

Haute pathogénicité pour la souris par voie digestive d'un composant viral du vaccin anti-rabique à virus vivant modifié ERA/BHK

Sur la prophylaxie médicale de la rage en France

par G. BIJLENGA et L. JOUBERT

Le contrôle difficile de la rage sylvatique en France et dans de nombreux pays par la seule prophylaxie sanitaire incite à accorder un large appoint médical par vaccination des animaux domestiques à l'intérieur et à l'importation, des populations humaines à haut risque (vétérinaires, équarisseurs, gardes-chasses), voire des renards eux-mêmes.

Or, la réglementation actuelle ne comporte aucune précision relative aux vaccinations anti-rabiques, tout particulièrement vis-à-vis des carnivores importés et des renards, dont l'immunisation est réclamée cependant avec insistance par les protecteurs de la faune sauvage.

Plusieurs vaccins anti-rabiques à virus vivants modifiés ont été déjà étudiés chez le renard, en particulier la souche ERA par voie parentérale, mais surtout par voie orale (BLACK et LAWSON, 7 ; BAER, ABELSETH et DELBIE, 3 ; MAYR et coll., 14), ainsi que, par la voie intra-musculaire et sous-cutanée, un vaccin inactivé d'origine caprine (SCHMIDT et SIKES, 15).

Il semble digne d'intérêt de rapporter ici la haute pathogénicité pour la souris *per os* d'une population virale sélectionnée dans la souche ERA par la méthode des plages, d'autant que l'infection rabique s'est révélée possible, depuis GALTIER (12), par voie digestive, en particulier chez la souris, le hamster, le cobaye et le lapin (FISCHMAN et WARD III, 11), chez la souris (CORREA et coll., 8, SOAVE, 17), chez le renard (KOVALEV et BEDOV, 13) et chez le skunk (BELL et MOORE, 4). Des conséquences imprévues et éventuellement néfastes pourraient donc suivre la vaccination des animaux domestiques et sauvages par une souche virale

vivante modifiée, en particulier la substitution d'une rage vulpine spectaculaire, à transmission parentérale, par une rage murine, voilée, à transmission digestive, probablement d'implantation définitive et d'éradication impossible.

I. — PRINCIPE

L'isolement et la purification sur cellules Vero (lignée simienne *C. aethiops* ou singe vert) à partir de la souche vaccinale originelle ERA/BHK, par la méthode des plages, d'une population virale différente par ses caractères physiques (ultra-centrifugation) et cultureux (plages différentes) a conduit à l'appréciation de sa pathogénicité beaucoup plus élevée chez la souris, par voie digestive, à diverses dilutions, et à partir de diverses cellules infectées (Vero, BHK₂₁). Par comparaison avec l'inoculation par voie parentérale (sous-cutanée et intra-musculaire) de ces diverses souches ERA et avec la souche de virus fixe de référence CVS, les essais ont été conduits avec et sans DEAE dextran, apte à favoriser l'adsorption virale, donc l'activité pathogène par voie digestive du virus rabique.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

A. — Matériel.

• *Souche rabique vaccinale ERA/BHK*. Le vaccin ERA originel est une souche des rues d'origine canine (Canada, 1935), passée en série par voie intra-cérébrale pendant de nombreuses années sur souris, puis successivement adaptée en cultures cellulaires de hamster, en œuf embryonné et en cultures cellulaires de porc (ABELSETH, 1 ; FENJE, 10). Le vaccin ERA/BHK * en est la dérivée par purification grâce aux plages sur la lignée cellulaire BHK₂₁ 13 S et après multiplication sur BHK₂₁ classique (rein de hamster nouveau-né). Son titre est de 10^{8.7} UFP/ml.

• *Souche rabique d'épreuve de référence standard C.V.S.* Sous-souche du virus fixe de Pasteur, son titre est de 10^{6.7} DL 50/0,03 ml par voie intra-cérébrale chez la souris.

(*) Elle correspond au vaccin modifié WIRAB (Institut Wistar. Philadelphie. U.S.A) et a été remise par le Dr T. J. WIKTOR, du même Institut, dans le cadre du projet des Nations Unies — Programme de développement — Mexique 67/516. Recherches sur la rage paralytique (Dr G. BIJLENGA).

• *DEAE dextran*. Le polycation de diéthylamino-éthyl dextran * a été préparé à partir de dextran de poids moléculaire voisin de 2.10^6 . Sa tolérance par voie digestive chez la souris est considérable, puisqu'aucune toxicité ne s'est manifestée pour 3.000 mcg/ml pendant 3 jours, soit 3 à 6 fois la dose utilisée *per os* dans les essais.

