

RÉPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

MINISTÈRE  
DE LA PRODUCTION ANIMALE

**CENTRE DE RECHERCHES  
Océanographiques**



Dble

J.-C. BARON

14 475

**ÉTUDE PRÉLIMINAIRE SUR LE SANG  
DE DEUX ESPÈCES DE SARDINELLES**

(*Sardinella aurita* C. V., *Sardinella eba* C. V.)

TRAVAIL RÉALISÉ DANS LE CADRE DU PROJET DE DÉVELOPPEMENT  
DE LA PÊCHE PELAGIQUE CÔTIÈRE

PROJET PNUD/SF - 288/IVC

F 12978

Document scientifique provisoire  
N° 029 — Novembre 1968

CENTRE DE RECHERCHES OcéANOGRAPHIQUES

---

ETUDE PRELIMINAIRE  
SUR LE SANG  
DE DEUX ESPECES DE SARDINELLES  
(*Sardinella aurita* C.V., *Sardinella eba* C.V.)

---

par  
J. C. BARON  
Océanographe Biologiste

---

~~ORSTOM Fonds Documentaire  
N° : 12978  
Cote : A 2/2~~

Document scientifique provisoire  
N° 029 - Septembre 1968  
Tir. : 200 exemplaires.

—oOo—

Nous sommes heureux d'exprimer ici nos vifs remerciements pour l'aide et les précieux conseils qu'ont bien voulu nous donner Madame le Docteur Luba PODLIACHOUK de l'Institut Pasteur de Paris et Monsieur le Docteur J. M. FINE du Centre de Transfusion sanguine de Paris.

Monsieur E. G. MARCHAL nous a initié à l'étude des sardinelles et nous a apporté avec sollicitude une aide constante au cours de nos travaux. Qu'il veuille trouver ici le témoignage de notre gratitude.

—oOo—

## RESUME

Cette étude préliminaire a permis de détecter certains antigènes erythrocytaires de sardinelles à l'aide de sérums de poissons, de lapin et plus particulièrement de sérums humains.

Les réactions d'agglutination observées à l'aide des différents sérums humains permettent de supposer la présence de cinq antigènes erythrocytaires dont les combinaisons autorisent, dans le cadre d'une hypothèse simple, un classement des globules rouges en onze types dont cinq au moins seraient communs à Sardinella eba et Sardinella aurita.

L'étude électrophorétique du sérum a révélé au moins 14 fractions protéiniques chez *S. aurita* et 15 chez *S. eba* et souligné la possibilité d'un polymorphisme au niveau des  $\beta$  globulines.

Trois lipoprotéines importantes ont été détectées chez *S. eba*.

L'électrophorèse de l'hémoglobine révèle 2 composants.

---

## S U M M A R Y

This preliminary study allowed us to detect some *Sardinella*'s erythrocyte antigens by using fish and rabbit blood serums, and human blood serums in particular.

The agglutination reactions noticed when using the different human blood serums let us suppose the presence of five erythrocyte antigens. Their combinations permit, in the frame of a simple hypothesis, an erythrocytes classification i. e. eleven types among which at least five would be common to *Sardinella eba* and *Sardinella aurita*.

The electrophoretic study of blood serum showed no less than 14 proteinic fractions for *Sardinella aurita* and 15 for *Sardinella eba*. This study outlined also the possibility of polymorphism at the level of  $\beta$  globulins!

Three important lipoproteins have been detected in *Sardinella eba*.

The haemoglobin electrophoresis shows two components.

# S O M M A I R E

## 1. - INTRODUCTION

## 2. - MATERIEL

- 2. 1. - Les sardinelles étudiées
- 2. 2. - Prélèvement du sang
- 2. 3. - Prélèvement du sérum
- 2. 4. - Prélèvement des globules rouges
- 2. 5. - Obtention de l'hémoglobine
- 2. 6. - Obtention d'extraits végétaux.

## 3. - TECHNIQUES

- 3. 1. - Recherche d'antigènes érythrocytaires
- 3. 2. - Immunisation de lapins par des globules rouges de sardinelles
- 3. 3. - Analyses électrophorétiques.
  - 3. 3. 1. - Sur papier
  - 3. 3. 2. - En gel d'agarose
  - 3. 3. 3. - En gel d'amidon

## 4. - RESULTATS

### 4. 1. - *Sardinella aurita*

- 4. 1. 1. - Recherche d'Antigènes érythrocytaires
  - 4. 1. 1. 1. - Introduction
  - 4. 1. 1. 2. - Résultats obtenus avec le 1<sup>o</sup> lot
  - 4. 1. 1. 3. - Résultats obtenus avec le 2<sup>o</sup> lot
  - 4. 1. 1. 4. - Résultats obtenus avec le 3<sup>o</sup> lot
  - 4. 1. 1. 5. - Conclusion!
- 4. 1. 2. - Etude électrophorétique des protéines sériques
  - 4. 1. 2. 1. - Electrophorèse sur papier
  - 4. 1. 2. 2. - Electrophorèse en gel d'Agarose
  - 4. 1. 2. 3. - Electrophorèse en gel d'Amidon
  - 4. 1. 2. 4. - Conclusion!
- 4. 1. 3. - Etude électrophorétique de l'hémoglobine.

4. 2. - Sardinella eba

4. 2. 1. - Recherche d'antigènes érythrocytaires

4. 2. 1. 1. - Introduction

4. 2. 1. 2. - Résultats obtenus avec le lot 5

4. 2. 1. 3. - Résultats obtenus avec le lot 6

4. 2. 1. 4. - Conclusion

4. 2. 2. - Etude électrophorétique des protéines sériques

4. 2. 2. 1. - Electrophorèse en gel d'Agarose

4. 2. 2. 2. - Electrophorèse en gel d'Amidon

4. 2. 3. - Etude électrophorétique de l'hémoglobine

5. - BIBLIOGRAPHIE

Deux espèces de sardinelles jouent un rôle économique important en Côte d'Ivoire : Sardinella aurita C. V. et Sardinella eba C. V. Ces deux espèces sont largement pêchées et ont fait l'objet de nombreuses publications de MARCHAL, E. G. (18 à 22) sur leur oeufs et larves, leur teneur en matière grasse et leur pêche par la flotille des sardiniers ivoiriens. Des observations portant sur plusieurs années et de nombreuses mesures ont amené MARCHAL, E. G. à considérer l'existence probable de races différentes chez ces deux espèces. Or, comme le dit STERN "c'est une chose de reconnaître l'existence de diversités raciales et une autre de les définir génétiquement" cité par MARR, J. C. et SPRAGUE, L. M. (24). Un des moyens récents employés avec succès est l'étude des groupes sanguins "qui offrent l'avantage d'avoir une base génétique et qui donnent lieu à des calculs statistiques simples"(24)!

Chez le thon (35), le hareng de l'atlantique (32) et la sardine du pacifique (34) ces études ont donné des résultats concluants qui nous ont poussé à entreprendre une étude similaire.

Nous avons commencé à explorer le domaine des extraits végétaux qui ont déjà quelques succès à leur actif comme le "système" sanguin B de Katsuwonus pelamis qui comprend un facteur (facteur E) agglutiné par des extraits de graines de Virgilia sp.; chez ce même poisson d'autres facteurs sont connus : facteur A agglutiné par des extraits de Glycine max, facteur D par des extraits de Phaseolus vulgaris, facteur F par Carangana arborescens (35). Chez Thunnus thynnus, GUTIERREZ M. (13) classe les érythrocytes en cinq types d'après leur agglutination par des extraits de Cistus albidus, Pisum sativum et Phalaris canariensis. Enfin Phaseolus limensis détecte l'antigène C chez le hareng (32).

Nous avons entrepris l'immunisation de lapins avec des globules rouges de sardinelles afin d'obtenir des immunosérums susceptibles de détecter des antigènes érythrocytaires comme ce fut le cas pour Salmo aguabonita et S. gairdneri (3).

) Nous utiliserons d'autres animaux ultérieurement, les immunosérums de bétail, de poule et de canard s'étant révélés très utiles dans l'étude des races de Sardinops caerulea (34).



Les sérums de plusieurs poissons ont été utilisés, certains pourraient être très utiles comme nous l'avons déjà remarqué dans un travail précédent. (1). Mais nous avons principalement orienté cette étude sur le groupage possible que pourrait offrir un matériel bien connu, bien stable et inépuisable : le sérum humain. Rappelons que WILKINS, N. P. a détecté 3 antigènes erythrocytaires chez Gadus morhua en utilisant les sérums humains de sujets des groupes AB, A et B (39) KRAJNOVIC, M. utilise les sangs humains A et B avec succès dans l'étude de Clupea pilchardus de l'Adriatique (14); CALAPRICE, J. R. et CUSHING, J. E. (3) agglutinent les globules rouges de Salmo aguabonita, S. gairdneri, S. clarkii henshawi et Savelinus fontinalis par les sérums humains de sujets des groupes A et B. Par contre les globules de Salmo trutta ne sont pas agglutinés par ces sérums.

Rappelons enfin les importants travaux de LEE, J. Y. (16 et 16') sur les thons et les sardines de la méditerranée, travaux aux cours desquels le sang humain a été utilisé avec succès.

Cette étude n'est qu'un début, elle sera poursuivie dans le même esprit mais aussi améliorée par de nouveaux moyens tels que la recherche d'agglutinines dans le sérum de sardinelles (chez Neothunnus macropterus il existe une agglutinine des globules humains A), l'obtention d'un immunsérum anti-sérum de sardinelles (l'emploi d'adjuvant de Freund suppléant à la faible quantité de sérum disponible) l'utilisation de gel de polyacrylamide pour l'électrophorèse, cette technique ayant donné des résultats satisfaisants avec le sérum de plusieurs poissons (37). Enfin le succès rencontré tout récemment par l'étude des enzymes chez les poissons (23) Pleuronectes flesus et P. platessa (17) Clupea harengus (25) Gadus morhua (25) Katsuwonus pelamis (10) ainsi que les succès en cours (Ridgway G. J. communication personnelle) nous autorisent à inscrire cette étude en priorité au cours de l'année à venir.

2. - M A T E R I E L2. 1. - Les sardinelles étudiées

Les divers renseignements concernant la provenance du poisson sont résumés dans le tableau I.

DATE	LIEU DE CAPTURE	MOYEN DE CAPTURE	LIEU DU PRELEVEMENT	ESPECES
Mars 1967	Port-Bouët	Vivier de Thonier	au quai	S! aurita
24 mai 1967	"Trois cocotiers"	Sardinier "Margarita"	en mer	S! aurita
25 novembre 1967	Port-Bouët	Sardinier + vedette Licorne	au quai	S! aurita S! eba
16 janvier 1968	GHANA	Reine Pokou(chalut)	en mer	S! aurita S! eba
17 avril 1968	"Trois villages"	Sardinier "Bingo"	en mer	S! aurita S! eba
29 août 4 septembre 1968	Téna (Ghana)	Sardinier + "Safro"	en mer et au port	S! aurita S! eba

TABLEAU I. Provenance du poisson.

2. 2. - Prélèvement du sang :

Le sang a été prélevé soit en introduisant une pipette stérile coupée et très courte dans le bulbe cardiaque qui pulse alors le sang dans la pipette, soit par section en avant du bulbe le sang étant alors projeté directement dans un tube stérile.

Le prélèvement par aspiration dans l'aorte caudale après section de la queue a été écarté pour les risques de pollution qu'il présente : liquide suintant des chairs, déchirure possible de l'aorte lors de l'introduction de

la pipette dans le canal hémal. La ponction par microseringue s'est révélée peu pratique, la coagulation du sang étant très rapide. Nous avons constaté que si les sangs de plusieurs sardines étaient prélevés dans le même tube, il n'y avait pas formation de vrai caillot et le sérum obtenu n'est jamais exempt d'hémoglobine. Le sang est conservé en glacière de 1 à 4 jours avant d'être centrifugé; celui de *S. aurita* se conserve beaucoup mieux que celui de *S. eba*.

#### 2. 3! - Prélèvement du Sérum :

Les échantillons pris sans anticoagulant sont mis au repos pour permettre au caillot de se former.

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. Nous avons observé que les sérums noircissaient au bout de quelques mois, plus vite pour ceux contenant de l'hémoglobine et plus vite pour *S. eba* que pour *S. aurita*.

