

LA VACCINATION EN SALMONICULTURE : ESSAIS RÉALISÉS ET PERSPECTIVES

par M. DORSON

Laboratoire d'Ichtyopathologie,
Station de Virologie et d'Immunologie,
78 - Thiverval-Grignon

D'une façon générale, les connaissances fondamentales et les possibilités d'intervention en pathologie des poissons sont en retard par rapport à celles qui existent pour les vertébrés à sang chaud. Le domaine de la prophylaxie par vaccination (10) * ne fait pas exception. Les piscicultures, et en particulier les salmonicultures, représentent des concentrations d'animaux qui favorisent le développement des maladies contagieuses, principalement des bactérioses et des viroses. Les antibiotiques ont été largement utilisés en pisciculture dans le traitement des bactérioses (en particulier de la Furunculose à *Aeromonas salmonicida*), mais on observe la sélection de souches microbiennes résistantes aux antibiotiques économiquement utilisables en salmoniculture. Contre les maladies virales, on ne dispose actuellement d'aucun médicament efficace. L'éventualité d'une vaccination apparaît donc d'un grand intérêt pour la prévention des viroses et bactérioses. Cette constatation a suscité, d'une part, des études sur les paramètres de la réaction immunitaire chez les poissons, d'autre part, des essais de vaccinations que nous allons rapporter ici.

I — PARTICULARITÉS DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE CHEZ LES POISSONS OSSEUX

La capacité des poissons osseux, et plus particulièrement des Téléostéens, à fournir une réaction immunitaire a été reconnue depuis le début de ce siècle. On a décrit la production d'anticorps (3) sériques agglutinants, précipitants, neutralisants, le rejet de greffe et même l'hypersensibilité retardée.

* Référence à l'Appendice in fine.

RIDGWAY et al (1966) ont fait une revue abondante des travaux consacrés à ces différents aspects de la réaction immunitaire.

La panoplie des anticorps que peuvent synthétiser les Téléostéens est plus restreinte que celle des vertébrés supérieurs. En particulier, les Téléostéens semblent n'être capables de synthétiser que des anticorps macroglobuliniques (5) apparentés aux Immunoglobulines (4) M (IgM) (DORSON, 1972 ; MARCHALONIS, 1971).

Malgré l'absence d'anticorps apparentés aux IgG, les poissons osseux seraient capables de présenter une mémoire immunitaire, qui se traduit par un phénomène de « réaction secondaire » (8) (AVTALION 1969), et les anticorps peuvent subsister longtemps (plus d'un an) dans le sérum après une injection unique de l'immunogène (2).

La température d'élevage est un paramètre déterminant pour le métabolisme des animaux à température variable. Elle influe à la fois sur la rapidité d'apparition des anticorps, leur titre et la durée de leur persistance dans le sérum (NYBELIN, 1943 ; CUSHING 1942)). Une série d'expériences de TRUMP et HILDEMANN (1970) permet de schématiser l'influence de la température : des Carassins sont immunisés à trois températures différentes : + 20 °C, + 25 °C, + 30 °C.

— A + 20 °C, le délai d'apparition des anticorps est de 17 jours, le titre maximum est atteint à 50 jours et a peu baissé à 70 jours. Les anticorps sont encore décelables 120 jours après immunisation.

— A + 25 °C, le délai d'apparition est de 10 jours, le titre maximum (identique à celui du lot + 20 °C) est atteint au 20^e jour, mais le titre a diminué de moitié à 70 jours. On peut cependant encore déceler des anticorps au 245^e jour.

— A + 30 °C, le délai d'apparition n'est que de 7 jours et le titre maximum est atteint en 13 jours. Cependant, il est notablement inférieur à celui des deux lots précédents et les anticorps ont disparu en 90 jours.

Donc : réponse immunitaire plus rapide à + 30 °C, mais moins intense et plus fugace. L'optimum est réalisé à + 25 °C, qui représente une température optimale pour la physiologie du Carassin. On peut supposer que ce schéma est valable pour tous les poissons, la température optimum variant avec les espèces : ce sera + 15 °C pour la truite Arc-en-Ciel, 5 ou 6 °C pour certains poissons vivant sous la banquise (RIDGWAY, 1962).

