

ETUDE DE LA COMPOSITION CORPORELLE DE LA SOLE (Solea solea)
AU COURS DU JEUNE : INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

P. RICHARD ⁽¹⁾, M. DJABALI ⁽²⁾, F. LAGARDERE ⁽¹⁾, J.-P. LAGARDERE ⁽¹⁾

RESUME

La composition biochimique de différents tissus a été étudiée au cours du jeûne expérimental chez la sole (Solea solea), à deux températures, 10 et 20°C. La survie est meilleure à 10°C qu'à 20°C : environ 60% des soles meurent dès la 4ème semaine de jeûne à 20°C, alors qu'à 10°C, la mort n'intervient qu'à partir de la 8ème semaine de jeûne. L'analyse corporelle globale montre qu'à 20°C les protéines sont utilisées plus rapidement qu'à 10°C, alors que l'utilisation des lipides corporels semble in affectée par la température d'adaptation des soles. Le jeûne entraîne chez ces poissons une mobilisation intense des lipides et du glycogène du foie. Cette mobilisation est d'autant plus rapide que la température est plus élevée : à 20°C, 70 % du glycogène hépatique est utilisé dès la première semaine de jeûne contre 30 % à 10°C.

ABSTRACT

The effects of starvation on Solea solea, at 10 and 20°C in sea water, were studied. At 20°C fishes start to die on week 4; at 10°C they support a longer starvation period (9 weeks). Proximate analysis shows that protein are more steadily used at 20°C than at 10°C, contrarily to the corporal lipids which are used at the same rate. Starvation results in a reduction of liver lipids and glycogen. This reduction is more pronounced at 20°C : 70 % of hepatic glycogen is used at this temperature within the first week of starvation against 30 % at 10°C.

MOTS-CLES : Solea solea, jeûne, température, réserves énergétiques.

KEY WORDS : Solea solea, starvation, temperature, energy reserves.

(1) Centre de Recherches en Ecologie marine et Aquaculture de L' Houmeau,
ER CNRS n°256, case n°5, 17137 NIEUL-SUR-MER.

(2) Station marine d'Endoume, URA 41, rue Batterie-des-Lions, 13007 MARSEILLE.

Tab. 1. Evolutions de la perte de poids, de la teneur en eau, du RHS et du RVS (en % du poids frais) au cours du jeûne chez *Solea solea*, à 10°C (Tab. 1 a) et 20°C (Tab. 1 b). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm erreur standard.

Tab. 1 a : 10°C.

Semaines de jeûne	0	1	2	4	5	7	9
Nombre d'échantillons	6	6	10	10	10	6	4
Perte de poids	0	2,71 \pm 0,67	4,10 \pm 0,17	8,59 \pm 0,83	10,75 \pm 0,61	13,15 \pm 0,93	17,62 \pm 1,12
Teneur en eau	79,00 \pm 0,72	80,43 \pm 0,49	79,86 \pm 0,47	80,29 \pm 0,44	80,36 \pm 0,46	80,22 \pm 0,46	80,85 \pm 0,69
RHS	1,60 \pm 0,15	1,11 \pm 0,13	0,84 \pm 0,05	0,78 \pm 0,06	0,80 \pm 0,04	0,69 \pm 0,01	0,61 \pm 0,05
RVS	3,47 \pm 0,31	2,54 \pm 0,12	2,44 \pm 0,17	2,27 \pm 0,11	2,03 \pm 0,11	2,17 \pm 0,16	2,99 \pm 0,13

Tab. 1 b : 20°C.

Semaines de jeûne	0	1	2	3	4
Nombre d'échantillons	5	6	5	9	2
Perte de poids	0	8,60 \pm 1,61	10,35 \pm 0,91	13,35 \pm 1,22	20,00
Teneur en eau	76,86 \pm 0,98	80,19 \pm 1,12	78,83 \pm 1,39	80,41 \pm 0,72	82,17
RHS	1,21 \pm 0,04	0,91 \pm 0,17	0,71 \pm 0,14	0,62 \pm 0,04	0,46
RVS	3,35 \pm 0,27	2,45 \pm 0,18	2,56 \pm 0,23	2,24 \pm 0,14	2,20

INTRODUCTION

Les modifications de la composition biochimique en fonction des saisons, de l'état nutritionnel et du jeûne ont été étudiées chez de nombreuses espèces de poissons (Love, 1970). Au cours du jeûne, l'utilisation des réserves énergétiques semble différente selon les espèces étudiées. Ainsi certains poissons utilisent préférentiellement les protéines musculaires comme source d'énergie (Stimpson, 1965; Butler, 1967; Murat, 1976), le glycogène hépatique étant maintenu par la néoglycogénèse. Par contre, d'autres poissons conservent les protéines musculaires aux dépens des réserves lipidiques et glycogéniques (Wilkins, 1967; Ince et Thorpe, 1976; Woo et Fung, 1981). Cependant, la stratégie métabolique utilisée peut varier en fonction de l'état physiologique des poissons, notamment en période de reproduction (Stirling, 1972), mais aussi en fonction des facteurs abiotiques du milieu (Sakamoto *et al.*, 1978; Woo et Murat, 1981).

