

Nguyen-Ba-Vy ¹ | **Propriétés d'une souche**
 D. Richard ² | **d'orthopoxvirus isolée des**
 J. P. Gillet ³ | **dromadaires du Niger**

NGUYEN-BA-VY, RICHARD (D.), GILLET (J. P.). Propriétés d'une souche d'orthopoxvirus isolée des dromadaires du Niger. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, 42 (1) : 19-25.

La souche de virus VD₄₇ isolée des dromadaires du Niger possède la morphologie et les propriétés caractéristiques des camelpoxvirus : elle est thermolabile, résistante à l'éther, sensible au chloroforme et à l'IDU. Sa température limite est de 38,5 °C et elle induit la formation de syncytia et de foyers de cellules rétractées avec phénomène d'hémadsorption positif. Ce virus s'est révélé non pathogène pour les souris et très faiblement pour les lapins. Il est neutralisé par du sérum anti-vaccin. La question du pouvoir pathogène pour l'homme des camelpoxvirus et des camelparapoxvirus est débattue par les auteurs. *Mots clés* : Dromadaire - *Camelus dromedarius* - Camelpoxvirus - Poxviridae - Virus - Propriété physico-chimique - Niger.

INTRODUCTION

La variole des dromadaires, contrairement à celle de l'homme, persiste toujours à l'état endémique dans différentes régions de l'Afrique, du Moyen-Orient et de l'Asie (11), là où existent l'élevage et l'utilisation de ces animaux. La symptomatologie de cette maladie était connue depuis longtemps, grâce aux observations de LEESE en 1909 (17), de CROSS en 1917 (5) et de CURASSON en 1942 (6, 7). Le principal agent étiologique, un orthopoxvirus, a été bien identifié (9, 10, 18, 23, 27). La lutte contre la variole du dromadaire n'a donné lieu qu'à de rares actions et les résultats sont aléatoires. Des études approfondies d'ordre immunologique et épidémiologique sont nécessaires.

1. Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, Service de Pathologie Infectieuse, Laboratoire de Virologie, 10 rue Pierre Curie, 94704 Maisons-Alfort Cédex, France.

2. Service d'Alimentation/Nutrition, 10 rue Pierre Curie, 94704 Maisons-Alfort Cédex, France.

Adresse actuelle : Institut Sénégalais de Recherche Agricole, Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires, B.P. 2057, Dakar-Hann, Sénégal.

3. Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, Service Histopathologie et Microscopie Électronique, Ministère de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation des Services Vétérinaires, 22 rue Pierre Curie, B.P. 67, 94703 Maisons-Alfort Cédex, France.

Adresse actuelle : Laboratoire Départemental et Régional de Biologie et d'Hygiène, 36 rue Fred Scamaroni, 14000 Caen, France.

Reçu le 15.03.88, accepté le 23.03.88.

C'est dans le cadre de ces recherches, qu'une étude a été entreprise sur les différentes propriétés des souches de camelpoxvirus.

Dans cet article, sont relatés les premiers résultats obtenus sur une souche isolée à partir de prélèvements effectués sur des dromadaires du Niger.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Origine de la souche VD₄₇

Au cours des enquêtes épidémiologiques sur les maladies des dromadaires du Niger en 1981 (24), plusieurs croûtes ont été prélevées au niveau des lèvres et des naseaux d'animaux malades et conservées, sans aucun additif, dans des tubes hermétiques. Elles ont été gardées dans le laboratoire de l'IEMVT à Maisons-Alfort à -20 °C pendant plusieurs mois, avant d'être traitées pour la recherche du virus. Plusieurs souches de camelpoxvirus ont été isolées, dont l'une d'entre elles, la VD₄₇, a été particulièrement étudiée à cause de la précocité et de l'intensité de son effet cytopathique.

