



HAL
open science

Eléments d'immunologie des poissons

Pierre Boudinot, Michel Dorson

► **To cite this version:**

Pierre Boudinot, Michel Dorson. Eléments d'immunologie des poissons. Santé des poissons, 2018, 10.15454/1.533213541149917E12 . hal-02790940

HAL Id: hal-02790940

<https://hal.inrae.fr/hal-02790940v1>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

2

Éléments d'immunologie des poissons

1. Introduction

Le système immunitaire permet à l'individu de résister aux agressions des organismes pathogènes et intervient dans le contrôle du développement des tumeurs. Ce système comprend les molécules, cellules et tissus responsables de la mise en œuvre des mécanismes de défense de l'organisme. Un réseau complexe d'interactions cellulaires et moléculaires permet ainsi l'élaboration de réponses spécifiques ou non spécifiques vis-à-vis des entités reconnues comme étrangères ou dangereuses. La spécificité des réponses immunitaires a été expliquée par la théorie de la sélection clonale de cellules – les lymphocytes – qui expriment les récepteurs permettant la reconnaissance d'un **antigène cible** donné : l'antigène n'induit l'amplification que du ou des clones qui le reconnaissent spécifiquement (Burnet, 1957). Cette vision darwinienne du système immunitaire impose qu'une grande diversité de récepteurs préexiste au contact avec l'antigène. L'individu doit donc posséder des populations suffisamment importantes et diverses de **lymphocytes B (fabriquant les anticorps) et T (responsables de réponses cellulaires)**. Les motifs antigéniques étant *a priori* innombrables, la génération de cette diversité à partir d'un nombre limité de gènes est restée longtemps le problème central de l'immunologie. La découverte des **réarrangements somatiques** subis par les gènes des immunoglobulines (Ig) et du récepteur spécifique de l'antigène des cellules T (TCR) a résolu ce paradoxe (Tonegawa, 1983). À l'encontre des agnathes (lamproies et myxines) et des invertébrés, tous les vertébrés à mâchoires (**gnathostomes**, incluant requins et raies, poissons osseux, amphibiens, reptiles et oiseaux, mammifères), possèdent des lymphocytes qui expriment des Ig et des TCR diversifiés et assurent la mise en place de réponses spécifiques de l'antigène. Ainsi, les constituants primordiaux du système immunitaire des Vertébrés sont exprimés chez les poissons (Flajnik *et al.*, 2003). En revanche, le contexte anatomique et physiologique des réponses immunitaires est bien différent de celui des mammifères.

L'étude des mécanismes non spécifiques de l'immunité (*innate immunity*) a connu un développement très important à partir des années 2000, lorsqu'il a été compris qu'ils sont essentiels à la fonction de protection et, par ailleurs, souvent conservés dans le règne animal. Ces mécanismes constituent une première ligne de défense contre les organismes pathogènes mais sont aussi nécessaires au déclenchement et à la régulation

des réponses spécifiques (Medzhitov et Janeway, 1997). Ils sont donc très importants pour le maintien de l'intégrité physique et fonctionnelle d'un individu confronté aux attaques d'organismes pathogènes, chez les invertébrés comme chez les vertébrés. Les récents progrès de la connaissance du système immunitaire non spécifique des poissons permettent à la fois d'esquisser un tableau de l'évolution du système immunitaire des vertébrés et de mieux appréhender les mécanismes de défense contre les organismes pathogènes.

Dès le début de l'histoire de l'immunologie, mais surtout à partir des années 1960, on s'est intéressé aux invertébrés et aux vertébrés dits (à tort) « inférieurs » que sont les poissons, avec l'espoir que des systèmes plus simples permettraient une meilleure compréhension des mécanismes immunitaires fondamentaux. Outre leur intérêt académique, ces études d'immunologie comparée ont débouché sur des aspects plus appliqués avec le développement important de la vaccination des poissons. En fait, le développement des premiers vaccins chez les poissons (contre la vibriose et la yersiniose) s'est effectué avec succès de manière essentiellement empirique. En revanche, la mise au point de vaccins actifs contre l'infection par des organismes pathogènes moins immunogènes et plus difficiles à contenir passera sans doute par une meilleure compréhension des mécanismes de régulation de l'immunité des poissons. Un autre apport très important de l'immunologie des poissons à la pratique de leur élevage concerne le diagnostic et le suivi des maladies infectieuses et parasitaires par la détection des réponses immunitaires. L'identification d'anticorps dirigés contre un organisme pathogène donné permet classiquement de retrouver la trace de l'infection sans sacrifier l'animal, même lorsque les signes cliniques ont disparu ; le développement des connaissances sur les réponses et la mémoire immunitaires, en particulier sur les aspects des réponses cellulaires, ne devrait pas manquer d'apporter de nouveaux outils à ce type d'approche. Dans le domaine thérapeutique, l'administration d'antibiotiques aux poissons d'élevage, si elle peut être immédiate et souvent active, n'est pas sans conséquences néfastes – ne serait-ce que parce qu'elle favorise l'émergence de résistances chez les bactéries pathogènes – et devient chaque année plus sévèrement réglementée. Dans un tel contexte, l'identification de facteurs et de mécanismes antibactériens est plus que jamais pertinente. La recherche de stratégies antivirales utilisables sur le terrain est aussi à l'ordre du jour. Enfin, la génomique et la biologie intégrative permettront certainement à l'immunologie des poissons d'apporter encore plus qu'elle ne l'a fait à la compréhension des mécanismes de défense des vertébrés face aux menaces des organismes pathogènes.

2. Cellules du système immunitaire et organes lymphoïdes des poissons

Les poissons possèdent des lymphocytes typiques, caractérisés par l'expression des récepteurs spécifiques de l'antigène (immunoglobulines pour les lymphocytes B et TCR pour les lymphocytes T) et par l'expression régulée de facteurs de transcription caractéristiques lors du développement (comme Ikaros, pax5, des membres de la famille GATA...). Des cellules cytotoxiques non spécifiques (NCC) ont aussi été décrites, analogues aux cellules tueuses ou *natural killers* (NK) des mammifères, qui peuvent lyser des cellules de lignées humaines. Différentes populations de NCC ont été identifiées chez le "channel catfish" (*Ictalurus punctatus*) par exemple. Macrophages,

granulocytes et thrombocytes ont également pu être caractérisés chez différentes espèces de poissons, ainsi que des cellules présentant de nombreux points communs avec les cellules dendritiques des mammifères, essentielles pour le développement des réponses spécifiques. Ainsi, les principaux types cellulaires du système immunitaire des vertébrés sont présents chez les poissons.