Nous avons donc entrepris l'étude de l'effet de la température sur les modifications de la composition biochimique des tissus de la sole (*Solea solea*) au cours du jeûne provoqué.

MATERIEL ET METHODES

Les soles (*Solea solea*) de poids variant entre 8 et 30 g, proviennent de la région de La Rochelle. A leur arrivée au laboratoire, les poissons sont maintenus à la température de l'eau de mer ($16 \pm 1^\circ\text{C}$) pendant trois semaines dans un bassin de 4 m³ et nourris *ad libitum* sur aliment frais (*Nereis diversicolor*). Les animaux sont ensuite séparés en 4 groupes et transférés dans des bacs de 45 litres dont la température est régulée. Ils sont alors progressivement adaptés à la température d'expérience (10 ou 20°C) à raison d'un changement de température d'un degré par jour. Durant cette période, les animaux sont régulièrement nourris avec le même aliment frais. Le début de la période de jeûne commence trois semaines après cette adaptation aux deux températures pour deux groupes de poissons. Les deux autres groupes sont nourris à leur température d'adaptation (10 ou 20°C) durant toute l'expérience et constituent les lots témoins.

Toutes les semaines, des poissons des 4 lots sont prélevés, pesés et mesurés. Le foie et le tube digestif sont prélevés et pesés, ce qui permet de calculer les rapports hépatosomatiques (RHS) et viscérosomatiques (RVS). Les échantillons d'organes et les carcasses sont lyophilisés, leur teneur en eau est alors évaluée. Après broyage, les échantillons sont divisés en parties aliquotes sur lesquelles sont déterminées les teneurs en lipides (selon Bligh et Dyer, 1959), en azote et cendres (selon Alliot *et al.*, 1979). Le glycogène hépatique est dosé selon la méthode de Roe et Dailey (1966), chaque échantillon étant traité en double.

Les différences statistiques entre les poissons témoins et les poissons soumis au jeûne sont calculées par le test-t de Student. Cependant, si l'homogénéité des variances entre les deux groupes de poissons n'est pas réalisée, l'approximation de Cochran du test-t est utilisée (Cochran, 1964).

RESULTATS ET DISCUSSION

A la température de 10°C, les animaux perdent régulièrement du poids. Cette perte de poids représente neuf semaines après le début du jeûne 17,6 % du poids initial. A 20°C, elle est plus rapide et atteint 20 % du poids seulement 4 semaines après le début de jeûne. A cette température, le RHS et le RVS déclinent rapidement et sont toujours inférieurs à ceux des poissons adaptés à 10°C et prélevés les mêmes jours (Tab. 1).