• *Cellules*. Lignées cellulaires Vero, BHK₂₁ classique et BHK₂₁ 13 S.

• *Souris*. Albinos âgées de 3 et 5 semaines.

• *Ultracentrifugeuse*. Beckman L₂ — 65 B avec rotor titanium 65.

B. — Méthode.

Méthode de culture, de purification de souche et de titrage du virus rabique par les plages (SEDWICK et WIKTOR, 16 ; modifiée par BIJLENGA et JOUBERT, 6) avec du milieu de STOKER et Mc PHERSON (18) et du sérum fœtal bovin décomplémenté, et méthode de DULBECCO (9,6).

Méthode d'immunofluorescence directe classique de contrôle de spécificité sur Leitz Ortholux.

III. — RÉSULTATS

Ils comprennent 3 stades :

1. Séparation d'une population virale spéciale ERA/Vero pp dans la souche ERA/BHK.

— Sur cellules Vero, 9 jours après l'inoculation de la souche ERA/BHK, une grande plage, de plus de 10 mm de diamètre, par rapport aux plages classiques de 2 à 4 mm de moyenne, fut isolée, puis repassée sur les mêmes cellules avec obtention d'un titre élevé de 8.10^7 UFP/ml.

Cette souche, purifiée par les plages sur cellules Vero, a été dénommée ERA/Vero pp.

(*) Pharmacia. Uppsala. Suède.

2. *Démonstration de la haute pathogénicité comparative de la souche ERA/Vero pp par voie digestive chez la souris.*

A. — *Souche ERA/Vero pp brute.*

Deux groupes de souris ont été inoculées par voie buccale à la dose de 0,1 ml aux 5 dilutions de 10^0 à 10^{-4} , soit 8.10^6 à 8.10^2 UFP/ml à l'aide d'une pipette de 1 ml, de manière à éviter tout contact de la pipette d'inoculation avec la muqueuse buccale. Le virus en suspension dans du milieu de STOKER et Mc PHERSON, additionné de 2 p. 100 de sérum fœtal de bovin décomplémenté, était, dans le 2^e groupe, additionné en outre de 500 mcg/ml de DEAE dextran (Tableau I).

TABLEAU I

Pathogénicité de la souche ERA/Vero pp brute, par voie digestive, chez la souris, avec ou sans DEAE dextran avec indication des incubations. L'immunofluorescence spécifique s'est toujours montrée positive

Virus	Morts	Sans DEAE dextran	Avec DEAE dextran
	inoculés		
Dil.	UFP		
10^0	8.10^6	5/6 { 3 après 10 j 2 — 11 j	4/6 { 1 après 9 j 3 — 10 j
10^{-1}	8.10^5	1/6 1 — 12 j	5/6 { 1 — 10 j 3 — 11 j 1 — 14 j
10^{-2}	8.10^4	5/6 { 2 — 11 j 2 — 12 j 1 — 15 j	3/6 { 2 — 10 j 1 — 12 j
10^{-3}	8.10^3	2/6 { 1 — 11 j 1 — 18 j	5/6 { 1 — 10 j 2 — 11 j 2 — 12 j
10^{-4}	8.10^2	0/6 —	3/6 { 1 — 12 j 1 — 15 j 1 — 16 j
DL 50		118.320 UFP	10.072 UFP

B. — *Souche ERA/Vero pp centrifugée.*

La souche ERA/Vero pp fut étudiée par ultracentrifugation en milieu de STOKER et Mc PHERSON additionné de 2 p. 100 de

sérum foetal de bovin décomplémenté. Après clarification, le matériel fut soumis pendant 12 h à 59.000 t/m soit 200.000 g environ et la partie supérieure du surnageant inoculée *per os*, parallèlement aux autres essais et par voie intra-cérébrale (Tableau II).

TABLEAU II

*Pathogénicité de la souche ERA/Vero pp après ultracentrifugation
12 h à 59 000 t/m (rotor TI 65 : partie supérieure du surnageant).
Comparaison de l'inoculation par voie digestive
et par voie intra-cérébrale chez la souris*

Virus	Morts inoculés	Voie digestive	Voie intracérébrale
10^0		3/6 3 après 15 j	6/6 { 2 après 9 j 4 — 10 j
10^{-1}		2/5 { 1 — 15 j 1 — 16 j	6/6 { 1 — 10 j 4 — 11 j 1 — 12 j
10^{-2}		—	6/6 { 1 — 11 j 5 — 12 j
10^{-3}		—	6/6 { 3 — 12 j 2 — 13 j 1 — 14 j

L'essai visait à reconnaître la présence du virus isolé dans le surnageant, alors que, généralement, la sédimentation complète ou presque complète, selon les souches, est obtenue, pour le virus rabique, dans ces conditions expérimentales.