AVTALION (1969) a apporté une contribution intéressante à l'étude du rôle de la température. En particulier, des Carpes, immunisées à + 25 °C et maintenues à cete température, produisent des anticorps à un taux élevé. Immunisées et maintenues à + 12 °C, elles ne produisent pas d'anticorps décelables. Cependant, les carpes, immunisées à + 25 °C et transférées 8 jours après à + 12 °C, effectuent une synthèse d'anticorps appréciable et présentent même une « réponse secondaire » à + 12 °C. On peut ainsi envisager de vacciner les jeunes Carpes à la saison chaude afin d'assurer leur immuno-protection lorsque l'eau devient plus froide et les carpillons plus sensibles à certaines infections.

II — DONNEES SUR LA REPOSE IMMUNITAIRE DE LA TRUITE VIS-A-VIS DES VIRUS PATHOGENES

Nous ne possédons encore que peu de données sur la réponse immunitaire contre les virus pathogènes. WOLF et McQUIMBY (1969) ont suivi la production d'anticorps neutralisant le virus de la Nécrose Pancréatique infectieuse (N.P.I.). Ce virus provoque généralement d'importantes mortalités chez les alevins de truite. Les rescapés présentent deux « comportements » :

- Certains restent porteurs du virus et excrètent celui-ci dans les fèces durant plusieurs années (d'où les risques de transmission du virus des géniteurs aux œufs). Dans ce cas, les poissons ne produisent pas d'anticorps anti-virus. Ce phénomène de tolérance se rencontre pour quelques virus des mammifères (PARAF et al., 1971).
- D'autres n'excrètent que peu ou pas de virus et produisent des anticorps détectables par séroneutralisation du virus.

WOLF et McQUIMBY ont injecté le virus de l'N.P.I. à des truites adultes : des Truites Arc-en-Ciel ayant déjà « connu » le virus et des Saumons de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) indemnes de toute infection préalable.

Les Saumons de fontaine et les Truites Arc-en-Ciel qui possédaient des anticorps avant l'immunisation expérimentale ont répondu par une vigoureuse production d'anticorps, accompagnée de l'élimination du virus : il y a eu réponse immunitaire et, dans le cas des Truites Arc-en-Ciel, réponse « secondaire ».

On ne sait pas, dans la résistance aux maladies virales, la part qu'on peut attribuer à la réaction immunitaire. VESTERGARD JORGENSEN (1971) a obtenu des anticorps neutralisants contre le virus d'EGTVED, mais à un titre très bas, en utilisant une souche de virus ayant perdu son pouvoir pathogène pour les truitelles et les animaux adultes. Cependant, il n'a pas retrouvé de pouvoir neutralisant dans le sérum de truites de pisciculture exposées à une infection naturelle. On peut se demander si, comme c'est le cas pour certaines maladies virales (peste porcine africaine), les seuls anticorps produits ne sont pas des anticorps non neutralisants (mais susceptibles d'être décelés par fixation du complément (7) ou immuno-fluorescence). On sait que la Septicémie Hémorragique Virale (S.H.V.) n'évolue pas à une température supérieure à + 15 °C, bien que le virus se développe en culture cellulaire à cette température. Il est concevable qu'à une température supérieure, la réaction immunitaire prenne de vitesse le développement viral. Cela ne semble pas être le cas pour la Nécrose Hématopoiétique Infectieuse (I.H.N.) : AMEND (1969) a montré expérimentalement que l'évolution de la maladie pouvait être stoppée par une élévation de température. Dans le lot témoin, infecté par bain dans une suspension de virus et maintenu à + 12 °C, le taux de mortalité atteint 80 %. Les poissons infectés de la même manière, mais placés à + 20 °C dans les 24 heures suivant l'injection, maintenus 6 jours à cette température et remis à + 12 °C, ne présentent aucune mortalité. Ils restent néanmoins sensibles à une nouvelle injection de virus effectuée dès le retour à + 12 °C (77 % de taux de mortalité). Cependant, une certaine protection s'établit et, si la seconde infection est effectuée 24 jours après le traitement de 6 jours à 20 °C, le taux de mortalité n'est que de 18 %. Le délai d'apparition de la protection (moins de 6 jours) et sa disparition dès le retour à + 12 °C ne sont pas en faveur d'une réaction immunitaire, mais suggèrent plutôt une protection par un interféron (9). Seule la protection qui s'établit après coup (24 jours) peut être reliée à une réaction immunitaire.