Les poissons possèdent aussi les organes lymphoïdes typiques du système immunitaire des vertébrés mais leur organisation diffère de celle des mammifères. Le thymus est le premier organe colonisé par des lymphocytes. Il contient des cellules de la lignée T, exprimant des transcrits du TCR, mais aussi des lymphocytes B. La rate comporte, comme chez les mammifères, des vaisseaux sanguins, une pulpe rouge et une pulpe blanche. Cependant, la pulpe blanche est peu développée. Les centres germinatifs semblent absents. Le rein antérieur, ou pronéphros, est un autre organe lymphoïde important qui comprend des macrophages, des granulocytes et des lymphocytes B et T. Rate et rein sont riches en mélanomacrophages (cellules de type macrophagique contenant de la mélanine), qui abondent en particulier aux bifurcations des vaisseaux sanguins. Les poissons ne possèdent pas de ganglions lymphatiques et la localisation anatomique des phénomènes liés aux réponses immunitaires n'est toujours pas très précisément connue. Le tissu lymphoïde associé à la muqueuse intestinale comporte des lymphocytes associés à l'épithélium, en particulier des lymphocytes T. La *lamina propria* en contient aussi, ainsi que des « cellules à grains » capables d'endocytose et des cellules productrices d'anticorps. On trouve aussi des macrophages dans l'atrium du cœur, et les cellules piliers des branchies sont capables de phagocytose. Enfin, la présence de lymphocytes a été démontrée dans la peau de certains poissons. Ce qui est connu de ces structures lymphoïdes chez les téléostéens demeure extrêmement fragmentaire et limité à quelques espèces. Le très grand nombre d'espèces de poissons, avec des adaptations très nombreuses à des conditions de milieu bien différentes, laisse penser que la diversité des structures anatomiques doit être considérable. Ainsi, un poisson planctonophage comme l'hippocampe (*Hippocampus* spp.) n'a pas de véritable rate, et ne possède que des structures lymphoïdes associées à l'intestin très réduites. Les conséquences pratiques de cette diversité pourraient être significatives pour la pathologie des poissons lorsque l'aquaculture intégrera de nouvelles espèces appartenant à des familles de téléostéens dont les systèmes immunitaires sont peu ou pas connus.

Chez les téléostéens comme chez les autres vertébrés, les précurseurs hématopoïétiques dérivent du mésoderme et sont d'abord observés dans des « îlots sanguins » à la surface du vitellus et/ou dans la « masse cellulaire intermédiaire », puis dans l'aorte dorsale (Hansen et Zapata, 1998). Plus tard, le développement des lymphocytes T s'effectue essentiellement dans le thymus, comme en témoigne l'expression du facteur de transcription Ikaros de la TdT (enzyme responsable de l'ajout des nucléotides N lors des réarrangements des Ig et TCR), de RAG (enzyme responsable des réarrangements des Ig et TCR), et du TCR. Le développement B serait localisé principalement dans le rein antérieur, au moins chez certaines espèces comme la truite arc-en-ciel. Les principaux facteurs de transcription qui déterminent l'orientation de la différenciation des précurseurs hématopoïétiques vers les lignages de leucocytes et d'érythrocytes semblent conservés entre poissons osseux et mammifères. D'une manière générale, toutes les structures du système immunitaire ne sont pas encore en place à l'éclosion de l'œuf. Chez la truite arc-en-ciel, à 14 °C, le thymus contient déjà des lymphocytes 8 jours avant l'éclosion mais les premiers lymphocytes ne sont identifiés dans le sang qu'au cinquième jour après l'éclosion, et dans la rate au 21^{ie} jour. Des différences importantes dans l'ontogénie du système immunitaire existent sans doute d'un groupe de poissons à

un autre, au même titre que ce qui a été observé chez les mammifères. La mise en place de l'immunité antivirale et de l'immunité antibactérienne est progressive après l'éclosion (Castro *et al.*, 2015).

3. Les médiateurs de la réponse non spécifique (immunité naturelle) chez les poissons

Les mécanismes non spécifiques de défense constituent une première barrière contre les organismes pathogènes, mais sont aussi essentiels au déclenchement et à la régulation des réponses immunitaires spécifiques. Chez les poissons, ces mécanismes font appel à des molécules exprimées de manière permanente, par exemple dans le mucus, ou à des voies inductibles activées par les organismes pathogènes ou leurs constituants. Par ailleurs, le réseau complexe des cytokines – hormones de communication de proximité des cellules du système immunitaire – est en cours d'élucidation chez les poissons. Fonction exemplaire par sa mise en jeu dans les deux types d'immunité (spécifique ou non) comme par la multiplicité des facteurs qui contribuent à la réguler, la phagocytose constitue sans doute l'un des mécanismes essentiels de défense antibactérienne chez les poissons. Les phagocytes sont particulièrement actifs dans la rate et le rein mais aussi dans l'atrium cardiaque, et les branchies.

3.1. Molécules non induites impliquées dans l'immunité naturelle

Ces facteurs exprimés de manière constitutive opposent une barrière immédiate à l'invasion par un organisme pathogène et font partie de l'immunité dite « naturelle » ou « innée ».

Le mucus externe constitue la première barrière opposée aux envahisseurs. Indépendamment de toute pré-immunisation, différentes substances actives y sont présentes : substances bactéricides comme la bactériolysine, le lysozyme, des facteurs du complément, la protéine C-réactive et des peptides antibactériens, ainsi que des IgT qui jouent un rôle comparable à celui des IgA des mammifères. La plupart de ces facteurs ont été retrouvés aussi dans le mucus intestinal.

Le sérum contient également de manière constitutive de nombreuses substances antimicrobiennes. Le complément est un système complexe et actif de lyse et d'**opsonisation** des microbes dont les nombreux facteurs, qui agissent en cascade après activation par différentes molécules de la paroi bactérienne (voie alterne) et par les anticorps (voie classique), sont présents dans le sérum des poissons comme des mammifères. Le sérum des salmonidés contient aussi des hémolysines, de la protéine C-réactive, du lysozyme, et divers anticorps reconnaissant fortement des antigènes de *Saprolegnia* par exemple. Comme chez les mammifères, des anticorps dits « naturels » de spécificités diverses et de faible affinité semblent présents dans le sérum des poissons. Ces anticorps naturels pourraient jouer un rôle important de blocage lors des premières étapes de certaines infections, en particulier chez certaines espèces comme la morue (*Gadus morhua*) où ils sont abondants alors que les réponses anticorps spécifiques sont souvent plus lentes et de plus faible intensité que chez d'autres espèces.

3.2. Récepteurs associés à des catégories d'organismes pathogènes et inflammation

L'essor récent de l'immunologie des mécanismes régis par des facteurs codés dans le génome (« innés »), par opposition aux anticorps dont les gènes sont assemblés pendant la différenciation des lymphocytes, a conduit à distinguer des mécanismes de reconnaissance de structures typiques de certaines classes d'organismes pathogènes (PAMPs pour *pathogens associated molecular patterns*). Ces PAMPs comprennent : le LPS des bactéries à Gram négatif, l'acide lipoteichoïque des bactéries à Gram positif, les lipoarabino-mannanes des mycobactéries, l'ARN double brin de nombreux virus, les β -glycanes et mannanes des parois de nombreux champignons ; ils sont reconnus par l'hôte comme des « signatures » des organismes pathogènes auxquels ils sont associés. Des récepteurs impliqués dans la reconnaissance de ces structures (PRR pour *pattern recognition receptor*) ont été identifiés à la fois chez les vertébrés et chez de nombreux invertébrés. Ces récepteurs appartiennent à quelques grandes familles de protéines (*leucine rich repeats*, *C-lectins*, super-famille des immunoglobulines...) mais ne sont pas toujours très conservés entre groupes d'animaux. En revanche, les voies de signalisation cellulaire associées sont bien conservées, entre la drosophile et l'homme par exemple.

