

ISOLEMENT DES VIRUS THOGOTO,
WAD MEDANI, WANOWRIE
ET DE LA FIÈVRE HÉMORRAGIQUE
DE CRIMÉE-CONGO EN IRAN
À PARTIR DE TIQUES D'ANIMAUX DOMESTIQUES

par P. Sureau ⁽¹⁾, J. M. Klein ⁽²⁾, J. Casals ⁽³⁾, J. P. Digoutte ⁽⁴⁾,
J. J. Salaun ⁽⁴⁾, N. Piazak ⁽⁵⁾ et M. A. Calvo ⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Institut Pasteur, Paris, ⁽²⁾ ORSTOM, 93140 Bondy (France),
⁽³⁾ Yale Arbovirus Research Unit, New Haven, Connecticut 06510 (USA),
⁽⁴⁾ Institut Pasteur de Dakar (Sénégal), ⁽⁵⁾ Institut Pasteur d'Iran, Téhéran,
⁽⁶⁾ Institut Pasteur de Côte-d'Ivoire, Abidjan

SUMMARY

ISOLATION OF THOGOTO, WAD MEDANI, WANOWRIE
AND CRIMEAN-CONGO HAEMORRHAGIC FEVER VIRUSES
FROM TICKS OF DOMESTIC ANIMALS IN IRAN

During an entomological and arbovirological survey conducted in 1978 in the north-eastern region of Iran, ticks have been collected from domestic and wild mammals for virus isolation attempts.

The criteria for the identification of these ticks are evaluated and the pertinent literature is reviewed.

The virus identifications performed in the Pasteur Institutes of Téhéran and Dakar as well as in the YARU (New Haven) have confirmed the isolation of two isolates of Thogoto virus and one isolate of Wad Medani virus from *Hyalomma anatolicum* ticks, two isolates of Wanowrie virus from *Hyalomma asiaticum* ticks, and one isolate of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus from engorged larvae of *Alveonatus lahorensis* ticks.

The isolation from all these arboviruses is reported for the first time in Iran.

KEY-WORDS: Thogoto virus, Wad Medani virus, Wanowrie virus, Crimean-Congo haemorrhagic fever virus, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma asiaticum*, *Alveonatus lahorensis*, Iran; Isolates, Epidemiology.

Manuscrit reçu le 21 février 1980, accepté le 31 mars 1980.

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 70 ex 1

Cote : B

Date : 9 MARS 1981

INTRODUCTION

Dans le cadre des recherches épidémiologiques menées par l'Institut Pasteur de l'Iran, une mission de prospection entomo-arbovirologique a été effectuée d'avril à juin 1978, dans les régions de Ferdous et Gonabad, province du Khorassan, à environ 250 km au sud de Meched.

Au cours de cette prospection, des tiques ont été récoltées sur des animaux domestiques et occasionnellement sur des hérissons.

Ces tiques ont été broyées et inoculées aux souriceaux nouveau-nés, en 166 lots, au Service des Arbovirus de l'Institut Pasteur de l'Iran. Les souches isolées ont été déterminées en partie à l'Institut Pasteur de l'Iran et en partie dans les Centres collaborateurs OMS de Référence et de Recherche pour les Arbovirus de l'Université de Yale à New Haven et de l'Institut Pasteur de Dakar.

Des isollements des virus Thogoto, Wad Medani et Wanowrie ont été obtenus à partir de plusieurs lots de tiques *Hyalomma* (*Amblyommidae*). De plus, un isolement du virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHF) a été obtenu à partir d'un lot de larves de *Alveonassus lahorensis* (*Argasidae*).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

TIQUES.

1) *Récoltes.*

Au total, 1 674 tiques ont été récoltées du 23 avril au 2 juin 1978, dans les régions de Ferdous et Gonabad, province du Khorassan, dans un milieu semi-aride et à une altitude de 1 300 m.

Les récoltes ont été effectuées sur les animaux domestiques (chèvres, moutons, bovins et dromadaires) et occasionnellement sur le hérisson *Hemiechinus auritus* (Gmelin, 1770); 186 spécimens ont été conservés dans l'alcool pour les examens morphologiques, 32 femelles gorgées ont été mises en élevage et 1 456 spécimens ont été identifiés à l'état vivant, triés en 166 lots uniformes et placés immédiatement dans l'azote liquide.

