

ZV0001123

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES
B.P. 2057

DAKAR - HANN

FICHE TECHNIQUE

HEMAGGLUTINATION ET INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION
DES ARBOVIRUS

Par Dr A. NIASSE

REF. N° 114/VIRO.
OCTOBRE 1982.

Matériel et réactifs (Voir fiche n° 1).

A - Hémagglutination

- 1 - Diluer l'antigène (voir fiche n°) au 1/10 dans BAB et laisser à + 4°C jusqu'au lendemain.
- 2 - Le lendemain, préparer les hématies d'oie dans les divers pH (5,7 et 7,2)
- 3 - Marquer la plaque de A à H (voir croquis) et de 1 à 12.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
pH	5,7	6	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2

- 4 - Distribuer le diluant BAB à raison de 0,05 ml dans toutes les cupules de 2 à 12.
- 5 - Distribuer 0,1 ml d'antigène dans chacune des cupules de la rangée 1 de A à H.

- 6 - Procéder aux dilutions de raison 2 de 10 à 1 280.
- 7 - Distribuer chaque suspension d'hématie de pH défini dans les rangées A, B, C, D, E, F, G, H.
- 8 - Laisser reposer à la température ambiante et lire après 36, 45 et 60 minutes et noter les résultats comme suit :

P = agglutination complète

p = agglutination presque complète (couronne d'hématies non agglutinées à la périphérie)

PN = trace d' agglutination en couronne autour du culot d'hématies
sédimentées

N = aucune agglutination. Les GR ont sédimenté et forment un culot bien net' ddd dddddd
 11/11/1963

Conclusion

Noter le titre de l'antigène aux divers pH.

Le pH de travail sera celui qui aura donné le titre maximum qui est 1 unité
HA/0,05 ml.

Ce titre sera divisé par 8 pour déterminer la dilution optimale de l'antigène pour avoir 4 unités HA/0,025 ml.



6. A copy of the report of the company will be made available to the public.

.....

INHIBITION DE L'HEMAGGLUTINATION

I - Traiter les sérums hyper-immuns ou sérums à tester comme suit :

- 1) Ajouter à 0,5 ml de sérum 4 ml de Kaolin à 5 %.
- 2) Agiter (agitateur) 20 mn à température ambiante.
- 3) Centrifuger à 4 000 t/mn pendant 30 mn à 22°C.
- 4) Ajouter sans décantier 0,5 ml de suspension hématies d'oie.
- 5) Garder à + 4° pendant 20 mn (retourner toutes les 5 minutes).
- 6) Centrifuger à 4 000 t/mn pendant 30 mn à + 4°.
- 7) Récolter le surnageant qui est le sérum dilué au 1/10.

II Technique

Chaque plaque est réservée à un antigène. La plaque est disposée verticalement de H 8 A correspondant aux dilutions : 10, 20... 1 280.

Les numéros 7 à 10 de la plaque correspondent aux différents 10 sérums.

- 1) Distribuer 0,025 de BAB dans les cupules 20 à 1 280.
- 2) Distribuer 0,05 ml de chaque sérum au 1/10 dans la cupule 10 correspondant au n° de chaque sérum.
- 3) A l'aide de microdiluteurs, diluer les sérums (à partir de la cupule 10) à raison 2.
- 4) Distribuer 0,025 ml de l'antigène contenant 4 unités HA dans toutes les cupules.
- 5) a) Contrôle : Titre de l'antigène :
 - distribuer 0,05 ml de BAB dans les cupules G, F, E, D, C.
 - distribuer 0,05 ml d'antigène dans les cupules H et G.
- b) Contrôle hématies

Mettre 0,05 ml BAB dans la cupule contrôle hématies.
- 6) Recouvrir les plaques et garder à + 4° C pendant 18 heures.
- 7) Diluer au pH indiqué pour chaque antigène (voir A) la solution des hématies comme suit : 1 volume suspension au 1/10 d'hématies + 23 volumes BAB soit une suspension de 0,4 p.100.

- 8) Diluer les contrôles d'antigène avec microdiluteurs de 0,05 de G à C (on a ainsi 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 unités HA).
- 9) Distribuer 0,05 d'hématies préparées comme en 7 dans toutes les cupules de chaque plaque,
- 10) Laisser reposer les plaques à la température ambiante. Noter les résultats une fois le témoin hématies est complètement sédimenté.

Conclusion

Le titre inhibition d'un sérum est donné par l'inverse de sa plus grande dilution qui inhibe complètement l'hémagglutination.

Le contrôle antigène doit montrer que 4 unités hémagglutinantes ont été utilisées dans la réaction.