Chez les poissons, de nombreux récepteurs reconnaissant des PAMPs ont été identifiés, avec des fonctions certainement comparables à celles de leurs homologues chez les mammifères. Ainsi, des récepteurs similaires à Toll (TLR, pour *Toll like receptor*) ont été identifiés chez différentes espèces et sont souvent induits par des *stimuli* activateurs ou par des pathogènes (Roach *et al.*, 2005). La connaissance de nombreux génomes complets de poissons a permis d'identifier l'ensemble des gènes codant les TLR dans des espèces très différentes et de mieux comprendre leurs rôles respectifs dans les différentes stratégies de défense de ces espèces.

3.3. Molécules induites : interféron et cytokines

Comme chez les mammifères, la première réponse des poissons à l'infection virale est non spécifique. L'induction de la sécrétion d'un médiateur présentant les propriétés d'un interféron (IRF) par des virus est connue chez la truite arc-en-ciel depuis les années 1970 (de Kinkelin et Dorson, 1973). Ce médiateur, résistant au traitement acide et doté d'une forte activité antivirale, fut décrit chez différentes espèces de téléostéens. Cependant, l'identification formelle d'un interféron chez un poisson allait devoir attendre plus de trente ans puisque les premières séquences établies chez les interférons de type I ne furent publiées qu'en 2003 (Robertsen *et al.*, 2003). Un gène similaire à celui de l'interféron γ des mammifères a aussi été identifié chez les poissons, suggérant que les deux types d'interférons sont présents chez les poissons et pourraient jouer un rôle dans la réaction antivirale (Zou *et al.*, 2004). La diversité des IFN de type I chez les poissons est en fait considérable et a évolué en parallèle de celle qui est observée chez les mammifères (Boudinot *et al.*, 2016). Par ailleurs, de nombreux gènes typiquement induits par l'interféron chez les mammifères (ISG pour *interferon stimulated genes*) ont été retrouvés chez les poissons. Ainsi, trois homologues des gènes Mx ont été identifiés chez la truite arc-en-ciel. Mx1 et Mx3 sont fortement induits par l'infection virale, le poly-C (un ARN double-brin de synthèse) ou même la vaccination génétique avec un plasmide exprimant la glycoprotéine du VSHV. Les promoteurs de ces ISG présentent

des séquences ISRE (*interferon stimulating response elements*) bien typiques, identiques à celles des promoteurs des ISG des mammifères. Différentes approches de comparaison des transcrits des cellules infectées ou non ont permis de caractériser, au cours des 20 dernières années, le répertoire des ISG des poissons. Par exemple, dès 2002, un criblage de banques soustraites obtenues par hybridation suppressive soustractive sur des cellules de pronephros a montré que la plupart des gènes induits par le VSHV dans les leucocytes du pronephros en culture étaient inductibles par l'interféron, confirmant le rôle essentiel de cette voie dans la réponse au virus (O'Farrell *et al.*, 2002). Depuis, le développement des puces à ADN, puis du séquençage des répertoires complets des transcrits (RNA Seq), a permis de caractériser la réponse interféron de type I de manière quasi complète. Chez le danio rayé (ou « poisson zèbre »), il a ainsi été estimé que parmi plusieurs centaines de gènes dont l'expression est modulée par les essais d'induction, une centaine d'ISG sont conservés et ont un homologue direct chez l'homme (Briolat *et al.*, 2014).

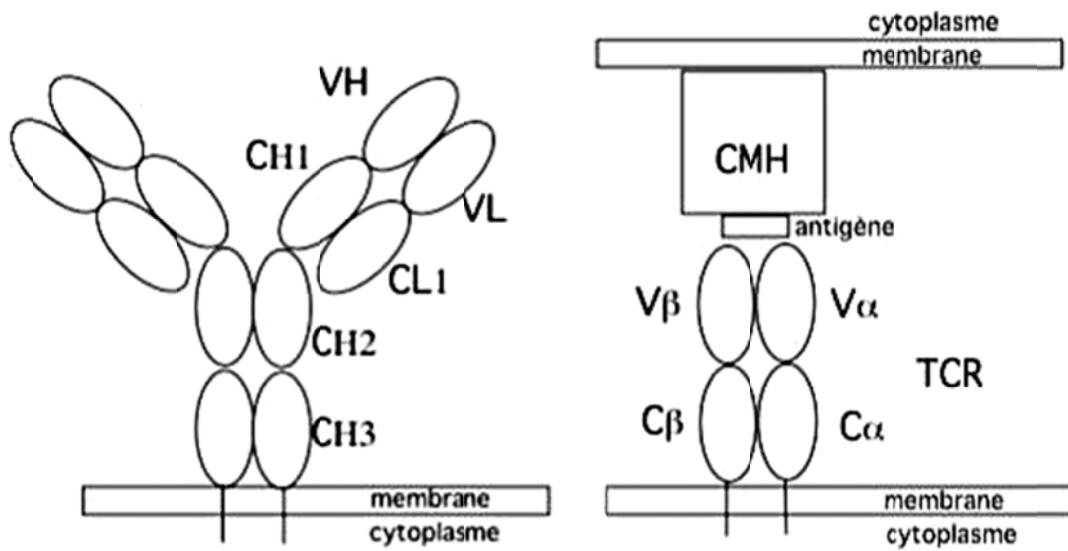
Un réseau de cytokines analogue à celui des mammifères est présent chez les poissons. En effet, les équivalents de différentes **interleukines** ont été caractérisés, essentiellement grâce aux approches génomiques. Le TGFβ (*transforming growth factor*, régulateur), et l'IL1 (interleukine-1, pro-inflammatoire) ont été d'abord identifiés et semblent avoir des fonctions assez cohérentes avec leurs homologues de mammifères (Secombes *et al.*, 2001). Le TNFα (*tumor necrosis factor-α*) possède également chez les poissons un équivalent qui est fortement induit dans les contextes inflammatoires (Hirono *et al.*, 2000). De nombreuses **chimiokines** ont aussi été identifiées chez différentes espèces de poissons et dans de nombreux contextes inflammatoires. Toutes appartiennent aux familles CC et CXC (classées selon le positionnement des résidus cystéine sur la chaîne peptidique). Les fonctions complexes et non forcément conservées des cytokines, au cours du développement du système immunitaire et lors des réponses, restent actuellement mal comprises.

4. Récepteurs spécifiques de l'antigène chez les poissons : Igs et TCRs

4.1. Les immunoglobulines (Igs) ou anticorps

Comme tous les gnathostomes, les poissons possèdent des Ig (figure 1), dont l'unité élémentaire est constituée de deux chaînes lourdes (H) et de deux chaînes légères (L), identiques deux à deux et divisées en domaines. La chaîne lourde comporte un domaine variable et quatre (ou plus) domaines constants, la chaîne légère un domaine variable et un domaine constant. La très grande diversité de ces protéines est due, comme chez les mammifères, aux réarrangements génomiques et somatiques qui rapprochent, au cours de la différenciation des lymphocytes, des segments géniques V (D) et J éloignés dans l'ADN germinale. L'analyse de la structure des locus d'immunoglobulines (figure 2), des transcrits et des protéines exprimées, puis l'identification de la recombinase RAG (impliquée dans la recombinaison V (D) J) et de la terminal-d-transférase (TdT) ont

Immunoglobuline M membranaire TCR $\alpha\beta$ liant l'antigène présenté par une molécule du CMH