Culture du virus

Les croûtes ont été broyées avec deux volumes de milieu MEM additionné de pénicilline G (4 000 UI/ml), de streptomycine (2 000 µg/ml), de néomycine sulfate (4 000 µg/ml) et d'amphotéricine B (40 µg/ml), puis congelées-décongelées deux fois. La suspension clarifiée et ses dilutions à 1/10 et 1/100 ont été mises en contact pendant deux heures à 36 °C avec des cultures cellulaires puis éliminées par un rinçage avec du milieu d'entretien.

Culture des cellules

Les cellules rénales et testiculaires de foetus ovins sont cultivées avec du milieu MEM/Hanks additionné de 0,6 p. 100 d'hydrolysate de lactalbumine (Difco) et de 10 p. 100 de sérum d'agneau (Flow Lab.). Le milieu d'entretien est dépourvu de sérum.

Nguyen-Ba-Vy, D. Richard, J. P. Gillet

Les cellules de foetus de dromadaires sont multipliées dans un mélange à égal volume du milieu précédent avec du 199 et additionné de 10 p. 100 de sérum de veau inactivé.

Le milieu Stoker enrichi par 10 p. 100 de bouillon tryptose phosphate (Difco) et 3 p. 100 de sérum foetal bovin (SFB) a été utilisé pour la culture des cellules Vero. Un mélange à égal volume du milieu précédent avec du 199 a servi pour la multiplication des cellules IB-RS₂. Leur milieu d'entretien n'a reçu que 0,5 p. 100 de SFB. Les cellules PK₁₅ ont besoin du milieu MEM additionné de 7 p. 100 de SFB pour leur croissance.

Test de caractérisation des poxvirus

Les différents tests de caractérisation ont été effectués selon la procédure décrite par HSIUNG (14) et d'après les techniques préconisées par NAKANO (21).

Titrage du virus et des anticorps

Les cellules ont été cultivées une nuit à l'avance sur des plaques à 96 cupules, qui sont vidées au moment de l'emploi. La suspension virale, après l'homogénéisation à l'ultrason, a été diluée avec du milieu d'entretien selon la progression géométrique de raison 10, puis distribuée à la dose de 0,10 ml par cupule et dans 5 cupules par dilution. L'incubation a été effectuée à 36 °C dans une étuve à CO₂. La DIC₅₀ (dose infectant 50 p. 100 des cultures cellulaires) a été calculée selon la méthode de REED et MUENCH.

Le titrage du virus, selon la méthode des plages (22) ainsi que celle de la séroration des plages pour l'évaluation des anticorps, ont été décrites. Les mélanges virus-antisérums ont été incubés soit à 37 °C pendant deux heures, soit à 37 °C pendant une heure, puis à 4 °C pendant une nuit, avant d'être distribués à la dose de 0,05 ml par cupule de cellules. Les résultats ont été notés aux 3ème et 5ème jours après l'inoculation.

Observation au microscope électronique

La coloration négative et la préparation des coupes ultrafines ont été réalisées selon des méthodes classiques, par le Service d'Histopathologie et de Microscopie électronique du Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires. Le tirage des photographies a été effectué par l'IEMVT.

RÉSULTATS

Multiplication du virus avec effet cytopathique

La culture du virus VD₄₇ a été essayée sur différents types de cellules d'explantation et en lignée continue. Les cellules rénales et testiculaires de foetus de mouton et de dromadaire ont permis des isolements rapides du virus, à partir de broyats des croûtes infectieuses. L'effet cytopathique, décelable dès le 3ème jour d'incubation à 35-36 °C, a gagné toute la nappe cellulaire en 5-6 jours. La multiplication virale a été constatée aussi sur des cellules en lignée continue : BHK₂₁, MA₁₀₄, IB-RS₂, PK₁₅ et Vero. Les trois derniers types se sont révélés les meilleurs pour l'isolement et les titrages de ce virus, à cause de la netteté et de la régularité d'apparition des foyers d'infection.

