A P H I E

La bibliographie sur ce sujet est très importante. Etant donné le caractère provisoire de cette publication il n'a pas été possible de la citer en entier.

CALAPRICE, J. R. and CUSHING, J. E. - 1967 - A Serological analysis of three populations of golden trout, *Salmo aguabonita* (Jordan)
Calif. Fish and game, vol. 53 n°4 p. 273 - 281.

GREYSSEL, R. - SILBERZAHN, P. - RICHARD, G. - 1966 - Le polymorphisme des protéines sériques chez la carpe.
Revue de pathologie comparée mars 1966, VIII Congrès International de Beyrouth.

CUMMING, K. B. - 1967 - Natural hemagglutinins in Marine fishes.
I. C. N. A. F. Res. bull. n°4

CUSHING, J. E. et SPRAGUE, L. M. - 1952 - The agglutination of fish erythrocytes by normal human sera.
Biol. Bull. 103 (3) p. 328.

DRILHON, A. - FINE, J. M. - 1958 - Etude électrophorétique de quelques constituants sériques des poissons. Annales de l'Inst. Océano., tome XXXV, fasc. 2.

FINE, J. M. - EYQUEM, A. - MAILLOUX, M. - 1954 - Les hétéro-hémagglutinines dans le règne animal. Annales de l'Institut Pasteur, tome 87, p. 74.

GUTIERREZ, M. - 1967 - Estudios hematológicos en el atún, *Thunnus thynnus* (L).
Inmunología : grupos sanguíneos, eritrocitos y fitoaglutininas.
Invest. Pesquera. Esp. 31 - n°1, p. 137 - 143.

JAMIESON, A. - JONES, B. W. - 1967 - Two races of cod at faroe
Heredity, vol. 22, Part. 4, p. 610.

KEYVANFAR, A. - 1962 - Sérologie et immunologie de deux espèces de thonidés (*Germo alalunga*, Gmelin et *Thunnus thynnus*, Linné) de l'atlantique et de la méditerranée.
Rev. Trav. Inst. Pêches Maritimes, 26, (4), p. 407.

- LEE, J. Y. - 1962 - La sardine du Golfe du Lion (*Sardina ~~Pilchardus~~ pilchardus sardina*, Regan
ISTPM. Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de
Paris. 19. 6. 1962.
- MOLLER, D. - 1966 - Genetic differences between cod groups in the Lofoten area.
Nature, G. B. 212, n° 5064, p. 824.
- RIDGWAY, G. J. et KLONTZ, G. W. - 1960 - Blood types in Pacific salmon.
Bureau of Commercial Fisheries . U. S. Fish and Wild-life Service
Spec. Sci. Rep. Fish. n° 324.
- RIDGWAY, G. J. - 1966 - A complex blood group system in salmon and trout.
Xè Congrès ESABR p. 362 - 365.
- SINDERMANN, C. J. - MAIRS, D. F. - 1961 - A blood group system for spiny dogfish,
Squalus acanthias L.
Biol. Bull., vol. 120, n°3, p. 401.
- SINDERMANN, C. J. - HONEY - 1964 - Serum hemagglutinins of the winter skate *Raja*
ocellata (Mitchill), from the Western North Atlantic Ocean
COPEIA n° 1, p. 139 - 144.
- SPRAGUE, L. M. and VROOMAN, A. M. - 1962 - A racial analysis of the Pacific
Sardiné (*S. caerulea*) based on studies of erythrocyte antigens.
Am. N. Y. Acad. Sci. 97 p. 131, vol. 97, part. 1.
- SUZUKI et SHIMIZU - 1958 - Sérological studies of the races of tuna.
I. - The Fundamental investigations and the blood groups of albacore.
Rep. Nankai. Fish. Res. Labo. , 8, p. 104.
- VROOMAN, A. M. - 1964 - Serologically differentiated subpopulations of the Pacific
Sardine.
J. Fish. Res. Bd. Canada., vol. 21, n°4, p. 691.
-
- CHANDRASEKHAR, N. - 1959 - Multiple haemoglobins in fish. Nature n° 195, p. 1325.
- FINE, J. M. - URIEL, J. et FAURE, J. - 1956 - Etude électrophorétique en gélose
de diverses hémoglobines animales.
Bull. de la Soc. de Chimie Biologique., tome XXXVIII, n°4, p. 649.