Ces tiques se rapportent à 6 espèces : *Hyalomma schulzei*, *H. dromedarii*, *H. anatolicum anatolicum*, *H. asiaticum asiaticum*, *Rhipicephalus turanicus* et *Alveonassus lahorensis*.

a) *H. schulzei* : 317 mâles et 87 femelles (85 lots), récoltés sur 53 dromadaires au pâturage, infestés à 100 % avec une moyenne de 9,2 de ces tiques par dromadaire.

b) *H. dromedarii* : 5 mâles et 7 femelles (2 lots), récoltés sur 53 dromadaires, dont 32 % sont infestés, avec une moyenne de 0,5 de ces tiques par animal.

CCHF = fièvre hémorragique de Crimée-Congo.
NIH = « National Institute of Health ».
v. c. = voie cérébrale.

v. p. = voie péritonéale.
YARU = Centre de Référence et de Recherche pour les Arbovirus de l'Université de Yale (New Haven).

c) *H. a. anatolicum* : 248 mâles, 275 femelles et 27 nymphes (38 lots) récoltés sur 22 bovins, dont 72,7 % sont infestés, avec une moyenne de 25 de ces tiques par animal ; ces bovins portent aussi quelques rares *R. turanicus* (en moyenne 0,5 par animal) et de très rares *H. a. asiaticum* ; dans les villages prospectés, les bovins sont peu nombreux, tout au plus quelques dizaines par village, vivant confinés à l'étable ou dans une cour intérieure des maisons et ne sortant jamais au pâturage ; quelques rares spécimens de *H. a. anatolicum* ont été récoltés sur les moutons (1 lot).

d) *H. a. asiaticum* : 42 mâles et 25 femelles (11 lots), récoltés sur les chèvres et les moutons ; 29,5 % des 139 chèvres examinées sont infestées, avec une moyenne de 0,7 par animal, et de 16,4 % des 164 moutons examinés, avec une moyenne de 0,1 par animal ; *H. a. asiaticum* a été trouvée chez les chèvres, dans la grande majorité des cas sur le ventre, et chez les moutons, sur les organes génitaux, les mamelles, la face interne des cuisses, la face ventrale de la queue et quelquefois au niveau du sternum.

e) *R. turanicus* : 6 mâles et 55 femelles (6 lots), récoltés sur les chèvres et les moutons avec une moyenne de 0,2 par animal, et sur les bovins, avec une moyenne de 0,5 ; dans la grande majorité des cas, *R. turanicus* est trouvée fixée aux oreilles de ces animaux ; par ailleurs, 216 mâles et 102 femelles (22 lots) ont été récoltés sur 7 hérissons, infestés à 100 % avec une moyenne de 48,3 par animal ; outre cette tique, un unique mâle de *H. a. asiaticum* a été trouvé sur ces hérissons.

f) *A. lahorensis* : 44 larves (1 lot), récoltées sur un chevreau, infesté également par quelques *R. turanicus*.

2) Identifications.

H. schulzei, Olenev, 1931. — Décrite dans le nord de l'Iran, l'espèce a été enregistrée, dans différentes régions du pays, comme parasite des dromadaires et quelquefois du bétail ; elle est particulièrement abondante dans le sud-est du pays [2, 3]. Des descriptions ont été données par Delpy [10], Pomerantzev [35], Hoogstraal [20] et Kaiser et Hoogstraal [22].

H. dromedarii, Koch, 1844. — Bien connue en Iran depuis les travaux de Delpy [9], sa description se rapporte en partie à celle de *H. a. asiaticum*. De même, les enregistrements de récoltes sur le bétail et les moutons donnés par Abbassian-Lintzen [2, 3], se rapportent en grande partie à ceux de cette espèce morphologiquement voisine. Les diagnostics se trouvent dans les travaux de Pomerantzev [35], de Hoogstraal [20] et de Kaiser et Hoogstraal [22].