L'effet cytopathique a été observé sous différentes formes : la première se présente comme des amas de cellules rétractées, dont le cytoplasme finit par s'arrondir proprement autour du noyau nécrosé ou s'étirer en filaments ; la deuxième apparaît sous l'aspect d'une plage lisse qui est un syncytium formé par la fusion progressive d'un grand nombre de cellules atteintes ; la troisième est de type mixte, constituée d'un syncytium bordé de cellules arrondies. Ayant au début un diamètre de 0,1 à 0,3 mm, les plages de cellules multinucléées se sont agrandies jusqu'à 0,5-0,8 mm, avant l'apparition de satellites adjacents. La zone centrale où ont été distingués des amas ou des chapelets de noyaux nécrosés, a fini par se déchirer, puis se rétracter en mottes et en filaments ou se décoller en lambeaux flottant librement dans le milieu liquide.

Ces lésions variées ne sont pas dues à des sous-types différents de virus, car une suspension de VD₄₇, provenant d'un seul clone, les a fait apparaître en diverses proportions, selon les conditions de culture. Des subcultures rapprochées du virus sur des cellules permissives âgées de moins de 24 heures avec une température d'incubation de 35-36 °C, ont produit plus de plages de syncytia que de foyers de cellules arrondies. Ces derniers sont devenus prépondérants lors de l'emploi soit de couches de cellules âgées, soit d'une température d'incubation supérieure à 37 °C, soit d'un inoculum non réactivé ou durant la période d'adaptation du virus à un nouveau type de cellules.

La coloration des cellules infectées à l'hématoxyline-éosine a permis de mettre en évidence des inclusions intracytoplasmiques qui étaient basophiles au stade initial de formation, pour devenir par la suite éosinophiles. Le nombre de noyaux dans les syncytia variait de quelques-uns à une centaine, disposés en amas ou en couronnes.

Propriétés physico-chimiques

Température-limite de multiplication

Lors des essais de culture VD₄₇ à des températures variant de 30 °C à 41 °C, l'apparition des foyers d'infection a été plus précoce et plus nombreuse à 35-36 °C. Sa multiplication, ralentie à 38 °C, a été inhibée à 39 °C. La température-limite, qu'il n'a pas été possible de déterminer avec précision, serait donc 38,5 °C. Aucune lésion cytopathique n'est apparue à 40 °C et 41 °C.

Effet de la chaleur

Le pouvoir cytopathogène d'une suspension virale a été aboli après un chauffage au bain-marie à 56 °C pendant 10 minutes, alors que le lot témoin a gardé son titre de 10^{4,8} DICC₅₀/ml.

Effets des solvants organiques

Le traitement à l'éther à 1/20 n'avait aucun effet sur le titre d'une suspension virale ayant 10^{5,5} DICC₅₀/ml. Un contact avec du chloroforme à 1/20 pendant une nuit à 4 °C a baissé ce titre à 10^{2,8} DICC₅₀/ml.

Effet de 5-iodo-2'déoxyuridine

La multiplication du virus VD₄₇ sur des cellules IB-RS₂ a été inhibée par un analogue structural de la thymidine, la 5-iodo-2'déoxyuridine à 10⁻⁴M, alors que la culture témoin a donné 4 x 10⁶ pfu/ml. La thymidine, à la dose de 80 µg/ml, a neutralisé l'effet de l'IDU.

Observation au microscope électronique

La coloration négative a mis en évidence des particules ayant la morphologie caractéristique des orthopoxvirus. Il n'y avait pas d'image de parapoxvirus identifiable par l'entrecroisement du filament tubulaire superficiel. L'examen des coupes ultrafines des cellules testiculaires ovines infectées, a permis la distinction des virions de 300 x 200 nm environ, en forme de brique ou ovalaire avec une enveloppe externe, une zone intermédiaire et une nucléotide typique (Photos 1, 2, 3).

