

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

MINISTÈRE
DE LA PRODUCTION ANIMALE

**CENTRE DE RECHERCHES
Océanographiques**



J.-C. BARON

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

TRAVAIL REALISE DANS LE CADRE DU PROJET DE DEVELOPPEMENT
DE LA PECHE PELAGIQUE COTIERE
PROJET PNUD/SF - 288/IVC

Document scientifique provisoire
N° 037 — Août 1969

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

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| - Scomber japonicus | - Enthynnus alleteratus |
| - Coryphaena hippurus | - Tetrapterus sp. |
| - Acanthocybium solandri | - Scomberomorus tritor |

par

J.-C. BARON

R E S U M E

Des réactions d'agglutination entre les globules rouges de coryphène, bonite et Scomberomorus tritor et les sérums de ces poissons ainsi qu'avec des sérums humains ont été effectués. La recherche de phytoagglutinines dans diverses graines a donné un résultat positif avec Stylosenthes gracilis (Papilionacées). L'étude des hémoglobines par électrophorèse et analyse immunologique précise le nombre de fractions les composant ainsi que les spécificités ou communautés antigéniques.

Les sérums analysés par électrophorèse en gel d'amidon révèlent un nombre important de fractions. L'une d'entre elle a été identifiée par autoradiographie à une transferrine chez la coryphène.
(4 tabl eaux; 7 planches; 2 photographies hors texte).

Agglutination reactions between erythrocytes from coryphene, bonite and Scomberomorus tritor and different serums, both fish and human, were studied. The extract from Stylosenthes gracilis gives a weak phytoagglutinin.

A study of the haemoglobins by electrophoresis showed the number of components and the immunological analysis gave their antigenic specificity or community.

The starch gel electrophoresis of serums revealed an important number of components. The coryphene's transferrin has been identified by autoradiographic localization.

S O M M A I R E .

1. INTRODUCTION

2. MATERIEL -

- 2.1. Prélèvement du sang
- 2.2. Prélèvement du sérum
- 2.3. Prélèvement des globules
- 2.4. Obtention de l'hémoglobine
- 2.5. Obtention d'extraits végétaux

3. TECHNIQUES

- 3.1. Recherche d'iso et d'hétérohémagglutinines naturelles.
- 3.2. Analyses électrophorétiques
- 3.3. Localisation des transferrines
- 3.4. Analyses immunoélectrophorétiques
- 3.5. Analyses immunologiques
- 3.6. Obtention des immunsérums

4. RESULTATS

- 4.1. Maquereaux
- 4.2. Coryphènes
- 4.3. *Acanthocybium solandri*
- 4.4. Bonites
- 4.5. *Tetrapturus*
- 4.6. *Scomberomorus tritor*

1. INTRODUCTION

Cette étude complète la "Note sur le sang de quelques poissons marins de Côte d'Ivoire (Doc. sc. prov. n°023 Mai 1968) et concerne les sérums de poissons pêchés en 1967 et 1968 ainsi que les sangs de poissons pêchés en Avril 1969. La détermination des transferrines de coryphènes par autoradiographie a été effectuée au Centre de Transfusion Sanguine de Paris - Six espèces de poissons sont étudiées :

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

Poissons	Date	Heure	Point approximatif	Fonds	Nombre de milles à la côte
Coryphène 16 Bonites 7 à 10	15.4.69	15h	5° 03' N 3° 32' W	50 m	6
Coryphène 17 et 18		9h	4° 53' N 1° 08' W	38 m	14
Scomberomorus tritor 1 à 3	16.4.69	13h	5° 02' N 0° 46' W	32 m	11
Bonite 11		17h	5° 35' N 0° 10' W	38 m	7
Bonite 12 à 19		10h	6° 10' N 2° 03' E	54 m	8
Bonite 20 à 23 Scomberomorus tritor 4	18.4.69	13h	6° 04' N 1° 35' E	50 m	9
Bonite 24 à 35	19.4.69	9h	Sortie du	Port de	Lomé (Togo)
Maquereaux 23 à 36	20.4.69	12h	Sortie du	Port de	Tema (Ghana)
Bonite 36 à 42	23.4.69	8h	5° 04' N 3° 24' W	40 m	5
Coryphène 19 à 21		10h	5° 04' N 3° 38' W	51 m	6,5 m

Provenance des poissons pêchées en avril 1969 (campagne Tiburce)

TABLEAU 1.

2. M A T E R I E L

2.1. Prélèvement du sang : Les poissons d'avril 1969 ont été pêchés entre Abidjan et Cotonou. Le sang a été prélevé par ponction cardiaque stérile sur le poisson vivant à l'aide du système vacutainer Becton Dickinson. Le sang a été conservé en glacière de 1 à 8 jours avant d'être centrifugé.

2.2. Prélèvement du sérum : Les échantillons pris sans anticoagulant sont restés de 1 à 8 jours en glacière avant d'en extraire le sérum soit directement (sérum exudé) soit après centrifugation. Le sérum est conservé congelé à -20° sans antiseptique, jusqu'au moment d'être utilisé.

2.3. Prélèvement des globules : Le sang pris sur citrate de soude à 3, 8% est centrifugé. Le culot globulaire est lavé jusqu'à obtention d'un surnageant clair avec une solution d'eau physiologique à 9,5 g. par litre de Na Cl.

2.4. Obtention de l'hémoglobine : Les globules sont lysés par de l'eau distillée et congelés à -20° . Après décongélation et centrifugation 15 mn à environ 4000 t/mn (maximum de la machine) l'hémoglobine est prélevée et utilisée dans les huit jours. Ces échantillons ne sont malheureusement pas exempts de composés sériques.

2.5. Obtention d'extraits végétaux : Nous avons testé les extraits $\varphi 1$, $\varphi 2$ et $\varphi 3$ des 5 graines suivantes après extraction selon la méthode déjà citée (Doc. Sc. provisoire N°023) - Seul l'extrait $\varphi 1$ de Stylosenthes a donné quelques résultats positifs. Tous les autres ont été négatifs.

CENTROSEMA pubescens	(C.p)	}	Papilionacées
TEPHROSIA cuneata	(T.o)		
STYLOSENTHES gracilis	(S.g.)		
LEUCAENA buitenzorg	(L.b.)	}	Mimosacées
LEUCAENA glauca	(L.g.)		

3. T E C H N I Q U E S

3.1. Recherches d'iso et d'hétérohémagglutinines naturelles

La méthode a déjà été décrite (Doc. Sc. Provisoire n°023).
Le degré de l'agglutination constaté est évalué de la façon suivante :

- une croix (x) agglutination totale
- 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.
- un point (.) globules dénaturés, réaction illisible.

Nous avons arbitrairement considéré comme négatifs dans les interprétations les agglutinations ≤ 2 .

Une case hachurée indique que le test n'a pas été effectué.

Les sérums humains absorbés sont indiqués en abrégé dans les tableaux. Il faut comprendre que le sérum humain de sujet "O absorbé" est absorbé par des globules rouges de sujets des groupes A et B, celui de sujet "A absorbé" est absorbé par des globules rouges de sujet du groupe B et celui du sujet "B absorbé" est absorbé par des globules rouges de sujet du groupe A.

