

DÉRIVE ANTIGÉNIQUE D'UNE SOUCHE DE VIRUS INFLUENZA EQUI ISOLÉE EN FRANCE AU COURS DE L'HIVER 1978-1979

E. PLATEAU, Catherine CRUCIERE et G. GAYOT

avec la collaboration technique de B. GICQUEL et Sylvie GILLET-FORIN

Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, 22, rue Pierre-Curie, BP 67,
94703 Maisons-Alfort Cedex, France

Summary

ANTIGENIC DRIFT OF A STRAIN OF INFLUENZA EQUI VIRUS ISOLATED IN FRANCE DURING WINTER 1978-1979. — A strain of Influenza Equi virus isolated during winter 1978-1979 has been compared with Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) strain by cross reactions performed by radial haemolysis (RH) and hemagglutination inhibition (HAI) test. Specific antisera were prepared on hens and guinea-pigs. Results differed according to the species on which the sera were prepared and the two methods of titration of the antibodies. Hens sera were unable to differentiate by HAI the newly-isolated strain Influenza A/Equine/Joinville/1/78 from the Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) strain, but an antigenic drift of Influenza A/Joinville/1/78 from the original Influenza A/Equine/Miami/1/63 virus could be demonstrated with guinea-pigs' sera either by HAI or by RH.

By HAI, Influenza A/Equine/Joinville/1/78 virus seemed dominant over Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) virus, while in opposite Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) seemed dominant over Influenza A/Equine/Joinville/1/78 when the viruses were compared by RH. Thus, antigenic sites and correspondant antibodies involved in HAI and RH reactions appeared at least partially different.

Le virus Influenza du sous type (H₃N₈) a été responsable de nombreuses épizooties de grippe au sein des effectifs équins depuis la première apparition de ce sous-type viral en 1963 aux USA. Au cours de l'hiver 1978-1979, des troubles respiratoires causés par le virus grippal ont été rapportés dans de nombreux pays d'Europe notamment en France (Plateau *et al.*, 1979 ; Fontaine *et al.*, 1980), en Grande-Bretagne (Burrows *et al.*, 1981). Dans tous les cas le virus responsable s'est révélé porteur d'une hémagglutinine proche de celle de la

souche isolée en 1963 à Miami (H₃) ; l'extension de l'épizootie a pu être attribuée pour une large part à la faiblesse de la protection accordée par les vaccins et/ou au non respect des calendriers de vaccination. Il a en effet été souvent remarqué que le taux des anticorps inhibant l'hémagglutination (IHA) du virus Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) de référence était très faible dans le sérum de certains chevaux. L'enquête épidémiologique a montré ultérieurement que ces animaux appartenaient à des effectifs dans lesquels la vaccination antigrippale était prati-

quée de façon insuffisamment régulière, ces conditions ont certainement été un facteur important de l'extension de l'épizootie.

Par ailleurs, il a été signalé par plusieurs auteurs (Van Oirschott *et al.*, 1981 ; Klingeborn *et al.*, 1981) que les caractères antigéniques de certaines souches isolées à cette époque semblaient avoir dérivé par rapport à la souche d'origine Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈). Au Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires plusieurs virus grippaux possédant l'hémagglutinine H₃ ont été isolés dans la région parisienne au cours de l'hiver 1978-1979 dans différents effectifs de chevaux et notamment dans un club hippique situé à Joinville. Dans cet établissement les animaux avaient présenté des signes cliniques particulièrement intenses et le virus avait pu être isolé facilement au deuxième passage sur œuf embryonné. La souche a été dénommée « Joinville 78 ».

Le but du présent travail a été de comparer par différentes méthodes sérologiques cette souche isolée dans un contexte épidémiologique connu, manifestement pathogène et ayant subi peu de passages depuis son isolement par rapport à la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈).

Matériel et Méthodes

1. Souches de virus

Les suspensions virales sont constituées par les liquides allantoïdiens d'œufs de 11 jours inoculés avec les souches suivantes : Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈), Influenza A/Equine/Prague/1/56 (H₇N₇) provenant de l'American Type Culture Collection (ATCC VR 317 et ATCC VR 297), et la souche Influenza A/Equine/Joinville/1/78, isolée au Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires (Plateau *et al.*, 1979). Les souches sont entretenues sur œuf embryonné de 11 jours et ont subi moins de cinq passages dans notre laboratoire.