H. a. anatolicum, Koch 1844. — La détermination de deux sous-espèces *anatolicum* et *excavatum* a été établie par Hoogstraal et Kaiser [21] et Kaiser et Hoogstraal [22]. Les enregistrements iraniens de *H. a. excavatum* faits par Abbassian-Lintzen [2] se rapportent probablement tous à *H. a. anatolicum*. L'existence de *H. a. excavatum* en Iran, signalée par Pomerantzev [35], n'a pas été confirmée jusqu'à présent. Mazlum [31] la met en doute, bien qu'il cite des identifications de *H. a. excavatum* en Iran faites par Kaiser. Nos récoltes du Khorassan correspondent à la forme nominale. Plus de 10 % des spécimens sont particulièrement longs et étroits, comme ceux qui ont été signalés par Kaiser et Hoogstraal [22] en Afghanistan.

H. a. asiaticum, Schulze et Schlottke, 1929. — Signalée en Iran par Pervomaisky [34], Pomerantzev [35] et Serdyukova [40], l'espèce est répandue dans tout le pays, sauf dans les régions caspiennes [30, 31]. Elle a été confondue avec *H. dromedarii* dans les travaux de Delpy [9, 11, 12], ainsi que dans les enregistrements donnés par Abbassian-Lintzen [2, 3], sauf exception. Nos récoltes se rapportent à la forme nominale, bien que la taille soit plus réduite que celle indi-

quée par Pomerantzev [35] ; les pulvilles sont un peu plus longues, et le processus dorsal du stigmaté est généralement moins étroit que ceux figurés par cet auteur. Chez 20 spécimens mâles, la longueur totale est de 4,04-5,20 mm (moyenne 4,45 mm) et la longueur scutale, de 3,13-4,41 mm (moyenne 3,56 mm).

R. turanicus, Pomerantzev et Matikashvili, 1940. — Espèce signalée en Iran par Pervomaisky [34], Pomerantzev [35], Morel et Vassiliades [32], et, en ce qui concerne les stades immatures sur les rongeurs, par Filippova et coll. [15], elle ne figure pas dans les listes faunistiques iraniennes d'Abbassian-Lintzen [2, 3], de Maghami [27], de Mazlum [31] et de Rafyi et coll. [36], où elle est sans doute confondue avec la tique des chiens, *R. sanguineus*.

A. lahorensis, Neumann, 1908. — Parasite commun du mouton en Iran, cette tique pique l'homme occasionnellement. Les larves restent fixées durant plusieurs jours sur leurs hôtes. Bien que gorgées, 3 larves de nos récoltes ont été préparées et montées ; la différenciation par rapport aux larves de *A. canestrinii* (Birula, 1895) a été donnée par Sonenshine et coll. [43], et Filippova [14].

MÉTHODES VIROLOGIQUES.

Les lots de tiques, transportés dans de l'azote liquide, ont été conservés à — 70° C jusqu'au moment de leur broyage pour inoculation aux souriceaux nouveau-nés. Les techniques utilisées pour les inoculations et les passages en série, celles pour les titrages de virulence et l'étude du pouvoir pathogène, la préparation des antigènes et des ascites immunes, les réactions sérologiques de fixation du complément et d'hémagglutination, ont été celles du Laboratoire des Arbovirus de l'Institut Pasteur de Dakar [4].

Les identifications des virus isolés ont été faites en partie à l'Institut Pasteur de l'Iran, en fixation du complément, mettant en présence les antigènes préparés avec les souches localement isolées et 21 ascites immunes de groupe, du « National Institute of Health » (NIH) de Bethesda, sélectionnées comme pouvant correspondre à des arbovirus susceptibles d'être rencontrés en Iran : gr. A, gr. Anopheles (Anopheles A, Anopheles B, Turlock), gr. B, gr. Bunyamwera, gr. Bwamba (Bwamba, Mossuril, Nyando), gr. California, gr. Congo (Congo, Nairobi sheep disease, Bhanja), gr. Kemerovo, gr. Palyam (Palyam, Corriparta, Eubenangee), gr. Phlebotomus fever, gr. Quarantfil (Quarantfil, Qalyub, Kaisodi), gr. Simbu, Polyvalent 1 (Tete, Matariya), Polyvalent 3 (Bakau, Koongol, Mapputa), Polyvalent 4 (Thogoto, Uukuniemi, Nyamanini), Polyvalent 5 (Hugues), Polyvalent 7 (Hart Park), Polyvalent 8 (Blue Tongue, Changuinola, Colorado tick fever, epizootic haemorrhagic disease of deer), Polyvalent 10 (Dera Ghazi Khan, Upolu, Wanowrie), Polyvalent 12 (Olifantsvlei, Okola, Tataguine, Witwatersrand), et Polyvalent rage-vaccin-herpès-LCM-Newcastle.