3.2. Analyses électrophorétiques

3.2.1. En gel d'Agarose

Nous avons utilisé l'Agarose Behring à 1,5 % avec pour l'analyse des hémoglobines un tampon Véronal de pH=8,2 (Véronal sodé = 47,6 g, H₂O : 69 ml, eau déminéralisée : 4,3 litres) ou le tampon de Hirschfeld (Doc. Sc. pr. N°023)

La méthode a été décrite en détail (Doc. Sc. pr. n°023)

3.2.2. En gel d'Amidon : Nous avons utilisé de l'amidon hydrolysé Connaught concentré à 13 % et les tampons discontinus de Pouliok (décrit dans le Doc. Sc. pr. N° 29) et de Ashton (composition ci-dessous)

<u>Solution I</u>	- Hydroxyde de lithium	1,2g
	- Acide borique	11,89g
	- Eau distillée q;s;p.f.	1 litre

Cette solution est utilisée dans les bacs à électrophorèse.

<u>Solution II.</u>	- Acide oitrique	1,6g
	- Trishydroxyméthyle aminométhane	6,29g
	- Eau distillée q.s.p.f.	1 litre

<u>Tampon pour le gel</u> -	10 % de solution I
	90 % de solution II

La Technique utilisée a été décrite par J.F. FINE dans "Les groupes sanguins et les groupes sériques" 3ème édition (Ed. de la Tourelle, 5 Rue Guynemer 94- Saint-Mandé)

3.2.3. Sur papier : L'électrophorèse sur papier a été effectuée au Centre de Transfusion Sanguine de Paris suivant la méthode décrite par J.M. FINE.

3.3. - Localisation des transferrines : Elle a été effectuée pour 3 échantillons de sérum de coryphène. Du fer radioactif sous forme de $^{59}\text{FeCl}_3$ est ajouté à l'échantillon qui est ensuite dialysé contre de l'eau physiologique après une incubation de 3 heures. L'électrophorèse sur papier est effectuée à partir d'un dépôt de 10 microlitres de sérum. L'électrophorèse en gel d'amidon est effectuée avec le tampon de Ashton, la révélation autoradiographique est réalisée avec du Kodirex. Ces techniques sont décrites dans le livre de J.M. FINE et C. ROPARTZ : "Techniques d'électrophorèse de zone".

3.4. Analyses immunoelectrophorétiques

Elles sont effectuées en gel d'Agarose I.B.F. à 1,5% sur des lames de verre pour microscopie. Pour les hémoglobines nous avons employé le matériel Gelman et effectué les électrophorèses par plateau de 2 fois 3 lames recouvertes d'une couche d'agarose continue. L'électrophorèse dure de 1h30 à 2h à environ 5 V/cm.

Après l'électrophorèse, la rigole centrale est remplie d'immunsérum et la diffusion se poursuit durant 24h en chambre humide. Après lavage en eau physiologique pendant trois jours la réaction colorée à la benzidine est effectuée (Hémoglobine) puis les gels sont séchés aux rayons infra rouge et colorés à l'amidoschwartz ou au rouge ponceau.

3.5. Analyses immunologiques : Effectuées selon la méthode d'Ouchterlony par précipitation d'immunocomplexes lors de la diffusion double en gel d'agarose (c.f. Doc.Sc.prov.028). L'évolution des précipités a été suivie pendant 96 heures avec des lectures à 12h, 28h, 48h et 96h pour avoir une idée complète de la formation et de la disparition des précipités. Le sérum de lapin témoin n'a donné lieu à aucun précipité avec les divers antigènes.

3.6. Obtention des immunsérums : La réponse immunitaire varie d'un lapin à l'autre et 2 immunsérums ne sont jamais identiques. Nous avons donc essayé d'obtenir des mélanges d'immunsérums de plusieurs lapins.

3.6.1. Immunsérum anti sérum de coryphène.

Nous avons obtenus à l'Institut Pasteur de Paris par immunisation de 2 lapins avec des sérums de *Coryphaena hippurus*, des résultats très satisfaisants avec les protocoles suivants. Ces méthodes pourront être utilisées avec du sérum de sardinelle dont le principal inconvénient est d'être obtenu en très petites quantités.

Première méthode : premier jour 0,4 ml de sérum de coryphène + 0,6 ml d'Adjuvant complet de Freund en injection sous cutanée (S.C.) au flanc droit.

septième jour : 0,8 ml de sérum de coryphène + 1 ml d'Adjuvant en injection S.C. au flanc gauche. Dixième jour : 1,6 ml de sérum de coryphène + 1,8 ml d'Adjuvant en injection S.C. à l'épaule. Repos de 11 jours. Injection intraveineuse de 0,8 ml de sérum de coryphène ~~pour~~ le 21^o jour - Saignée le 31^o jour donnant l'immunsérum N^o1.

Deuxième méthode : premier jour 0,25 ml de sérum de coryphène + 0,5 ml d'Adjuvant en injection intradermique, dans la paume de la patte. Repos jusqu'au 21^e jour puis injection intraveineuse de 0,15 ml de sérum de coryphène + 0,75 ml d'Adjuvant. ~~Prises~~ d'essais les jours suivants et saignée donnant l'immunsérum N^o2.

3.6.2. Immunsérum anti hémoglobine de coryphène

Nous avons immunisé 2 lapins (1 an et 18 mois) par injection d'une solution d'hémoglobine de la façon suivante :

- 1^o jour 1 ml Sc flanc gauche
- 4^o jour 1 ml Sc flanc droit
- 7^o jour 1 ml Sc épaule droite
- 12^o jour 1 ml Sc épaule gauche
- 15^o jour 1 ml IV
- 15^o au 23^o jour repos
- 23^o jour 1 ml IV rappel
- 33^o jour saignée

Les deux immunsérums ont été mélangés puis titrés par immunodiffusion double en gel d'agarose.

Les arcs de précipitation se redissolvent au bout de 24h sauf ceux avec l'hémoglobine diluée au $\frac{1}{16}$.

3.6.3. Immunsérums anti hémoglobine de Bonite :

Ils ont été obtenus sur deux lapins (1 an et 18 mois)

Les 1°, 4°, 7° et 12° jour : 1 injection sous cutanée de 1 ml de solution d'hémoglobine.

Les 15° et 19° jour : injection intraveineuse de 1 ml

Repos du 58° au 67° jour. Saignée le 67° jour. Titre $\frac{1}{2048}$

Le titre est obtenu par la technique de précipitation interfaciale appelée "Ring-test". On dépose 0,2 ml d'immunsérum pur au fond d'un microtube puis 0,2 ml de la solution d'antigène diluée en évitant le mélange.