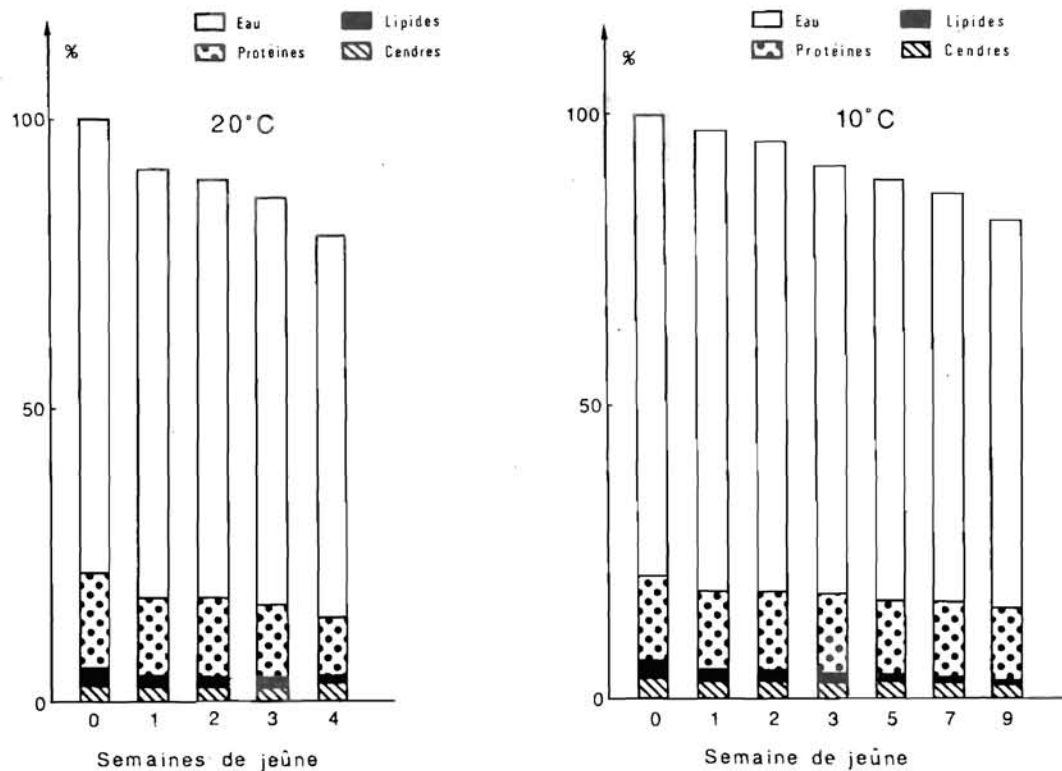


Fig. 1. Modifications de la composition corporelle globale chez la sole Solea solea au cours du jeûne, à 20°C et 10°C.

La température semble jouer un rôle important dans la capacité des animaux à supporter un jeûne prolongé. Ainsi Woo et Fung (1981) ont montré que la daurade *Chrysophrys major* adaptée à 13°C et 30 % supportait une longue période de jeûne (160 jours) alors qu'à 20°C cette période est réduite à 19 jours (Woo et Murat, 1981).

- Evolution de la composition corporelle globale

Chez les deux groupes d'animaux, la teneur en eau augmente au cours du jeûne. Cette augmentation est plus importante chez les poissons adaptés à 20°C ($P < 0,001$ la première semaine) et est associée à une diminution significative du pourcentage de protéines et de lipides totaux. Cependant la diminution des protéines est plus importante ($P < 0,001$) et intervient dès la première semaine de jeûne chez les animaux adaptés à 20°C alors qu'à 10°C il n'y a une utilisation significative des protéines qu'à partir de la 4ème semaine de jeûne (Fig. 1).

L'augmentation de la teneur en eau des tissus est un phénomène classique observé chez les poissons au cours du jeûne (Phillips *et al.*, 1966; Brett *et al.*, 1969).

Les teneurs en protéines globales diminuent au cours du jeûne, cependant l'utilisation des protéines est plus constante à la température de 20°C qu'à 10°C. Les protéines représentent donc une source d'énergie importante pour la sole comme pour de nombreuses autres espèces de poissons (Inui et Ohshima, 1966; Larsson et Lewander, 1973; Storer, 1967; Creach et Serfaty, 1965; Alliot *et al.*, 1983). Cette aptitude à mobiliser les protéines comme source d'énergie est, chez la sole, facilitée si la température est élevée. Par contre, il ne semble pas y avoir de différence dans la vitesse d'utilisation des lipides corporels, que les soles soient adaptées à 10°C ou 20°C. Chez la plie adaptée à 10°C, Jobling (1980) montre que les lipides représentent la part la plus importante des réserves utilisées au cours du jeûne et que les protéines n'interviennent que dans les stades ultimes de la période de jeûne.

- Evolution des lipides et du glycogène hépatique

A 20°C, les lipides hépatiques de la sole subissent une diminution importante et très significative et ceci dès la première semaine de jeûne ($P < 0,001$). La vitesse d'utilisation des lipides hépatiques des soles adaptées à 10°C est plus lente; à cette température, les concentrations atteintes sont toujours plus élevées que celles des soles adaptées à 20°C (à 4 semaines de jeûne $P < 0,05$; Fig. 2). Les réserves lipidiques hépatiques sont donc rapidement utilisées, et cette utilisation est d'autant plus intense que la température est plus élevée. Stirling (1976) constate également chez le loup que les modifications des lipides sont plus prononcées au cours du jeûne dans le foie que dans le muscle. Robinson et Mead (1973) ont montré chez la truite que les réserves lipidiques étaient surtout localisées au niveau du muscle et qu'au cours du jeûne seules ces réserves étaient utilisées. Ces auteurs ont considéré que ce fait était caractéristique des poissons actifs alors que chez les poissons vivant sur le fond et moins actifs, le foie est le principal lieu de stockage des lipides. Ces résultats ne correspondent pas à ceux trouvés chez le loup (Stirling, 1976; Alliot *et al.*, 1983) où lipides musculaires et hépatiques participent tous deux à la couverture des besoins énergétiques au cours du jeûne expérimental. Chez la sole, la contribution à ces besoins des lipides musculaires est aussi importante que celle des lipides hépatiques, la plus grande masse de tissu compensant la plus faible diminution en concentration.