#### 2. 4! - Prélèvement des globules rouges :

Pour l'étude des antigènes érythrocytaires les prises de sang ont été faites sur solution d'Alsever (glucose 20,5 g - Na Cl 6,5 g - Citrate de soude 8 g, eau distillée 1 litre. Le pH est ajusté à 7 avec de l'acide citrique ou de la soude). Cette solution nous a donné entière satisfaction et a permis la conservation des globules pendant plusieurs jours.

Les globules sont lavés avec cette solution jusqu'à ce que le surnageant soit clair et utilisés immédiatement à une concentration de 3%.

#### 2. 5! - Obtention de l'hémoglobine :

Un culot globulaire de 1 volume est lysé par cinq volumes d'eau distillée. Après 15 minutes de centrifugation à vitesse maximum (3.000 t/mm) la solution d'hémoglobine est prélevée et utilisée immédiatement.

2. 6. - Obtention d'extraits végétaux :

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

2. 6. 1. - Extraits de 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 une heure à 37° la préparation est centrifugée à 3000 t/mn pendant 20 mn. Le surnageant est prélevé pour constituer le premier extrait que nous appellerons  $\phi$  1 et qui sera utilisé tel quel.

Une partie de cet extrait est purifiée en ajoutant un volume d'alcool éthylique (95°) à trois 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  $\phi$  2.
- un surnageant que l'on précipite par deux 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  $\phi$  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, et des graines entières d'Acacia (Cassia siamea, Caesalpiniciacées).

2. 6. 2. - Extraits de fruits.

La pulpe des fruits est broyée, mise à macérer dans un 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.

2. 6. 3. - Numérotation des extraits :

- 1 - extrait  $\phi$  1 des enveloppes des graines de flamboyant
- 2 - extrait  $\phi$  1 des cotylédons des graines de flamboyant
- 3 - extrait  $\phi$  2 des cotylédons des graines de flamboyant
- 4 - extrait  $\phi$  3 des cotylédons des graines de flamboyant
- 5 - extrait  $\phi$  1 des graines entières d'Acacia
- 6 - extrait  $\phi$  2 des graines entières d'Acacia
- 7 - extrait d'arachide ( simple broyage)
- 8 - extrait de banane ( simple broyage)
- 9 - extrait de pulpe de mangue (simple broyage)
- 10 - extrait d'amandes de mangue(simple broyage).

### 3. - TECHNIQUES

#### 3. 1. - Recherche d'antigènes erythrocytaires :

L'étude est effectuée par la méthode d'agglutination en tube (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.

Le degré de l'agglutination constatée est évalué de la façon suivante :

- 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 incontestable en plusieurs agglutinats.
- les chiffres 2 et 1 indiquent une agglutination très faible ou douteuse.
- un tiret (-) : aucune agglutination, réaction négative.

Nous avons arbitrairement considéré comme négatifs dans les interprétations les agglutinations  $\leq 2$ .

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.

REMARQUE :

Pour plus de commodité dans la lecture du texte nous avons employé les lettres  $\alpha$  et  $\beta$  pour désigner les hémagglutinines humaines dont l'action est identique à l'anti A et à l'anti B. Dans un prochain travail les sérums humains seront absorbés par des globules A et B de façon à identifier ou non  $\alpha$  et  $\beta$  à l'anti A et à l'anti B.

3. 2. - Immunisation de lapins par des globules rouges de sardinelles.

3. 2. 1. - Premier essai :

Le receveur est un lapin femelle de neuf mois ayant eu quatre lapereaux à six mois et demi et ayant reçu du cunivaccin et du gluconate de Ca. La suspension injectée était formée par un volume de stroma globulaires récupérés sur les pseudo-caillots de 600 sangs mélangés de *S. aurita* du 31 janvier 1968 dans un volume d'eau physiologique additionnée de merthiolate.

Calendrier des injections :

1 <sup>er</sup>	jour	0,8 ml	IV	(intra-veineux)
3 <sup>es</sup>	jour	0,8 ml	IV	
6 <sup>es</sup>	jour	0,8 ml	IV	
8 <sup>es</sup>	jour	0,8 ml	IV	
12 <sup>es</sup>	jour	0,8 ml	IV	
14 <sup>es</sup>	jour	1,5 ml	IV	
16 <sup>es</sup>	jour	1 ml	IV	

repos jusqu'au 24<sup>es</sup> jour

Rappel le 25<sup>es</sup> jour 2 ml IV

Décès le 26<sup>es</sup> jour.

REMARQUE :

Dès la troisième injection l'animal semblait être dans un état de stress.

3. 2. 2. - Deuxième essai :

Un receveur est un lapin mâle de quatre mois, vacciné au cuni-vaccin. La suspension injectée est formée par des globules rouges de *S. aurita* (17. 04. 68) à 50% en eau physiologique.

Calendrier des injections :

1<sup>è</sup> jour 1 ml IP  
3<sup>è</sup> jour 1 ml IV  
5<sup>è</sup> jour 1 ml IV  
7<sup>è</sup> jour 1 ml IV  
10<sup>è</sup> jour 1 ml IV  
11<sup>è</sup> jour 1 ml IV  
13<sup>è</sup> jour 2 ml IV  
15<sup>è</sup> jour 1 ml IV (derniers globules)

Repos jusqu'au 21<sup>è</sup> jour

22<sup>è</sup> jour prise de sang 8 ml.

Un autre receveur (femelle de cinq mois) a reçu des injections similaires de globules rouges de *S. eba* (17 avril 1968). Après quatre mois de repos trois injections de globules rouges de *S. eba* en provenance de Tema ont été pratiquées à trois jours d'intervalle.

1<sup>è</sup> injection 2 ml IV  
2<sup>è</sup> injection 2 ml IP  
3<sup>è</sup> injection 1,5ml IV

Saignée après huit jours de repos.

3. 3. - Analyses électrophorétiques :

3. 3. 1. - Sur papier

Le papier utilisé est du papier Arches n° 304 en bandes de 40 cm x 2,5 cm et les tampons sont des tampons véronal de pH = 8,2 ou pH 8,6 (véronal sodé = 22,2g HCl N 32,4 ml - eau distillée : 2 litres).



Le voltage est de 150 volts et l'intensité de 1 à 1,5 milliampères par bande pour des durées variant de 4 h 15 à 9 h 30. Les meilleures migrations ont été obtenues pour un pH = 8,2 et une durée de 9 h à 150 volts. Après électrophorèse les bandes sont séchées à l'étuve à 80° pendant 15 minutes; colorées au Noir Amido 10 B, décolorées, puis rendues transparentes dans un bain de vaseline avant d'être analysées au photomètre.

### 3. 3. 2. - En gel d'Agarose

#### 3. 3. 2. 1. - Matériel

Nous avons utilisé deux 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 utilisé à une concentration de 1,5% avec le tampon de Hirschfeld, tampon véronal de pH = 8,4 (véronal 3,32 g - Véronal sodé 21,02 g - Lactate de Ca 3,07 g - eau distillée = 3 litres).

Le tampon des bacs donne un système discontinu avec le tampon du gel (véronal 6,9 g - véronal sodé 43,8 g - Lactate de Ca 1,92 g et 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 au Noir Amido 10 B.

Les enregistrements photométriques sont effectués par un photomètre JOUAN.

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

#### 3. 3. 2. 1. - Technique :

Le gel est coulé sur une plaque de verre de 15 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. L'électrophorèse se déroule dans un frigidaire à température constante.

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

### 3. 3. 3. - En gel d'amidon :

#### 3. 3. 3. 1. - Matériel

Nous avons utilisé de l'amidon hydrolysé Connaught concentré à 11 ou 12% avec le tampon discontinu de Poulik.

tampon pour le gel	{	Trishydroxyméthyl aminométhane	92 g
		Acide citrique	10,5g
		Eau distillée q. s. p. f.	10 litres

tampon pour les bacs	{	Acide borique	37,2 g
		Na OH (pastilles)	4,86g
		Eau distillée q. s. p. f.	2 litres

Les moules à gel et les cuves sont fabriqués par Apelab.

Les contacts sont assurés par du papier COFRAM C3 et les protéines sont colorées au Noir Amido 10 B.

#### 3. 3. 3. 2. - Technique :

Nous avons utilisé la technique décrite par J. M. FINE(9). Le gel est coulé dans un moule par dessus les contacts en papier, et refroidi au frigidaire. Les réservoirs sont pratiqués à l'emporte pièce et le sérum à étudier est mélangé en partie égale avec de l'amidon soluble à 22% avant d'y être déposé. Les réservoirs sont recouverts d'une lamelle pour microscope et le gel d'une plaque de plexiglass. La migration s'effectue à température constante dans

un frigidaire. Une tension d'environ 6V/cm est appliquée pendant 5 à 8 heures. Après l'électrophorèse le gel est coupé dans son épaisseur et coloré. Après décoloration il est trempé dans un bain d'acide acétique (5%) et de glycérol (5%) et plastifié à la chaleur (12) !

4. - R E S U L T A T S

4. 1. - Sardinella aurita.

4. 1. 1. - Recherche d'Antigènes érythrocytaires :

4. 1. 1. 1. - Introduction :

Cette étude a été effectuée principalement sur trois lots de sardines.

Le premier lot est constitué par des sardinelles chalutées par les fonds de 63 mètres au Sud - Est du Cap des Trois Pointes à environ 18 milles au large (1°49'W - 4°32'N) le 16 janvier 1968. Ces sardinelles mesuraient environ 12 cm et étaient immatures. Les sangs prélevés dans chaque tube provenaient de 10 à 20 individus et donnaient de 1 à 2 ml de sangs mélangés. Environ 600 sardinelles furent saignées de cette façon. Les tubes furent stockés de un à trois jours à + 4° avant que le sérum (très hémolysé) ne soit prélevé. Dix neuf ponctions individuelles ont été effectuées, une partie des globules rouges donnèrent lieu le jour même à des réactions d'agglutination. L'autre partie fut lysée par de l'eau distillée afin d'en extraire l'hémoglobine.

Les sangs mélangés ne formèrent pas de vrai caillot et les agglomérats de globules furent lavés à l'eau physiologique, débarassés des quelques caillots épars et mis en suspension concentrée avec de l'eau physiologique. Ces stromas globulaires ont été utilisés pour immuniser un lapin.

Le deuxième lot a été pêché par un sardinier par les fonds de 16 à 26 mètres à environ 3 milles à l'Ouest du Canal de Vridi et en face des "Trois villages" le 17 avril 1968. Ces sardinelles mesuraient toutes environ 16 cm. Le sang de 23 individus a servi pour cette étude. Une grande partie des globules rouges ont servi à l'immunisation d'un lapin.

Le troisième lot est constitué par 9 *S. aurita* pêchées à Tema le 4 septembre 1968. Ces *S. aurita* se trouvaient mélangées dans un lot de 173 *S. eba*, elles mesuraient environ 22 cm et pesaient environ 150 g. Toutes étaient des femelles prêtes à pondre (stade 6).

Un quatrième lot constitué de 4 sardinelles de 21 cm, rapportées par la Licorne le 25 novembre 1967 a donné lieu à des essais d'isotonicité des globules rouges avec des solutions de Na Cl de 8 à 16‰ (11). Une solution de 9 à 10 ‰ semble convenir. Les réactions croisées entre les globules rouges et les 4 sérums n'ont pas révélé d'isoagglutinines.

4. 1. 1. 2. - Résultats obtenus avec le premier lot :

De nombreux poissons possèdent des hémagglutinines naturelles (6) et nous avons testé les globules par les sérums de quatre poissons (*Tetrapturus*, coryphène, anchois, *Acanthocybium*) ainsi que par les sérums de trois mammifères (homme, vache et lapin).

Le tableau II résume les résultats obtenus. A l'aide de ces résultats il est possible de différencier quatre sortes de globules rouges parmi les dix neuf testés, selon qu'ils sont ou non agglutinés par le sérum humain d'un sujet du groupe O ou le sérum de lapin n°5 et selon qu'ils sont ou non agglutinés par les sérums d'*Acanthocybium*.