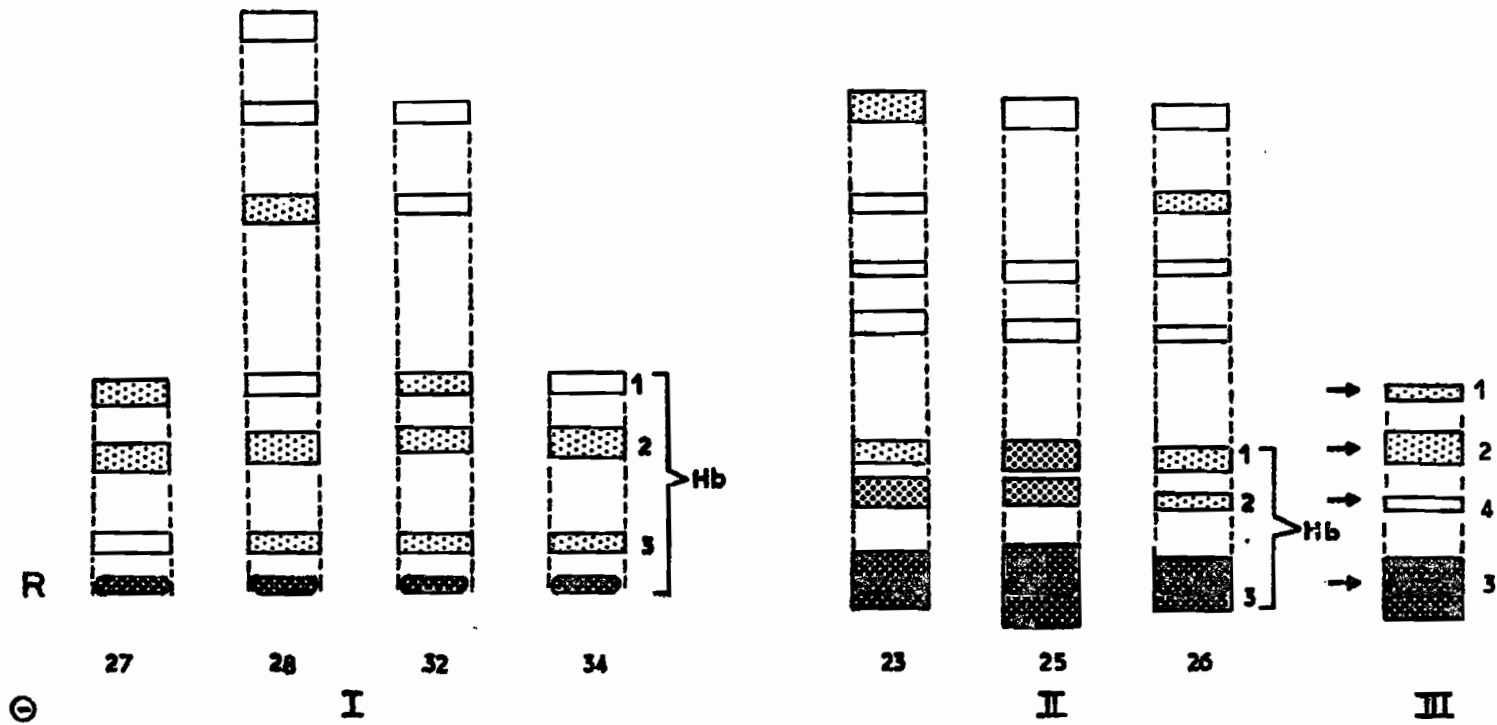
Le titre est donné par la plus grande dilution de l'antigène donnant lieu à un précipité.

3.6.4. Immunsérum anti hémoglobine de Scomberomorus tritor.

Obtenu sur un lapin de 15 mois par injections sous cutanée de 1 ml de solution d'hémoglobine les 1°, 3°, 8° et 11° jours suivies d'injections intraveineuses de 1 ml les 23°, 30° et 38° jours -

Repos du 38° au 47° jour et rappel le 48° jour : 1,2 ml IV. Repos puis saignée le 56° jour.

⊕



ELECTROPHOREGRAMME DE L'HEMOGLOBINE DE SCOMBER japonicus

I et II. — Gel d'agarose Behring 1.5%, Tampon véronal pH=8.16 - 5h 30 à 150v, coloration au noir amido 12 BN

III Gel d'agarose Behring 1.5%, Tampon de Hirschfeld pH=8.58, 6h à 5 v/cm .

Les flèches indiquent les fractions révélées à la benzidine

PLANCHE I

4. RESULTATS

4.1. MAQUEREUX

Le sang de 14 maquereaux de 25 cm environ a été ponctionné le 20 avril 1969 à la sortie du port de Tema (GHANA). Trois prises ont été faites sur anticoagulant: les globules ne se sont pas conservés et ont été inutilisables. Douze ponctions individuelles sans anticoagulant (de 23 à 34) ont été utilisées pour obtenir les sérums et l'hémoglobine.

Comme nous l'avons déjà constaté dans un travail précédent, le sang de Scomber japonicus, dans les conditions où nous le prélevons, ne donne pas lieu à la formation d'un caillot avec exudation nette de sérum.

4.1.1. Recherche d'iso et d'hétérohémagglutinines naturelles

Le manque de globules n'a pas permis cette étude.

4.1.2. Etude de l'hémoglobine (Planche I): L'électrophorèse en gel d'agarose Behring et tampon véronal à pH= 8,16 révèle 3 fractions, la première étant la plus faible.

Avec le tampon de Hirschfeld pH= 8,58 la benzidine décèle une 4ème fraction très faible entre les fractions 2 et 3.

Par diffusion double en gel d'agar (Planche VII) contre des immunosérums anti hémoglobine de bonite ou de Sc. tritor des communautés antigéniques sont mises en évidence entre l'hémoglobine de maquereaux et :

- l'hémoglobine de bonite : précipités 1_a, 1_b et 5
- l'hémoglobine de Sc. tritor : précipités 1,3, et 5
- l'extrait de foie de Th. albacores: précipités 1, 3a, 3b, 5 et 6.

On remarque par ailleurs que l'hémoglobine de maquereaux donne lieu à 4 précipités contre l'immunosérum anti hémoglobine de Sc. tritor.

4.1.3. Etude du sérum: L'électrophorèse en gel d'agarose Behring et tampon de Hirschfeld révèle 11 fractions. La première très importante, a une mobilité relative supérieure à l'albumine humaine. La fraction 2 est dense et migre légèrement plus loin que l'albumine humaine.

La fraction 4 est très dense. Les fractions 7 (au niveau des bêta humaines) et 8 sont importantes. Les fractions 3,5,6,9,10 et 11 sont plus faibles. La fraction 5 est située au niveau des alpha humaines et les fractions 9,10 et 11 de mobilités relatives positives se trouvent au niveau des gamma humaines.

Remarque : Le sérum 25 a été testé vis-à-vis des globules rouges humains des groupes O, A et B. Aucune agglutination n'a été constatée.

SÉRUMS	G.R.	16	17	18	19	20	21
HUMAINS DE SUJETS	O	x	x	3	x	x	x
	A	x	x	x	x	x	x
	B	x	4	x	x	x	x
	AB	x	x	x	x	x	x
	O absorbé	x	x	x	x	x	x
	A absorbé	0	2	x	x	x	x
B absorbé	1	1	3	3	4	4	
CORYPHÈNE	19	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-
	21	-	1	3	-	3	-
SCOMBEROMORUS tritor	2	4	4	3	x	3	4
	4	-	-	-	-	-	-
SCOMBER japonicus	25	-	-	-	2	-	-
PHYTOAGGLUTININE	S.g.1	4	3	3	3	2	3

TABLEAU 2 : Réactions d'agglutination des globules rouges de Coryphène hippurus

SÉRUMS	G.R.	1	224	4
HUMAINS DE SUJETS	O	x	x	4
	A	x	x	4
	B	x	x	x
	AB	x	x	x
	O absorbé	x	x	x
	A absorbé	4	4	3
B absorbé	4	3	3	
CORYPHÈNE	19	0	2	2
	20	0	0	0
	21	0	0	0
SCOMBEROMORUS tritor	2	-	-	-
	4	-	-	-
SCOMBER japonicus	25	1	-	-
PHYTOAGGLUTININE	S.g.1	1	2	-

TABLEAU 3 : Réactions d'agglutination des globules rouges de Scomberomorus tritor

4.2. Coryphènes

Cette étude porte sur le sang de 6 coryphènes (C16 à C21) pêchées en avril 1969 dans la même aire (aucune prise entre 4°53'N - 1°08 W et Cotonou) ainsi que sur les sérums de coryphènes pêchées en avril 1968 (C9 à C15).

Le sexe des coryphènes C16 à C21 a été relevé : mâles 18 et 20 et femelles, 16, 17, 19 et 21.