2. Traitement des suspensions virales

Les liquides allantoïdiens sont récoltés après 48 h d'incubation à 36 °C. Le virus est utilisé soit sous forme brute, soit après traitement à l'éther suivant la méthode préconisée par Berlin *et al.*, (1963) ; le liquide allantoïdien est vigoureusement homogénéisé volume à volume avec de l'éther froid, puis le mélange est laissé à décanter à +4 °C. Après apparition d'une interface opaque la partie inférieure contenant le virus

purifié est recueillie et utilisée pour le reste des manipulations. Le titrage du virus traité ou non est effectué sur mini-plaques à fond conique (Nunclon) et les dilutions réalisées à la pipette en tampon BABS selon la méthode du centre de contrôle des maladies d'Atlanta (US Department of Health, Education and Welfare, Atlanta, Georgia, 30333 USA) (Anonyme, 1975).

Les hématies de poule servant à la mise en évidence du pouvoir hémagglutinant (HA) des virus grippaux sont lavées et diluées à 0,5 % dans le tampon BABS.

3. Préparation des immunosérums

Sur cobayes : 15 cobayes de 200-300 g sont inoculés par voie intramusculaire et par groupe de cinq avec chacune des trois souches étudiées. L'inoculum est constitué par 0,5 ml (2,5 ml/kg) de liquide allantoïdien non traité ajusté à 4 000 unités hémagglutinantes de virus par ml avant l'inoculation d'antigène. L'absence d'anticorps anti-influenza est vérifiée chez tous les cobayes. Ils sont ensuite saignés par ponction cardiaque au 20^e jour suivant l'inoculation et leurs sérums testés par hémolyse radiale et par inhibition de l'hémagglutination (IHA). Un des cobayes inoculé avec la souche Influenza A/Equine/Joinville/1/78 est mort accidentellement au cours de l'expérience et ne figure pas dans les résultats.

Sur poule : des sérums anti/A/Equine/1/Prague/56 (H₇N₇) et anti/A/Equine/2/Miami/63 (H₃N₈) ont été préparés sur poules Leghorn (un animal par souche) inoculées par voie intramusculaire avec 5 ml (2,5 ml/kg) de liquide allantoïdien provenant d'embryons infectés et titrant 4 000 unités hémagglutinantes par ml. Les animaux ont été saignés par ponction cardiaque 10 jours après inoculation. Ces sérums préparés avant l'apparition de l'épizootie de 1978 constituaient un stock de référence conservé à -80 °C. Un sérum anti-Influenza A/Equine/Joinville/1/78 a été préparé de la même façon après isolement de la souche.

4. Réaction d'inhibition de l'hémagglutination

Traitement des sérums pour élimination des inhibiteurs non spécifiques de l'inhibition de l'hémagglutination. Les sérums sont traités par la chaleur à 56 °C pendant 30 min, les globules rouges de poule à 20 % volume à volume pendant 1 heure puis par le kaolin (1 volume de sérum pour 4 volumes de kaolin 25 %) pendant 15 min en agitation. Les sérums se trouvent

Tableau 1. — Réactions croisées effectuées par la méthode d'inhibition de l'hémagglutination sur des sérums de poules inoculées avec les souches Influenza A/Equine/Joinville/1/78, Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₂) et Influenza A/Equine/Prague/1/56 (H₇N₇). Titres des sérums exprimés en log (antigène traité à l'éther, antigène non traité)

Sérum de poule anti-influenza A	Antigène Influenza A					
	Equine 2				Equine 1	
	Joinville/1/78		Miami/1/63		Prague/1/56	
	traité	non traité	traité	non traité	traité	non traité
<i>Equine 2</i>						
Joinville/1/78	1,9	1,3	1,9	1,6	<1	<1
Miami/1/63	2,5	2,2	3,1	2,8	<1	<1
<i>Equine 1</i>						
Prague/1/56	<1	<1	<1	<1	2,2	1,9

donc du fait du seul traitement portés à une dilution initiale de 1/10 avant titrage.

Titrage des sérums. Les sérums sont dilués de 1/2 en 1/2 en milieu BABS sur microplaque Nunclon 96 trous sous un volume de 0,025 ml et mis en présence d'un volume égal d'une suspension virale contenant quatre unités hémagglutinantes de virus. La séroneutralisation est effectuée en une heure de contact à température du laboratoire puis 0,05 ml de suspension de globules rouges à 0,5 % sont ensuite ajoutés dans chaque cupule et la réaction est lue au miroir inversé après une heure de sédimentation à la température du laboratoire.