1° - Globules non agglutinés par le sérum humain (Africain O)

- a) non agglutinés par le sérum de lapin (n°5) ..... type I
- b) agglutinés par le sérum de lapin (n°5) ..... type IV

2° - Globules agglutinés par le sérum humain (Africain O)

(ainsi que par le sérum de vache et de Tétrapturus)

- a) globules non agglutinés par le sérum d'*Acanthocybium* .. type II
- b) globules agglutinés par le sérum d'*Acanthocybium* ..... type III

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

GR	2	4	6	8	9	12	13	14	15	17	19	1, 3, 5, 7,10,11, 16,18	
SERUMS													
Humain de sujet 0	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Négatif	
Vache 7 J	1	1	1	X	X	X	3	3	X	2	X		
Lapin 5	-	-	1	-	-	-	X	-	-	-	-		
Tetrapturus	3	X	2	X	X	X	1	3	3	X	X		
Coryphène C5	2	-	1	X	X	-	-	-	-	-	-		
Anchois (pool)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Acanthocybium	1	-	1	-	X	X	X	-	-	-	X		X
	3	-	1	-	4	4	X	-	2	2	2		X
	4	1	-	-	4	1	-	-	-	2	-		
	5	1	-	-	4	1	X	-	-	-	X		1
Remarques		H	H	H				H	H	H	H	hémolysés	

TABLEAU II - Réactions d'agglutination des globules rouges de *S. aurita* du 16 janvier 1968 (premier lot).

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

TABLEAU III - Répartition des globules rouges de *S. aurita* du 16 janvier 1968.

GR		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
SERUMS																										
Humains de sujets	0	4	4	x	x	4	x	x	x	x	x	4	4	4	4	4	3	4	4	4	x	x	4	4		
	A	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-		
	B	x	4	4	4	4	3	x	x	x	3	3	3	-	-	-	4	3	3	-	3	3	4	-		
	AB	4	4	4	3	3	4	4	4	4	3	4	3	-	-	2	-	2	-	-	-	3	3	4	-	
Lapin	2	-	3	3	2	4	4	-	-	-	4	4	4	4	4	4	4	-	-	4	-	3	2	-		
	5	2	4	3	4	x	-	x	x	x	x	x	x	-	x	x	x	-	-	x	-	4	3	-		
Tetrapturus		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	4	4	4	4	x	x	x	x	x	-		
Acanthocybium	1	3	4	2	2	2	3	3	3	-	3	3	2	2	-	-										
	3	x	x	x	x	4	2																			
	6	4	4	2	3	3	3	3	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-	
	8	-	-	-	2	4	4	4	4	3	4	3	1	2	1	4	4	4	4	-	4	1	1	1		
	9								4	4	-	2	1	1	1	3	3	1	4	4	2	4	1	1	-	
	12	x	x	x	x	x	4	x	x	x	x	x	4	x	x	x	x	x	x	x	x	4	x	x	3	
13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	4	x	x	x	4	x	x	x	4	x	x	x			
Coryphène	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	
	12	-	-	-	2	-	-	-	2	2	2	-	1	1	1	1	-	-	-	1	-	1	1	-		
	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	-	1	-	1	-	-		
Phytoagglutinines	1	Négatif																								
	2																									
	3																									
	4																									
	5																									
	6																									
8																										
10																										
M: Globules dénat- turés, marrons:	7	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M		
	9	M	M	M	M	M	M	-	2	-	2	-	-	4	-	4	4	M	M	4	-	M	M	M		

TABLEAU IV -- Réactions d'agglutination des globules rouges de *Sardinella aurita* du 17 avril 1968. (2° lot)

4. 1. 1. 3. - Résultats obtenus avec le deuxième lot :

Les globules ont été testés par des sérums humains de sujets des groupes O, A, B, AB, de lapins (n° 2 & 5) et de poissons (Tetrapturus, Acanthocybium et coryphène). Dix extraits végétaux ont donné lieu à la recherche de phytoagglutinines. L'extrait d'arachide dénature les globules; l'extrait de pulpe de mangue agglutine quelques globules. Tous les autres extraits donnent des résultats négatifs (voir au paragraphe 2. 6.).

Le tableau IV donne l'ensemble des résultats. Vis à vis des sérums humains les résultats peuvent se résumer de la façon suivante (Tableau V)

Sérums Humains	Réactions		
anti A, anti B de sujet O	+	+	+
anti B, de sujet A	-	-	-
anti A, de sujet B	+	+	-
de sujet AB	+	-	-
Nombre de globules	14	4	5

TABLEAU V - Agglutination des globules du deuxième lot par les sérums humains.

4. 1. 1. 3. 1. - Groupage basé sur le sérum humain seul :

Seuls les sérums humains de sujets des groupes O, B et AB possèdent des hémagglutinines vis à vis des globules rouges des *S. aurita* du deuxième lot. Comme hypothèse de travail posons :

- L'hémagglutinine humaine anti B ( $\beta$ ) ne joue pas de rôle important dans le groupage sanguin des globules rouges de *S. aurita*.
- Trois agglutinines humaines entrent en jeu : l'une dont l'action est identique à l'anti A ( $\alpha$ ) et deux inconnues x et y (Tableau VI)



Serums humains de sujets				
Agglutinines	O	A	B	AB
$\alpha$	+	-	+	-
x	-	-	-	+
y	+	-	-	-

TABLEAU VI - Agglutinines des sérums humains actives sur les globules du deuxième lot.

→ Trois antigènes A, X et Y correspondraient aux trois agglutinines.

On peut alors classer les globules en trois types selon qu'ils portent ou non les différents antigènes (fig. 1) et calculer le pourcentage respectif de chaque type (Tableau VII)

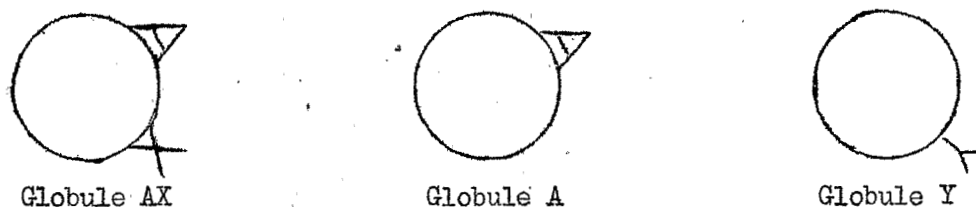


Fig. 1 - Représentation schématique des trois sortes de globules du lot n° 2.

Types de globules	AX	A	Y
Numéro des globules	1 à 11 20, 21, 22	12, 16, 17 18	13, 14, 15, 19, 23
Total	14	4	5
Pourcentage	60,8	17,4	21,8

TABLEAU VII - Répartition des différents types de globules rouges de *S. aurita* du 17 avril 1968.

4. 1. 1. 3. 2. - Autres groupages possibles :

En tenant compte des sérums des lapins il est possible de différencier encore les globules rouges de *S. aurita* selon qu'ils sont agglutinés (L+) ou non (L-) par les sérums de lapin (Tableau VIII). Notons que le globule 23 est le seul à ne pas être agglutiné à la fois par les sérums de lapin et le sérum de *Tétrapturus*.

Types de globules	A		AX		Y	
	L-	L+	L-	L+	L-	L+
Numéro des globules	17, 18	12, 16	1, 20	2 à 11 21, 22	23	13, 14 15, 19
Total	2	2	2	12	1	4

TABLEAU VIII - Agglutination des globules par le sérum de lapin.

Les sérums d'*Acanthocybium* enfin donnent lieu à des agglutinations différenciées. Si l'on écarte les sérums 12 à 13 qui agglutinent tous les globules il est possible de classer les globules de *S. aurita* selon qu'ils sont agglutinés par 1, 2, 3 ou 4 sérums d'*Acanthocybium*.

4. 1. 1. 4. - Résultats obtenus avec le troisième lot :

Les globules ont été testés par des sérums humains de sujets des groupes O, A, B et AB et par un immunosérum de lapin anti-globules rouges de *S. aurita*. Le résumé des agglutinations est donné par le tableau X.

Si l'on écarte l'hypothèse d'un rôle joué par l'hémagglutinine humaine anti B ( $\beta$ ), nous pouvons considérer que le sérum humain A possède une agglutinine active appelée provisoirement w. Trois agglutinines humaines entrent alors en jeu : l'une identique à l'anti A ( $\alpha$ ) et deux inconnues x (déjà vue) et w. (Tableau IX)

Serums humains de sujets Agglutinines	O	A	B	AB
$\alpha$	+	-	+	-
x	-	-	-	+
w	-	+	-	-
( $\beta$ )	(+)	(+)	(-)	(-)

TABLEAU IX -- Agglutinines des sérums humains actives sur les globules du troisième lot.

-- Trois antigènes A, X et W correspondraient à ces trois agglutinines.

On peut alors classer les globules en trois types selon qu'ils portent ou non les différents antigènes (fig. 2)

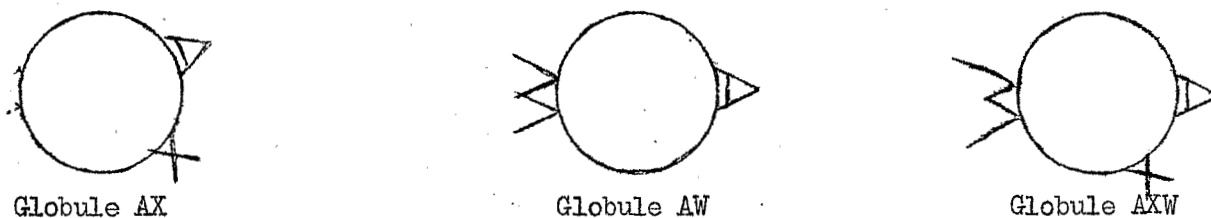


Fig. 2 -- Représentation schématique des trois sortes de globules du lot n°3.

Sérums Humains	R é a c t i o n s		
Anti A anti B de sujet O	+	+	+
Anti B de sujet A	-	+	+
Anti A de sujet B	+	+	+
de sujet AB	+	-	+
IS a. GR. S. a.	+	-	+
Nombre de GR	2	1	6
Types de GR	AX	AW	AXW

TABLEAU X -- Agglutination des globules du troisième lot par les sérums humains.

REMARQUE :

Il faut noter que le seul globule non agglutiné par l'immunsérum anti GR de *S. aurita* est celui qui dans notre hypothèse ne possède pas l'antigène X.

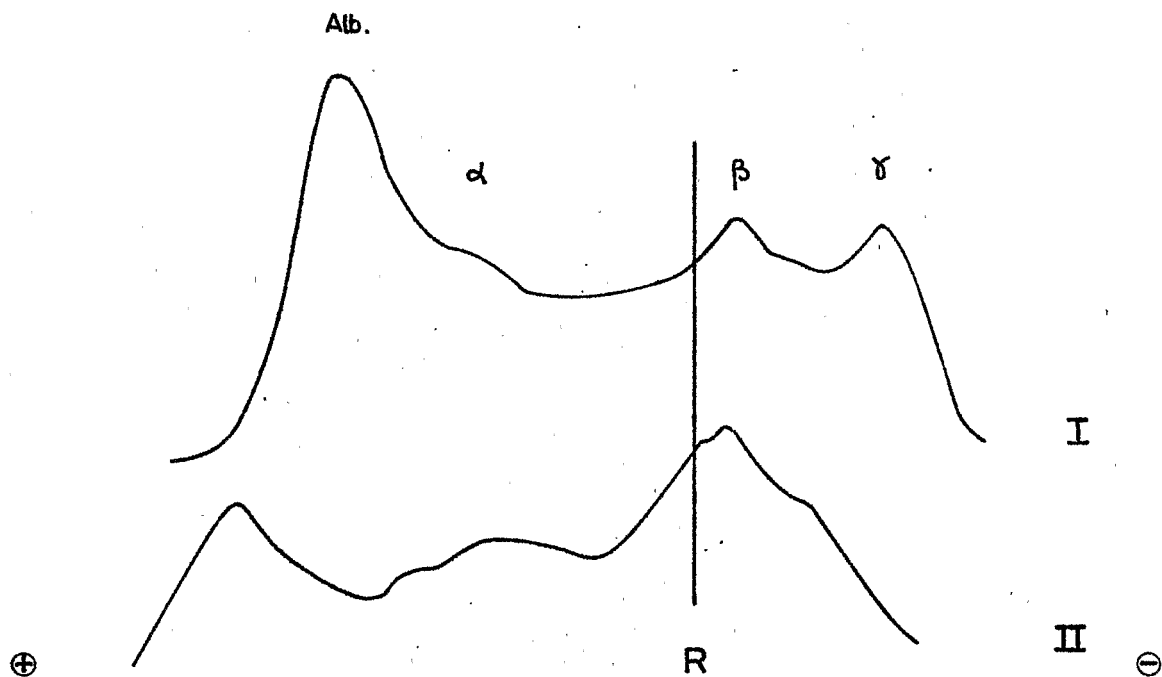
4. 1. 1. 5. - Conclusion :

Il semble que l'emploi du sérum humain pour l'étude des groupages sanguins de Sardinella aurita puisse déboucher sur des résultats concluants comme c'est le cas selon KRAJNOVIC, M. (14) pour Clupea pilchardus du nord de l'Adriatique. Le nombre d'antigènes érythrocytaires détectés semble être assez restreint et leurs combinaisons devraient être peu nombreuses et permettre une étude génétique valable. Le trop petit nombre de globules étudiés ici ne nous permet cependant pas de conclure.