Propriétés biologiques

Culture sur des oeufs embryonnés

Des oeufs embryonnés de 12 jours, après avoir reçu 0,2 ml d'une même suspension virale, ont été incubés

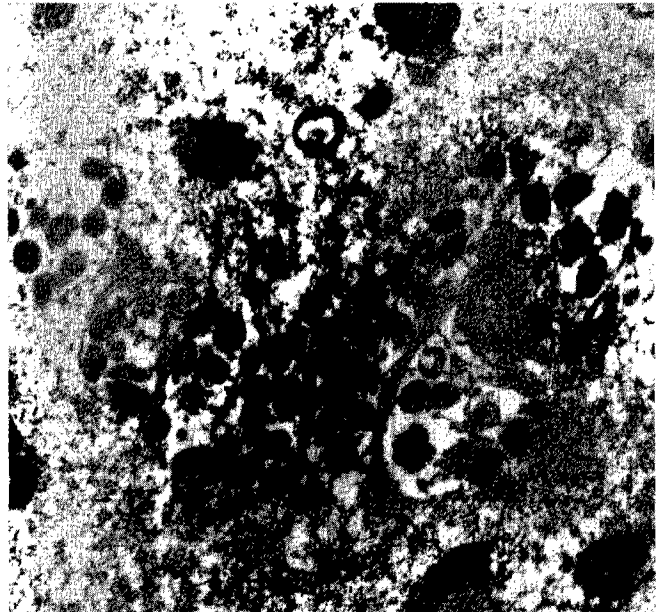


Photo 1 : Coupe de camelpoxvirus VD₄₇ dans le cytoplasme d'une cellule testiculaire ovine.



Photo 2 : Coupe de camelpoxvirus VD₄₇ sur une cellule testiculaire ovine (x 36 000).

à différentes températures. Après 3 jours à 36 °C, il y a formation sur la membrane chorioallantoïdienne, de nombreuses pustules de 0,5-1 mm de diamètre. A 33 °C, leur taille est plus petite, 0,3 mm environ. Elles sont absentes à 39 °C. Aucune tache hémorragique ou nécrotique n'a été constatée à l'oeil nu sur ces pustules. Cependant, un examen à la loupe a révélé

Nguyen-Ba-Vy, D. Richard, J. P. Gillet

une discrète suffusion sanguine sur certaines d'entre elles, à partir des capillaires qui les traversent.

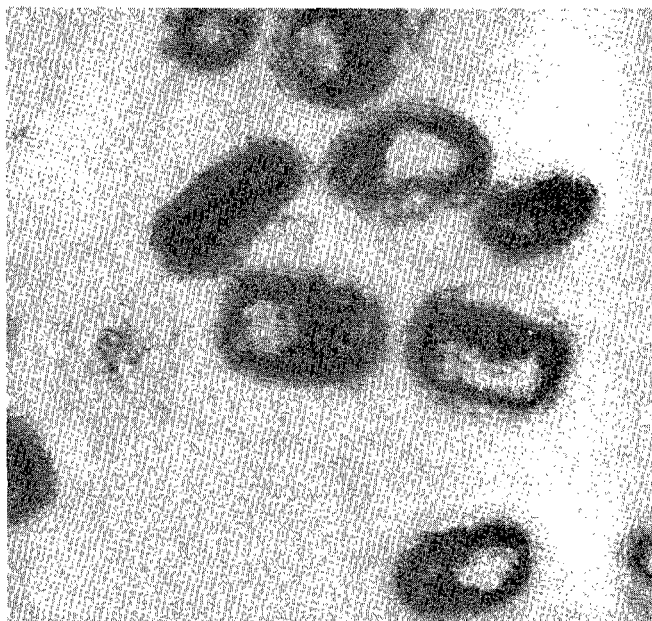


Photo 3 : Coupe de camelpoxvirus VD₄₇ (x 80 000).

Inoculation aux souris

L'inoculation du virus VD₄₇ par la voie intracrânienne à des souriceaux d'un mois (6 par lot), à la dose de 0,02 ml contenant respectivement 10⁵, 10⁴ et 10³ pfu, n'a provoqué aucun effet morbide ou mortel durant 30 jours d'observation.