Les souches lyophilisées ont été adressées aux Centres collaborateurs OMS de Référence et de Recherche pour les Arbovirus de l'Institut Pasteur de Dakar et de l'Université de Yale (YARU), où l'étude de ces souches a été complétée et leur identification confirmée.

RÉSULTATS

1) Isolement de deux souches de virus Thogoto à partir de *H. a. anatolicum* de bovins.

De 35 lots de *H. a. anatolicum*, deux souches ont été isolées : l'une Ar.Téh.193-167 d'un lot de 28 mâles, l'autre Ar.Téh.193-174 d'un lot

de 10 femelles, récoltés le 31 mai 1978 près de Bidokht, non loin de Gonabad; elles ont été inoculées aux souriceaux le 19 septembre 1978.

Pour ces deux souches, dès le second passage sur souriceaux infectés par voie cérébrale (v. c.), le temps moyen de survie des souriceaux est de 4 jours et la mortalité de 100 %. Le réisolement des deux souches a été obtenu à partir du broyat d'origine. Au 3^e passage, les deux souches se sont montrées pathogènes pour les souriceaux inoculés par voie péritonéale (v. p.), mais totalement apathogènes pour les souris sevrées, inoculées par v. c. ou v. p. Les deux souches ont un effet cytopathogène pour les cellules Véro et LLCMK2 et pour les cellules de rein de porc PK, mais n'en n'ont pas pour les cellules PS.

Les antigènes préparés pour ces deux souches, à partir de cerveaux de souriceaux infectés du 4^e passage, n'ont pas montré de pouvoir hémagglutinant pour les globules rouges d'oie. Ces antigènes, testés en fixation du complément vis-à-vis des 21 ascites immunes de groupe du NIH n'ont donné de réaction positive qu'avec l'ascite immune Polyvalent 4 : taux 32/4 (dilution ascite/dilution antigène). Cette ascite immune contient des anticorps contre les virus suivants utilisés pour sa préparation : Thogoto, Grand Arbaud et Uukuniemi, et Nyamanini. On pouvait écarter d'emblée le diagnostic de Grand Arbaud et de Nyamanini qui n'infectent que des tiques argasidés parasites d'oiseaux ; le diagnostic restait à faire entre les virus Uukuniemi et Thogoto, connus l'un et l'autre pour infecter des ixodidés parasites du bétail. Les antigènes ont alors été testés avec une ascite immune monovalente spécifique de Thogoto (aimablement fournie par l'Institut Pasteur de Dakar) avec laquelle ils ont donné une réaction positive, confirmant l'identification au virus Thogoto : taux de 16/4 pour Ar.Téh.193-167 et de 64/32 pour Ar.Téh.193-174 (tableau I).

L'étude de ces deux souches a été complétée à l'Institut Pasteur de Dakar. En fixation du complément, les ascites immunes Ar.Téh.193-167 (Dakar 79.0688) et Ar.Téh.193-174 (Dakar 79.0690) ont des taux de 128/4 avec leurs antigènes homologues et de 128/6 avec l'antigène Thogoto de référence ; l'ascite immune Thogoto de référence (Dakar 67.3106) donne un taux de 64/8 avec son antigène homologue et de 64/4 avec les antigènes des deux souches à identifier. En réaction de neutralisation sur souriceaux, les ascites immunes Ar.Téh.193-167 et 193-174 ont des indices respectifs $\geq 3,0$ et $\geq 3,5$ (log 10) avec le virus homologue, et $\geq 4,0$ avec le virus de référence ; l'ascite immune Thogoto de référence a un indice $\geq 4,0$ avec le virus homologue, et des indices $\geq 3,0$ et $\geq 3,5$ respectivement avec les virus Ar.Téh.193-167 et 193-174. Ces réactions croisées dans les deux sens permettent de considérer les virus Ar.Téh.193-167 et 193-174 comme très voisins, sinon identiques au virus Thogoto (tableau I).