C) Souches ERA/BHK, ERA/Vero, ERA/Vero pp.

Pour comparaison générale, 9 lots de souris furent séparément inoculés par voie orale, intramusculaire et sous-cutanée, chaque groupe de 3 lots recevant séparément la même dilution à 10^1 (tableau 3) :

- de la souche originelle ERA/BHK,
- de la souche ERA originelle multipliée sur cellules Vero (ERA/Vero),
- de la souche ERA isolée et purifiée par les plages (ERA/Vero pp).

TABLEAU III

Pathogénicité des souches ERA/BHK, ERA/Vero et ERA/Vero pp par voies digestive, intramusculaire et sous-cutanée chez la souris, à partir de la même dilution virale à 10^{-1} , les titres des souches étant égaux

Essai complémentaire de vérification d'immunité par épreuve chez les survivants, à l'aide de la souche CVS (0,1 ml à 10^{-1} par voie intramusculaire) entraînant, chez des témoins de même âge, 80 p. 100 de mortalité. Protection de 75 à 100 p. 100 par voie intramusculaire, 40 à 80 p. 100, par voie sous-cutanée, nulle par voie orale, qui, pour ces 3 souches, soit entraîne la mort, soit ne confère aucune protection.

Morts inoculés	Voie orale		Voie intramusculaire		Voie sous-cutanée	
	Patho- généicité	Epreuve survivants (protection)	Patho- généicité	Epreuve survivants (protection)	Patho- généicité	Epreuve survivants (protection)
Virus 10^{-1}						
ERA/BHK	2/10	7/8	5/9	0/4	1/10	2/9
ERA/Vero	2/12	8/10	7/10	0/3	2/9	4/7
ERA/Vero pp . .	6/12	5/6	6/10	1/4	1/10	2/9
Témoins épreuve CVS				8/10		

TABLEAU IV

Pathogénicité avec ou sans DEAE dextran de la souche CVS par voie digestive chez la souris nourrie avec une moitié de cerveau de souris infectée, avec indication des incubations. L'immunofluorescence spécifique s'est toujours montrée positive

Virus	Morts infectés	Sans DEAE dextran	Avec DEAE dextran
CVS		2/20 après 7 à 9 jours	8/23 après 6 à 14 jours

La confrontation par ces trois voies d'inoculation visait à séparer les modifications éventuelles apportées à la souche ERA originelle, multipliée sur BHK₂₁, par sa culture sur un autre système cellulaire, Vero, par comparaison avec son composant viral ERA/Vero pp.

En outre, la vérification de l'immunité conférée par ces 3 souches et par ces 3 voies d'infection a consisté dans l'épreuve, chez les survivants, à l'aide de la souche CVS (0,1 ml d'une dilution à 10^{-1} par voie intra-musculaire) entraînant, chez des témoins de même âge, 80 p. 100 de mortalité.

3. Pathogénicité comparative par voie digestive de la souche CVS.

L'infection de la souris par la souche CVS a été obtenue par inoculation cérébrale de 0,03 ml du surnageant de centrifugation, dilué à 1/100 (titre $10^{4.7}$ DL 50/0,03 ml) d'une suspension cérébrale infectée. Les cerveaux ont été collectés chez les souris agoniques, puis congelés à -70°C .

Deux groupes de souris en jeûne ont été infectées grâce à l'absorption orale spontanée de la moitié (0,2 g environ) d'un cerveau de souris infectée : seules ont été retenues les souris ayant consommé la totalité du prélèvement virulent. Le second groupe avait, 12 heures auparavant, reçu dans l'eau de boisson distillée 1.000 mcg/ml de DEAE dextran, qui fut offert *ad libitum* pendant encore les 72 heures consécutives (tableau 4).

L'essai visait à comparer les diverses souches ERA et la souche CVS, également murinisée, mais neurotrope fixe.