5. Réaction de l'hémolyse radiale

La technique utilisée est celle décrite par Russel *et al.* (1975). Brièvement les globules rouges de mouton sont traités au periodate 5×10^{-4} M volume à volume pendant 10 min puis lavés et sensibilisés par le liquide allantoïdien virulent titrant 5 000 unités hémagglutinantes par ml dans les proportions suivantes : 1 ml de culot globulaire pour 10 ml de virus.

Après lavage pour éliminer l'excès de virus, 0,6 ml de globules rouges sensibilisés et 0,6 ml de complément de cobaye (Institut Pasteur, Paris) sont mélangés à 18,8 ml d'indubiose A 37 (IBF Pharmindustrie, 92115 Clichy France) en surfusion à 42 °C. Le mélange est coulé en boîtes de Pétri 10 cm × 10 cm et des puits de 3 mm de diamètre sont creusés dans la gélose. Les sérums à examiner sont dilués de 1/2 en 1/2

et 10 µl de chaque dilution sont introduits dans chaque puits. Les mesures des diamètres sont effectuées après une nuit à +4 °C et 3 heures à 37 °C en chambre humide. Une droite de régression est établie en fonction du diamètre d'hémolyse observé à chaque dilution et permet par extrapolation de déterminer pour chaque sérum un titre hémolytique final correspondant au point d'hémolyse nulle.

6. Traitement des données

Les sérums n'ayant pas présenté d'activité inhibitrice de l'hémagglutination à la dilution initiale 1/10 (après traitement pour élimination des inhibiteurs non spécifiques) ont été considérés dans les calculs comme ayant un titre nul.

Le degré de parenté entre les souches a été recherché en calculant la relation

$$r = r_1 \times r_2$$

définie par Archetti et Horsfall (1950) et pour laquelle,

$$r_1 = \frac{(\text{Titre sérum homologue A} \times \text{Virus hétérologue B})}{(\text{Titre sérum homologue A} \times \text{Virus homologue A})}$$

$$r_2 = \frac{(\text{Titre sérum homologue B} \times \text{Virus hétérologue A})}{(\text{Titre sérum homologue B} \times \text{Virus homologue B})}$$

la relation r permet de mesurer le degré de parenté entre deux souches virales qui sont significativement différentes si $r < 0,5$.

Tableau 2. — Réactions croisées effectuées par les méthodes d'inhibition d'hémagglutination et d'hémolyse radiale sur les sérums de cobayes inoculés avec les souches A/Equine/Prague/1/56 (H₃N₂), A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) et A/Equine/Joinville/1/78. Titres individuels et moyenne géométrique exprimés en log (antigène traité à l'éther ; antigène non traité)

Sérum de cobaye anti-influenza A	Antigène Influenza A								
	Equine 2						Equine 1		
	Joinville/1/78			Miami/1/63			Prague/1/56		
	Hémolyse radiale	Inhibition de l'hémagglutination		Hémolyse radiale	Inhibition de l'hémagglutination		Hémolyse radiale	Inhibition de l'hémagglutination	
traité		non traité	traité		non traité	traité		non traité	
<i>Equine-2</i>									
Joinville/1/78	2,9	1,3	1,0	0	1,3	<1	0	<1	<1
	3,9	2,8	2,2	0	2,2	<1	0	<1	<1
	3,6	1,3	<1	0	1,6	<1	0	<1	<1
moyenne	2,9	1,3	1,0	0	1,9	<1	0	<1	<1
	3,3	1,7	1,05	0	1,75	<1	0	<1	<1
Miami/1/63	3,3	<1	<1	3,5	2,8	1,9	0	<1	<1
	3,4	<1	<1	3,4	2,8	2,5	0	<1	<1
	3,8	<1	<1	3,4	2,5	1,9	0	<1	<1
	2,4	<1	<1	3,2	3,4	2,2	0	<1	<1
	2,5	<1	<1	3,4	3,1	1,9	0	<1	<1
moyenne	3,08	<1	<1	3,4	2,9	2,09	0	<1	<1
<i>Equine-1</i>									
Prague/1/56	0	<1	<1	0	<1	<1	3,7	2,5	2,5
	0	<1	<1	0	<1	<1	3,8	2,5	2,2
	0	<1	<1	0	<1	<1	3,8	2,8	2,5
	0	<1	<1	0	<1	<1	4,0	2,8	2,8
	0	<1	<1	0	<1	<1	3,5	2,8	2,5
	0	<1	<1	0	<1	<1	3,76	2,7	2,5