Les essais préliminaires d'injection des virus de la Nécrose Pancréatique Infectieuse (N.P.I.) et de la Septicémie Hémorragique Virale (S.H.V.) à des lapins et à des truites Arc-en-Ciel effectués en laboratoire confirment les observations de WOLF et Mc QUIMBY comme celles de VESTERGÅRD JORGENSEN : le virus de la N.P.I. est très immunogène, pour le lapin comme pour la truite adulte. Chez cette dernière, les anticorps neutralisants persistent à un taux élevé 18 mois après l'inoculation du virus. Par contre, pour le virus de la S.H.V., le pouvoir immunogène — si on considère les anticorps neutralisants — est faible, pour le lapin comme pour la truite adulte et la carpe, chez lesquelles le virus se multiplie.

III — REPONSE IMMUNITAIRE VIS-A-VIS DES BACTERIES PATHOGENES ET ESSAIS D'IMMUNISATION

Dès 1940 des tentatives furent effectuées en vue d'immuniser les salmonidés contre les maladies bactériennes, par voie parentérale puis orale. DUFF (1942) rapporte les résultats obtenus par immunisation orale à l'aide d'un *Aeromonas salmonicida* (bactérie de la Furonculose) tué par le chloroforme et administré en doses répétées à des truites « cutthroat » (*Salmo clarki*), maintenues entre + 2 °C et + 14 °C. Les tests destinés à mettre en évidence une immunoprotection étaient conduits à + 19 °C, en soumettant les poissons à trois modalités d'infection :

- Mise en présence de truites malades.
- Addition d'une suspension de bactéries virulentes à l'eau d'élevage.
- Injection de la même suspension (méthode provoquant la mortalité la plus élevée).

La mortalité parmi les témoins fut de l'ordre de 75 % contre 25 % chez les truites vaccinées, dont les sérums possédaient par ailleurs des titres élevés en agglutinines anti-*Aeromonas*.

La guerre, puis l'emploi généralisé des antibiotiques en pisciculture freinèrent le développement des essais de vaccination. L'apparition de souches pathogènes résistant aux antibiotiques entraîna un regain d'intérêt pour l'immunisation dès les années 60.

KRANTZ et al (1963, 1964) ont suivi la production d'agglutinines par la truite *Fario* après injection d'*Aeromonas* tué par le formol, seul ou accompagné d'un adjuvant. Les titres obtenus furent très comparables aux titres fournis par des lapins dans les mêmes conditions, mais avec un retard chez la truite dans l'apparition des anticorps qui persistent jusqu'à 24 mois.

Seules les truites inoculées avec adjuvant furent protégées efficacement contre l'infection expérimentale (injection intrapéritonéale d'*Aeromonas salmonicida* virulent). Il est évident que la vaccination orale se prête bien mieux à l'application en pisciculture que la vaccination par injection. KRANTZ et son équipe ont prolongé leur travail par des tentatives d'immunisation orale, en suivant le protocole décrit par DUFF. Ils n'ont pas obtenu de titre significatif en agglutinines et concluent à l'inefficacité de l'immunisation orale. KRANTZ préconise la vaccination par voie parentérale et précise qu'une équipe de trois hommes peut vacciner 800 Truitelles à l'heure. De la même façon, SPENCE et FRYER (1965) échouèrent dans leur tentative d'immunisation orale du Saumon coho (*Onchorhynchus kisutch*) contre *A. salmonicida*. Cependant, ils ont obtenu la protection de jeunes saumons Coho contre la Furonculose en leur

administrant le sérum provenant de truites Arc-en-Ciel préalablement immunisées par voie intrapéritonéale. ROSS et KLONTZ (1965) ont obtenu des résultats positifs dans l'immunisation contre la Stomatite Hémorragique (Redmouth disease) : des truites Arc-en-Ciel d'un an, ayant reçu des bactéries tuées par le phénol avec leur nourriture, présentèrent une mortalité de l'ordre de 10 % lors de l'exposition à une D.L. 90 de bactéries virulentes. Enfin, des essais de vaccination orale de truites et de saumons contre la Furunculose ont été entrepris aux USA sur une grande échelle. Le vaccin buccal utilisé (dénommé F.S.A.) était préparé suivant le protocole suivant :

- Désintégration des bactéries virulentes par les ultrasons.
- Précipitation par l'alun sur la fraction hydrosoluble obtenue.

Les expériences s'étalèrent sur trois ans, en testant plusieurs souches d'*A. salmonicida* dans diverses piscicultures.