Inoculation aux lapins

Ce virus n'a fait apparaître aucune lésion sur la peau scarifiée des lapins, mais son inoculation par voie intradermique, 4 x 10⁵ pfu du liquide de culture des cellules infectées, a laissé subsister une maculopapule molle durant 8 jours et cela pendant 15 jours avec le broyat des membranes positives des oeufs. Il n'a pas été observé de formation de pustules, de lésions hémorragiques, d'ulcérations ou de cicatrices.

Propriétés antigéniques

Un sérum prélevé sur un dromadaire guéri d'une infection naturelle a réduit 50 p. 100 des plages de la souche VD₄₇ jusqu'à la dilution 1/64 pour 0,10 ml.

Un sérum de lapin anti-vaccine, contenant 1 000 UI/ml d'anticorps neutralisants, a été utilisé pour la séroration des plages de VD₄₇, sur des cellules IB-RS₂ et

Vero. Cette réaction croisée a donné un titre de 1/1 024 pour 0,10 ml.

DISCUSSION

Cette souche de virus VD₄₇ possède des propriétés caractéristiques du camelpoxvirus. Elle est thermolabile, sensible au chloroforme et à l'IDU, mais résistante à l'éther. Non pathogène aux souris et très faiblement aux lapins, elle est cultivable sur des oeufs embryonnés et des cellules de mouton et de dromadaire. Ces travaux ont permis d'ajouter des cellules MA₁₀₄, PK₁₅ et IB-RS₂ à la liste des lignées continues, sensibles à camelpoxvirus : BHK₂₁, Hela, WISH, BS-C-1, LLC-MK₂, MS, VERO (1, 9, 19, 23). Le phénomène d'hémadsorption est positif sur des foyers de cellules infectées, mais il n'y a pas d'hémagglutinines dans le milieu liquide.

La neutralisation du virus VD₄₇ par le sérum de référence anti-vaccine, a permis de le classer dans le genre d'Orthopoxvirus. Sa température-limite de 38,5 °C le distingue des virus de la vaccine (41 °C) et de la variole bovine (cow-pox, 40 °C) (28). TURNER et BAXBY (30), en étudiant des polypeptides viraux par la méthode d'électrophorèse sur gel SDS-polyacrylamide, ont révélé des différences entre les virus de la vaccine et de la variole des dromadaires. Ce dernier, par la possession de l'antigène Vc, a été exclu du groupe des virus de la variole humaine, par GISPEN et BRAND-SAATHOF (13). Les inoculations expérimentales ont montré que le dromadaire était insensible au virus de la variole humaine (2), tandis que le virus de la vaccine ne produisait aucun symptôme (27) ou parfois des lésions bénignes (8). Ces deux virus ne peuvent donc être tenus comme responsables de la variole des dromadaires.

Le camelpoxvirus est-il pathogène pour l'homme ? Pour apporter une réponse définitive à cette question, il faudra attendre la prochaine décennie, lorsqu'il n'y aura plus d'immunité vaccinale chez l'homme. Il existe en effet, une certaine immunité croisée entre les virus de la vaccine, de la variole humaine et de celle des dromadaires. Une durée de protection de 3 à 9 ans est conférée par le vaccin antivariolique, après la date de suppression de cette vaccination dans le monde. Différentes enquêtes épidémiologiques n'ont apporté, jusqu'à maintenant, aucune preuve virologique irréfutable de la sensibilité de l'homme au camelpoxvirus. KRIG (16) n'a trouvé en Somalie que 3 cas cliniques douteux parmi les 286 personnes qui avaient été en contact avec des animaux malades, alors que les 2/3 d'entre elles n'avaient pas été vaccinées contre la variole. D'autres cas cliniques, rapportés par DAVIES (9) au Kenya, étaient aussi incontrôlables. Il faut se rappeler que l'apparition d'exanthèmes, de

vésicules, de pustules ou de croûtes peut être provoquée par des virus, autres que des poxvirus, sans oublier les causes non infectieuses comme les allergies ou les troubles de métabolisme. Selon KRIG (16), parmi les 468 cas d'éruptions cutanées avec fièvre chez les nomades somaliens, aucun poxvirus n'a été trouvé sur les 59 prélèvements ; en revanche, il y avait des herpèsvirus sur 23 d'entre eux. Selon NAKANO (21), on a identifié des herpèsvirus de la varicelle sur 1 936 personnes, parmi les 6 919 suspects d'être atteints de la variole. Dans les pays chauds, WELLER (31) a constaté que la varicelle avec des lésions maculopapuleuses ou vésiculeuses était plus fréquente chez les adultes que chez les enfants.