Immunoglobuline M sécrétée tétramérique

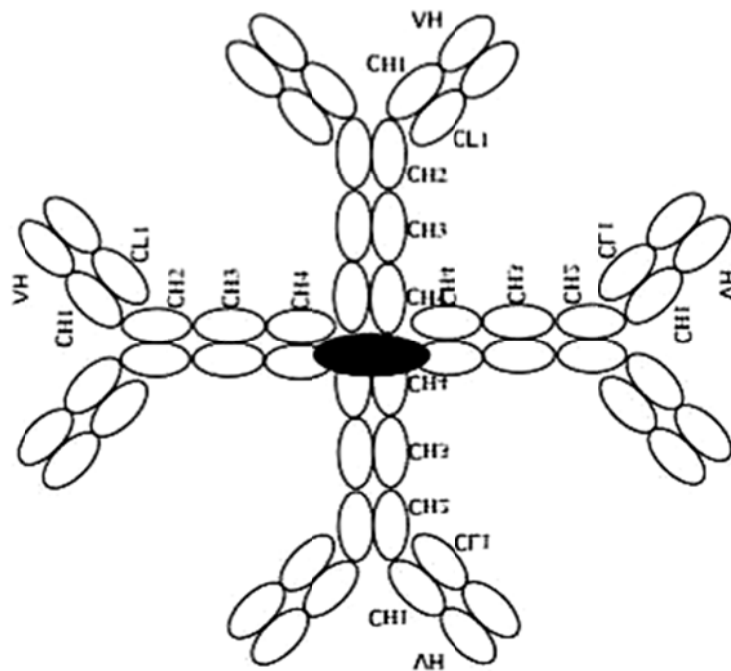


Figure 1. Représentation schématique des différents types de récepteurs spécifiques de l'antigène.

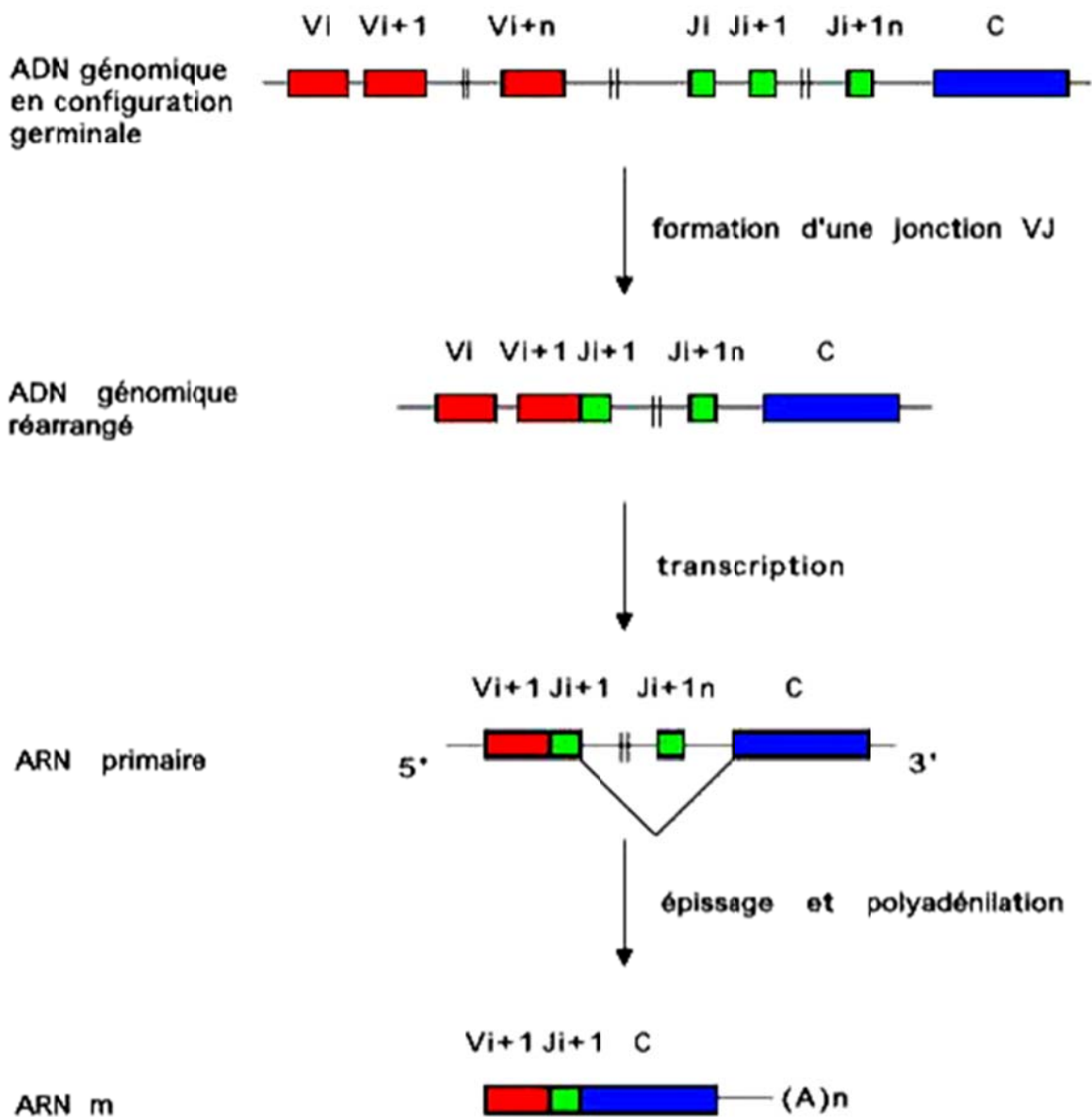


Figure 2. Au locus des Igs ou des TCRs, l'ADN génomique en configuration germinale comprend des segments V (variable), J (jonction) et C (constant) et aussi, pour certains locus, des segments D (pour diversité) souvent situés entre V et J. Au cours de la différenciation du lymphocyte, des réarrangements génomiques provoqués par les recombinases RAG1 et 2 amènent un V au contact d'un J (ou d'un D qui est lui-même recombinaisonné sur un J). Un transcrite est alors produit à partir du promoteur situé en amont du V réarrangé, puis l'épissage élimine l'intron séparant le J réarrangé du segment C, aboutissant à l'ARNm mature codant pour une chaîne d'Ig ou de TCR.

révéle des mécanismes de base similaires, dans la diversification des immunoglobulines par réarrangements génomiques, chez les poissons et chez la souris ou l'homme. Cependant, les immunoglobulines des poissons présentent des particularités originales (Flajnik, 2002 ; Fillatreau 2013).

Les isotypes d'Ig sont différents chez les poissons et les mammifères. Des IgM typiques sont synthétisées et sécrétées par les lymphocytes B. Les IgM du sérum sont tétramériques (PM = 800 kDa) et non pentamériques, comme chez les autres vertébrés. Une particularité unique aux téléostéens est que ces IgM ne sont pas constituées d'oligomères uniformément liés par des ponts disulfures. La signification fonctionnelle de ces formes différentes demeure en grande partie inconnue mais cette diversité structurale semble constituer une caractéristique générale des IgM des téléostéens. Les patrons d'épissage qui sont à l'origine des transcrits de chaînes lourdes des IgM membranaires ou sécrétées sont également atypiques chez les poissons. Ainsi, chez les téléostéens, l'épissage sur l'exon codant le domaine transmembranaire s'effectue à partir de la fin du domaine CH3, et non de la fin du domaine CH4 comme chez les autres vertébrés. Chez les holostéens, des sites cryptiques d'épissage situés dans le CH4 peuvent aboutir à un patron « classique ». Par ailleurs, les IgM d'un poisson antarctique présentent un profil de glycosylation et deux insertions – à la limite V/CH1 et à la limite CH2/CH3 – qui autorisent une grande flexibilité aux basses températures.