4.2.1.- Recherche d'iso et d'hétérohémagglutinines naturelles (Tableaux 2 et 3)

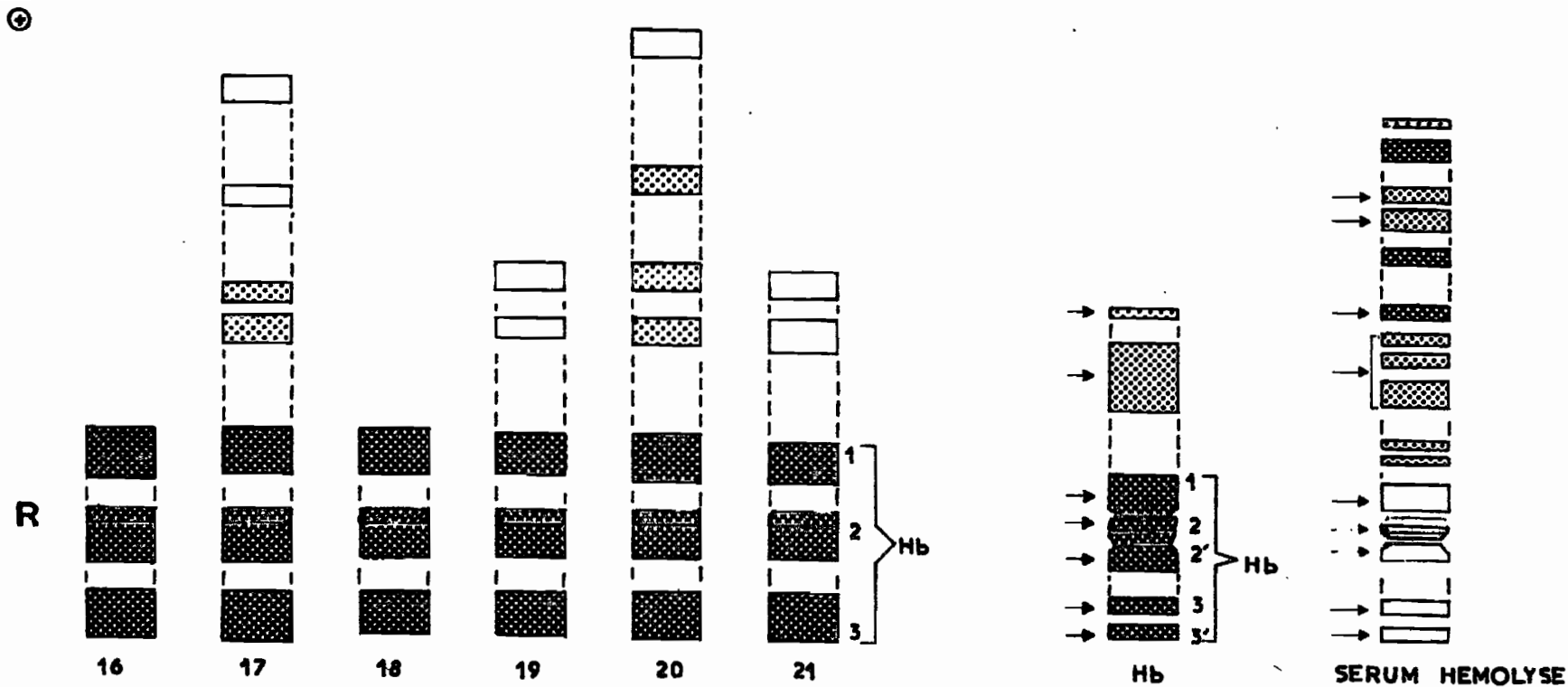
La présence d'au moins une isoagglutinine dans le sérum de coryphène est confirmée on la trouve dans le sérum 21 qui agglutine les globules 18 et 20. Il serait intéressant de rechercher le nombre exact de ces isoagglutinines et d'en déduire un groupage sanguin simple (comme le groupe A,B,O, humain)

Contrairement aux résultats obtenus avec les coryphènes C8 à C15 les globules 16 à 21 sont tous agglutinés par les sérums humains et par des agglutinines différentes de l'anti A et de l'anti B humaine -

Le sérum de Sc. tritor et l'extrait de *Stylosenthes gracilis* (phytoagglutinine) agglutinent les 6 globules testés sans pouvoir les différencier.

Nous avons enfin la confirmation de la présence dans le sérum de coryphène d'hétérohémagglutinines naturelles capables de déceler des différences antigéniques sur les globules rouges de bonite (Tableau 4). Inversement les globules 8,24 et 26 de Bonite différencient les sérums 19,20 et 21 de coryphène.

Vis-à-vis des globules rouges humains il est intéressant de noter que le sérum C20 agglutine (force 3) les globules des groupes D et A mais non ceux du groupe B. Le sérum C21 hémolyse ces 3 types de globules et le sérum C19 ne les agglutine pas et ne les hémolyse pas.



I
ELECTROPHOREGRAMME DE L'HEMOGLOBINE DE CORYPHAENA hippurus
II

I Gel d'Agarose Behring 1.5% Tampon véronal pH= 8.16 , 5h30 à 150v coloration au noir Amido 12 BN
II Gel d'Amidon 13% , Tampon de Ashton pH= 8.0 , 9h à 150v. Les flèches indiquent les fractions révélées à la benzidine

4.2.2. Etude de l'hémoglobine (Planche II)

Nous avons retrouvé par électrophorèse en gel d'agarose Behring les 3 fractions bien marquées déjà mises en évidence précédemment en gels d'agarose Fluka et I.B.F.- L'électrophorèse en gel d'amidon et tampon de Ashton à pH = 8,0 révèle un dédoublement des fractions 2 et 3 colorées par la benzidine.

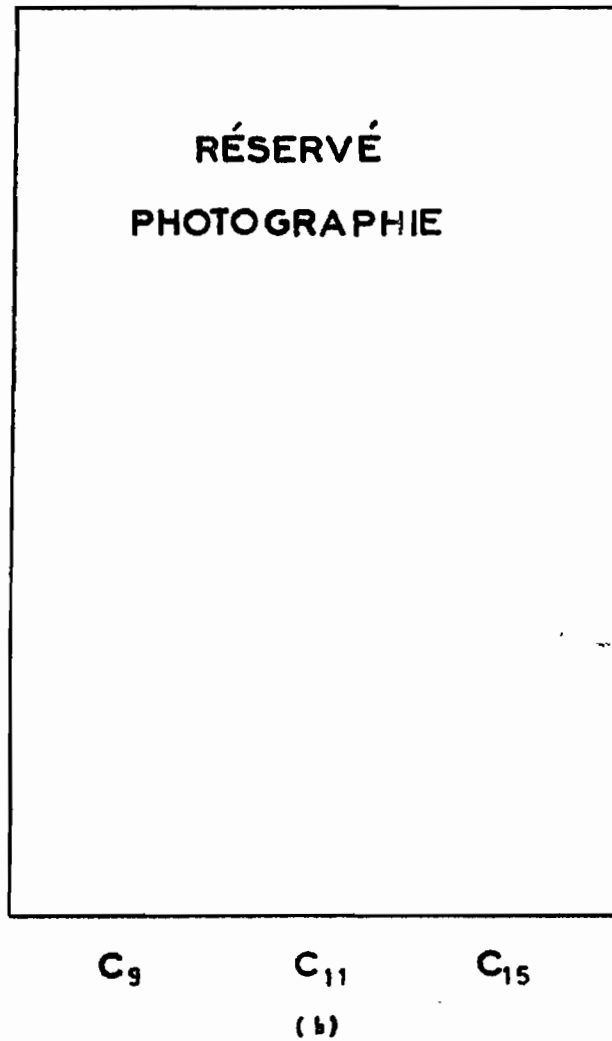
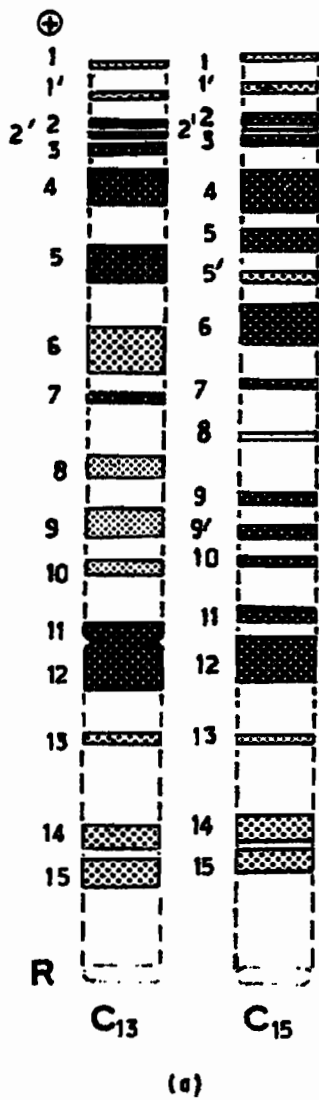
L'analyse immunoelectrophorétique nous apporte de précieux renseignements (photographie 1). Tout d'abord l'identité antigénique des trois fractions révélées en électrophorèse : les 3 arcs de précipitation révélés par la benzidine, l'amidoschwartz ou le rouge ponceau peuvent être considérés comme un seul arc à 3 courbures traduisant la précipitation entre l'antigène et la famille d'anticorps correspondante. Ainsi à des mobilités électrophorétiques différentes (3 fractions) se superpose une spécificité immunochimique unique -