Un autre facteur de confusion de diagnostic clinique est dû au virus de l'ecthyma contagieux des Camélidés, dont la symptomatologie est semblable aux formes bénignes de la variole des dromadaires. Des foyers de cette parapoxvirose ont été signalés en Somalie en 1983 (15) et au Kenya en 1986 (20). Cette maladie était connue depuis longtemps, sous l'appellation locale de « auzdik » (mal autour de la bouche), dans la région de Mangistansk (République Kazakh en URSS) (3, 4, 8, 29) et en Mongolie, sous le nom d'« amru ». Elle entraîne d'abord le gonflement des lèvres, puis l'apparition de papules et de pustules sur le pourtour de la bouche, qui évoluent vers la formation de croûtes épaisses, fendillées, très adhérentes. Ces éruptions se trouvent parfois sur les naseaux, les joues, les paupières et aussi sur les pieds, la face interne des cuisses ou dans la région vaginale. En général, la guérison est obtenue dans un délai de 1 à 3 mois. Cette affection est très contagieuse (8) ; les animaux sensibles sont atteints dans un délai de 20-25 jours après contact avec des malades. La morbidité est de 100 p. 100 chez les chameaux de 1 à 4 ans et dans une moindre proportion chez les adultes ou chez les chamelons de 2-3 mois. L'agent étiologique possède une morphologie semblable à celle du virus d'Orf (8, 29), mais il en serait antigéniquement différent : le vaccin anti-ecthyma contagieux des ovins-caprins ne protège que partiellement les chameaux et le vaccin anti-vaccin ne leur confère aucune immunité contre ce camelparapoxvirus (8). Sa pathogénie pour l'homme est encore mal connue, mais à l'instar du virus d'Orf (25), il serait permis d'avoir des présomp-

tions sur son rôle dans l'apparition d'éruptions cutanées et de croûtes sur les mains, les pieds ou les membres de chameliers.

Le problème de l'immunisation des animaux contre la variole des dromadaires n'a pas encore de solutions satisfaisantes. La méthode traditionnelle, consistant à conserver des croûtes desséchées pendant un an avant de les broyer avec du lait pour des inoculations labiales est très risquée et les résultats sont aléatoires. L'usage du virus de la vaccine, c'est-à-dire le vaccin antivariolique humain, confère aux dromadaires une certaine immunité ; mais l'arrêt de son emploi chez l'homme préconisé par l'OMS depuis 1982, doit inciter les vétérinaires à trouver d'autres types de vaccins plus efficaces et moins préjudiciables au programme de l'éradication de la variole humaine. La meilleure solution serait l'obtention d'un vaccin constitué d'une souche atténuée de camelpoxvirus, cultivée sur des cellules en lignée continue.

CONCLUSION

Une souche de camelpoxvirus, VD₄₇, a été isolée des dromadaires du Niger. Il est douteux que ce virus soit pathogène pour l'homme. Par contre, le virus de l'ecthyma contagieux des Camélidés (auzdik) pourrait constituer une zoonose, à l'instar du virus d'Orf des petits ruminants.

La lutte contre la variole des dromadaires passe par la recherche d'un vaccin vivant constitué d'une souche de camelpoxvirus atténuée, cultivée sur des cellules en lignée continue.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements au Docteur Alain CHIPPAUX du Laboratoire National des Actions de Santé à Paris, qui nous a fourni gracieusement du sérum de référence anti-vaccin.

NGUYEN-BA-VY, RICHARD (D.), GILLET (J. P.). Properties of an orthopoxvirus strain isolated from camels in Niger. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, 42 (1) : 19-25.