Un second isotype retrouvé chez les poissons osseux est l'IgD, identifiée d'abord chez le "channel catfish", puis chez des salmonidés et la morue. Comme chez les mammifères, les gènes CH δ sont situés juste après les gènes codant pour la chaîne μ . Les transcrits IgH δ sont obtenus comme chez les mammifères par l'épissage particulier d'un long transcrit comprenant la région constante codant pour C μ . Certains domaines C δ , mais pas tous, présentent des similarités significatives et préférentielles avec des domaines de l'IgD des primates ou des rongeurs. L'IgD transmembranaire est coexprimée avec l'IgM à la surface de certaines sous-populations de lymphocytes B. La fonction de cet isotype reste largement inconnue chez les poissons.

Enfin, le troisième isotype identifié chez les téléostéens est l'IgT (IgZ chez le « poisson-zèbre ») récemment découvert chez la truite arc-en-ciel (Hansen *et al.*, 2005). Cet isotype utilise le même ensemble de segments variables VH que l'IgM et l'IgD mais aussi une série distincte de segments D, J et C. Ces segments particuliers sont en effet codés à un locus situé entre les VH et les JH retrouvés dans les chaînes lourdes des IgM et D. Cet isotype possède une forme membranaire et une forme sécrétée, comme l'IgM, et est exprimé dans la rate et le rein antérieur. L'IgT est particulièrement important pour la protection des muqueuses et la régulation des interactions avec la flore intestinale, comme l'IgA chez l'Homme et la souris. Il est aussi impliqué dans la réponse systémique contre les pathogènes.

Les segments géniques codant les domaines VH des immunoglobulines de poissons ne présentent pas de caractéristiques très particulières. Le locus VH est typiquement organisé en translocon et la diversité génomique des segments VH ne limite pas la diversité potentielle du répertoire des immunoglobulines. Si les poissons ne possèdent pas les structures anatomiques nécessaires à une sélection efficace des mutations somatiques des régions variables des Ig, celles-ci interviennent tout de même à faible fréquence et participent à la diversification des séquences d'immunoglobulines.

Les chaînes légères d'immunoglobulines des téléostéens se regroupent en différents types (Pilström *et al.*, 1998). Un isotype correspond à l'homologue des chaînes κ des mammifères (par exemple L1 chez la truite arc-en-ciel ou chez la morue). Un second isotype ne semble pas apparenté aux chaînes légères des homéothermes : les chaînes

légères L2 de la truite arc-en-ciel sont plus proches des chaînes σ du xénope ou des chaînes de type λ des poissons cartilagineux. Ainsi, les chaînes légères des poissons osseux semblent, comme les chaînes lourdes et au même titre que celles des mammifères, participer à la diversité du répertoire potentiel des immunoglobulines.

4.2. Les récepteurs de l'antigène des cellules T (TCRs)

Les poissons possèdent également des récepteurs spécifiques de l'antigène exprimés par leurs lymphocytes T (TCR, pour T cell receptor). Les gènes des chaînes β du TCR ont été identifiés chez la truite arc-en-ciel, puis ceux des chaînes α (Partula *et al.*, 1995 ; Partula *et al.*, 1996). Les gènes de TCR $\alpha\beta\gamma\delta$ ayant été ensuite trouvés chez un poisson cartilagineux, il apparut que tous les gnathostomes devaient posséder des lymphocytes T $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$ tels qu'on les connaissait chez les mammifères. Les gènes du TCR ont en effet été décrits depuis chez de nombreuses espèces de poissons. Ainsi, la séquence complète des transcrits TCR α et β est maintenant disponible chez la truite arc-en-ciel, le saumon atlantique, le "channel catfish", la morue, la demoiselle bicolor (*Stegastes partitus*), et le cardeau hirme (*Paralichthys olivaceus*). La structure générale du TCR $\alpha\beta$ des poissons n'est pas fondamentalement différente de celle du TCR $\alpha\beta$ de l'homme ou de la souris : il est constitué de deux chaînes comportant chacune deux domaines (V et C), une région transmembranaire et une courte région intracytoplasmique. Comme chez les mammifères, les TCR ne sont pas sécrétés mais exprimés à la surface des lymphocytes T. Des transcrits très similaires aux transcrits des chaînes CD3 γ ou δ et ϵ des mammifères ont été identifiés chez plusieurs espèces de poissons, ce qui suggère que la transmission du signal de liaison à l'antigène passe également par un complexe de protéines transmembranaires de type CD3 associé au TCR.

La diversité potentielle – c'est-à-dire la diversité autorisée par la constitution génomique des locus - des TCR α et β est considérable, sans doute du même ordre que chez l'homme ou la souris (Charlemagne *et al.*, 1998). Par exemple, les segments V β de la truite arc-en-ciel peuvent être classés en 10 familles dont certaines possèdent plusieurs membres (Boudinot *et al.*, 2002). Les jonctions V β D β J β exprimées semblent d'ailleurs extrêmement diverses, enrichies par l'ajout de nucléotides lors de la recombinaison (diversité N). Cette observation est d'ailleurs en accord avec l'expression de la terminal-d-transférase (TdT), l'enzyme qui procède à ces adjonctions de N nucléotides, aux sites de différenciation lymphopoïétique.

Le locus du TCR γ d'un poisson proche parent du fugu, *Tetraodon nigroviridis*, a été étudié en détail. Les locus TCR α et δ sont liés, comme chez les autres vertébrés. Certains TCR de poisson présentent cependant des caractéristiques structurales originales. Ainsi, les chaînes β possèdent les résidus importants pour la constitution de leur structure 3D typique de TCR mais ne présentent pas de résidus cystéines dans la partie charnière du C β , qui chez les autres vertébrés forme un pont disulfure avec la chaîne alpha des TCR. La séquence du domaine C α de truite est assez divergente de celles des C α de mammifères et présente une région charnière très courte. Par ailleurs, la comparaison des séquences des domaines variables de TCR β de la truite arc-en-ciel a révélé que la seconde boucle hypervariable (CDR2, pour *complementary determining region 2*) y est de taille beaucoup plus hétérogène que chez l'homme ou la souris, les variations atteignant 11 acides aminés au lieu de 2 (Boudinot *et al.*, 2002).

5. CMH et présentation de l'antigène

La présence de gènes typiques du complexe majeur d'histocompatibilité de classes I et II constitue un autre aspect important des réponses cellulaires T chez les téléostéens (Flajnik *et al.*, 2003). Ces gènes codent pour des protéines membranaires impliquées dans la compatibilité tissulaire et exprimées à la surface de cellules présentatrices des antigènes. Ces protéines du CMH de classes I et II présentent aux lymphocytes T (respectivement T CD8+ « cytotoxiques » et T CD4+ « auxiliaires ») des peptides issus de la dégradation des protéines antigéniques par les cellules présentatrices. Les protéines du CMH de classes I et II sont extrêmement variables dans les populations de poissons comme chez les mammifères, ce qui constitue une adaptation, à cette échelle, à la diversité des antigènes et des organismes pathogènes. La diversité des CMH explique en partie la variabilité de sensibilité des individus d'une même espèce vis-à-vis des organismes pathogènes et constitue un marqueur privilégié à prendre en compte dans l'étude des mécanismes de résistance aux maladies (Grimholt *et al.*, 2003).