IV. — INTERPRÉTATION

De l'ensemble de ces tableaux, il ressort :

1° l'isolement et la purification d'une population de virus rabique (ERA/Vero pp) entrant dans la composition du vaccin ERA/BHK originel et montrant de nouvelles propriétés physiques (difficulté de sédimentation à l'ultracentrifugation et présence de virus dans le surnageant) et culturelles (plage de diamètre 2 à 3 fois plus important) et une pathogénicité très élevée pour la souris à l'inoculation par voie digestive ;

2° la stimulation de cette pathogénicité, très élevée (DL 50 = 118.320 UFP) de la population virale isolée, par voie digestive

chez la souris, par l'absorption orale de DEAE dextran, qui diminue plus de 10 fois la DL 50 (DL 50 = 10.072 UFP) ;

3° la similitude, en revanche, de la pathogénicité parentérale (intra-musculaire et sous-cutanée), chez la souris des 3 souches ERA ainsi confrontées ;

4° la notable pathogénicité *per os* de la souche CVS chez la souris, surtout après sa stimulation par le DEAE dextran, mais près de 1.000 fois inférieure par comparaison avec la souche ERA/Vero pp ;

5° l'irrégularité des prises d'infection rabique par voie digestive chez la souris, dont la sensibilité *per os* ne semble qu'en corrélation grossière avec la dernière dose virale active, bien que l'incubation s'allonge en général à mesure que diminuent les doses ;

6° la stimulation, chez la souris, de la pathogénicité digestive des souches ERA/Vero pp en cultures cellulaires et CVS en suspension tissulaire, évoque un phénomène d'adsorption et d'attachement du virus sur les cellules sensibles et des différences pathogéniques dans la prise de l'infection par voie orale d'une part, parentérale d'autre part (BIJLENGA et van den BOGAARD, 5) ;

7° l'absence de protection antirabique procurée par les 3 souches ERA, chez la souris infectée par la voie orale, qui soit entraîne la mort, soit ne confère aucune protection contre épreuve, à l'inverse de la voie sous-cutanée assez immunogène (40 à 80 p. 100 de protection) et surtout de la voie intra-musculaire, très immunogène (75 à 100 p. 100 de protection) *.

V. — DISCUSSION

La séparation sur système cellulaire différent, au sein de la souche de virus rabique modifié vaccinale ERA/BHK, d'une population virale particulière (mutation ou sélection), à patho-

(*) A signaler, lors du titrage de la souche ERA/Vero pp, une observation de cannibalisme d'un souriceau rabique par sa mère, qui, 2 semaines après, mourut de rage, comme dans les observations de FISCHMAN et WARD III (11), mais avec de nombreux *corps de Negri*. Si l'observation se répétait, on serait en droit de considérer que la transmission par voie orale d'un vaccin modifié, réputé fixe et non négrigène, entraîne la récupération d'une négrigène comparable à celle d'une souche rabique des rues.

généricité digestive élevée pour un rongeur, constitue un argument sérieux en faveur de l'éviction des vaccins antirabiques modifiés, tant chez les animaux domestiques que chez le renard, voire chez l'homme.

1° Vaccins.

Il semble regrettable qu'aucune réglementation ne définisse encore, en France, les performances minimales exigibles et les protocoles de contrôle des vaccins antirabiques disponibles pour la vaccination des animaux, problème cependant majeur et au moins aussi important que celui de la vaccination anti-aphteuse, par exemple. Aussi serait-il opportun que soient adoptées, à titre transitoire, les dispositions relatives aux cultures cellulaires et aux vaccins antirabiques inactivés contenues dans le projet récent de la Pharmacopée Européenne, dans l'attente d'une officialisation définitive de ces textes.

2° Vaccination des animaux domestiques.

L'adoption d'une réglementation sévère devient urgente d'une part devant l'extension chez les animaux domestiques, tant à l'intérieur qu'aux frontières, des vaccinations d'incitation ou d'obligation, dont l'Etat garantit implicitement l'innocuité et l'activité, d'autre part devant le danger potentiel, pour les animaux et pour l'homme, représenté par des carnivores, voire des bovins — et leurs produits — vaccinés par un virus vivant modifié — telles la souche ERA ou des souches semblables —, insuffisamment étudié quant à son excrétion après vaccination et, par surcroît, éventuellement transmissible par voie digestive.

En effet, la protection prolongée, d'au moins 4 ans, que la souche ERA originelle procure chez les bovins, implique une multiplication virale active chez le sujet vacciné, voire une excrétion par divers émonctoires (salive, larmes, peau, urine, fécès, ... ATANASIU et coll., 2), encore imprécisée.

3° Vaccination du renard.