A 10°C, chez les soles nourries, le pourcentage de glycogène hépatique est significativement plus bas que celui des soles nourries à 20°C ($P < 0,001$; Fig. 3). Au cours du jeûne et pour les deux températures, le glycogène est très rapidement mobilisé. A 20°C, les soles utilisent environ 60 % du glycogène hépa-

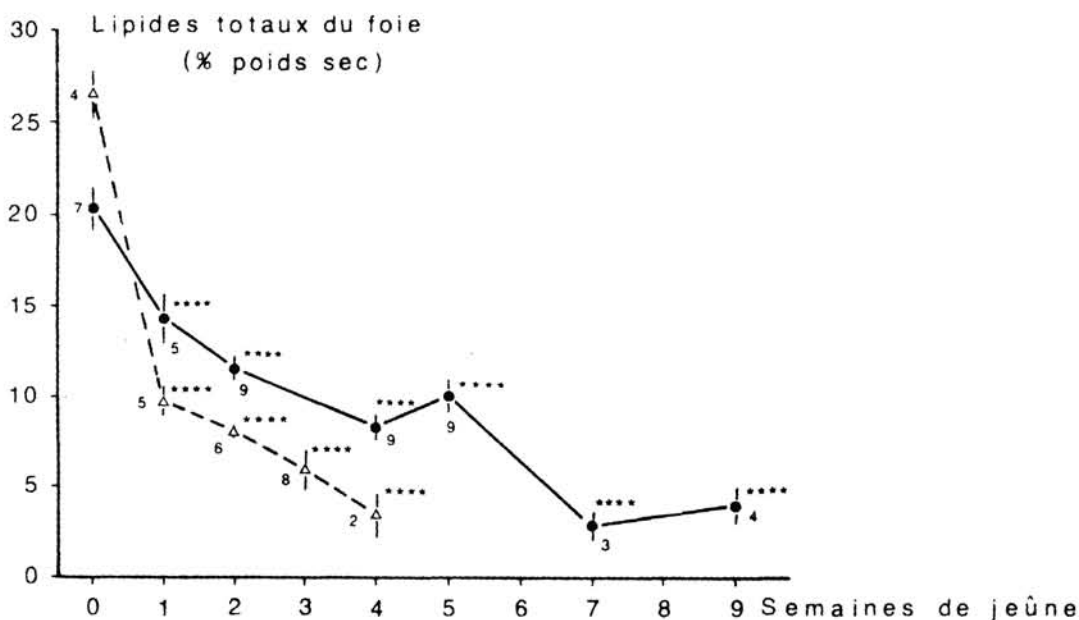


Fig. 2. Evolutions des lipides totaux du foie chez la sole au cours du jeûne à 10°C (●) et 20°C (△). Le nombre de poissons analysés est indiqué sur la figure.

(**** : P < 0,001 : comparaisons par rapport aux animaux témoins)

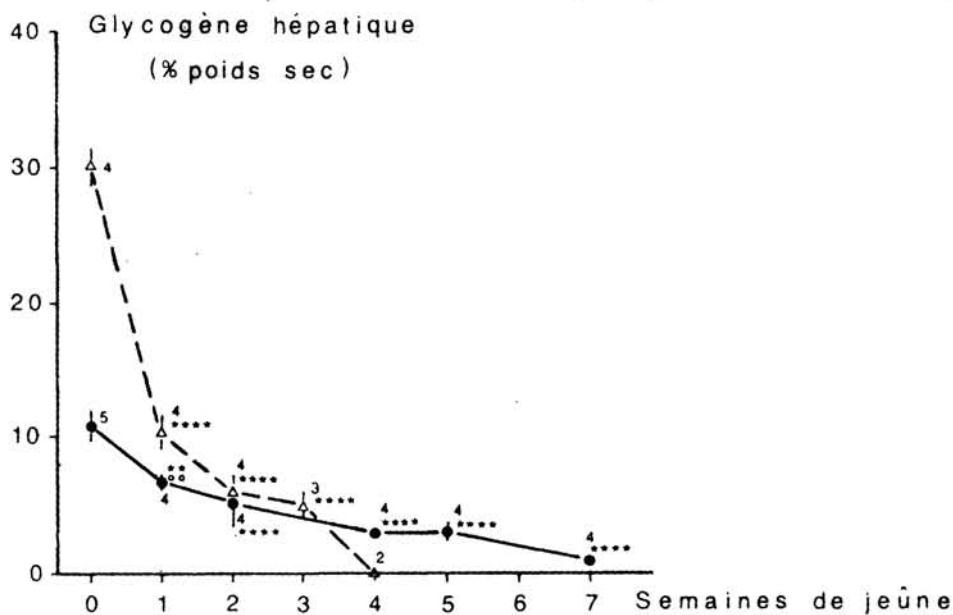


Fig. 3. Evolutions du glycogène hépatique au cours du jeûne chez la sole à 10°C (●) et 20°C (△). Le nombre de poissons analysés est indiqué sur la figure.