En nous basant sur le deuxième lot nous avons adopté une hypothèse de travail selon laquelle l'hémagglutinine humaine anti B ( $\beta$ ) ne joue pas de rôle. En fait trois globules de ce lot ont donné des agglutinations très faibles notées "2" avec le sérum humain d'un sujet du groupe A. Dans le troisième lot il serait plausible que  $\beta$  joua le rôle agglutinant et dans ce cas il conviendrait de choisir entre w et  $\beta$ . La présence d'agglutinines spécifiques des groupes O ( $\gamma$ ), A (w) et AB (x) vis à vis des globules de *S. aurita* a permis d'expliciter toutes les combinaisons d'agglutination constatées. Il est logique de prévoir une agglutinine spécifique du groupe B que nous appellerons Z. Dans ce cas les globules A du deuxième lot pourraient porter les antigènes A et Z.

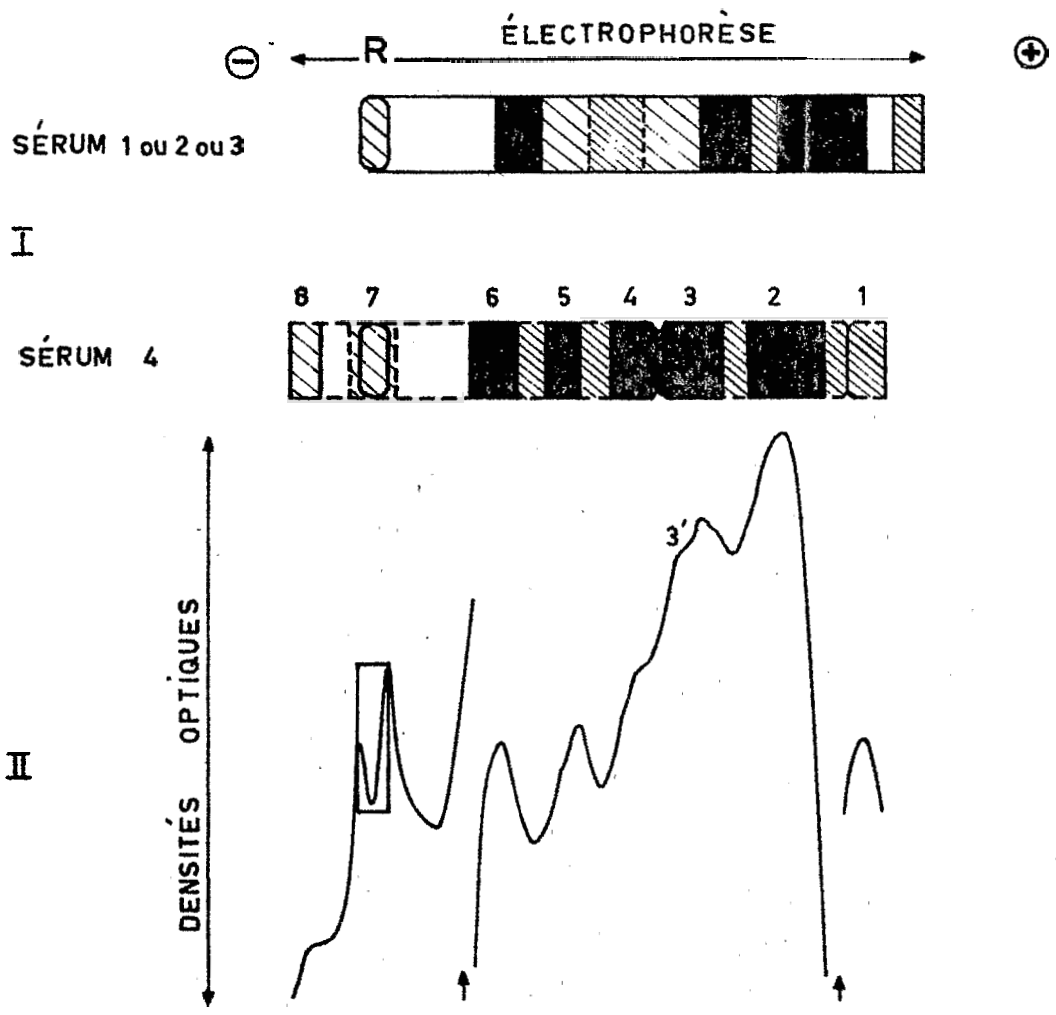
Notons enfin que nous avons éliminé de nombreuses combinaisons d'antigènes pour ne garder que les plus simples obtenues en ignorant les agglutinines  $\gamma$ , z et  $\beta$  chaque fois que la présence de  $\alpha$  et w suffisaient à justifier une agglutination. Dès qu'une étude génétique sera possible, sur un grand nombre d'individus, un choix sera fait dans les combinaisons. Rappelons ici que l'absorption des sérums humains par des globules humains A et B sera effectuée dans un prochain travail.

Les différences constatées entre les *S. aurita* prises près d'Abidjan (lot 2) et les *S. aurita* pêchées à Téma (Ghana) sont nettes sur le petit nombre d'individus étudiés.



COURBES PHOTOMÉTRIQUES DE SÉRUM HUMAIN (I) ET D'UN MÉLANGE DE SÉRUMS DE SARDINELLA aurita pêchées le 28\_2\_1967 (II).

Électrophorèse sur Papier Arches 304 . Tampon Véronal pH = 8,6 - 8h à 150 V.



ÉLECTROPHORÉGRAMME (I) ET COURBE PHOTOMÉTRIQUE (II) DE SÉRUMS DE SARDINELLA aurita .DU 25 .11. 1967 \_ GEL D'AGAROSE FLUKA 1,5 % . TAMPON DE HIRSCHFELD pH = 8,4 \_ 3h15 A 150 VOLTS. ( les deux flêches indiquent les changements de sensibilité du photomètre indispensables à la lecture des faibles densités optiques ).

#### 4. 1. 2. - Etude électrophorétique des protéines sériques

##### 4. 1. 2. 1. - Electrophorèse sur papier :

Nous avons utilisé un mélange de sérums de *S. aurita* prises dans le vivier d'un thonier dont l'appât provenait de Port-Bouët (mars 1967). Le graphique de la planche I nous montre une albumine de migration plus rapide que l'albumine humaine.

Deux fractions de mobilités comparables aux  $\alpha$  et aux  $\beta$  globulines humaines sont bien individualisées alors que les protéines de mobilité  $\gamma$  ne donnent pas de pic distinct.

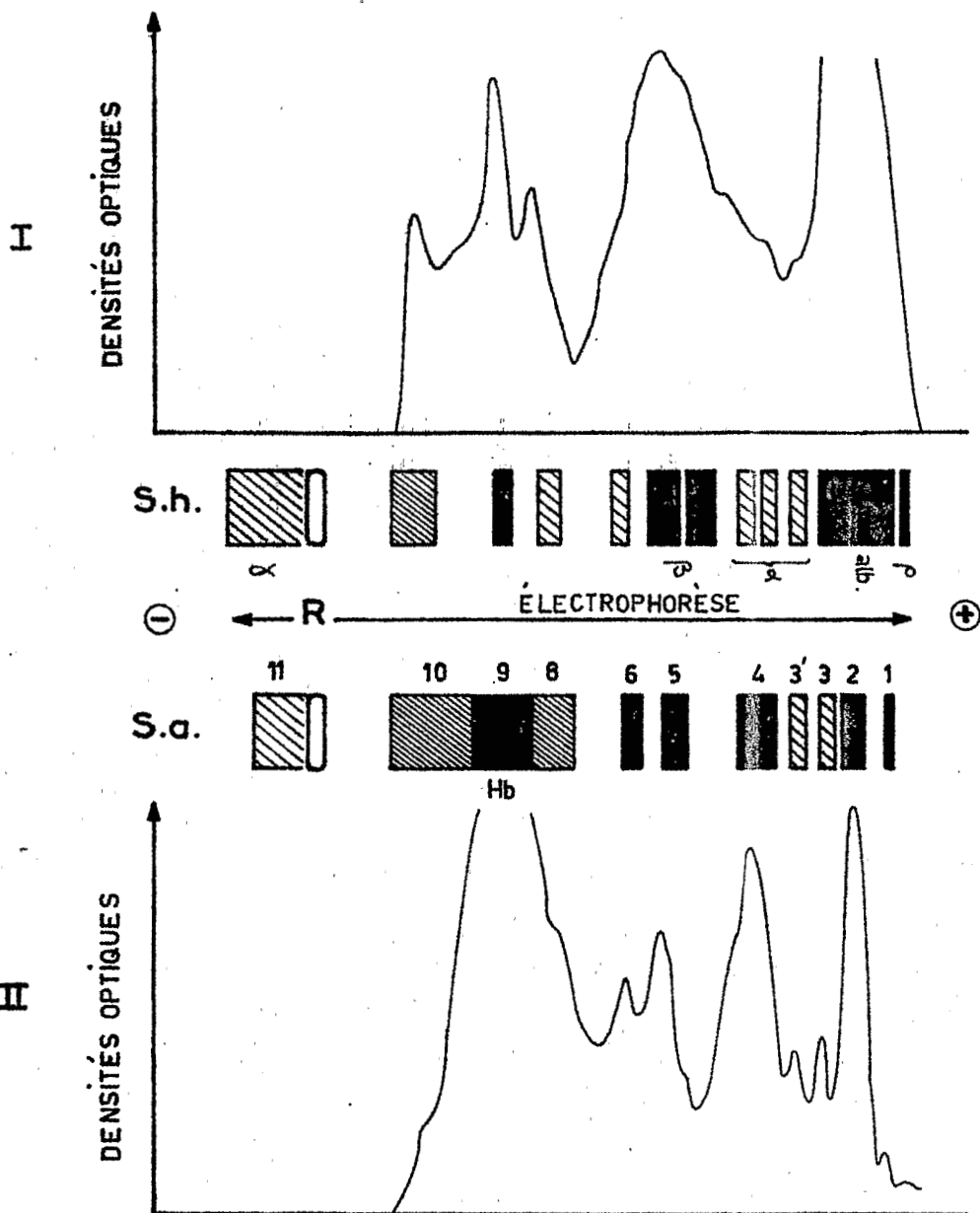
##### 4. 1. 2. 2. - Electrophorèse en gel d'Agarose (planche II)

Neuf sérums ont été analysés par électrophorèse en gel d'Agarose Fluka. Cinq d'entre eux avaient été prélevés le 24 mai 1967 et conservés congelés sans antiseptique pendant huit mois : ils ne donnèrent pas une migration interprétable (mauvais état et trop petite quantité de sérum). Les quatre autres ont été analysés après deux mois seulement de séjour au congélateur. Les sérums 1, 2 et 3 donnèrent la même image, peu satisfaisante. Le sérum 4 permet de détecter neuf fractions sériques traduites par huit bandes plus ou moins colorées au Noir Amido 10 B. La fraction 3' différenciée par un ressaut de la courbe photométrique est accolée à la fraction 3.

Six fractions importantes sont très nettes (6, 5, 4, 3 - 3' et 2), la fraction 2 représentant l'Albumine. Moins intense mais bien détachée, la fraction 1 préalbuminique est la plus rapide. Les fractions 7 et 8 de mobilités relatives nulle et négative sont quantitativement peu importantes. Ceci concorde avec les indications fournies par l'électrophorèse sur papier détectant trois fractions principales : Albumine (2),  $\alpha$  globulines (3 - 3' et 4) et  $\beta$  globulines (5 et 6).