Réclamée par les protecteurs inconditionnels de la faune sauvage, elle s'accorderait théoriquement avec une prophylaxie écologique rationnelle de la rage vulpine. En effet, la limitation contrôlée des populations de renards, mesure de base, en deçà d'un renard pour 250 à 500 ha, par tir, piégeage, intoxication au charnier et au terrier, pourrait, voire devrait être assortie,

sous certaines conditions, de la vaccination d'une partie de la population résiduelle. Ainsi, serait maintenue une densité vulpine immune suffisante pour s'opposer à l'appel biologique de sujets infectés et à l'accroissement des portées de renardes en territoire spécifiquement dépeuplé.

L'entreprise, considérée comme une « dangereuse utopie » (C. M. 29 mars 1973) comporte effectivement soit des difficultés d'application soit des dangers selon le type de vaccins utilisés.

L'utilisation de *vaccins inactivés* pourrait être proposée sous réserve d'un effort financier et d'organisation, grâce à l'élevage, au piégeage ou au déterrage d'un nombre suffisant de renards, puis à leur lâcher après leur marquage par amputation de la queue, par exemple, et à la destruction de tous les sujets à queue entière. Seules, cependant, des préparations de *haute anti-génécité* peuvent immuniser pendant plus d'une année à la suite d'une seule injection et s'inclure ainsi dans une prophylaxie rationnelle.

Les *vaccins modifiés*, en revanche, sont d'une utilisation apparemment plus aisée, mais aveugle, par aérosolisation dans les terriers ou par ingestion de gélules au charnier. En outre et surtout, ils risquent de se révéler dangereux, en particulier la souche vaccinale ici étudiée, qui pourrait déclencher une épidémiologie nouvelle et déconcertante de rage sylvatique :

— chez le renard, par transmission digestive et (ou) parentérale,

— chez les rongeurs surtout, par transmission digestive, avec extension éventuelle au renard, au blaireau, au hérisson et aux petits carnassiers sauvages. L'amorce d'une rage à rongeurs sauvages, dense et dissimulée, demeurerait certes le plus souvent écologiquement localisée en raison de la fixation sur place de leurs colonies, mais elle risquerait de s'étendre aux diverses espèces prédatrices et de constituer artificiellement un réservoir rabique non encore d'observation spontanée.

4° *Prophylaxie écologique de la rage vulpine.*

Il découle logiquement de ces arguments la nécessité d'intensifier et de mieux structurer les directives de prophylaxie écologique de la rage vulpine instituée en France avec :

— des *mesures fondamentales* à l'encontre de la rage sauvage : limitation contrôlée permanente des populations de

renards et vaccination éventuelle, surtout en amont du front enzootique, diminution des proies du renard par respect ou réimplantation de certains superprédateurs (lynx, chat sauvage), et des compétiteurs alimentaires (mammifères, carnassiers et rapaces) de l'espèce et par aménagement des lâchers de gibier, contrôle strict des carnivores errants, surtout du chat-haret, l'action de l'homme visant à reconstituer la pyramide écologique naturelle des chaînes trophiques, dont l'actuel déséquilibre en faveur du renard est responsable d'une rage sylvatique considérée comme une pathobiocénose ;

— des *mesures accessoires* traditionnelles à l'encontre de la rage domestique : abattage ou surveillance des animaux atteints, suspects, contaminés, vaccination d'incitation ou d'obligation, protection vaccinale de l'homme.

CONCLUSIONS

1° L'isolement et la purification par la méthode des plages sur cellules Vero d'une population de virus rabique spéciale (ERA/Vero pp) au sein de la souche vaccinale murinisée ERA/BHK a montré des propriétés physiques (ultracentrifugation), culturelles (grande plage) et biologique (haute pathogénicité *per os* pour la souris) différentes.

2° En dépit de l'irrégularité de la pathogénicité *per os* pour la souris selon les doses de virus, la population virale ERA/Vero pp s'est montrée environ 1.000 fois plus virulente que la souche CVS, l'absorption orale de DEAE dextran stimulant fortement la prise de l'infection digestive.

3° Pour les trois souches ERA (ERA/BHK, ERA/Vero, ERA/Vero pp), la voie orale, chez la souris, soit entraîne la mort, soit ne confère aucune protection à l'épreuve (CVS).

4° Il serait donc opportun, en raison de leurs dangers, d'exclure de la vaccination antirabique des animaux domestiques et du renard les vaccins à virus vivants modifiés et de n'admettre que des vaccins inactivés de haute antigénicité.