(** : P < 0,02; **** : P < 0,001 : comparaisons par rapport aux animaux témoins; °° : P < 0,02 : comparaison entre 10°C et 20°C les mêmes jours).

tique au cours de la première semaine de jeûne et, 4 semaines après le début du jeûne, la totalité du glycogène a été utilisé. A 10°C, cette utilisation est moins rapide : 9 semaines après le début du jeûne, la teneur en glycogène du foie est encore voisine de 1 % du poids sec.

La température influence donc fortement chez la sole la vitesse d'utilisation du glycogène hépatique. Nos résultats sont à comparer avec ceux obtenus chez le loup adapté à 19°C (Alliot et al., 1983) : 70 % du glycogène hépatique est utilisé dès la première semaine chez cette espèce; cependant, après 21 jours de jeûne, l'utilisation du glycogène est ralentie. De même, Vallet (1970) observe une nette diminution du glycogène hépatique dans les 4 premiers jours de jeûne chez Mugil sp., et, si le jeûne se prolonge au delà de 20 jours, l'utilisation du glycogène est restreinte. Par contre, Love (1970), chez la morue, Stimpson (1965) chez la daurade, et Larsson et Lewander (1973) chez l'anguille constatent une utilisation du glycogène hépatique seulement au cours des étapes ultimes du jeûne. Toutefois, comme le remarquent Brett et al. (1969), les carbohydrates ne représentent qu'un très faible pourcentage du poids du corps et ne sauraient jouer un rôle prédominant dans la couverture des besoins énergétiques; il faut cependant remarquer chez la sole que la mort intervient aussi bien à 10°C qu'à 20°C lorsque les réserves en glycogène hépatique sont épuisées. Ainsi comme le soulignent Woo et Fung (1981), la résistance au jeûne paraît conditionnée en partie par la capacité des poissons à maintenir leurs réserves glycogéniques.

-
- Alliot E., DJABALI M., PASTOUREAUD A., THEBAULT H., 1983 - Changes in the biochemical composition of tissues in juvenile sea bass during forced starvation. Biochem. Syst. Ecol., sous presse.
- Alliot E., PASTOUREAUD A., NEDELEC J., 1979 - Etude de l'apport calorique et du rapport calorico-azoté dans l'alimentation du bar (Dicentrarchus labrax). Influence sur la croissance et la composition corporelle. Proc. World Symp. on finfish nutrition and finfish technology, Vol. 1, Berlin 1979 : p. 242-248.
- Blight E.G. et Dyer W.J., 1959 - A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem., 37, p. 911-917.
- Brett J.R., Shelbourne J.E., Shoop C.I., 1969 - Growth rate and composition of fingerlings of sockeye salmon (Oncorhynchus nerka), in relation to temperature and ration size. J. Fish. Res. Bd Canada, 26, p. 2363-2394.
- Butler D.T., 1968 - Control of gluconeogenesis in the North American eel. Gen. Comp. Endocr., 10, p. 85-91.
- Cochran W.G., 1964. - Approximate significance levels of the Behrens-Fisher test. Biometrics, 20, p. 191-195.
- Creach Y. et Serfaty A., 1965 - La protéolyse chez la carpe commune (Cyprinus carpio) au cours du jeûne : importance et localisation. C.R. Soc. Biol., 159, p. 483-486.
- Ince B.W. et Thorpe A., 1976 - Effects of starvation and forcefeeding on metabolism of the Northern pike. J. Fish Biol., 8, p. 79-88.

Jours apres infection	12° 5 c		20° c	
	ip	bain	ip	bain
+ 3	5 / 5	3 / 5	5 / 5	/
+ 8	5 "	1 "	5 "	
+ 23	5 "	1 "	5 "	
+ 36	3 "	2 "	2 "	
+ 42	1 / 1	1 "	1 "	

TABLEAU 1 : NOMBRE DE BARS VIRUS[⊕], EN FONCTION DU TEMPS, APRES
INFECTION EXPERIMENTALE PAR UN VIRUS DE LA NPI (SOUCHE G45)

sérum dilution initiale	07/71			23/75		
	1.10 ⁵ ufp i.p.	2.10 ⁵ ufp/ml bain	témoins	2.10 ⁵ ufp ip	5.10 ⁵ ufp/ml bain	témoins
1/20	48 62 32 54	76 92 98 48 67 8 12	0 0	32 8 46 8 24 28 8	35 62 30 48 0 62	0 0
1/50	39 43 0 23	49 75 78 27 67 0 0	0 0	19 0 37 0 22 0 0	41 57 18 38 0 65	0 0

TABLEAU 2 : TAUX D'ANTICORPS NEUTRALISANTS CHEZ DES BARS D'1 AN, RESCAPES D'UNE INFECTION EXPERIMENTALE PAR 2
SEROTYPES DE VIRUS SHV. POISSONS MAINTENUS A 12° C, SAIGNES 74 JOURS APRES INFECTION.
RESULTATS EXPRIMES EN % DE NEUTRALISATION DU VIRUS HOMOLOGUE.