##### 4. 1. 2. 3. - Electrophorèse en gel d'Amidon :

Le tampon utilisé donne une bande albuminique moins étalée et la bande préalbuminique est bien nette lorsqu'elle est présente!

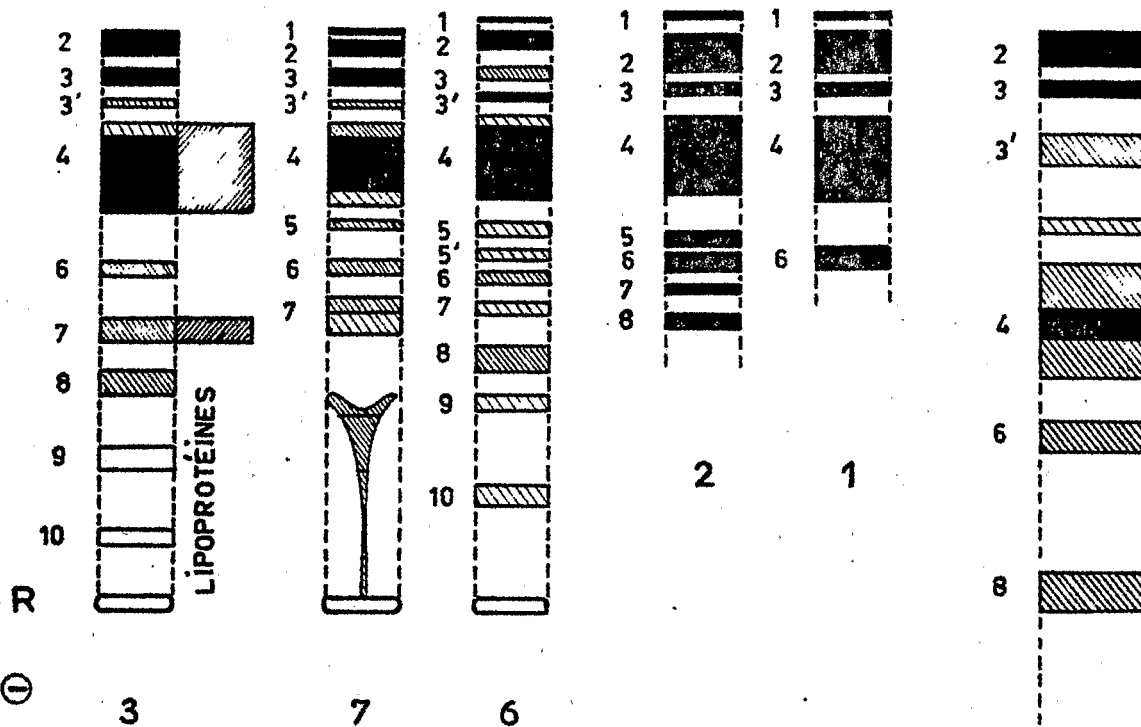


ÉLECTROPHORÈGRAMMES ET COURBES PHOTOMÉTRIQUES  
DE SÉRUMS HUMAIN (I) ET DE SARDINELLA aurita DU 18.1.68 (II).

Gel d'Amidon à 11%. Tampon discontinu de POULIK pH = 8,2. 7 volts/cm pendant 5 h.



⊕



Gel d'Amidon Connaught à 11%  
 Tampon de Poulík pH = 8,3 5h à  
 6 V/cm.

Gel d'Amidon Connaught à  
 11%. Tampon de Poulík  
 pH = 8,3 6h.30 à 6 V/cm

R

4

Gel d'Amidon Connaught  
 12%. Tampon de poulík  
 pH = 8,3 7h 30 à 5,6 V/cm

ÉLECTROPHORÉGRAMMES DU SÉRUM DE 6 SARDINELLA  
 aurita pêchées le 17 - 4 - 1968.

La planche III rend compte de l'analyse d'un échantillon hémolysé et dilué au demi ayant migré à côté d'un sérum humain servant de référence. La présence d'hémoglobine perturbe la mise en évidence des protéines de mobilité  $\beta$ .

Les six premières fractions très bien individualisées correspondent à celles mises en évidence en gel d'Agarose. Les quatre autres de mobilité  $\beta$  et  $\gamma$  ont une correspondance moins nette.

La planche IV traduit les migrations obtenues au cours de trois électrophorèses différentes pour six sérums de *S. aurita* pêchées le 17 avril 1968.

Les sérums 1 et 2, non dilués donnent des fractions bien marquées, la fraction 4 étant toujours très importante. On constate un polymorphisme au niveau des fractions 5 et 6. Les sérums 3, 6 et 7, dilués au demi confirment la présence de ce polymorphisme. Le maximum de fractions mises en évidence s'élève alors à 12, toutes de mobilité relative positive.

Le sérum 4, dilué au demi a migré plus longtemps dans un gel d'Amidon plus concentré (12%). L'étalement obtenu entre l'Albumine et la fraction 4 met en évidence une fraction supplémentaire.

Enfin deux lipoprotéines ont été détectées par coloration à l'Oil red O: la première, appelée fraction rapide, serait une lipoalbumine correspondant à l' $\alpha_1$  lipoprotéine humaine (au niveau de la fraction 4), la seconde appelée fraction lente correspondrait à l' $\alpha_2$  lipoprotéine humaine.

#### 4. 1. 2. 4. - Conclusion :

En tenant compte de la fraction de mobilité relative négative (II) mise en évidence planche III et de la fraction supplémentaire séparée de la fraction 4 (planche IV, sérum 4) il est possible de compter au moins 14 fractions protéiniques dans le sérum de *S. aurita*.

Nous n'avons pas trouvé de fraction nette correspondant aux  $\gamma$  globulines des animaux supérieurs. Cette fraction, ou au moins les  $\gamma_2$ , manque d'ailleurs chez de nombreux poissons : *Salmo gairdneri* (27), *S. salar* (8), *Clupea harengus* (5), *Labrus bergylta* (7), *Gadus morhua* (39).

⊕

R



4



9



12



14



pool



1



SH



19



3

⊖

*S. aurita* du 16\_1\_1968

Gel d'Agarose FLUKA à 1,5 %  
Tampon de HIRSCHFELD pH = 8,4  
3h15 à 150 volts .

*S. aurita* du 17\_4\_1968

Gel d'Agarose de l'Industrie Biologique  
Française à 1,5 % \_ Tampon de  
HIRSCHFELD pH = 8,2 \_ 4,3 volts/cm

## ÉLECTROPHORÉGRAMME DE L'HÉMOGLOBINE DE *SARDINELLA aurita*

PLANCHE V

Rappelons ici le travail de BOUCK, G. R. et BALL, R. C. (2) qui étudièrent la distribution des protéines sériques de faible mobilité de 22 espèces de poissons. La quantité de protéines de faible mobilité serait associée à la tolérance vis à vis de la pollution.

Il semblerait qu'il existe un polymorphisme au niveau des post albumines (3 et 3') et des fractions 5, 6 et 7 (Transferrines ?) une étude ultérieure systématique sera faite sur des adultes (\*) pour déterminer si ce polymorphisme est confirmé et s'il supporte une hypothèse génétique permettant de conclure à des groupes sériques héréditaires.

REMARQUE : - Les essais de caractérisation des transferrines par le Nitroso R Salt après saturation au sulfate ferrigine d'ammonium ( $\text{NH}_4 \text{Fe} (\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ) n'ont pas donné de résultat. Nous étudierons prochainement les transferrines par autoradiographie après addition de  $\text{Fe} \text{Cl}_3$  radioactif.

#### 4. 1. 3. - Etude électrophorétique de l'hémoglobine :

L'analyse a porté sur l'hémoglobine de *S. aurita* et un mélange (pool). Les images obtenues sont résumées dans la planche V. Il semble qu'il y ait 2 fractions mais les conditions d'expérience ne sont pas appropriées et la migration est faible (un tampon phosphate de  $\text{pH} = 7,3$  sera utilisé ultérieurement).

---

(\*) Des variations pourraient se produire au cours du développement comme cela a été constaté chez la plie par W. de LIGNY (physiological aspects of serological and biochemical characteristics in plaice! - I. C. E. S. - C. M. 1967/F : 22).

SERUMS \ GR		GR																																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	
Humains de sujets	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3	-	-	-	-	-	-	-	3	4	4	-	4	-	2	-	-	2	-	-	4	1	-
	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-	4	-	-	3	3	x	x	-	4	4	-	3	-	3	-	4	3	-	-	-	
	AB	2	-	-	-	4	4	4	3	-	-	2	2	-	2	4	-	-	4	2	2	3	3	x	x	-	-	3	-	3	-	4	4	2	-	
LAPIN	1	////////////////////																														-	-	2	4	
	2	4	-	1	1	3	-	3	3	4	4	4	4	-	-	3	3	-	-	3	4	-	-	-	-	-	4	3	-	4	3	////////////////////				
	5	-	-	-	-	2	-	-	3	x	4	3	3	-	-	2	2	-	-	4	4	-	4	-	-	-	3	-	4	-	-	4	4	4		
Tetrapturus		3	1	-	-	3	3	2	2	4	4	1	3	4	4	2	2	-	3	4	3	3	-	-	4	-	4	4	-	4	-	4	4	3	3	
Acantho	8	////////////////////																														3	3	-	2	
	13	////////////////////																														3	3	-	2	

SERUMS \ GR		GR																																	
		35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	
Humains de sujets	0	1	-	2	3	3	3	2	-	-	-	-	4	-	3	x	-	4	-	-	1	-	-	3	-	-	-	4	-	-	-	4	4	-	
	A	-	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-
	B	3	x	4	3	3	3	4	-	-	3	2	3	3	-	4	4	3	-	2	1	-	-	3	-	-	-	x	-	-	3	-	-	-	
	AB	-	x	-	-	-	-	1	1	1	2	-	-	4	-	3	3	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	3	-	3	3	-	-	-	
LAPIN	1	4	4	-	4	-	-	3	-	-	3	-	-	-	3	-	-	-	3	-	3	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	x	-
	2	////////////////////																																	
	5	4	4	4	4	-	4	4	-	-	4	4	4	4	3	4	-	3	4	3	4	-	3	3	-	4	-	3	-	-	4	-	-	3	
Tetrapturus		-	4	4	4	-	3	3	3	-	-	-	4	2	2	3	4	4	-	4	-	-	-	2	-	-	-	4	4	-	4	2	3	1	
Acantho	8	////////////////////																																	
	13	4	4	4	-	4	4	4	4	4	-	3	-	3	2	-	4	4	-	3	3	-	1	4	4	4	-	-	3	4	4	-	3	4	

TABLEAU XI: Réactions d'Agglutination des globules rouges de S.eba du 17 Avril 1968.

4. 2. - SARDINELLA EBA

4. 2. 1. - Recherche d'Antigènes érythrocytaires :

4. 2. 1. 1. - Introduction :

Cette étude a été effectuée sur deux lots de sardinelles (lot 5 et lot 6). Le lot 5 est constitué par 67 S. eba pêchées le 17 avril 1968 sur les fonds de 16 à 26 mètres à environ 3 milles à l'ouest du canal de Vridi et en face des "Trois Villages". Ces sardinelles que nous appellerons "S. eba d'Abidjan" mesuraient toutes environ 18 cm.

Le lot 6 est formé par les 125 S. eba pêchées les 29 août et 4 septembre 1968 à Téma (Ghana).

4. 2. 1. 2. - Résultats obtenus avec le lot 5 :

Les globules ont été testés comme les globules de S. aurita par des sérums humains, de lapins et de divers poissons. Les extraits végétaux de 1 à 10 n'ont pas été utilisés. Les extraits de pulpe de noix de coco et le lait de coco ont donné des résultats négatifs.

Le tableau XI rend compte des agglutinations observées et le tableau XIII donne la répartition des différents types de globules.

4. 2. 1. 2. 1. - Groupage basé sur le sérum humain seul :

Les quatres types de sérums humains possèdent des hémagglutinines vis à vis de certains globules rouges de S. eba, par contre de nombreux globules ne sont agglutinés par aucun sérum humain et nous les appellerons globules N.