Notons ici que : "une même substance présentant diverses variétés moléculaires peut apparaître sur les électrophorégrammes sous l'aspect de plusieurs fractions distinctes; c'est le cas des isoenzymes ou de pigments respiratoires, tels que l'hémocyanine" (W. GHIDALIA)

La solution antigénique d'hémoglobine ayant servi à l'immunisation contenait au moins 2 antigènes sériques traduits par 2 arcs A et B non révélés par la benzidine.

Des essais de concentration de l'immunsérum par relargage au sulfate d'ammonium à diverses concentrations (25,33,50 % de saturation) suivi de dialyse contre de l'eau physiologique nous montrent que la famille d'anticorps anti Hb de coryphène se trouve dans les 3 fractions obtenues.

Enfin par diffusion double en gel d'agar nous retrouvons trois précipités distincts sans communauté antigénique avec les hémoglobines de bonite, de Scotritor, de maquereaux ou d'extrait de foie de Th. albaeares.



**ELECTROPHOREGRAMME DU SERUM DE CORYPHAENA
hippurus**

(a) Gel d'amidon à 13%, Tampon de Poulick pH=8.56 . 5h à 7 V/cm .

(b) Gel d'amidon à 13%, Tampon de Ashton (Localisation des Transferrines par autoradiographie)

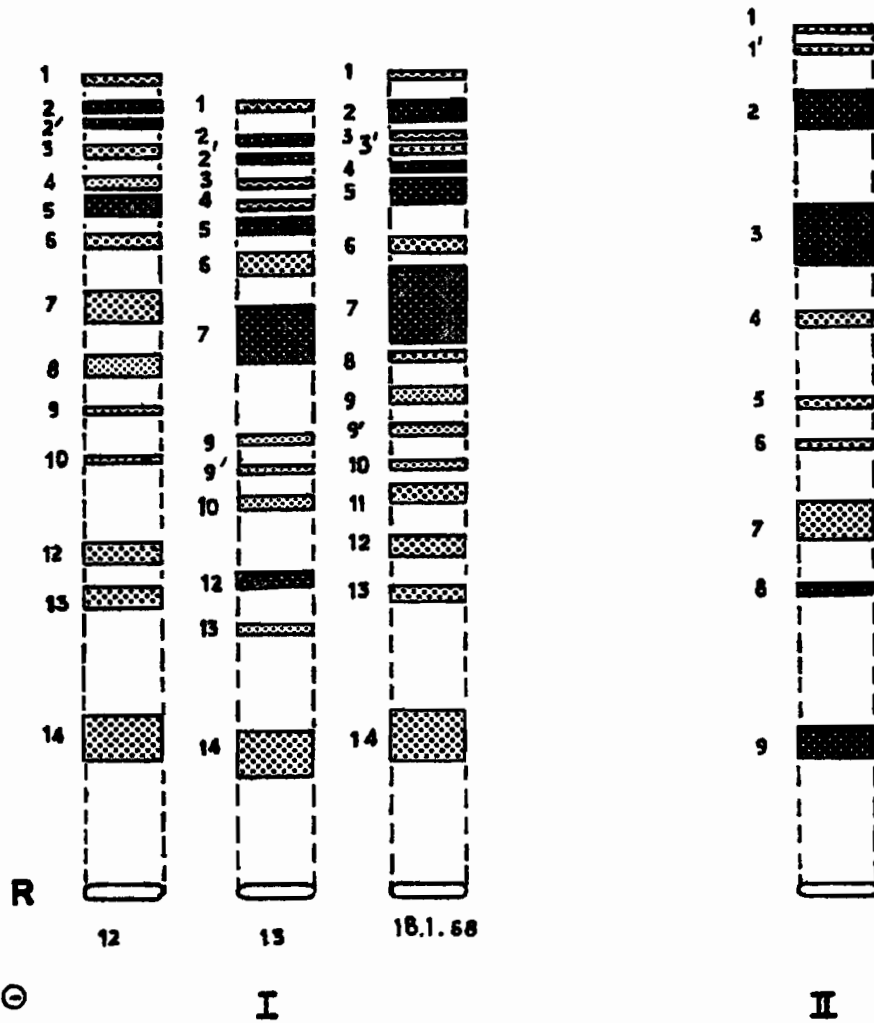
4.2.3. - Etude du sérum (Planche III)

L'évaluation en protéines totales est de 65 g par litre par la méthode du biuret. L'électrophorèse en gel d'agarose ayant révélé au moins 11 fractions: fraction 1 très importante de mobilité relative supérieure à l'albumine humaine; fractions 2 et 2' importantes et légèrement plus lentes que l'albumine humaine; la fraction 3 et la fraction 4 (transferrine) sont très importantes, 4' et 5 sont plus faibles. Les fractions 6 (dense) et 7 (très dense) migrent au niveau des bêta humaines. Les fractions 8 et 9 sont mal définies.

L'électrophorèse en gel d'amidon et tampon de Poulick à pH=8,56 révèle 19 fractions dont certaines pourraient donner lieu à un polymorphisme (fraction 5,8 et 9).

La localisation des transferrines a été effectuée après électrophorèse en gel d'amidon et tampon de Ashton. Là aussi 19 fractions sont visibles et parmi elles la fraction 6 est une transferrine. Il semblerait qu'un polymorphisme soit possible mais ceci devrait être vérifié sur un grand nombre d'échantillons. En effet le sérum C₉ possède une fraction 6 ou TfA et une fraction 6' que nous appellerons Tf B- L'autoradiographie après électrophorèse sur papier ne révèle qu'une bande de transferrine pour les 3 échantillons (photographie 2).