5° Une réglementation précise devrait être appliquée en France pour la préparation et le contrôle des vaccins anti-rabiques inac-

tivés, qui, sous certaines conditions, pourraient — voire devraient — être utilisés chez le renard et participer à la prophylaxie écologique de la rage.

*(Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Service de Maladies Contagieuses
69337 Lyon Cedex 01)*

SUMMARY

Oral transmission of rabies virus has been observed by many authors and it seems that strain differences occur independent of their viral quantity. An experimental vaccine strain ERA/BHK (WIRAB) used in foxes by other authors was found to give satisfactory results as far as antibody response and protection is concerned.

In this presentation, the isolation of a plaque from this ERA/BHK vaccine by using another cell system (Vero) and which plaque was subsequently multiplied in Vero cells, showed an extremely high pathogenicity in mice by oral route. The original strain (ERA/BHK) killed also by oral route, but to a lesser degree. In the application of these viruses, all precautions were taken not to provoke lesions during their administration.

The importance of this finding warrants immediate prohibition of the use of this strain ERA/BHK for oral or aerosol vaccination of foxes in control programmes. Its use should not be accepted, because the problem of rabies will be increased and more complicated than diminished, by applying this dangerous method. The authors give full consideration and warnings in respect of the inadequate legislation concerning rabies vaccines in France and other countries which will consider the use of such a vaccine or similar ones.

In relation to this important finding of high oral pathogenicity, also public health aspects concerning the original vaccine strain ERA in primary pig kidney cells are mentioned.

Government authorities who have licensed the vaccine ERA are invited to reconsider their authorization in relation to this finding of high oral pathogenicity, including France, particularly in respect of the importation of vaccinated (by ERA-strain) domestic animals, frozen carcasses and their products for human consumption and other purposes. This equally applies to all other living rabies vaccines not yet examined for possible oral pathogenicity.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABELSETH (M. K.). — Intern. Symp. Rabies. Talloires 1965. Symp. Series immunobiol. Stand. Vol. 1, p. 365-75. Karger Basel NY 1966.
2. ATANASIU (P.), GAMET (A.), TSIANG (H.), DRAGONAS (P.), LEPINE (P.). — *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1970, **271**, D, 2434-2435.
3. BAER (G. M.), ABELSETH (M. K.), DELBIE (J. G.). — *Am. J. Epidem.*, 1971, **93**, 487-490.
4. BELL (J. F.), MOORE (G. J.). — *Am. J. Epidem.*, 1971, **93**, 176-182.
5. BIJLENGA (G.), VAN DEN BOGAARD (A.E.J.M.). — *Arch. f. die ges. Virusforsch.*, 1973, **42**, 96-101.
6. BIJLENGA (G.), JOUBERT (L.). — *Bull. Soc. Sci. Vét. Path. Comp.*, Lyon 1974, **76**, 429-435.
7. BLACK (J. G.), LAWSON (K. F.). — *Canad. J. Comp. Med.*, 1970, **34**, 309-311.
8. CORREA-GIRON (E. P.), ALLEN (R.), SULKIN (S. E.). — *Am. J. Epidem.*, 1970, **91**, 203-215.
9. DULBECCO (R.). — *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 1952, **38**, 747-752.
10. FENJE (P.). — *Canad. J. Microb.*, 1960, **6**, 479-484.
11. FISCHMAN (H. R.), WARD III (F. E.). — *Am. J. Epidem.*, 1968, **88**, 132-138.
12. GALTIER (V. P.). — *Traité des maladies contagieuses et de la police sanitaire des animaux domestiques*. Asselin et Houzeau Ed. Paris 1892 t 2 2^e éd.
13. KOVALEV (N. A.), BEDOV (V. A.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 1971, **75**, 811-817.
14. MAYR (A.), KRAFT (H.), JAEGER (O.), HAACKE (H.). — *Zbl. Vet. Med. B*, 1972, **19**, 615-625.
15. SCHMIDT (R. C.), SIKES (R. K.). — *Am. J. Vet. Res.*, 1968, **29**, 1843-847.
16. SEDWICK (W. D.), WIKTOR (T. J.). — *Virology*, 1967, **1**, 1224-1226.
17. SOAVE (O. A.). — *Am. J. Vet. Res.*, 1966, **27**, 44-46.
18. STOKER (M.) et Mc PHERSON (I.). — *Virology*, 1962, **16**, 147-152 ; *Nature*, 1964, **203**, 1355-1357.