2^e essai : à 20° C sur des lots identiques aux précédents. Les poissons d'un bac ont reçu 1.10^4 ufp par voie i.p., ceux d'un deuxième bac sont contaminés dans un bain infectieux (4.10^5 ufp/ml).

3^e essai : effectué sur un lot de Turbots hétérogène : le poids des individus variant de 11 à 50 g (poids moyen : 28 g). Après avoir reçu 6.10^7 ufp de virus 07/71 par voie i.p., 14 poissons ont été placés dans un bac à 12° C et 10 dans un bac à 18° C. Un 3^e groupe de 14 Turbots a été contaminé par bain (2.10^5 ufp/ml) et placé à 12° C.

R E S U L T A T S

Bar :

Aucun pouvoir pathogène du virus N.P.I., G 45, n'a été mis en évidence chez les jeunes Bars de 2 g : le maximum de pertes n'a pas dépassé 8 % dans les lots infectés. Cependant, le virus est encore présent dans les poissons, 42 jours après infection, à 12°5 C comme à 20° C (Tableau 1).

A des températures inférieures à 15° C, l'inoculation de doses élevées (2.10^7 ufp) des virus de la S.H.V., 07/71 et 23/75, entraîne chez le Bar d'un an des mortalités respectives de 97 et 87 % en moins de 20 jours (figure 1). Des doses 100 fois plus faibles inoculées à des poissons de même âge résultent encore en 23 et 40 % de pertes. 70 jours après contamination par voie balnéatoire, les mortalités atteignent 50 et 37 % avec ces 2 souches (figure 1). L'infection de poissons plus jeunes par la souche 07/71 donne des pourcentages de mortalités comparables aux précédents : 50 % chez les inoculés (12 % chez les Témoins) et 20 % dans le groupe contaminé par bain (4 % chez les Témoins). A 20° C, la souche 07/71 n'a entraîné aucune mortalité significative et le virus n'a pas été réisolé chez les 6 poissons morts après inoculation. Les premiers symptômes de la maladie apparaissent de 4 à 20 jours après l'infection selon les doses et le mode de contamination utilisés. Les symptômes et lésions sont très comparables à ceux observés chez la Truite Arc-en-Ciel (Ghittino, 1965) : apathie, mélanisme, exophtalmie très prononcée accompagnée d'hémorragies orbitales, points hémorragiques sous l'abdomen et à la base des pectorales, branchies pâles. L'autopsie révèle la présence d'un abondant liquide d'ascite, des hémorragies dans le foie, les mésentères, l'intestin, la vessie natatoire et les muscles situés en arrière de la tête. L'étude histologique montre une nécrose plus ou moins importante du tissu interstitiel du rein.

Durant la phase aiguë de la maladie, les concentrations de virus dans le rein, la rate et le cerveau sont supérieures à 10^8 ufp/g d'organe. Environ 12 jours après le début des mortalités, les poissons présentent une forme nerveuse de la maladie qui se traduit par une nage rapide et désordonnée alternant avec des phases d'apathie durant lesquelles ils restent couchés sur les flancs. La mort survient de 1 à 3 jours plus tard ; leur autopsie ne montre aucune lésion particulière. A ce stade, le virus est toujours présent dans le cerveau, à des concentrations de l'ordre de 10^6 ufp/g, mais pas obligatoirement dans le rein et la rate. Environ 1 mois après la fin des mortalités, le virus ne peut plus être mis en évidence chez les rescapés. Par contre, la présence d'anticorps neutralisants anti-SHV a pu être détectée dans leur sérum 74 jours après contamination (Tableau 2).