6. Caractéristiques des réponses immunitaires spécifiques chez les poissons, bases de la vaccination

Les caractéristiques globalement conservées des Ig et des TCR des poissons suggèrent que ces récepteurs participent de manière classique à des réponses immunitaires spécifiques des antigènes qu'ils reconnaissent, suivant les mêmes principes que chez l'homme et la souris. Même si les connaissances sur les modalités et les mécanismes de régulation des réponses immunitaires sont plus réduites chez les poissons que chez l'homme ou la souris, il est certain qu'Ig et TCR interviennent effectivement dans l'élaboration de réponses spécifiques de l'antigène.

6.1. Anticorps et réponse humorale

Chez un mammifère, l'injection d'un immunogène est suivie le plus souvent de la synthèse d'IgM sériques, suivie par celle d'IgG (commutation isotypique). Lors d'une seconde injection, un pic d'IgM sensiblement identique au premier est observé, mais le pic d'IgG est à la fois plus précoce et beaucoup plus élevé que lors de la première injection.

Chez les poissons, l'injection d'un immunogène induit également une réponse B qui se manifeste par la production d'anticorps spécifiques de cet immunogène. Des expériences classiques, effectuées avec des antigènes appartenant aux catégories « T dépendants » et « T indépendants » définies chez les vertébrés supérieurs ont fait conclure à l'absence de réponse secondaire. Après réexposition à des immunogènes complexes (bactéries en particulier), une accélération et une amplification de la réponse ont pu être observées, sans commune mesure cependant avec celles qui s'expriment chez les vertébrés supérieurs. De toute façon, elles ne s'accompagnent pas de l'intervention d'une deuxième classe d'immunoglobulines ni d'une augmentation aussi marquée de l'affinité des anticorps. Et lors des réponses secondaires, les mécanismes efficaces de rediversification des gènes d'immunoglobulines constatés dans les centres

germinatifs des mammifères ne sont pas retrouvés chez les poissons, qui ne possèdent pas de telles structures. La diversité des réponses anticorps des vertébrés à sang froid semble donc assez nettement inférieure à celle que l'on peut observer chez l'homme ou la souris (Kaattari *et al.*, 2002).

Cependant, les anticorps de poissons sont tout à fait spécifiques et garantissent une très bonne protection contre certains organismes pathogènes dont ils reconnaissent des antigènes. Par exemple, l'infection de la truite par un virus atténué de la SHV induit chez les poissons traités des taux significatifs d'anticorps neutralisants (IgM). Ces anticorps sont associés à une protection systématique lors d'une épreuve virale et transmettent la protection lorsqu'ils sont administrés à des animaux naïfs (transfert passif ou adoptif). Ils autorisent également le diagnostic sérologique et surtout le dépistage de certaines infections (SHV, NHI, NPI), particulièrement précieux pour les études épidémiologiques (voir GSP, chapitre 2)¹. Par ailleurs, la diversité du répertoire des immunoglobulines est suffisante chez les téléostéens pour garantir des réponses anticorps contre les organismes pathogènes de l'environnement. Ainsi, la faible efficacité de la réponse anticorps vis-à-vis de certains antigènes, observée chez des espèces de poissons comme la morue, n'est pas due à une diversité insuffisante du répertoire des immunoglobulines mais à l'absence de composants essentiels de la coopération entre lymphocytes B et T (CD4, CMH de classe 2). Les technologies de séquençage à haut débit ont été déterminantes pour commencer à comprendre la structure des répertoires d'anticorps des poissons, chez les animaux naïfs ou pendant les réponses (Weinstein *et al.*, 2009 ; Castro *et al.*, 2013 ; Krasnov, 2017).

6.2. TCR et réponse cellulaire

L'existence de réponses cellulaires spécifiques a été d'abord suggérée par des expériences de rejet de greffes. L'identification chez les poissons de molécules de classe I et II typiques et polymorphes, ainsi que l'expression de différentes protéines impliquées dans l'apprêtage des peptides, suggèrent que des peptides sont effectivement présentés aux lymphocytes T. L'étude du répertoire des transcrits TCR β par une méthode de visualisation de la diversité des longueurs de CDR3 a permis de mettre en évidence une vive réponse polyclonale (réponse dite « publique ») contre le virus de la SHV, dont certains clones sont retrouvés chez tous les animaux analysés (Boudinot *et al.*, 2001). L'existence de cellules T cytotoxiques chez les poissons a aussi été démontrée (Utke *et al.*, 2007). L'obtention de nombreuses lignées cellulaires de "channel catfish" a ainsi permis de distinguer des cellules cytotoxiques, qui tuent spécifiquement des cellules autologues qui présentent l'antigène, et des cellules tueuses de type NK (Stuge *et al.*, 2000).

6.3. Réponse spécifique et température, influence d'autres facteurs (photopériode, contexte hormonal)

Les réponses immunitaires sont relativement lentes chez les poissons, au moins pour les espèces d'eau froide. La température constitue clairement un facteur-clé de l'efficacité

¹ De Kinkelin P., Michel C., Morand M., Bernardet J-F., Castric J., Morin T., 2018. Le diagnostic de laboratoire. In : *Gestion de la santé des poissons* (C. Michel coord.), collection Synthèses, éditions Quae, Versailles, 143-205.

des réponses immunitaires des poissons et les basses températures induisent un état d'immunodépression chez de nombreuses espèces. Ce facteur a été particulièrement étudié chez le "channel catfish" (Bly *et al.*, 1997) dont l'élevage enregistre des pertes sévères dues à des infections importantes après des chutes de température. Si la température passe de 23 °C à 11 °C en 24 heures, les réponses *in vitro* des lymphocytes T et B de cette espèce sont fortement altérées pour 3 à 5 semaines. La réponse immunitaire contre des antigènes « T dépendants » est la plus affectée, ce qui suggère que les cellules T pourraient être particulièrement sensibles aux basses températures. Chez la truite arc-en-ciel, des réponses T intenses dirigées contre le virus de la SHV ont pu être identifiées à 16 °C, mais pas à 10 °C. Au contraire, l'induction d'anticorps dirigés contre des rhabdovirus est observée chez la carpe, même à 10 °C, peut-être par des voies non dépendantes des cellules T (Baudouy *et al.*, 1980). Des mécanismes de l'immunité non spécifique sont aussi certainement affectés.

Les modifications de la réponse immunitaire au cours de l'année ne semblent pas déterminées seulement par les variations de température. Il semble bien que, chez différentes espèces de poissons, la production d'anticorps induite par l'immunisation soit supérieure en été. Néanmoins, les femelles immatures et les mâles répondraient mieux que les femelles matures. Ainsi, le contexte hormonal et la photopériode à la date de l'immunisation influencent sans doute la réponse immunitaire, suivant des mécanismes encore peu étudiés.