Résultats

Les sérums de poule ne fixant pas le complément de cobaye n'ont pas été testés par hémolyse radiale et l'ont été seulement par inhibition de l'hémagglutination. Les sérums de cobaye ont été testés par les deux méthodes.

Les résultats obtenus avec les sérums de ces deux espèces apparaissent dans les tableaux 1 et 2. On constate que les sérums de cobaye testés par la méthode inhibition de l'hémagglutination donnent des résultats différents de ceux obtenus par cette même méthode avec des sérums de poule. D'autre part, les résultats sur sérums de cobayes ne sont pas superposables selon qu'ils sont obtenus par inhibition de l'hémagglutination ou par hémolyse radiale.

1. Activité inhibitrice de l'hémagglutination des sérums de poule (tabl. 1)

Le titre obtenu avec le sérum de poule anti

Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) et l'antigène homologue souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) ne diffère pas sensiblement du titre obtenu avec l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Joinville/1/78 que les antigènes soient traités ou non à l'éther.

De même le titre obtenu avec le sérum de poule anti Influenza A/Equine/Joinville/1/78 et l'antigène homologue Influenza A/Equine/Joinville/1/78 ne diffère pas sensiblement de celui obtenu avec l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) que les antigènes soient traités ou non à l'éther.

La relation r appliquée aux deux souches Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) et Influenza A/Equine/Joinville/1/63 n'a pas permis de mettre en évidence de différence entre elles : $r = 0,81$ avec les antigènes traités à l'éther et $r = 0,97$ avec les antigènes non traités.

Il n'a été observé aucune réaction croisée avec la souche Influenza A/Equine/Prague/1/56 (H₃N₂).

2. Activité de l'inhibition de l'hémagglutination et hémolyse radiale des sérums de cobaye

Par inhibition de l'hémagglutination le titre obtenu avec le sérum de cobaye anti-Influenza A/Equine/Joinville/1/78 et l'antigène homologue Influenza A/Equine/Joinville/1/78 ne diffère pas sensiblement de ceux obtenus contre l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈). Par contre les titres obtenus avec les sérums de cobaye anti Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) et l'antigène homologue Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) sont fortement différents de ceux obtenus avec l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Joinville/1/78 et permettent de distinguer les deux souches ($r=0$ avec l'antigène brut et avec l'antigène éthéré).

Par hémolyse radiale les titres des sérums de cobayes anti-Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) avec l'antigène homologue Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) ne sont pas différents de ceux observés avec l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Joinville/1/78. A l'opposé les titres des sérums anti Influenza A/Equine/Joinville/1/78 avec l'antigène homologue Influenza A/Equine/Joinville/1/78 sont différents de ceux observés avec l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) ($r=0$).

La différenciation des souches Influenza A/Equine/Joinville/1/78 et A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) est donc possible en hémolyse radiale avec le sérum de cobaye anti Influenza A/Equine/Joinville/1/78 et par inhibition de l'hémagglutination avec le sérum de cobaye anti Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈).

Discussion

La souche isolée à Joinville en 1978, est donc bien apparentée par son hémagglutinine à la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) comme le montrent les réactions d'inhibition d'hémagglutination croisées effectuées à l'aide de sérums de poule.

Cependant, une dérive antigénique par rapport à la souche d'origine Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) a pu être mise en évidence à partir de sérums préparés sur cobayes car le recouvrement antigénique n'est pas total avec ces sérums.

Le cobaye est incontestablement plus apte que la poule à différencier les souches de virus Influenza A equine. Les sérums de cobaye ont

en outre l'avantage de pouvoir être utilisés dans les réactions d'hémolyse radiale, alors que les sérums de poule qui ne fixent pas le complément de cobaye sont impropres à ces réactions. Une détection plus fine des différences antigéniques aurait certainement pu être observée avec des sérums préparés sur furets, cependant les contrôles habituels des vaccins sont effectués sur cobayes. Il apparaît par conséquent intéressant de comparer les réactions de cette espèce vis-à-vis des différentes souches.