⊕



⊖

ELECTROPHOREGRAMME DU SERUM D'ACANTHOCYBIUM

solandri (I) ET DE TETRAPTURUS sp (II)

Gel d'émidon 13% - Tampon de Poulick pH=8.56 5h à 7 V/cm

4.3. Acanthocybium solandri

Seule l'étude du sérum a pu être poursuivie sur un échantillon de Janvier 1968 et les échantillons 12 et 13 d'avril 1968 (Planche V). La teneur en protéines totales par la méthode du biuret nous a donné en Février 1968 48 g/litre (61 g/litre par la méthode de Kjeldhal). Une mesure effectuée en Novembre 1968 nous a donné 55 g/litre. L'électrophorèse en gel d'agarose avait révélé 10 fractions. En gel d'amidon et tampon de Poulick, 16 fractions sont différenciées dont certaines pourraient donner lieu à un polymorphisme : fractions 2,3,8,9 11.

On constate des mobilités électrophorétiques comparables entre les fractions 14 du sérum d'Acanthocybium et les fractions 14-15 du sérum de coryphène.

SERUMS	GR	7	8	15	18	19	24	26	30	31	33	36	37	38	39	40	42
HUMAINS DE	O	4	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	o	x
	A	4	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	4	x	o	x
	B	x	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	o	x
	AB	4	x	o	o	o	o	o	o	o	o	o	x	x	x	o	4
S U J E T S	O absorbé	x	x	o	x	4	x	x	x	x	x	o	x	x	x	4	x
	A absorbé	4	x	o	o	o	o	3	o	4	o	o	x	x	x	o	x
	B absorbé	x	x	o	o	o	o	o	o	x	o	o	x	x	x	o	x
CORYPHENA hippurus	19	1	-	///	///	///	2	-	///	2	///	///	4	3	3	///	3
	20	o	-	///	///	///	3	3	///	3	///	///	3	3	3	///	3
	21	o	3	///	///	///	-	4	///	4	///	///	4	2	4	///	3
SCOMBEROMORUS tritor	2	-	1	///	///	///	1	2	///	2	///	///	-	2	-	///	3
	4	3	2	///	///	///	-	2	///	-	///	///	4	4	4	///	3
SCOMBER japonicus	25	-	-	///	///	///	-	-	///	-	///	///	-	-	-	///	-
PHYTOAGGLUTININE	Sg.1	1	3	///	///	///	-	-	///	-	///	///	1	3	-	///	-

TABLEAU 4 : Réactions d'agglutination des globules rouges
d'*Euthymus alleteratus*

4.4. BONITES

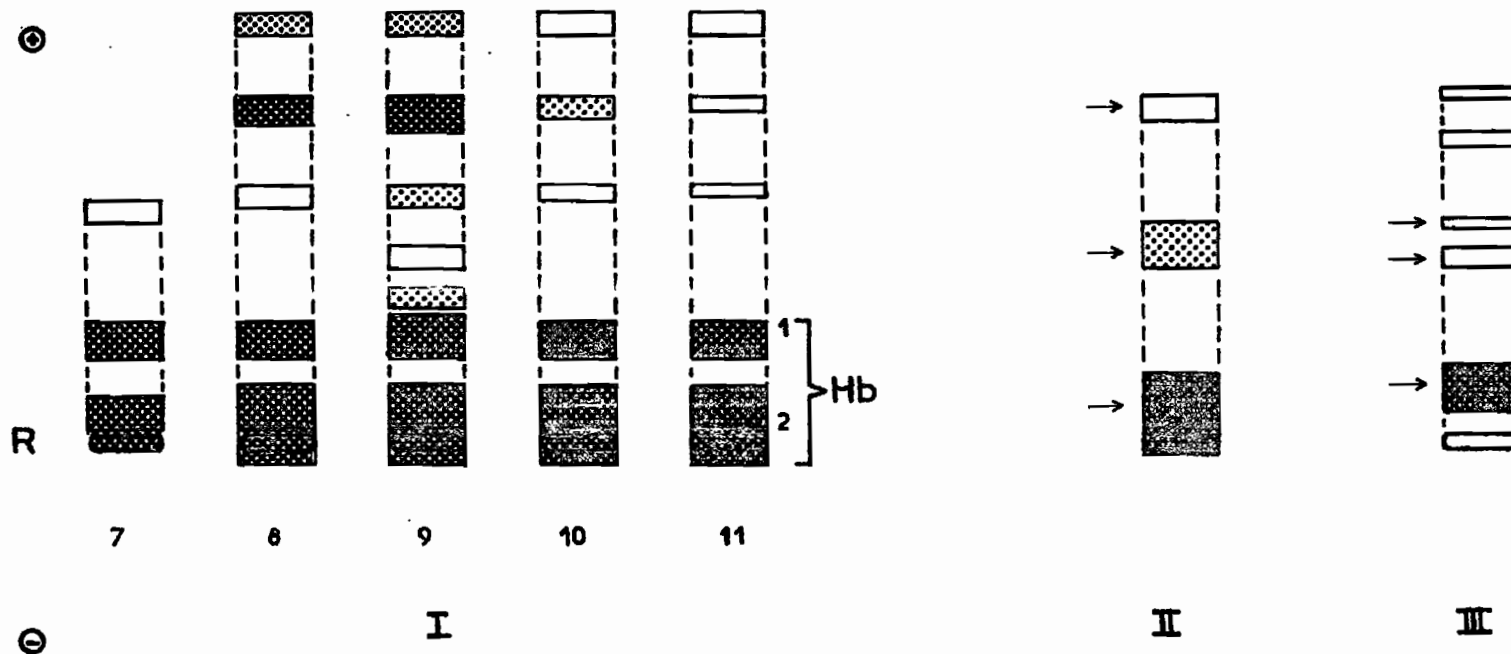
Etude portant sur les sangs des 36 bonites (7 à 43) d'avril 1969. Nous avons vérifié une fois de plus que le sang pris sans anticoagulant ne donne pas lieu à la formation de caillot même après 8 jours à + 4°. Cette particularité mérite d'être retenue et il serait très intéressant de savoir quels sont les facteurs qui déterminent cet état particulier du sang ainsi que ses repercussions physiologiques (chez les arthropodes le sang coagule sans prothrombine ni fibrinogène grâce aux amibocytes; chez les batraciens ce sont les thrombocytes qui démarrent le processus de coagulation).

Le processus de coagulation du sang est une protection contre les hémorragies et les blessures : les bonites ne doivent pas échapper à la règle. Peut-être existe-il un "facteur de contact" qui permet la coagulation au niveau des tissus lésés et qui est absent dans une prise de sang intracardiaque stérile. (Des essais de coagulation seront faits par addition de coton hydrophile). D'autre part les sangs pris sur citrate donnent des globules rouges apparemment intacts après 7 à 8 lavages à l'eau physiologique à 9,5%. En fait aux tests d'agglutination on constate que bon nombre de globules sont impropres à la lecture. Les globules rouges de bonite doivent donc être considérés comme fragiles.

4.4.1. : Recherche d'iso et d'hétérohémagglutinines (Tableau 4)

Les sérums humains agglutinent fortement les globules de bonite quand ceux-ci ne sont pas dénaturés et les hétéroagglutinines de coryphène permettent une différenciation des globules testés comme cela avait déjà été constaté. Notons aussi une faible action d'une phytoagglutinine de la graine de *Stylosanthes gracilis*.