6.4. Les ovules contiennent-ils des anticorps protecteurs ?

La présence d'immunoglobulines dans le vitellus a été décrite à différentes reprises, à l'aide de réactifs anti-Ig essentiellement. Un transfert de protection par des anticorps spécifiques couplés aux ovules permettrait d'expliquer certaines observations de mortalité réduite dans la descendance de truites vaccinées contre la NHI, en comparaison avec des truites témoins (Oshima *et al.*, 1996). En fait, les études montrant un transfert d'immunité maternelle n'ont pas clairement établi la spécificité de la réponse (par exemple, en testant la protection des alevins contre un pathogène proche mais dont la réactivité antigénique est différente). La protection observée pourrait donc être médiée par des protéines du complément par exemple, qui sont effectivement transférées aux œufs. Le rôle des anticorps dans le transfert de protection de la mère à sa descendance reste très incertain.

7. Ontogénie de la compétence immunitaire chez les poissons

L'âge du poisson et surtout la taille à partir desquels on peut commencer à vacciner avec des chances de succès sont des paramètres essentiels. Si les risques de déclencher une hypersensibilité semblent faibles, celui de provoquer une tolérance en tentant d'immuniser des poissons trop jeunes a été suggéré par plusieurs études. C'est pour les salmonidés vaccinés par bain contre *Vibrio anguillarum* et *Yersinia ruckeri* (Johnson *et al.*, 1982) que l'étude la plus complète a été publiée : il en ressortait que dès le poids de 1 g l'immunité conférée était satisfaisante et durait 120 j, que lorsque les poissons pesaient 2 g à la vaccination ce temps montait à 180 j, pour dépasser un an lorsqu'on

opérait à 4 g. Ceci était valable, à quelques nuances près, pour les 5 espèces du genre *Oncorhynchus* testées. Toujours chez les salmonidés, opérer la vaccination le plus tôt possible était déterminant dans le cas de la NPI. Des alevins de truite arc-en-ciel en fin de résorption, âgés de 3 semaines et d'un poids moyen de 0,12 g, peuvent être « vaccinés » par injection. En revanche, la protection après immersion apparaît plus qu'aléatoire, bien qu'une publication (Scotland *et al.* 1990) fasse état de la possibilité d'« immuniser » par bain dans du virus formolé des alevins d'omble de fontaine, à condition d'observer une fenêtre d'intervention très précise (2 à 3 semaines après éclosion pour un poids de 50 mg). C'est chez le "channel catfish" *Ictalurus punctatus* que les records de précocité ont été établis avec un vaccin « vivant » administré par bain contre *Edwardsiella ictaluri* : une semaine après éclosion (Shoemaker *et al.* 1999), et même *in ovo* puisque des œufs œillés auraient été « vaccinés » avec succès. Le taux de protection atteignait 60 % mais tombait à 27 % après rappel ultérieur et les auteurs attribuaient ce résultat paradoxal à une tolérance. Une analyse plus précise de la spécificité et de la durée de la protection serait nécessaire pour vérifier qu'il s'agit bien d'une vaccination et non d'une stimulation non spécifique assurant une immunité transitoire. En effet, des vaccins génétiques ou vaccins ADN ont aussi été utilisés chez de très jeunes poissons pour induire avec succès une protection, par exemple contre la SHV. En fait, ces observations correspondent à la stimulation des défenses non spécifiques, accompagnée par une protection plus ou moins durable, et n'ont rien à voir avec la véritable vaccination qui établit une mémoire immunitaire spécifique chez l'individu. En réalité, le système immunitaire spécifique (cellules B et T) ne se met en place que bien après l'éclosion (Castro *et al.*, 2015).

8. Conclusions et perspectives : intérêt théorique et pratique de l'étude du système immunitaire des poissons

Les poissons osseux constituent le plus grand groupe connu de vertébrés, qui compte sans doute plus de 25 000 espèces. Ils présentent une diversité étonnante de formes, de couleurs mais aussi de modes de vie et d'adaptations physiologiques. Les capacités d'adaptation de ces vertébrés qualifiés improprement de « primitifs », leur ont en effet permis de coloniser tous les milieux aquatiques dans des conditions extrêmes de température, d'anoxie ou de pression. Certains groupes de poissons osseux peuplent les milieux aquatiques depuis l'ère primaire. Ils constituent donc des modèles très intéressants pour l'étude de l'émergence du système immunitaire des vertébrés. Par ailleurs, la connaissance des organismes pathogènes des poissons d'élevage a conduit à la mise au point de méthodes de lutte préventives, en particulier vaccinales, mais aussi à des stratégies curatives fondées en particulier sur les antibiotiques. Pour autant, les traitements préventifs ou curatifs disponibles contre les organismes pathogènes des poissons sont encore bien insuffisants. Le développement de programmes de vaccination économiquement viables chez les poissons d'élevage est en effet rendu extrêmement difficile par la très faible valeur individuelle des animaux, qu'il faut vacciner très jeunes contre certaines maladies, pour un coût presque nul. L'administration d'antibiotiques aux poissons d'élevage devient de plus en plus sévèrement réglementée. La mise au point de nouvelles stratégies de lutte contre les organismes pathogènes est donc plus que jamais souhaitable, alors que le

développement d'une aquaculture efficace et « soutenable » apparaît de plus en plus nécessaire face à l'épuisement des stocks de poissons sauvages. L'étude des systèmes immunitaires des poissons trouve donc son intérêt dans ces deux aspects : le développement des connaissances sur l'immunité d'espèces « modèles » en biologie, comme le poisson zèbre, et la mise au point de stratégies plus directes et moins empiriques pour lutter contre les organismes pathogènes des espèces d'élevage.

Références

- Baudouy A-M., Danton M., Merle G., 1980. SVCV infection of carp. *Ann. Rech. Vet.*, 11, 245-249.
- Bly J.E., Quiniou S.M., Clem L.W., 1997. Environmental effects on fish immune mechanisms. *Dev. Biol. Stand.*, 90, 33-43.
- Boudinot P., Boubekour S., Benmansour A., 2001. Rhabdovirus infection induces public and private T cell responses in teleost fish. *J. Immunol.*, 167, 6202-6209.
- Boudinot P., Boubekour S., Benmansour A., 2002. Primary structure and complementarity-determining region (CDR) 3 spectratyping of rainbow trout TCR β transcripts identify ten V β families with V β 6 displaying unusual CDR2 and differently spliced forms. *J. Immunol.*, 169, 6244-6252.
- Boudinot P., Langevin C., Secombes C.J., Levraud J-P., 2016. The peculiar characteristics of fish type I interferons. *Viruses*, 8, E298.
- Briolat V., Jouneau L., Carvalho R., Palha N., Langevin C., Herbome P.I., Schwartz O., Spaink H.P., Levraud J-P., Boudinot P., 2014. Contrasted innate responses to two viruses in zebrafish: Insights into the ancestral repertoire of vertebrate IFN-stimulated genes. *J. Immunol.*, 192, 4328-4341.
- Burnet F.M., 1957. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Aust. J. Sci.*, 20, 67-68.
- Castro R., Jouneau L., Pham H.P., Bouchez O., Giudicelli V., Lefranc M., Quillet E., Benmansour A., Cazals F.F., Six A., Fillatreau S., Sunyer O., Boudinot P., 2013. Teleost fish mount complex clonal IgM and IgT responses in spleen upon systemic viral infection. *PLoS Pathogens*, 9 (1), e1003098.
- Castro R., Jouneau L., Tacchi L., Macqueen D.J., Alzaid A., Secombes C.J., Martin S.A., Boudinot P., 2015. Disparate developmental patterns of immune responses to bacterial and viral infections in fish. *Sci. reports.*, 5, 15458-68
- Charlemagne J., Fella J.S., De Guerra A., Kerfourn F., Partula S., 1998. T-cell receptors in ectothermic vertebrates. *Immunol. Rev.*, 166, 87-102.
- Fillatreau S., Six A., Magadan S., Castro R., Sunyer J.O., Boudinot P., 2013. The astonishing diversity of Ig classes and B cell repertoires in teleost fish. *Front. Immunol.*, 4, 28 [en ligne] (consulté 27-2-2019) <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00028>
- Flajnik, M.F., 2002. Comparative analyses of immunoglobulin genes: Surprises and portents. *Nat. Rev. Immunol.*, 2, 688-698.
- Flajnik, M.F., Miller K.P., Du Pasquier L., 2003. Evolution of the immune system. *In : Fundamental Immunology* (W.E. Paul Ed.). Lippincott, Williams & Wilkins, 519-570.