D'autre part, on constate que les résultats obtenus par hémolyse radiale et inhibition de l'hémagglutination ne sont pas superposables. Par inhibition de l'hémagglutination, on observe une dominance de la souche Influenza A/Equine/Joinville/1/78 sur la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈). La souche Influenza A/Equine/Joinville/1/78 aurait acquis de nouveaux déterminants antigéniques non neutralisables en inhibition de l'hémagglutination par les sérums anti-Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) tout en gardant les déterminants d'origine. Par hémolyse radiale, on observe un phénomène inverse comme s'il y avait eu perte de déterminants antigéniques impliqués dans cette réaction. Les sites antigéniques reconnus par les anticorps préparés sur cobaye et impliqués dans les réactions hémolyse radiale ou inhibition de l'hémagglutination ne seraient donc pas strictement identiques.

Cependant, d'autres facteurs peuvent intervenir dans cette discordance notamment les différences de sensibilité des deux méthodes, et les traitements effectués sur les sérums pour la réaction d'inhibition de l'hémagglutination qui peuvent agir sur les anticorps spécifiques.

L'hémolyse radiale qui par contre peut s'effectuer sur des sérums purs sans traitement préalable se montre en tous cas plus sensible dans les systèmes homologues et constitue une méthode particulièrement intéressante (Fontaine *et al.*, 1981).

Une différence antigénique entre une souche A/Equi/2 isolée aux Pays-Bas en 1979 et la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) a été montrée par Van Oirschott *et al.* (1981) par inhibition de l'hémagglutination croisée effectuée avec des sérums de furets. Les furets inoculés avec la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) ont présenté un titre d'inhibition de l'hémagglutination élevé à l'égard de la souche homologue et un titre inférieur à 1/9 à l'égard de la souche A/Equine/Nederland/270/79. A l'opposé les furets inoculés avec cette souche ont présenté des titres anticorps

vis-à-vis de l'antigène homologue significativement supérieur aux titres observés avec l'antigène hétérologue Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈).

La dérive antigénique d'une souche virale isolée à la même période en Suède a également été signalée par Klingeborn *et al.* (1981).

Par contre, selon Burrows *et al.* (1981) les souches isolées en Angleterre à la même époque ne seraient que légèrement différentes sur le plan antigénique de la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) et de façon inférieure au seuil de significativité.

En attente de comparaisons plus approfondies ces différences peuvent être attribuées soit aux conditions expérimentales de chaque étude, soit à l'existence de plusieurs souches qui auraient circulé dans la population équine au cours de cette période et qui seraient antigéniquement différentes entre elles.

Enfin, la signification de ces variations antigéniques doit être posée par rapport à l'espèce sensible, c'est-à-dire, le cheval, or de telles études sont particulièrement difficiles à mener en l'absence d'effectifs indemnes ; il a bien été constaté par inhibition de l'hémagglutination que les titres anti Influenza A/Equine/Joinville/1/78 trouvés dans les sérums de chevaux, examinés à l'occasion de contrôles sérologiques étaient généralement peu différents l'un et l'autre. Cependant, il est difficile d'identifier avec certitude parmi les sérums positifs ceux provenant d'animaux vaccinés et de connaître

la date de ces vaccinations ; les vaccins habituellement utilisés en France ayant incorporé dans leur composition certaines souches isolées en 1978 ceux-ci peuvent être responsables des anticorps anti-Joinville/78 décelés dans ces sérums.

Il n'est donc pas possible de conclure sur ces seuls résultats que le cheval, à la différence du cobaye ne peut pas distinguer ces deux souches par la réaction d'inhibition de l'hémagglutination.

Toutefois, Burki et Lamatch (1981) qui ont examiné des sérums de chevaux prélevés avant 1978 qui n'avaient été vaccinés qu'avec les seules valences « Prague/56 » (H₇N₇) et « Miami/63 » (H₃N₈) n'ont pas observé de différence entre les titres sériques en inhibition de l'hémagglutination contre la valence « Miami/63 » (H₃N₈) et ceux obtenus contre les diverses souches possédant l'hémagglutinine H₃ ayant circulé en Autriche au cours des dernières années y compris la souche Vienne/1979 isolée par eux.