4.4.2. Etude de l'hémoglobine (Planche VI). Nous n'avons pas pu séparer correctement l'hémoglobine des composés sériques et ceux-ci se retrouvent sur l'électrophorogramme. On retrouve les deux importantes fractions 1 et 2 de mobilité relative positive et par immunodiffusion on obtient 2 précipité (5 et 6) avec l'immunsérum anti hémoglobine de Bonite (Planche VII). La réaction à la benzidine



ELECTROPHOREGRAMME DE L'HEMOGLOBINE D'EUTHYNNUS *alleteratus*

I Gel d'Agarose Behring 1,5% , Tampon véronal pH= 8,16 - 5h30 à 150 v - coloration au noir amido 12 BN
 II Gel d'Agarose Behring 1,5% , Tampon de Hirschfeld pH= 8,58 - 6h à 5v/cm -
 III Gel d'Amidon 13% Tampon de Ashton 7h à 180v. Les flèches indiquent les fractions révélées à la benzidine

PLANCHE **V**

révèle une troisième fraction électrophorétique plus rapide que les précédentes et l'immunsérum anti hémoglobine de Sc. tritor donne lieu à 3 précipités avec l'hémoglobine de Bonite.

L'analyse immunoélectrophorétique enfin ne nous a donné qu'un seul arc très dense au niveau de la fraction 2.

4.4.3. Etude du sérum : Le sérum est difficile à obtenir et n'est jamais exempt d'hémoglobine qui cache les fractions sériques qui pourraient se trouver entre le réservoir et la fraction 7. L'électrophorèse en gel d'agarose Behring et tampon de Hirschfeld révèle au moins 7 fractions.

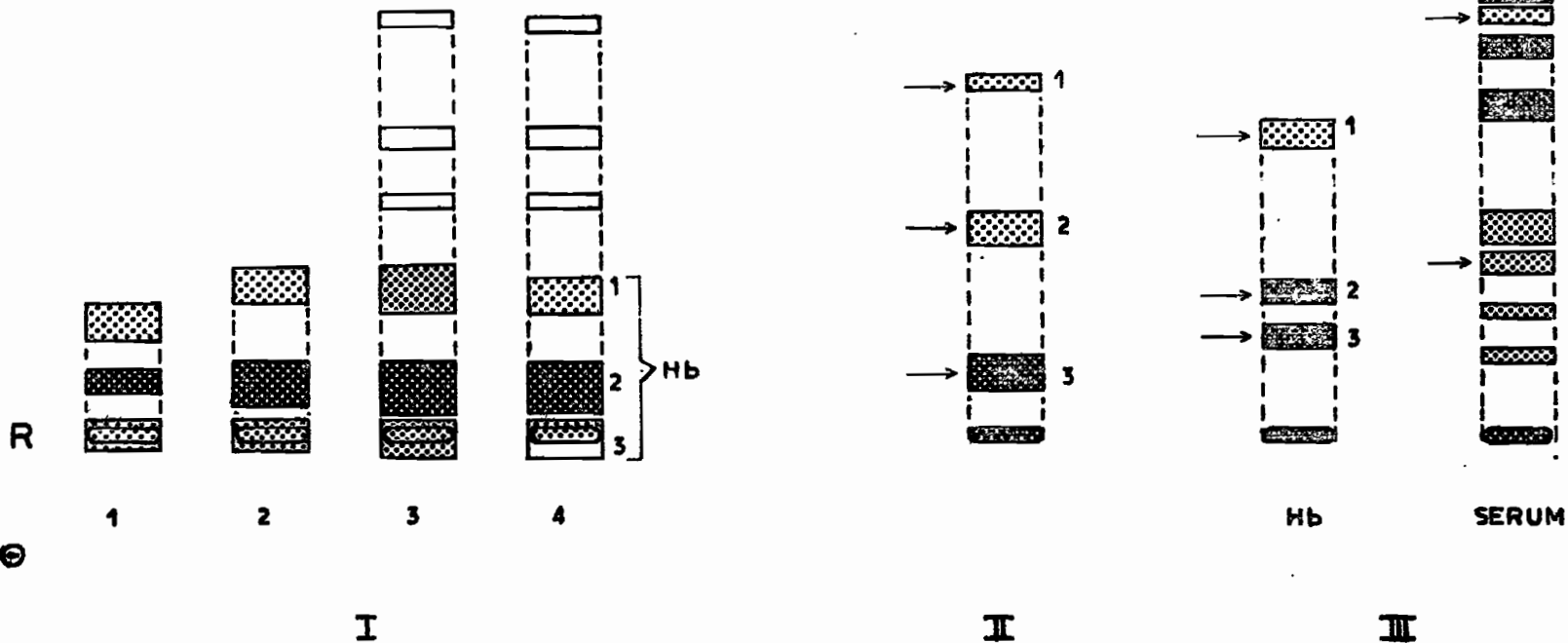
Par rapport à l'albumine humaine les fractions 2 et 3 très importantes ont des mobilités électrophorétiques relatives supérieure pour la fraction 2 et légèrement inférieure pour la fraction 3. La fraction 6 très importante a une mobilité comprise entre les alpha et les bêta humaines. Les fractions 4, 5 et 7 sont plus faibles.

Les fractions très importantes 2, 3 et 6 sont constantes et présentent des analogies avec les fractions 1, 2 et 4 de Sc. tritor et les fractions 2 et 3 de Sc. japonicus.

4.5. - Tetrapturus

Le sérum de ce poisson après un an de congélation a une valeur en protéines totales de 61 g/l (méthode du biuret). L'analyse électrophorétique en gel d'amidon et tampon discontinu de Poulick à pH= 8,56 révèle 10 fractions (Planche V).

⊕



⊖

ELECTROPHOREGRAMME DE L'HEMOGLOBINE DE SCOMBEROMORUS tritor

I Gel d'Agarose Behring 1.5%. Tampon véronal pH= 8.16, 5h 30 à 150v. coloration au noir amido 12 BN

II Gel d'Agarose Behring 1.5%. Tampon Hirschfeld pH= 8.56, 6h à 5v/cm.

III Gel d'Amidon 13%, Tampon de ASHTON pH= 8.0. 7h à 180v.

Les flèches indiquent les fractions révélées à la benzidine

PLANCHE VI

4.6. Scomberomorus tritor

Nous avons pêché 4 de ces poissons appelés communément Bonite. Nous avons remarqué une fois de plus une irrégularité de la ligne latérale gauche sur l'un d'entre eux (N°3, mâle) alors qu'elle est régulière sur les deux autres observés (N°1 et 2, femelles).

4.6.1. Recherche d'iso et d'hétérohémagglutinines naturelles (Tableau 3)

Les globules rouges sont tous agglutinés par les sérums humains. Aucune différenciation n'a pu être faite entre les 3 globules testés. Par contre les sérums 2 et 4 diffèrent par la nature de leurs agglutinines naturelles vis-à-vis des globules de coryphènes (agglutinés par le sérum 2 et non par le 4) et de certains globules de bonite.

4.6.2. Etude de l'hémoglobine (Planche 71). Nous avons trouvé trois fractions bien nettes aussi bien en gel d'agarose qu'en gel d'amidon. L'immunodiffusion double révèle 3 précipités importants et un quatrième qui pourrait être dû à la rencontre d'un antigène sérique (la solution injectée au lapin n'était pas pure) et des anticorps correspondants. L'analyse immunoelectrophorétique ne révèle qu'un seul arc très dense.

4.6.3. Etude du sérum : L'électrophorèse en gel d'agarose Behring et tampon de Hirschfeld révèle 9 fractions, les 4 premières étant les plus importantes. Les fractions 7, 8, et 9 sont assez importantes et les fractions 5 et 6 sont faibles.

Remarque : Le sérum 4 agglutine totalement les globules rouges humains des groupes O, A et B et le sérum 3 agglutine totalement les globules rouges humains du groupe B, très peu ceux du groupe A (force 2) et pas du tout ceux du groupe O.