- Grimholt U., Larsen S., Nordmo R., Midtlyng P., Kjoeglum S., Storset A., Saebø S., Stet R.J., 2003. MHC polymorphism and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*): Facing pathogens with single expressed major histocompatibility class I and class II loci. *Immunogenetics*, 55, 210-219.
- Hansen J.D., Landis E.D., Phillips R.B., 2005. Discovery of a unique Ig heavy-chain isotype (IgT) in rainbow trout: Implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A*, 102, 6919-6924.
- Hansen J.D., Zapata A.G., 1998. Lymphocyte development in fish and amphibians. *Immunol. Rev.*, 166, 199-220.
- Hirono I., Nam B.H., Kurobe T., Aoki T., 2000. Molecular cloning, characterization, and expression of TNF cDNA and gene from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Immunol.*, 165, 4423-4427.
- Johnson K.A., Flynn J.K., Amend D.F., 1982. Onset of immunity in salmonid fry vaccinated by direct immersion in *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* bacterins. *J. Fish Dis.*, 5, 197-205.
- Kaattari, S.L., Zhang H.L., Khor I.W., Kaattari I.M., Shapiro D.A., 2002. Affinity maturation in trout: Clonal dominance of high affinity antibodies late in the immune response. *Dev. Comp. Immunol.*, 26, 191-200.
- Kinkelin P. de, Dorson M., 1973. Interferon production in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) experimentally infected with Egtved virus. *J. Gen. Virol.*, 19, 125-127.
- Krasnov A., Jørgensen S.M., Afanasyev S., 2017. Ig-seq: Deep sequencing of the variable region of Atlantic salmon IgM heavy chain transcripts. *Mol. Immunol.*, 88, 99-105.
- Medzhitov R., Janeway C.J., 1997. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.*, 9, 4-9.
- O'Farrell C., Vaghefi N., Cantonnet M., Butea B., Boudinot P., Benmansour A., 2002. Survey of transcript expression in rainbow trout leukocytes reveals a major contribution of interferon-responsive genes in the early response to a rhabdovirus infection. *J. Virol.*, 76, 8040-8049.
- Oshima S., Hata J., Segawa C., Yamashita S., 1996. Mother to fry, successful transfer of immunity against infectious haematopoietic necrosis virus infection in rainbow trout. *J. Gen. Virol.*, 77, 2441-2445.
- Partula, S., Guerra A. de, Fellah J.S., Charlemagne J., 1995. Structure and diversity of the T cell antigen receptor beta-chain in a teleost fish. *J. Immunol.*, 155, 699-706.
- Partula, S., Guerra A. de, Fellah J.S., Charlemagne J., 1996. Structure and diversity of the TCR alpha-chain in a teleost fish. *J. Immunol.*, 157, 207-212.
- Pilström L., Lundqvist M.L., Wermenstam N.E., 1998. The immunoglobulin light chain in poikilothermic vertebrates. *Immunol. Rev.*, 166, 123-132.
- Roach J.C., Glusman G., Rowen L., Kaur A., Purcell M.K., Smith K.D., Hood L.E., Aderem A., 2005. The evolution of vertebrate Toll-like receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. U S A*, 102, 9577-9582.
- Robertsen B., Bergan V., Rokenes T., Larsen R., Albuquerque A., 2003. Atlantic salmon interferon genes: Cloning, sequence analysis, expression, and biological activity. *J. Interferon Cytokine Res.*, 23, 601-612.
- Scotland L.M., Dobos P., Stevenson R.M.W., 1990. Fry age and size effects on immersion immunization of brook trout, *Salvelinus fontinalis* Mitchell, against infectious pancreatic necrosis virus. *J. Fish Dis.*, 13, 113-125.
- Secombes C.J., Wang T., Hong S., Peddie S., Crampe M., Laing K.J., Cunningham C., Zou K.J., 2001. Cytokines and innate immunity of fish. *Dev. Comp. Immunol.*, 25, 713-723.

- Shoemaker C.A., Klesius P.H., Bricker J.M., 1999. Efficacy of a modified live *Edwardsiella ictaluri* vaccine in channel catfish, as young as seven days post hatch. *Aquaculture*, 176, 189-193.
- Stuge T.B., Wilson M.R., Zhou H., Barker K.S., Bengten E., Chinchar G., Miller N.W., Clem L.W. 2000. Development and analysis of various clonal alloantigen-dependent cytotoxic cell lines from channel catfish. *J. Immunol.*, 164, 2971-2977.
- Tonegawa S., 1983. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*, 302, 575-581.
- Utke K., Bergmann S., Lorenzen N., Kollner, B., Ototake M., Fischer U., 2007. Cell-mediated cytotoxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, infected with viral haemorrhagic septicaemia virus. *Fish Shellfish Immunol*, 22, 182–196.
- Weinstein J.A., Jiang N., White R.A. III, Fisher D.S., Quake S.R., 2009. High-throughput sequencing of the zebrafish antibody repertoire. *Science*, 324, 807-810.
- Zou J., Yoshiura Y., Dijkstra J.M., Sakai M., Ototake M., Secombes C., 2004. Identification of an interferon gamma homologue in Fugu, *Takifugu rubripes*. *Fish Shellfish Immunol.*, 17, 403-409

Articles de synthèse utiles à consulter :

- Boudinot P., Benmansour A., 2007. Réponses antivirales des poissons : de l'interféron aux lymphocytes T. *Bull. Acad. Vet. France*, 160, 39-44.
- Langevin C., Aleksejeva E., Passoni G., Palha N., Levraud J-P., Boudinot P., 2013. The antiviral innate immune response in fish: Evolution and conservation of the IFN system. *J. Mol. Biol.*, 425, 4904-4920. [en ligne], doi: 10.1016/j.jmb.2013.09.033 (consulté 6-3-2019).
- Langevin C, Boudinot P., 2016. Real time analysis of viral infection: Contribution of the zebrafish model to visualization and characterization of host/pathogen interactions. *Virologie*, 20, 321-334.
- Levraud, J-P., Boudinot P., 2009. The immune system of teleost fish. *Med. Sci. (Paris)*, 25, 405-411.
- Verrier E.R., Langevin C., Quillet E., Boudinot P., 2013. Genetic analysis of resistance to rhabdovirus infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Virologie*, 17, 426-441.