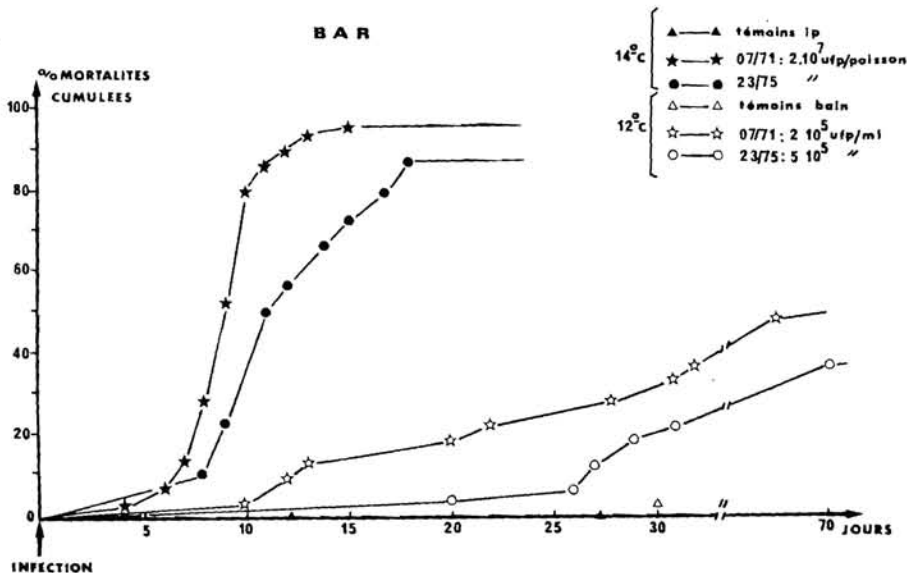


FIGURE 1 : COURBES DE MORTALITES CHEZ DES BARS (poids moyen 12g) INFECTES EXPERIMENTALEMENT PAR 2 SEROTYPES DE VIRUS SHV.

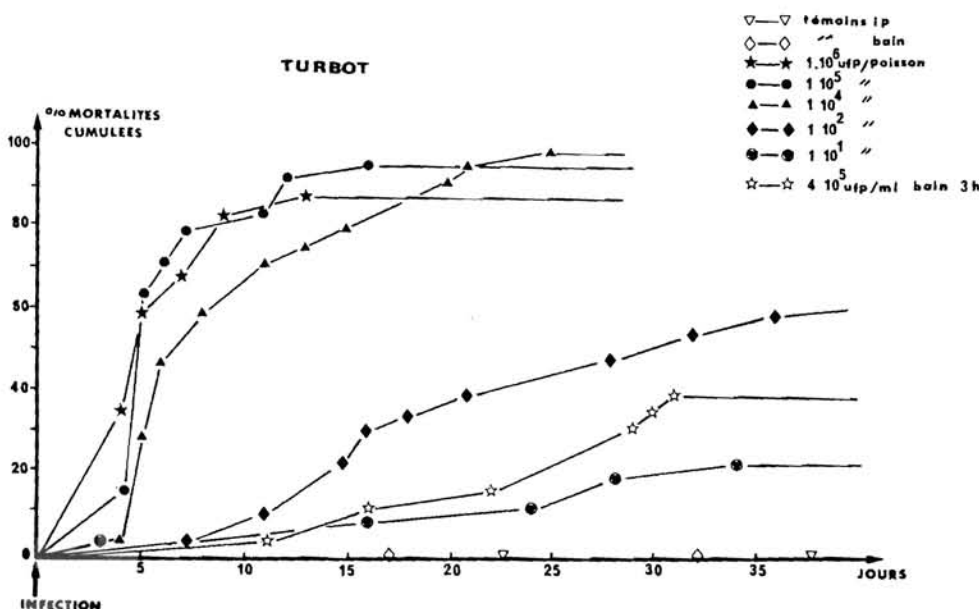


FIGURE 2 : COURBES DE MORTALITES CHEZ DES TURBOTS (poids moyen: 6,5g) INFECTES EXPERIMENTALEMENT PAR UN VIRUS DE LA S.H.V.₁ (souche 02/71).

Turbot :

A 12°5 C, le virus SHV1, 07/71, s'est montré très pathogène pour les jeunes turbots. Les mortalités sont proportionnelles aux doses injectées (figure 2) ; elles sont encore de 100 % pour une dose de 10^4 ufp, 64 % pour 10^2 ufp et 24 % pour seulement 10 ufp/poisson. Les mortalités débutent généralement 4 jours après infection et augmentent très rapidement lorsque la dose infectieuse est supérieure ou égale à 10^4 ufp/poisson. La contamination par voie naturelle dans un bain infectieux résulte aussi en une mortalité de 40 %. La période d'incubation est d'environ 10 jours. Comme chez le Bar, aucun pouvoir pathogène n'a été démontré à 20° C. Chez les poissons plus grands, l'inoculation de doses élevées de virus ($6 \cdot 10^7$ ufp) entraîne la mortalité de tout l'effectif (14/14) en 10 jours à 12° C. A 18° C, une dose identique tue encore 5 poissons sur 10. Dans le lot contaminé par bain : 4 poissons sont morts en présentant les symptômes de la maladie. Ces symptômes sont moins spectaculaires que chez le Bar ; néanmoins, les individus atteints prennent une teinte plus sombre, l'abdomen est renflé, les hémorragies sont fréquentes sur la face aveugle, dans les yeux et sur le pourtour des nageoires. A l'autopsie, s'écoule un important liquide d'ascite, la paroi abdominale est hémorragique et des pétéchies sont nombreuses sur le foie mais très rares dans les muscles. Les concentrations de virus sont supérieures à 10^8 ufp/g d'organe chez les poissons morts. Les images histologiques sont comparables à celles observées chez le Bar et montrent une nécrose du tissu hématopoïétique du rein et de la rate. La forme nerveuse de la maladie n'a pas été observée. Chez les rescapés, le virus n'est plus isolé un mois après la fin des mortalités.