The VD₄₇ viral strain, isolated from camels (*Camelus dromedarius*) in Niger possesses camelpoxvirus morphology and characteristic properties : heat sensitive, ether resistant, chloroform and IDU sensitive, with ceiling-temperature 38.5 °C. It induces formation of syncytia and retracted cells focus with hemadsorption test positive. No pathogen for mice and very mildly for rabbits, this virus is neutralizable by anti-

NGUYEN-BA-VY, RICHARD (D.), GILLET (J. P.). Propiedades de una cepa de ortopoxvirus aislada de dromedarios del Niger. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1989, 42 (1) : 19-25.

La cepa del virus VD₄₇ aislada de dromedarios de Niger tiene la morfología y las propiedades características de los camelpoxvirus : es sensible al calor, al cloroformo y al IDU pero es resistente al éter. Su temperatura crítica es de 38,5 °C y en cultivo de células produce formación de sincitios y de focos de células con hemadsorción positiva. Este virus no fue patógeno para los ratones y muy poco

vaccine serum. The question of camelpoxvirus and camelparapoxvirus pathogenicity for human is discussed by the authors. *Key words* : Camel - *Camelus dromedarius* - Camelpoxvirus - Poxviridae - Virus - Physico-chemical property - Niger.

patógeno para los conejos. Está neutralizado por un suero anti-vaccina. Los autores discuten del problema del poder patógeno de los camelpoxvirus y camelparapoxvirus para el hombre. *Palabras claves* : Dromedario - *Camelus dromedarius* - Camelpoxvirus - Poxviridae - Virus - Propiedad fisico-química - Niger.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAXBY (D.). Differentiation of small pox and camel poxviruses in culture of human and monkey cells. *J. Hyg., Camb.*, 1974, **72** : 251-254.
2. BAXBY (D.), RAMYAR (H.), HESSAMI (M.), GHABOOSI (B.). Response of camels to intradermal inoculation with small pox and camel poxviruses. *Infect. Immun.*, 1975, **11** : 617-621.
3. BUCHNEV (K. N.), SADYKOV (R. G.), TULEPBAYEV (S. Zh.), ROSLYAKOV (A. A.). Small pox-like disease of camels « Auzdik » (in Russian). *Trudy alma-atin. zootek. Inst.*, 1969, **16** : 36-47.
4. BUCHNEV (K. N.), TULEPBAYEV (S. Zh.), SANSYZBAEV (A. R.). Infectious diseases of camels in the USSR. *Revue scient. tech. Off. int. Épizoot.*, 1987, **6** (2) : 487-495.
5. CROSS (H. E.). The camel and its diseases. London, Baillière, Tindall and Cox ed., 1917.
6. CURASSON (G.). *Traité de pathologie exotique vétérinaire et comparée*. 2ème ed. Paris, Vigot Frères éd., 1942.
7. CURASSON (G.). *Le chameau et ses maladies*. Paris, Vigot Frères éd., 1947.
8. DASHTSEREN (T.), SOLOVYEV (B.), VAREJKA (K.), KHOKHOO (A.). Camels contagious ecthyma (pustular dermatitis). *Acta virol., Prague*, 1984, **28** (2) : 122-127.
9. DAVIES (F. G.), MUNGAI (J. N.), SHAW (T.). Characteristics of Kenyan camel poxvirus. *J. Hyg., Camb.*, 1975, **75** : 381.
10. FALLUJI (M. M.), TANTAWI (H. H.), SHONY (M. O.). Isolation, identification and characterization of camelpoxvirus in Iraq. *J. Hyg., Camb.*, 1979, **83** (2) : 267-272.
11. FASSI-FEHRI (M. M.). Les maladies des Camélidés. *Revue scient. tech. Off. int. Épizoot.*, 1987, **6** (2) : 315-335.
12. FENNER (F.). The biological characters of several strains of vaccinia, cowpox and rabbitpox viruses. *Virology*, 1958, **5** : 502-529.
13. GISPEN (R.), BRAND-SAATHOF (B.). Three specific antigens produced in vaccinia, variola and monkeypox infections. *J. infect. Dis.*, 1974, **129** (3) : 289-295.
14. HSIUNG (G. D.). *Diagnostic virology*. 3rd ed. New Haven and London, Yale University Press, 1982.
15. JEZEK (Z.), KRIZ (B.), ROTHBAVER (V.). Camelpox and its risk to the human population. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun.*, 1983, **27** : 29-42.
16. KRIG (B.). A study of camel pox in Somalia. *J. comp. Path.*, 1982, **92** : 1-8.
17. LEESE (A. S.). Two diseases of young camels. *J. trop. vet. Sci.*, 1909, **4** : 1-7.
18. MARENNIKOVA (S. S.), SHENKMAN (L. S.), SHELUKHINA (E. M.), MALTSEVA (N. N.). Isolation of camelpoxvirus and investigation of its properties. *Acta virol., Prague*, 1974, **18** : 423-428.
19. MIRCHAMSY (H.), AHOURAI (P.). Comparative adaptation of some poxviruses in two cell systems. *Archs Inst. Razi.*, 1971, **23** : 93-105.
20. MUNZ (E.), SCHILLINGER (D.), REIMANN (M.), MAHNEL (H.). Electron microscopical diagnosis of *Ecthyma contagiosum* in camels (*Camelus dromedarius*). First report of the disease in Kenya. *J. vet. Med., B.*, 1986, **33** : 73-77.
21. NAKANO (J. H.). Smallpox, monkeypox, vaccinia and whitepox viruses. In : LENETTE (E. H.), BALOWS (A.), HAUSLER (W. J. jr), TRUANT (J. P.), eds. *Manual of clinical microbiology*. 3rd ed. Washington DC, American Society of Microbiology, 1980. P. 810.
22. NGUYEN-BA-VY, RICHARD (D.). Titration of antibodies against the virus of smallpox in camels by the method of plaque reduction on IB-RS₂ cells. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, **38** (3) : 223-228.
23. RAMYAR (H.), HESSAMI (M.). Isolation, cultivation and characterization of camel poxvirus. *Archs Inst. Razi*, 1972, **24** : 13-21.