- FRYDENBERG - MØLLER - NAEVDAL - SICK - 1965 - Haemoglobin polymorphism in Norwegian cod populations. - Hereditas 53 : 257 - 271.
- HASHIMOTO, K. et MATSUURA, F. - 1959 - Multiple haemoglobins in fish
Bull. Japan. Soc. Sc. Fish. vol. 24, n°9, p. 719.
- NAEVDAL, G. - 1966 - Haemoglobins in sprat from Norwegian water, studied by agar - gel electrophoresis.
I. C. E. S. Sardine Committee J 7
- SICK, K. - 1961 - Haemoglobin polymorphism in fishes.
Nature n° 192, p. 894.
- TSUYUKI - 1966 - Comparative electrophorégrams of hémoglobins and other fish proteins. Proceedings, 11 Pac. Sc. Congress. Fish - Marine and Fresh water Sc. TOKYO, vol. 7., p. 8.
- WILKINS, N. P. - ILES, T. D. - 1966 - Haemoglobin polymorphism and its ontogeny in herring (*Clupea harengus*) and sprat (*Spratus sprattus*).
Comp. Biochem. Physiol. 17. P. 1141 - 58.
-
- PIETTE, M. - MOULLEC, J. - FINE, J. - PARVANCHERE, N. - 1960 - Existence d'une phytohémagglutinine chez diverses espèces du genre ORNITHOGALUM (liliaceae). - Cr. Ac. Sc. Paris, 7 mars 1960.
- SAINT-PAUL, M. - 1961 - Les hemagglutinines végétales
Transfusion, tome IV, n°1.
- SINDERMAN - 1963 b; - Use of plant hemagglutinins in serological studies of clupeoid fishes.
Fishery Bull. U. S. Fish. Wildl. Serv.
- UTTER, M. - RIDGWAY, G. J. - HODGINS, H. O. - 1964 - Use of plant extracts in serological studies of fish. - Spec. Sci. Rep. Fish. (472).

DOCUMENTS DU CENTRE DE RECHERCHES OCEANOGRAPHIQUES

- 001 - MARCHAL, E.G. - Avril 1966
Fluctuations de la pêche des sardinelles en Côte d'Ivoire.
- 002 - REYSSAC, J. - Avril 1966
Le phytoplancton entre Abidjan et l'Equateur, pendant la saison chaude.
- 003 - REYSSAC, J. - Avril 1966
Quelques données sur la composition et l'évolution annuelle du phyto-
plancton au large d'Abidjan.
- 004 - MARCHAL, E.G. - Avril 1966
Teneur en matières grasses et teneur en eau chez deux clupéidés de Côte
d'Ivoire.
- 005 - MARCHAL, E.G. - Octobre 1966
Oeufs, larves et post-larves de l'anchois du Golfe de Guinée,
(*Anchoviella guinéensis*).
- 006 - TROADEC, J.P. - Octobre 1966
Observations sur la biologie et la dynamique des *Pseudotolithus senegalensis*
dans la région de Pointe-Noire.
- 007 - BERRIT, G.R. - Octobre 1966
Catalogue des données disponibles sur le milieu physique - (Secteur marin
d'Abidjan).
- 008 - BAUDIN-LAURENCIN, F.G. - Octobre 1966
Sur une amélioration concernant la numérotation des carrés statistiques
Marsden.
- 009 - BERRIT, G.R. - Octobre 1966
Les eaux dessalées du Golfe de Guinée.
- 010 - REYSSAC, J. - Décembre 1966
Diatomées et dinoflagellés des eaux ivoiriennes pendant l'année 1965 -
Variations quantitatives.
- 011 - TRADUCTION, Janvier 1967
Gulland, J.A., et Gadima E. Méthodes d'analyse des populations de poissons.
Chap. I: Mathématiques. - (trad. J.P. TROADEC).

- 012 - REYSSAC, J. - Janvier 1967
Note sur les variations nyctémérales des diatomées et dinoflagellés en deux points du littoral ivoirien.
- 013 - REYSSAC, J. - Février 1967
Diatomées et dinoflagellés récoltés par le navire "OMBANGO" dans les parages de l'île Annobon.
- 014 - MARCHAL, E.G. - Mai 1967
Clé provisoire de détermination des oeufs et larves des clupéidés et engraulidés ouest-africains.
- 015 - BAUDIN-LAURENCIN, F.G. - Mai 1967
La pêche de l'albacore dans la région nord-équatoriale du golfe de Guinée (entre Monrovia et le Cap Formose).
- 016 - BERRIT, G.R. - R.GERARD & L. VERCESI - Juin 1967
Observations Océanographiques exécutées en 1966 - I-Stations Hydrologiques.
- 017 - BERRIT, G.R. - GERARD, R. & VERCESI, L. - Janvier 1968
Observations Océanographiques exécutées en 1966
II. - Stations Côtières - Observations de Surface - et de Fond.
- 018 - BERRIT, G.R. - GERARD, R. & VERCESI, L. - Juin 1967
Observations Océanographiques exécutées en 1966
III. - Bathythermogrammes.
- 019 - MARCHAL, E.G. - Décembre 1967
La pêche des sardiniers ivoiriens en 1966.
- 021 - BAUDIN-LAURENCIN, F.G. - Avril 1968
Croissance et Age de l'Albacore du golfe de Guinée. - Etude Préliminaire -.
- 022 - LEMASSON, L. & REBERT, J.P. - Mai 1968
Observations de courants sur le plateau continental ivoirien mise en évidence d'un sous-courant.
- 023 - BARON, J.C. - Mai 1968
Note sur le sang de quelques poissons marins de Côte d'Ivoire.
(*Scomber japonicus*, *Coryphaena hippurus*, *Acanthocybium solandri*, *Euthynnus alleteratus*, *Tetrapturus* sp.)