C O N C L U S I O N

Dans des conditions expérimentales définies, aucun pouvoir pathogène du virus de la N.P.I. utilisé n'a été démontré chez le Bar de 2 g maintenu à 12°5 ou 20° C. Par contre, Bar et Turbot se sont révélés très sensibles aux virus de la S.H.V. à des températures inférieures à 15° C. Le déroulement de la maladie chez ces deux espèces présente des analogies avec ce qui se passe chez la Truite Arc-en-Ciel : temps d'incubation, symptômes, lésions, concentrations de virus dans les organes, phase nerveuse et anticorps neutralisants chez le Bar.

A 20° C, les deux espèces sont réfractaires à la maladie, ce qui laisse supposer qu'à cette température les mécanismes de défense interviennent pour contrecarrer la multiplication virale.

Les résultats de cette étude expérimentale démontrent que les virus de la SHV doivent être considérés comme des pathogènes potentiels pour le Bar et le Turbot lorsque la température est inférieure à 15° C.

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat CNEXO - CNRS 1982.

Nous remercions le Département "Aquaculture" du C.O.B. à Brest et la Ferme Marine du Douhet à Oléron qui nous ont fourni les poissons ; de même que J. CABON, Y. ROUDAUT, A. ABIVEN et N. JEZEQUEL pour leur assistance technique efficace.

- Casals J., 1967. - Immunology techniques for animal viruses. In : K. Maramorosch and H. Koprowski (Editors), Methods of Virology, Academic Press, New York, p. 113-198.
- Castric J., de Kinkelin P., 1980. Occurrence of viral haemorrhagic septicaemia in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson reared in sea water. J. Fish Diseases, 3, p. 21-27.
- Cnexo, 1978. - Rapport annuel d'activité du Centre Océanologique de Bretagne (BP 337 - 29273 Brest Cedex, France), p. 40-44.
- Dorson M., Torchy C., 1979 - Complement dependent neutralization of Egtved virus by trout antibodies. J. Fish Diseases, 2, p. 345-347.
- Fijan N., Sulimanovic D., Bearzotti M., Muzinic D., Zwillenberg L.O., Chilmonczyk S., Vautherot J.F., de Kinkelin P., 1983 - Some properties of the *Epithelioma papulosum cyprini* (EPC) cell line from Carp *Cyprinus carpio*. Ann. Virol. (Inst. Pasteur), 134 E, p. 207-220.
- Ghittino P., 1965 - Viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in rainbow trout in Italy. Ann. N.Y. Acad. Sci. USA, 126, p. 468-478.
- de KINKELIN P., 1982 - Viral Haemorrhagic Septicaemia. In : D.P. Anderson, M. Dorson & P. Dubourget (Editors), Antigens of Fish Pathogens, development and production of vaccines and serodiagnostics, Symposium international de Talloires, 10-12 mai 1982, 10 p.
- De Kinkelin P., Scherrer R., 1970 - Le virus d'Egtved : 1. Stabilité, développement et structure du virus de la souche danoise Fl. Ann. Rec. Vet., 1, p. 17-30.
- de Kinkelin P., Castric J., 1982 - An experimental study of the susceptibility of Atlantic salmon fry, *Salmo salar* L., to viral haemorrhagic septicaemia. J. Fish Diseases, 5, p. 57-65.
- Le Berre M., de Kinkelin P., Metzger A., 1977 - Identification sérologique des Rhabdovirus des Salmonidés. Bull. Off. int. Epiz., 87 (5-6), p. 391-393.
- Vestergard-Jorgensen P.E., Kehlet N.P., 1971 - Infectious Pancreatic Necrosis (IPN) viruses in Danish rainbow trout : their serological and pathogenic properties. Nord. Vet. Med., 23, p. 568-575.
- Wolf K., Quimby M., 1962 - Established eurythermic line of fish cells in vitro. Science, 135, p. 1065-1066.