24. RICHARD (D.), PLANCHENAU (D.). Projet de développement de l'élevage dans le Niger Centre Est. Production cameline. Rapport de la deuxième mission. Maisons-Alfort, IEMVT, janvier 1982.
25. ROBINSON (A. J.), BALASSU (T. C.). Contagious pustular dermatitis (Orf.). *Vet. Bull.*, 1981, **51** (10) : 771-782.
26. ROSLYAKOV (A. A.). Comparative ultrastructure of camelpoxvirus, a « small-pox-like » disease in camels (« Auzdik ») and sheep contagious ecthyma virus (in Russian). *Vop. Virus.*, 1972, **17** : 26-30.
27. TANTAWI (H. H.). Comparative studies on camel pox, sheep pox and vaccinia viruses. *Acta virol., Prague*, 1974, **18** : 347-351.
28. TRIPATHY (D. N.), HANSON (L. E.), CRANDELL (R. A.). Poxviruses of veterinary importance : diagnosis of infections. III. Vertebrate animal and related viruses. Part A. DNA Viruses. Ch. 6. In : KURSTAK (E.), KURSTAK (C.), eds. Comparative diagnosis of viral diseases. New York, Academic Press, 1981.
29. TULEPBAYEV (S. Zh.). Sensitivity of domestic laboratory animals to the virus of smallpox-like disease of camels (« Auzdik ») (in Russian). *Trudy alma-atin. zootek. Inst.*, 1969, **16** : 41-42.
30. TURNER (A.), BAXBY (D.). Structural polypeptides of orthopoxvirus : their distribution in various members and location within the virion. *J. gen. Virol.*, 1979, **45** : 537-545.
31. WELLER (T. H.). In : EVAN (A. S.), Ed. Viral infections of humans : epidemiology and control. New-York, Plenum, 1976. P. 457.