Dans un premier temps (KLONTZ 1966 in KLONTZ et ANDERSON 1970), une centaine de Saumons de fontaine placés à une température moyenne de + 14 °C reçurent 60 µg de F.S.A. par poisson et par jour en 25 fois. L'immunogène était préparé à partir de la souche de la pisciculture nationale de l'IDAHO (HAGERMAN). La présence d'anticorps circulants fut démontrée par immunofluorescence 34 jours après le début du traitement et le test de protection fut effectué au 90^e jour, à 15 °C par exposition naturelle à la contagion : aucun poisson vacciné ne mourut, contre 58 % des poissons témoins. A la suite de ce succès, l'exploitation du vaccin fut étendue à la pisciculture. La fabrication du vaccin F.S.A. fut confiée à un laboratoire de produits pharmaceutiques et les immunogènes incorporés à des granulés (Oregon Moist Pellet ou O.M.P.). Dans certains cas, un vaccin tué par la chaleur (dénommé H.K. pour Heat Killed) fut aussi employé.

L'ensemble des opérations qui portèrent sur plusieurs millions de poissons, principalement le Saumon Coho (*Oncorhynchus kisutch*) est résumé dans le tableau ci-après (d'après KLONTZ et ANDERSON, 1970).

Deux hypothèses furent émises pour expliquer l'échec relatif enregistré :

- 1°) Les différences antigéniques entre les souches utilisées.
- 2°) Le manque d'immunogénicité du F.S.A. de préparation commerciale : les auteurs concluent que le F.S.A., bien que très immunogène en injection sous-cutanée, se révèle peu efficace par voie orale. Les particules vaccinales auraient une taille trop élevée pour atteindre les sites de production des anticorps à travers la paroi intestinale. Il s'agirait là d'un défaut lié à la production industrielle. Il apparaît donc nécessaire, avant d'envisager l'application rationnelle en pisciculture, de multiplier les expériences en laboratoire.

IV — CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les poissons osseux, et en particulier les salmonidés, possèdent une réaction immunitaire suffisamment élaborée (bien que moins complexe que celle des mammifères) pour apparaître susceptibles d'être vaccinés. Actuellement, toutefois, on ne dispose encore d'aucun vaccin commercial absolument efficace. Il semble, d'après les résultats obtenus par KLONTZ et son équipe, que ce but puisse être atteint bientôt pour la Furunculose, dans la mesure où les échecs enregistrés sont dus au protocole de préparation du vaccin buccal. Cependant, il est nécessaire d'étudier les caractères antigéniques des diverses souches pathogènes afin d'obtenir un vaccin polyvalent. La préparation d'auto-vaccins (11) pourrait aussi se révéler intéressante.

Pisciculture traitée et année	Provenance de la souche vaccinnante	Espèces traitées et nombre de poissons	Temp. en °C pendant le traitement	Protocole de Traitement	Exposition à la Furonculose	Mortalité attribuée à la Furonculose		conclusions
						témoins %	Vaccin. %	
ISSAQUAH Département des Pêcheries de Washington 1966	HAGERMAN préparée au laboratoire	Saumon Coho 360 000 nés en 1965	8,9 à 15,6	33 µg par poisson en tout. 10 repas quotidiens puis 6 repas hebdomadaire	2 épizooties en 20 semaines	11,4	5,6	Succès
SILETZ 1966	SILETZ préparée à l'université de l'état d'Oregon	Saumon Coho nés en 1965 4 groupes de 150		Début du traitement étalé de mars à mai suivant les groupes 160 à 380 µg FSA par poisson. 14 repas quotidiens puis repas hebdomadaires	1 épizootie de plusieurs semaines débutant en mai	22 à 37	0 à 0,7	apparent
ISSAQUAH 1967	ISSAQUAH FSA préparation commerciale QUILCENE H.K. (tué par la chaleur)	Saumon Coho nés en 1966 320 000 Saumon Coho nés en 1966 280 000	9,5 à 13,9	150 µg par poisson 10 repas quotidiens + 5 repas hebdomadaires — id —	Epizootie naturelle de Furonculose	2,1	4,2 5,6	0 0
GREEN RIVER Département des Pêcheries de Washington 1967	ISSAQUAH FSA préparation commerciale	Saumon Coho nés en 1966 500 000	3,3 à 12,8	150 µg par poisson 10 repas quotidiens + 5 repas hebdomadaires		4,4	4,2	0
QUILCENE (IDAHO) 1967	ISSAQUAH FSA QUILCENE	Saumon Coho nés en 1966 1 160 000 id. 500 000	7,8 à 10	— id — — id —		3,7	2 1,2	
16 piscicultures Fédérales différentes	HAGERMAN et QUILCENE FSA préparation commerciale	Saumons et truites nés en 1967 5 997 000		200 µg par poisson. 10 repas quotidiens puis 4 repas hebdomadaires, enfin 6 repas bi-hebdomadaires	Epizooties de Furonculose dans 10 piscicultures	Aucun effet protecteur décelable		

µg : microgramme : $\frac{1}{1\ 000\ 000}$ g

Pour les maladies virales, il est nécessaire d'accumuler les connaissances fondamentales sur les rapports poisson-virus.