Le groupage présente à la fois des analogies et de profondes différences avec celui de S. aurita. Reprenons l'hypothèse de travail précédente :

- l'hémagglutinine humaine anti B joue un rôle peu important dans le groupage sanguin des globules rouges mais le sérum A possède une hémagglutinine active autre que l'anti B et appelée provisoirement w'.

→ Cinq agglutinines humaines entrent en jeu, l'une dont l'action est identique à l'anti A ( $\alpha$ ) et quatre autres inconnues. Par analogie avec celles agglutinant les globules de *S. aurita* nous les appellerons  $\alpha'$ ,  $x'$ ,  $y'$ ,  $z'$  et  $w'$  (Tableau XII).

Sérums humains de sujets Agglutinines	O	A	B	AB
$\alpha'$	+	+	+	-
$x'$	-	+	-	+
$y'$	+	-	-	-
$z'$	-	-	+	-
$w'$	-	+	-	-
( $\beta$ )	(+)	(+)	(-)	(-)

TABLEAU XII - Agglutinines des sérums humains actives sur les globules du cinquième lot.

→ Cinq antigènes correspondraient aux cinq agglutinines :

Il se pourrait que ces antigènes soient identiques à ceux de *S. aurita* et nous les nommerons  $A'$ ,  $X'$ ,  $Y'$ ,  $Z'$  et  $W'$ .

On peut alors classer les globules en huit types dont le plus important (N) est inconnu chez *S. aurita* et est constitué par les globules non agglutinés par les différents sérums humains (fig. 3).

Les globules  $A'$ ,  $X'$ ,  $A'$  et  $Y'$  seraient identiques aux globules AX, A et Y de *S. aurita* (fig. 1).

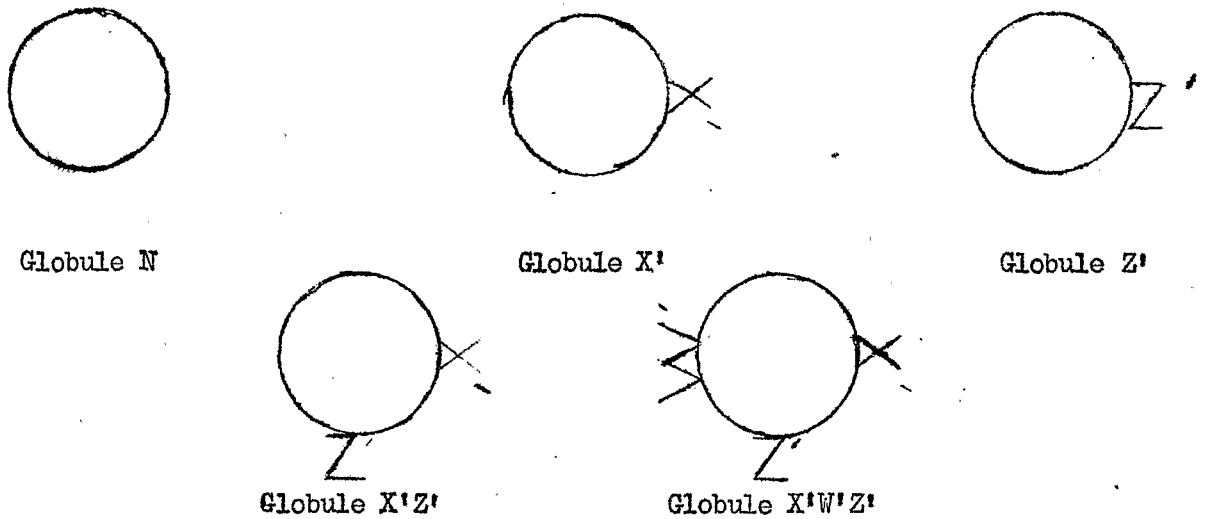


Fig. 3 - Représentation schématique des cinq nouvelles sortes de globules du lot n° 5.

Sérums humains	Réactions d'agglutination							
	Anti A anti B de sujet O	-	+	-	-	+	-	+
anti B de sujet A	-	-	-	-	-	-	-	+
anti A de sujet B	-	+	-	+	+	+	-	+
de sujet AB	-	-	+	-	+	+	-	+
Nombre de GR	27	8	8	7	6	5	4	2
Pourcentage	40	12	12	10	9	7,5	6	3
Type des GR	N	A'	X'	Z'	A'X'	X'Z'	Y'	X'W'Z'

TABLEAU XIII - Répartition des différents types de globules rouges de S. eba du 17 avril 1968 (premier lot).

4. 2. 1. 2. 2. - Autres groupages :

Les agglutinations par les sérums de lapin et de Tetrap-  
turus peuvent là aussi donner lieu à une classification des globules  
rouges de S. eba.



SÉRUMS \ GR		GR																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
HUMAINS	Sujets 0	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	4	4	4	x	4	4	4	4
	" A	3	3	-	-	-	3	-	3	3	3	3	3	3	3	3	2	-	4	4	x	x	4	4	x	x
	" B	-	3	3	3	4	3	3	3	4	3	3	3	3	-	3	4	x	4	4	4	4	4	4	4	x
	" AB	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	4	4	4	4	x

SÉRUMS \ GR		GR																												
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50				
HUMAINS	Sujets 0	4	4	4	4	x	x	4	4	4	4	4	3	3	3	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4			
	" A	x	x	x	x	4	4	4	4	4	4	4	-	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3			
	" B	x	x	x	x	x	4	4	4	4	4	4	3	4	4	3	3	4	4	x	x	x	x	x	x	x	x			
	" AB	4	4	x	x	4	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	2	1	-	2	-	-	-	-	2	-				

SÉRUMS \ GR		GR																									
		51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	
HUMAINS	Sujets 0	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4	3	3	
	" A	-	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-	3	
	" B	4	4	4	3	3	3	3	3	x	x	4	4	4	x	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4	-	4
	" AB	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3	3	2	-	-

SÉRUMS \ GR		GR																													
		76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100					
HUMAINS	Sujets 0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	x	3	4	4	4	x	4	4	x	x	4	x	4	4	4					
	" A	-	3	3	-	3	3	3	2	2	3	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-					
	" B	4	x	x	x	4	x	4	4	4	x	x	-	x	x	x	x	4	x	3	3	-	-	x	4	x					
	" AB	3	2	2	-	2	2	2	-	-	2	-	-	-	2	3	-	3	-	1	-	-	-	-	1	1					

SÉRUMS \ GR		GR																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
HUMAINS	Sujets 0	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3
	" A	4	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
	" B	4	3	4	3	4	4	3	3	3	4	4	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	4	4	4	4
	" AB	4	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	-	-	1	-	-	1	2	-	-	-	3	-	-	-

TABLEAU XIV : Réactions d'agglutination des globules rouges de S.eba  
TEMA les 30 Août et 4 Septembre 1968.

Les globules ont été testés par les sérums humains de sujets des groupes O, A, B et AB. Le tableau XIV rend compte des agglutinations observées et le tableau 15 de la répartition des globules.

Le groupage, basé uniquement sur le sérum humain, rend compte de la similitude de trois sortes de globules entre les S. eba d'Abidjan capturées en avril et celles de Tema capturées fin août et début septembre Tableau XV

Type de globules	A'	Y'	AX'
Pourcentage à Abidjan	12	6	9
Pourcentage à Tema	18,4	3,2	1,6

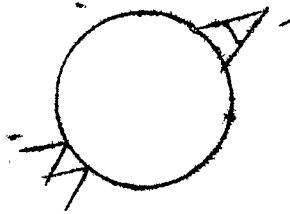
TABLEAU XV -- Répartition des globules identiques des lots 5 & 6.

Trois sortes de globules sont totalement différents de ceux des S. eba d'Abidjan (fig. 4).

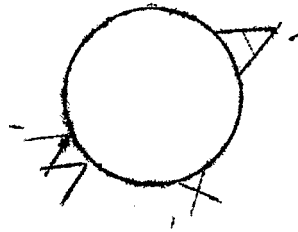
Le premier que nous appelons A' W' serait, dans l'hypothèse la plus simple, agglutiné par  $\alpha'$  et  $w'$  mais il pourrait l'être aussi par  $\alpha' w' z'$ ,  $\alpha' w' y'$  ou  $w' y' z'$ . Si l'on admet l'action de l'agglutinine humaine anti B ( $\beta$ ) il existe sept autres possibilités d'agglutination, deux simples :  $\alpha' \beta'$  et  $\beta' z'$  et cinq complexes :  $\alpha' \beta' z'$ ,  $\alpha' \beta' y'$ ,  $\alpha' \beta' w'$ ,  $\beta' w' z'$  et  $\beta' y' z'$  (soit onze au total).

Nous gardons l'hypothèse la plus simple d'agglutination par  $\alpha'$  et  $w'$  ce qui a l'avantage de nous donner un globule A' W' dont l'homologue AW nous est déjà connu chez S. aurita (lot 3). De plus il suffit de remplacer  $w'$  par  $\beta'$  pour retrouver une solution simple  $\alpha' \beta'$  tenant compte de  $\beta'$ . Le second globule que nous appelons A' X' W' peut faire l'objet d'une analyse identique au précédent et admettre deux autres solutions simples (avec les agglutinines  $\beta' \alpha' x'$  ou  $\beta' z' x'$ ) ou huit autres complexes faisant intervenir quatre agglutinines. Là encore nous avons déjà observé son homologue AXW chez S. aurita (lot 3).

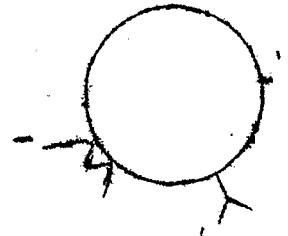
Le troisième globule W' Y' est totalement nouveau et n'offre que trois autres interprétations possibles faisant intervenir l'anti B :  $y'\beta' \beta' w'$  ou  $\beta'$ .



Globule A' W'



Globule A' X' W'



Globule W' Y'

Fig. 4 → Représentation schématique de trois nouveaux globules de S. eba (sixième lot).

Sérums humains	Réactions d'agglutination					
	Anti A anti B de sujet O	+	+	+	+	+
Anti B de sujet A	+	+	-	-	-	+
Anti A de sujet B	+	+	+	-	+	-
de sujet AB	-	+	-	-	+	-
Nombre de G. R.	67	27	23	4	2	2
Pourcentage	53,6	21,6	18,4	3,2	1,6	1,6
Types de G. R.	A'W'	A'X'W'	A'	Y'	A'X'	Y'W'

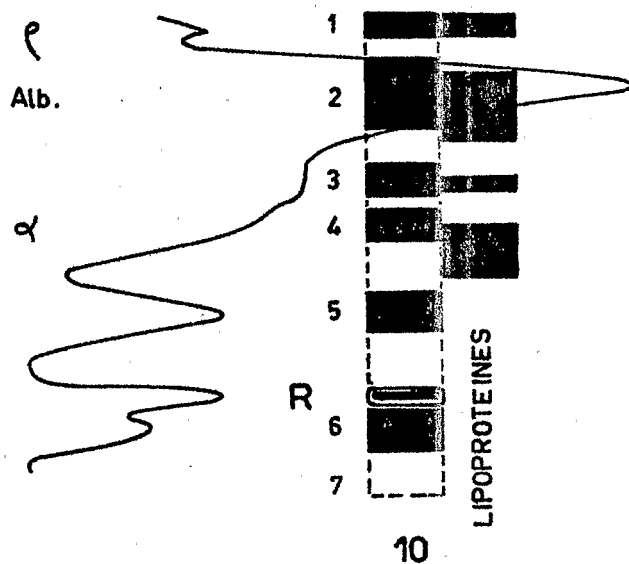
TABLEAU XVI → Répartition des différents types de globules rouges de S. eba des 29 août et 4 septembre 1968 (sixième lot).

#### 4. 2. 1. 4. - CONCLUSION

Le nombre sensiblement plus élevé de globules testés chez S. eba (67 pour Abidjan et 125 pour Tema) nous autorise à penser qu'une étude portant sur un grand nombre d'individus pourrait différencier génétiquement deux populations. En effet 40% des globules des S. eba d'Abidjan ne sont agglutinés par aucun sérum humain, ce qui n'est pas observé pour les S. eba de Tema. De plus 74% des globules des S. eba de Tema (A' W' et A'X'W') sont inconnus pour les S. eba d'Abidjan et 32% des globules des S. eba d'Abidjan (X' Z', X'Z' et X'Z'W') sont inconnus pour les S. eba de Tema.