La question de l'incidence pratique sur le terrain des différences antigéniques qui peuvent être observées sur l'animal de laboratoire est donc encore en discussion, toutefois, l'existence d'une certaine dérive antigénique étant établie on peut toujours craindre que l'équilibre actuel ne vienne à être rompu à la suite d'une nouvelle et plus importante dérive des virus.

Accepté pour publication, le 22 novembre 1982.

Résumé

Une souche de virus Influenza Equi isolée au cours de l'hiver 1978-1979 a été comparée par la méthode d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et par la méthode d'hémolyse radiale (HR) avec la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) isolée pour la première fois à Miami en 1963. Les sérums préparés sur poule n'ont pas permis de différencier les deux souches. Par contre les études menées à l'aide de sérums de cobayes immunisés avec l'une ou l'autre souche ont montré l'existence d'une dérive des caractères antigéniques de la souche isolée en 1978, dénommée Influenza A/Equine/Joinville/1/78 par rapport à ceux de la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈).

Il a été observé cependant que les réactions croisées ne fournissent pas des résultats comparables selon qu'elles sont effectuées par la méthode d'inhibition d'hémagglutination ou par la méthode d'hémolyse radiale. Les sérums des cobayes inoculés avec la souche Influenza A/Equine/Joinville/1/78 différencient celle-ci de la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) lorsque les titrages sont effectués par hémolyse radiale mais non lorsqu'ils sont effectués par inhibition de l'hémagglutination. Par contre, les cobayes inoculés avec la souche Influenza A/Equine/Miami/1/63 (H₃N₈) différencient cette souche de la souche Influenza A/Equine/Joinville/1/78 par inhibition de l'hémagglutination mais non par hémolyse radiale.

Ces résultats suggèrent que les sites antigéniques et les anticorps mis en jeu dans les réactions de l'hémolyse radiale et l'inhibition de l'hémagglutination ne sont pas identiques.

Références

- ANONYME, 1975. *Advanced Laboratory techniques for influenza diagnostic*. Immunological services N° 6. Procedural guide. Center for disease control. US Department of Health Education and Welfare, Atlanta, Georgia, USA.
- ARCHETTI I., HORSFALL F.L., 1950. Persistent antigenic variation of influenza. A virus after incomplete neutralisation in ovo. *J. Exp. Med.*, **92**, 441-446.
- BERLIN B.S., McQUEEN J., MINUSE E., DAVENPORT F.M., 1963. A method for increasing the sensitivity of the hemagglutination - inhibition test with equine Influenza virus. *Virology*, **21**, 665-666.
- BURKI F., LAMATCH O., 1981. Surveillance for immunity against equine influenza virus infections. *Comp. Immun. Infect. Dis.*, **4**, 267-278.
- BURROWS R., DENYER M., GOODRIDGE D., HAMILTON F., 1981. Field and laboratory studies of equine influenza viruses isolated in 1979. *Vet. Rec.*, **109**, 353-356.
- FONTAINE M., FONTAINE M.P., AYMARD M., MORAILLON A., 1980. Epidémie actuelle de la grippe équine en France. *Comp. Immun. Infect. Dis.*, **3**, 75-82.
- FONTAINE M.P., FONTAINE M., AYMARD M., NAFTI K., 1981. Technique d'hémolyse radiale pour la mesure des anticorps anti influenza chez le cheval. *Bull. Acad. Vét. Fr.*, **54**, 105-112.
- KLINGEBORN G., ROCKBORN G., DINTER Z., 1981. Significant antigenic drift within the influenza equi 2 subtype in Sweden. *Vet. Rec.*, **106**, 363-364.
- PLATEAU E., CRUCIERE C., VIRAT J., BENAZET P., 1979. Grippe équine : Isolement, caractérisation et étude sérologique dans divers foyers au cours de l'épizootie 1978-1979. *Bull. Acad. Vét. Fr.*, **52**, 189-194.
- RUSSEL S.M., McCAHON D., BEARE A.S., 1975. A single radial haemolysis technique for the measurement of influenza antibody. *J. Gen. Virol.*, **27**, 1-10.
- VAN OIRSCHOTT J.T., MASUREL N., HUFFELS A.D.N.H., ANKER W.J.J., 1981. Equine influenza in the Netherlands during the winter of 1978-1979 ; antigenic drift of the A equi 2 virus. *Vet. Q.*, **3**, 80-83.