Dans le cas de la S.H.V., il faut préciser les rôles respectifs des anticorps circulants et des réactions non spécifiques (interferon) en liaison avec la température dans la réceptivité du poisson à la maladie.

On peut envisager l'emploi des immunodépresseurs (en particulier l'irradiation par les rayons X et l'emploi de sérum antilymphocytaire) pour dégager le rôle de la réponse immunitaire dans la lutte de la truite contre la S.H.V. Des expériences analogues à celles d'AMEND (1970) avec l'I.H.N. permettront d'aborder le problème de la température. Il faut aussi déterminer si la protection clinique s'accompagne de la production d'anticorps autres que les anticorps neutralisants (mais fixant le complément ou détectables par immunofluorescence). Enfin, après ces préliminaires, on pourra passer à la réalisation de vaccins, obtenus soit par inactivation du virus (vaccin dit « tué ») soit par sélection de virus mutants (12) ayant perdu la totalité de leur pouvoir pathogène tout en conservant leurs propriétés immunisantes (vaccins « vivants »).

Dans l'état actuel des connaissances, les expériences sur la S.H.V. reposent essentiellement sur des tests cliniques de mortalité et nécessitent l'emploi de poissons n'ayant jamais subi d'infection par le virus d'Egtved.

Pour le N.P.I., il paraît certain que la réponse immunitaire avec anticorps circulants joue un rôle dans la résistance à la maladie. Il faut donc déterminer si la période pendant laquelle l'alevin cesse d'être réceptif correspond à l'établissement de la compétence immunologique et si l'immunisation des adultes contre le virus de la N.P.I. s'accompagne de la disparition complète du virus infectieux dans les produits sexuels. Là encore, il faudra obtenir un virus vaccinant non pathogène.

Il faut rappeler que, pour être utilisable en pratique, le vaccin doit pouvoir s'administrer oralement ou par bain, compte tenu du nombre et de la taille des animaux à traiter, surtout pour les alevins, ce qui limite pour l'instant les possibilités... et les espoirs de réussite. L'utilisation de la vaccination en pisciculture débutera peut-être par celle des cyprinidés. L'immunisation des carpes d'un été contre le virus de l'Hydropisie Infectieuse (FIJAN et al. 1971) serait réalisable dans de bonnes conditions thermiques et protégerait les carpes (ou d'autres cyprinidés) lorsque celles-ci sont disséminées en eau libre à la suite d'un repeuplement et que toute intervention devient alors impossible.

APPENDICE

Réponse immunitaire (1) : Réaction spécifique de l'organisme provoquée par l'introduction d'une substance étrangère (bactéries, virus, protéines et polysaccharides en général) dite immunogène (2) (ou antigène). La réaction immunitaire se traduit principalement par la production d'anticorps circulants. Les anticorps (3) sont des molécules protéiques particulières (nommées immunoglobulines) (4) dont le poids moléculaire varie de 150 000 à 800 000 pour les macroglobulines (5). Les anticorps sont susceptibles de se combiner spécifiquement avec l'antigène, provoquant les manifestations visibles de la réaction antigène-anticorps chez l'animal (rejet de greffe, immunoprotection, etc.) et in vitro (précipitation, agglutination, neutralisation, etc.). La séroneutralisation (6) repose sur la suppression, par des anticorps anti-virus, de la capacité du virus à exercer son effet pathogène sur un tapis de cellules en culture. La fixation du complément (7) est un test permettant de déceler in vitro une réaction antigène-anticorps impossible à mettre en évidence par les autres méthodes.

La réponse secondaire (8) est obtenue lors d'une seconde injection de l'immunogène, effectuée suffisamment longtemps après la première injection. La production d'anticorps est alors plus rapide et plus intense (conséquence du phénomène de mémoire immunitaire).