Chez les S. eba de Tema et d'Abidjan de 20 à 30% des individus possèdent les mêmes antigènes rappelant ainsi leur appartenance à une seule et même espèce.

Notons enfin que les 3/4 des globules particuliers aux S. eba de Tema pourraient être identiques à certains globules des S. aurita de Tema.



ÉLECTROPHORÉGRAMME ET COURBE PHOTO-  
MÉTRIQUE DU SÉRUM DE SARDINELLA éba. du  
17\_4\_1968 avec caractérisation des lipoprotéines.

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

#### 4. 2. 2. - ETUDE ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES SERIQUES :

##### 4. 2. 2. 1. - Electrophorèse en gel d'Agarose (planches VI & VII)

Huit sérums de *S. eba* dilués au 1/2 ont été analysés par électrophorèse en gel d'Agarose I.B.F. La coloration à l'Oil red O a permis de caractériser les lipoprotéines. L'échantillon n° 10 a en outre été coloré au Noir Amido 10 B.

Six fractions importantes sont très nettes (1, 2, 3, 4, 5 et 6). Les fractions 2, 3, 4, 5 et 6 semblent être les homologues des fractions correspondantes chez *S. aurita*. La fraction 1 préalbuminique est bien marquée.

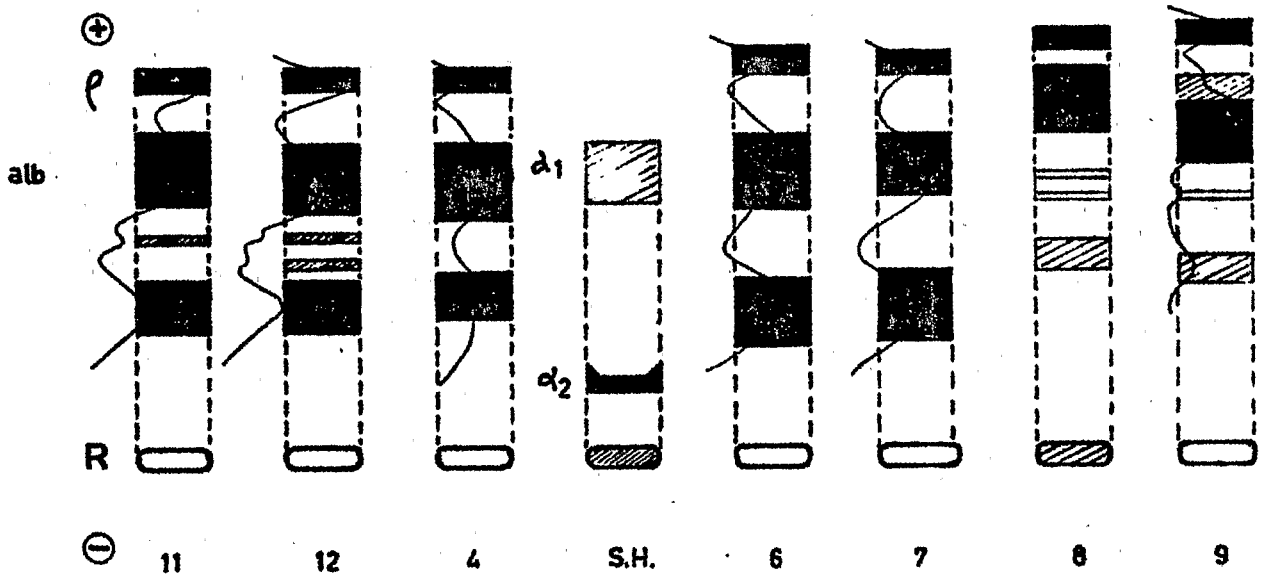
Les lipoprotéines sont importantes et au nombre de 3 fractions principales : une fraction très rapide ( $\rho$  lipoprotéine), une fraction rapide ou lipoalbumine correspondant à l' $\alpha_1$  lipoprotéine humaine (au niveau inférieur de la fraction albuminique) et une fraction lente que nous appellerons  $\alpha_2$  lipoprotéine par analogie avec l' $\alpha_2$  lipoprotéine humaine dont la mobilité est cependant plus faible.

Entre la lipoprotéine lente et la lipoprotéine rapide nous avons mis en évidence au moins deux autres fractions de faible importance mais de grand intérêt par le polymorphisme qu'elles semblent présenter : 2 bandes (n° 12 & 8) une bande (n° 10, 11 & 9) ou 0 bandes (n° 4, 6 & 7).

Cette disposition des lipoprotéines concorde avec l'étude faite par URIEL, J. - FINE, J. M. - COURCON, J. & Le BOURDELLES, F. (36) sur d'autres animaux. Comme pour l'anguille les deux fractions lipidiques les plus importantes sont la lipoalbumine et l' $\alpha_2$  lipoprotéine; cependant chez *S. eba* il existe une  $\rho$  lipoprotéine bien marquée, comme chez la vipère, et des  $\alpha$  lipoprotéines intermédiaires comme chez certains mammifères. Le manque de lipoprotéines sériques de mobilité correspondant à la zone des  $\beta$  globulines se trouve vérifié pour les sardinelles.

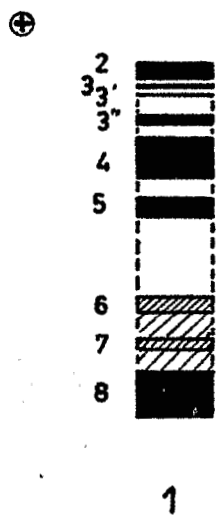
##### 4. 2. 2. 2. - Electrophorèse en gel d'Amidon :

La fraction préalbuminique n'est pas retrouvée. Comme chez *S. aurita* la fraction 4 est bien marquée ainsi que la fraction 8. Il existerait

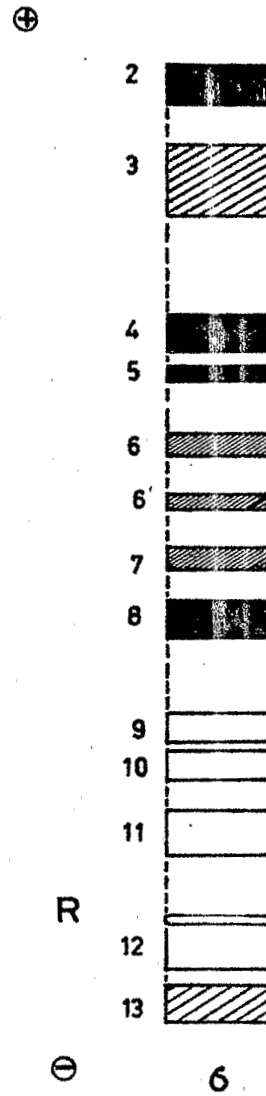


**ÉLECTROPHORÉGRAMME ET COURBES PHOTOMÉTRIQUES DE LIPOPROTÉINES DE SÉRUMS DE SARDINELLA éba DU 17\_4\_68**

Gel d'Agarose I.B.F. à 1,5%. Tampon de Hirschfeld pH = 8,4. 4 heures à 5 v/cm



Amidon 11‰ . Tampon de  
Poulik pH = 8.3 5h à 6 V/cm.



Amidon 12‰ . Tampon de Poulik  
pH = 8.3 - 7h.30 à 5.6 V/cm

ÉLECTROPHORÉGRAMMES DE SÉRUMS DE SARDINELLA  
éba du 17 - 4 - 1968 .

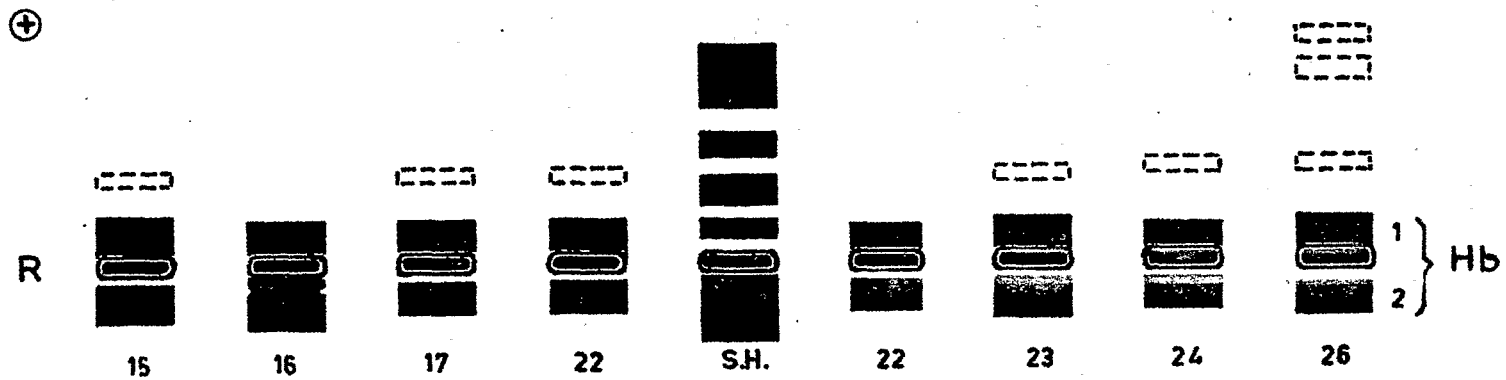


là aussi un polymorphisme au niveau des post albumines et des fractions 5 et 6 ce qui permettrait de compter au moins 15 fractions protéiniques dans le sérum de *S. eba.* Une différence importante avec *S. aurita* serait la présence d'une fraction migrant vers la cathode (n°13).

#### 4. 2. 3. - ETUDE ELECTROPHORETIQUE DE L'HEMOGLOBINE :

La planche IX rend compte de l'analyse de 15 échantillons . Notons que la migration obtenue par le tampon de Hirschfeld est plus importante qu'avec l'hémoglobine de *S. aurita*. Les protéines sériques n'ont pas été totalement éliminées et des traces sont visibles sur l'électrophorégramme.

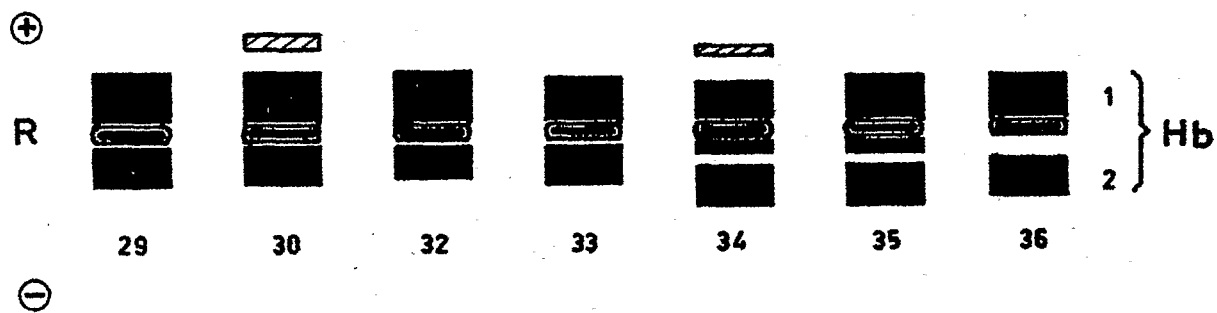
Nous avons trouvé deux composants de l'hémoglobine comme c'est le cas pour *Clupea harengus* de la Manche (40), *C. pilchardus* de l'Adriatique (15) et quelques autres clupéidés. (33).



⊖

## ÉLECTROPHORÉGRAMME DE L'HÉMOGLOBINE DE SARDINELLA éba

Gel d'Agarose I.B.F. à 1,5% . Tampon de HIRSCHFELD pH = 8,2 4h à 3 v/cm.