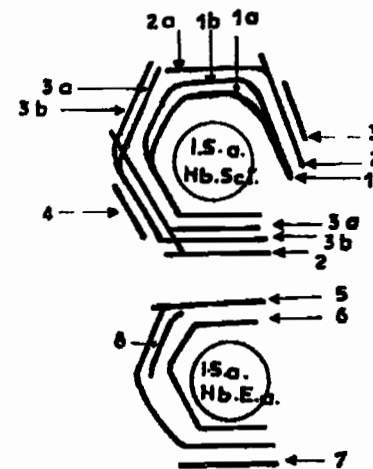
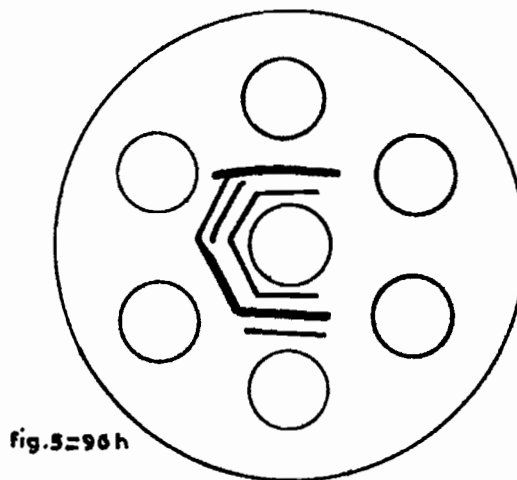
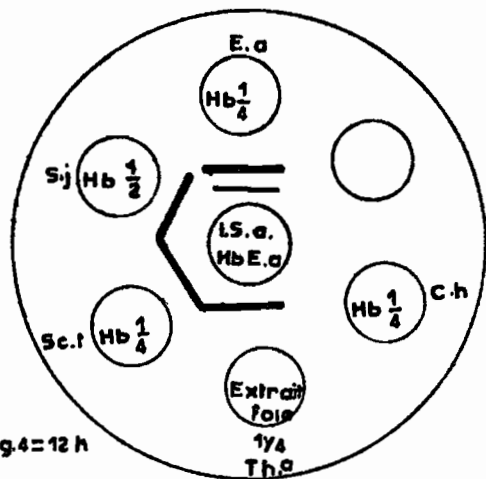
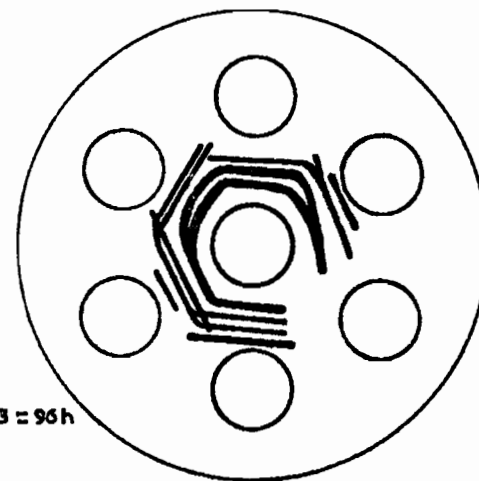
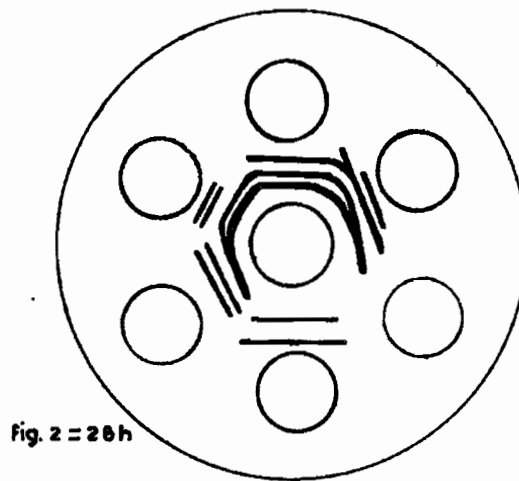
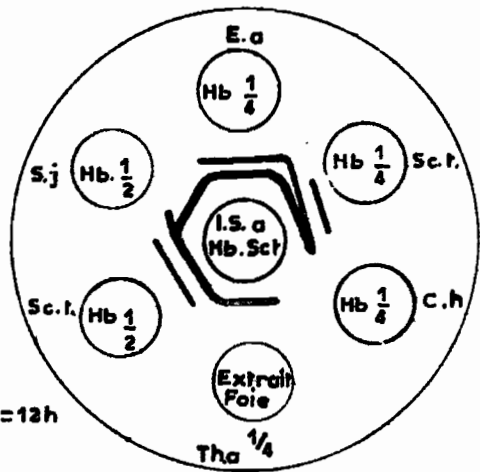


PLANCHE VII : IMMUNODIFFUSION DOUBLE EN GEL D'AGAR DES HEMOGLOBINES de *E. alleteratus*, *S. japonicus*, *Sc. tritor*, *C. hippurus*, et d'extract de foie de *Th. albacares*.

BIBLIOGRAPHIE

BARON (J.C.)- 1968- Note sur le sang de quelques poissons marins de Côte d'Ivoire - C.R.O. d'Abidjan - Doc. Sc. Pr. n°023.

FINE (J.M.)- 1968 - Electrophorèse en gel d'amidon in: Techniques d'électrophorèse de zones. Ed. de la Tourelle, PARIS, pp. 45-77

GHIDALIA (W)- 1969- Etude électrophorétique et immunochimique du sérum d'un crustacé décapode *Macropipus puber* (LINNE) Application à l'immunochimie systématique des crustacés in. Cahiers de Biologie marine Ed. de la Station biologique de Roscoff. Tome X cahier 2 pp 109-128.

UTTER (M), RIDGWAY, (G.J.), HODGINS (H.O.)- 1964

Use of plant extracts in serological studies of fish. Spec. Sci.Rep.Fish. (472)

WILKINS (N.P.) - 1968- Multiple haemoglobins of the Atlantic salmon (*Salmo salar*)

J. Fish. Res. Bd. Canada 25 (12) pp 2651-2663.

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 nycthémerales 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, Euthymnus alleteratus, Tetrapturus sp.)

- 024 - BAUDIN LAURENCIN, F.G. & MARCHAL, E.G. - Juin 1968
Contribution à l'étude biométrique de l'Albacore (*Thunnus Albacores*)
du golfe de Guinée.
- 025 - LE LOUEFF, P. & INTES, A. - Juillet 1968
La faune benthique du plateau continental de Côte d'Ivoire
Récoltes au chalut - Abondance - Répartition -
- 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, D. - 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
Sardinelles - (*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.).
- 031 - BARRO, M. Novembre 1968
Première estimation sur la croissance des *Brahydenterus Auritus*
(Val. 1834) en Côte d'Ivoire
- 032 - Campagne guinée I du "Jean Charoot" - Résultats d'observations
fascicule I. Bathythermogrammes
fascicule II. Courants (à paraître)
fascicule III. Stations hydrologiques (à paraître)
fascicule IV. Phytoplancton (à paraître)
fascicule V. Atlas (à paraître)
- 033 - TROADEC, J. P. - BARRO, M. - BOUILLON, P. - Mars 1969
Pêche au chalut sur la radiale de Grand-Eau Jan.
- 034 - MARTIN, L. Mars 1969
Introduction à l'étude géologique du plateau continental ivoirien
Premiers résultats
- 035 - REYSSAC, J. Mars 1969
Mesures de la production primaire par la méthode du ¹⁴C au large de
la Côte d'Ivoire (

036 - BOUILLON, P. - TROADEC, J.-P. - BARRO, M. Octobre 1969

Pêches au chalut sur les radiales de Jackville, Grand-Lahou, Fresco
et Sassandra (Côte d'Ivoire)