L'interferon (9) est une substance protéique produite par des cellules infectées par un virus et protégeant des cellules de la même espèce contre une infection ultérieure par d'autres virus.

On définit la vaccination (10) comme l'établissement d'un état réfractaire à une maladie par introduction de l'agent de la maladie atténué ou transformé de façon à le rendre non pathogène.

Un autovaccin (11) est un vaccin préparé à partir de la souche pathogène isolée dans l'exploitation où il sera employé.

Mutant (12) : ayant acquis spontanément ou par action d'agents physico-chimiques mutagènes, une nouvelle propriété transmissible à la descendance.

BIBLIOGRAPHIE

- AMEND D. F., 1970. Control of infectious hematopoietic necrosis virus disease by elevating the water temperature. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 27, 265-270.
- AVTALION R. R., 1969. Temperature effect on antibody production and immunological memory in Carp (*Cyprinus carpio*) immunized against bovine serum albumin (B.S.A.). *Immunol.*, 17, 927.
- CUSHING J. E., 1942. An effect of temperature upon antibody production in fish. *J. Immunol.*, 45, 123-126.
- DORSON M., 1972. La réponse immunitaire chez la Truite Arc-en-Ciel (*Salmo gairdneri*) : quelques caractéristiques des immunoglobulines produites lors d'une réaction primaire. *Ann. Rech. Veter.* (à paraître).
- DUFF D. C. B., 1942. The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. *J. Immunol.*, 44, 87-94.
- FIJAN N., PETRINEC Z., SULIMANOVIC D. et ZWILLENBERG L., 1971. Isolation of the viral causative agent from the acute form of infectious dropsy of carp, *Veterinarski Archiv.*, 41, 125-138.
- KLONTZ G. W., ANDERSON D. P., 1970. Oral immunization of salmonids : a review. In : A symposium on diseases of fishes and shell-fishes. 526 pp. *Special Publication n° 5, American Fisheries Society Washington D.C.*
- KRANTZ G. E., REDDECLIFF J. M., HEIST C. E., 1963. Development of antibodies against *Aeromonas salmonicida* in trout. *J. Immun.* 91, 757-760.
- KRANTZ G. E., REDDECLIFF J. M., HEIST C. E., 1964. Immune response of trout to *Aeromonas salmonicida*. Part I. Development of agglutinating antibodies and protective immunity. *Progve. Fish. Cult.*, 26 (1), 3-10.
- KRANTZ G. E., REDDECLIFF J. M., HEIST C. E., 1964. Immune response of trout to *Aeromonas salmonicida*. Part. II. Evaluation of feeding techniques. *Progve. Fish. Cult.*, 26 (2), 65-69.
- MARCHALONIS J. J., 1971. Isolation and partial characterization of immunoglobulins of goldfish (*Carassius auratus*) and Carp (*Cyprinus carpio*). *Immunology.*, 20, 161-173.

- NYBELIN O., 1943. The influence of temperature on the formation of agglutinins in fish. *Journal of the Swedish Medical Association*, 19.
- PARAF A., AYNAUD J. M., METZGER J. J., 1971. Relationship between immune reactions and tolerance to viruses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 181, 223-235.
- RIDGWAY G. J., 1962. The application of some special immunological methods to marine population problems. *Amer. Natur.*, 96, 219.
- RIDGWAY G. J., HODGINS H. O., KLONTZ G. W., 1966. The immune response of teleosts. In « Phylogeny of immunity », edited by R.T. Smith p.p. 199-208. *University of Florida press Gainesville*.
- ROSS A. J., KLONTZ G. W., 1965. Oral immunization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against an etiologic agent of « redmouth disease ». *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 22 (3), 713.
- SPENCE K. D., FRYER J. L., PILCHER K. S., 1965. Active and passive immunization of certain salmonid fishes against *Aeromonas salmonicida*. *Canad. J. Microbiol.* 11 (3), 397-405.
- TRUMP G. N., HILDEMAN W. H., 1970. Antibody responses of goldfish to bovins serum albumin. Primary and secondary response. *Immunology*, 19, 621-627.
- VESTERGÅRD-JORGENSEN P. E., 1971. Egtved virus : demonstration of neutralizing antibodies in serum from artificially infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 28 (6), 875-877.
- WOLF KEN, M. C. QUIMBY, 1969. Infectious pancreatic necrosis : clinical and immune response of adult trouts to inoculation with live virus. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26, 2511-2516.
-