- 1 - BARON, J. C. (1968) - Note sur le sang de quelques poissons marins de Côte d'Ivoire  
Doc. Sc. Pr. n° 23 - CRO d'Abidjan.
- 2 - BOUCK, G. R. & BALL, R. C. (1967) - Distribution of low mobility proteins in  
the blood of fishes . J. Fish. Res. Bd. Canada.  
24 (3), pp. 695 - 697.
- 3 - CALAPRICE, J. R. & CUSHING, J. E. (1964) - Erythrocyte antigens of California  
Trouts. California fish and game V. 50 n°3  
p. 152 - 157.
- 4 - CALAPRICE, J. R. & CUSHING, J. E. (1967) - A serological analysis of three popu-  
lations of golden trout, *Salmo aguabonita* (Jordan) Calif. Fish and game.  
Vol 53 n°4 p. 273 - 281.
- 5 - CAPUA, R. A. (di) (1966) - On the application of immunological techniques in  
geographic group studies of Atlantic sea herring, *Clupea harengus*,  
I. Neutralization of immune precipitins as an aid to herring serum  
analysis by immunoelectrophoresis J. Exp. Zool. U. S. A. 162 n°1 p.1 à 14.
- 6 - CUMMING, K. B. (1967) - Natural hemagglutinins in marine fishes I. C. N. A. F.  
Res. bull. n°4 p. 59 - 66
- 7 - FINE, J. M. & DRILHON, A. (1958) - Etude des protéines sériques de *Labrus*  
*bergylta* par électrophorèse de zone sur papier, gélose et gel d'amidon.  
C. r. des séances de l'Ac. Sc. t. 246, pp. 3183 - 3186.
- 8 - FINE, J. M. & DRILHON, A. (1964) - Etude électrophorétique et immunologique  
des protéines sériques de quelques espèces de Salmonidés. C. r. des Séances  
de la Société de Biologie T. CLVIII, n° 6, p. 1307.
- 9 - FINE, J. M. (1967) - "Les groupes sanguins et les groupes sériques" 3è édition  
Ed. de la Tourelle 5 rue Guynemer, 94. Saint Mandé.

- 10 - FUJINO, K. (1967) - Review of subpopulation studies on skipjack tuna. Proc. 47th. annual Conf. of West. Ass. of St. Game and Fish. Comiss. Honolulu.
- 11 - GREEN, J. W. & HOFFMAN, J. F. (1953) - A study of isotonic solutions for the erythrocytes of some marine teleosts and elasmobranchs. Biol. Bull. Woods Hole 105 p. 289 - 295.
- 12 - GROULADE, J. - FINE, J. M. & OLLIVIER, C. - Electrophoresis in a thin layer of starch gel and it's transformation into plastic Nature (London) 1961, 191, 72.
- 13 - GUTIERREZ, M. (1967) - Estudios hematologicos en el atun, *Thunnus thynnus* (L) Immunologia : grupos sanguineos, eritrocitos y fitoaglutininas. Invest. Pesquera Esp. 31, n°1, pp. 137 - 143.
- 14 - KRAJNOVIĆ M. (1968) - A serological approach to the population analyses of the adriatic sardines *Clupea pilchardus* (Walb.) Rev. Intern. Oceanogr. Med. tome X, p. 69 - 74.
- 15 - KRAJNOVIC, M. (1968) - Preliminary electrophoretic analyses of the hemoglobin of *Clupea pilchardus* (WALB.) Rev. Intern. Oceanogr. Med. Tome X, p. 75 - 79.
- 16 - LEE, J. Y. (1964) - Observation sur la serologie et l'immunologie des thons rouges (*Thynnus thynnus* LINNE) de Mediterranée. C. I. E. S. M. 19° Assemblée plénière.
- 16' - LEE, J. Y. (1962) - La sardine du Golfe du Lion (*Sardina pilchardus sardina* Regan) I. S. T. P. M. Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris 19 juin 1962.
- 17 - DE LIGNY, W. (1968) - Polymorphism of plasma esterases in flounder and plaice. Genet. Res. Camb. 11, pp. 179 - 182.

- 18 - MARCHAL, E. G. (1966) - Fluctuations de la pêche des sardinelles en Côte d'Ivoire.  
Doc. Sc. Pr. n° 001 - Centre de Recherches Océanographiques de Côte d'Ivoire.
- 19 - MARCHAL, E. G. (1966) - Teneur en matières grasses et teneur en eau chez deux Clupeidés de Côte d'Ivoire.  
Doc. Sc. Pr. n° 004 - Centre de Recherches Océanographiques de Côte d'Ivoire.
- 20 - MARCHAL, E. G. (1967) - Clé provisoire de détermination des oeufs et larves des Clupeidés et Engraulidés ouest-africains.  
Doc. Sc. Pr. n° 014 - Centre de Recherches Océanographiques de Côte d'Ivoire.
- 21 - MARCHAL, E. G. (1967) - La pêche des sardiniers ivoiriens en 1966.  
Doc. Sc. Pr. n° 019 - Centre de Recherches Océanographiques de Côte d'Ivoire.
- 22 - MARCHAL, E. G. (en préparation) - La pêche des sardiniers ivoiriens en 1967 -  
Doc. Sc. Pr. Centre de Recherches Océanographiques de Côte d'Ivoire.
- 23 - MARKERT, C. L. & FAULHABER, I. (1965) - Lactate dehydrogenase isozyme patterns of fish. J. Exp. Zool. 159 (3), pp. 319 - 332.

- 24 - MARR, J. C. & SPRAGUE, L. M. (1961) - The use of blood group characteristics in studying subpopulations of fishes. I. C. N. A. F. Spec. Public. 4, pp. 308 - 313.
- 25 - ODENSE, P. H. - ALLEN, T. M. & LEUNG, T. G. (1966) - Multiple forms of lactate dehydrogenase and aspartate aminotransferase in Herring (*Clupea harengus h.*) Canadian J. of Biochemistry. Vol. 44, pp. 1319 - 1326.
- 26 - ODENSE, P. H. - LEUNG, T. C. & ALLEN T. M. (1966) - An electrophoretic study of tissue proteins and enzymes of four canadian cod populations. International Council for the Exploration of the sea. Gadoid Comitee G. 14
- 27 - POST, G. (1966) - Serum proteins and antibody production in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) J. FISH, RES. Bd. CANADA, 23 (12). p. 1957 - 63.
- 28 - RIDGWAY, G. J. - & KLONTZ, G. W. (1960) - Blood types in Pacific salmon. Bureau of Commercial Fisheries U. S. fish and Wildlife Service. Spec. Sci. Rep. Fish. n° 324.
- 29 - RIDGWAY, G. J. (1966) - A complex blood group system in salmon and trout. X° Congrès E. S. A. B. R. pp. 362 - 365.
- 30 - SANDERS, WRIGHT (1962) - Immunogenetic studies in 2 trout species of the genus *Salmo*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 97 p. 116.
- 31 - SHAW, C. R. & BARTO, E. (1963) - Genetic evidence for the subunit structure of lactate dehydrogenase isozymes. Proc. Natl. Acad. Sci. vol. 50, pp. 211 - 214.
- 32 - SINDERMAN, C. J. & MAIRS, B. F. (1959) - A major blood group system in Atlantic Sea herring, *Copeia* n°3 p. 228 - 32.
- 33 - SINDERMANN, C. J. and HONEY, K. A. (1963) - Electrophoretic analysis of the haemoglobin of Atlantic Clupeoid fishes. *Copeia* 3. p. 534 - 537.

- 34 - SPRAGUE, L. M. & VROOMAN, A. M. (1962) - A racial analysis of the Pacific Sardine (*Sardinops caerulea*) based on studies of erythrocyte antigens. Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. 97, Art. 1, p. 131 - 138.
- 35 - SPRAGUE, L. M. & HOLLOWAY, J. R. (1962) - Studies of the erythrocyte antigens of the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). The American Naturalist. Vol. XCVI, n°889 pp. 233 - 238.
- 36 - URTEL, J. - FINE, J. M. - COURCON, J. - LE BOURDELLES, F. (1957) - Contribution à l'étude des protéines et lipoprotéines des sérums d'animaux. Bull. Soc. Chimie biologique Tome XXXIX, N°12 p. 1415 - 1427.
- 37 - UTHE, J. F. - ROBERTS, E. - CLARKE, L. W. & TSUYUKI, H. (1966) - Comparative electrophoregrams of representatives of the families Retromyzontidae, Esocidae, Centrarchidae and Percidae. J. Fish. Res. Bd. Of Canada. Vol. 23, n° 11, p. 1663 - 1671.
- 38 - VROOMAN, A. M. (1964) - Serologically differentiated subpopulations of the Pacific sardine, *Sardinops caerulea*. J. Fish. Res. Bd. Canada. Vol 21 n°4 p. 691 - 701.
- 39 - WILKINS, N. P. (1967) - Polymorphism of whole blood proteins in the Cod (*Gadus morhua* L.) J. Cons. Int. Explor. Mer Vol. 31 n°1 p. 77 à 88.
- 40 - WILKINS, N. P. & ILES, T. D. (1966) - Haemoglobin polymorphism and its ontogeny in herring (*Clupea harengus*) and sprat (*Sprattus sprattus*) Comp. Biochem. Physiol. Vol. 17. p. 1141 - 1158.

DOCUMENTS DU CENTRE DE RECHERCHES OcéANOGRAPHIQUES

- 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 Cadima 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!
- 020 -- TROADEC, J. P. -- Février 1968  
Note sur le développement possible de l'exploitation des crevettes en Côte d'Ivoire
- 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.)

- 024 - BAUDIN LAURENCIN, F.G. & MARCHAL, E.G. - Juin 1968  
Contribution à l'étude biométrique de l'Albacore (*Thunnus Albacares*)  
du golfe de Guinée.
- 025 - LE LOEUFF, P. & INTES, A. - Juillet 1968  
La faune benthique du plateau continental de Côte d'Ivoire  
Récoltes au chalut - Abondance - Répartition - Variations saisonnières  
(Mars 1966 - Février 1967).
- 026 - BERRIT, G.R. - GERARD, R. - LEMASSON, L. - REBERT, J.-P. & VERCESI, L.  
Août 1968  
Observations Océanographiques exécutées en 1967.  
I.- Stations hydrologiques - Observations de surface et de fond.  
Stations côtières.
- 027 - BERRIT, G.R. - GERARD, R. - LEMASSON, L. - REBERT, J.-P. & VERCESI, L.  
Octobre 1968  
Observations Océanographiques exécutées en 1967.  
II.- Bathythermogrammes.
- 028 - BARON, J.-C. - Août 1968  
Etude préliminaire des protéines du Cristallin de deux espèces de Sardi-  
nelles - (*Sardinella aurita* C.V., *Sardinella eba* C.V.).
- 029 - BARON, J.-C. - Octobre 1968  
Etude préliminaire sur le sang de deux espèces de Sardinelles
- 030 - TROADEC, J.-P. - Novembre 1968  
Le régime alimentaire de deux espèces de Sciaenidae ouest-africains  
(*Pseudotolithus senegalensis* V. et *Pseudotolithus typus* Blkr.).

CENTRE DE RECHERCHES OCEANOGRAPHIQUES

ABIDJAN

Errata du Document Scientifique Provisoire, n° 029

"Etude Préliminaire sur le Sang de deux Espèces de Sardinelles"

par J. C. BARON

- p. 2 ligne 7 in au lieu de i.e.
- p. 2           3 ligne 6 : polyacrylamide
- p. 11 ligne 6 lire : feuille plastique
- p. 13 dernière ligne lire : a servi
- p. 19 ligne 13 lire : 12 et 13
- p. 24 4.1.2.2. dernière ligne supprimer (3.3' et 4) et (5 et 6)
- p. 27 ligne 3 lire : de certaines fractions protéiques au lieu de des protéines de mobilité  $\beta$
- p. 27 lignes 5 et 6, supprimer de mobilité  $\beta$  et  $\gamma$
- p. 27 4.1.2.4. ligne 2 lire : (11) au lieu de (II)
- p. 33 fig. 3 les antigènes X' et Z' doivent être respectivement au sud-est et au sud du globule
- p. 33 tableau XIII lire : cinquième lot au lieu de premier lot.
- p. 35 ligne 4 lire XVI au lieu de 15
- p. 35 tableau XV lire : A'X' au lieu de A X'
- p. 36 ligne 2 lire : Y'/ $\beta$ ' ,  $\beta$ ' W' ou  $\beta$ '
- p. 39 4.2.2.2. ligne 2 lire : n'a pu être mise en évidence au lieu de n'est pas retrouvée.
- p. 42 ligne 3 et 4 supprimer la phrase : une différence importante avec S. aurita serait la présence d'une fraction migrant vers la cathode (n° 13)