2) Isolement d'une souche de virus Wad Medani à partir de *H. a. anatolicum* de bovins.

De 35 lots de *H. a. anatolicum*, une souche, Ar.Téh.193-172, a été isolée d'un lot de 25 femelles récoltées le 31 mai 1978 à Bidokht, et elle a été inoculée aux souriceaux le 30 août 1978.

TABLEAU I. — Virus Thogoto : identification des souches Ar.Téh.193-167 et 193-174.

1) Réaction de fixation du complément (I. P. Iran) (*) :			
	Antigène		
	Ar.Téh.193-167	Ar.Téh.193-174	
Polyvalent 4 (NIH)	32/4		32/4
Thogoto réf. (I. P. Dakar)	16/4		64/32
Ar.Téh.193-167 (I. P. Iran)	16/4		8/8
Ar.Téh.193-174 (I. P. Iran)	16/16		8/16

2) Réaction de fixation du complément (I. P. Dakar) (*) :			
	Antigène		Thogoto
	Ar.Téh.193-167	Ar.Téh.193-174	
Ar.Téh.193-167 (Dakar 79.0688)	128/4		128/6
Ar.Téh.193-174 (Dakar 79.0690)		128/4	128/6
Thogoto (Dakar 67.3106)	64/4	64/4	64/8

3) Réaction de neutralisation (I. P.) Dakar) (**):			
	Virus		Thogoto
	Ar.Téh.193-167	Ar.Téh.193-174	
Ar.Téh.193-167 (Dakar 79.0688)	4,5	5,0	5,5
Ar.Téh.193-174 (Dakar 79.0690)	≥ 3,0	≥ 3,5	≥ 4,0
Thogoto (Dakar 67.3106)	≥ 3,0	≥ 3,5	≥ 4,0

(*) Dilution ascite/dilution antigène.
(**) Indice de neutralisation (log₁₀).

Cette souche donne, dès le 3^e passage sur souriceaux infectés par v. c., une mortalité de 100 % au 3^e jour. Le réisolement à partir du broyat original a été obtenu. Au 3^e passage, la souche se montre pathogène pour les souriceaux infectés par v. p., provoquant l'apparition de paralysies après 7 jours d'incubation et une mortalité de 50 % entre les 8^e et 13^e jours. Par contre, la souche est totalement apathogène pour les souris sevrées infectées par v. c. ou v. p. Cette souche a un effet cytopathogène pour les cellules PS, mais n'en a pas pour les cellules PK, Véro et LLCMK2.

L'antigène préparé à partir de cerveaux de souriceaux infectés du 3^e passage n'a pas montré de pouvoir hémagglutinant pour les globules rouges d'oie. Cet antigène, testé en fixation du complément avec les 21 ascites immunes de groupe (NIH), n'a donné de réaction positive qu'avec l'ascite immune de groupe Kemerovo (taux = 16/4).

Cette ascite immune polyvalente peut réagir avec les virus suivants utilisés pour sa préparation : Kemerovo et Tribec, Chenuda et Wad Medani,

Huacho et Mono Lake. On pouvait écarter d'emblée l'hypothèse de ces deux derniers virus connus seulement chez des argasidés d'oiseaux, de même que Chenuda. Restait à considérer les trois virus infectant des ixodidés : d'une part Kemerovo et Tribec, d'autre part Wad Medani, hypothèse la plus probable.

Ne possédant pas au laboratoire de Téhéran d'ascite immune monospécifique pour ce virus, la suite de l'identification a été faite au laboratoire du YARU. La souche Ar.Téh.193-172 lyophilisée au 5^e passage sur cerveau, a subi un 6^e passage à partir duquel on a préparé un antigène saccharose-acétone Ar.Téh.193-172.C.1159.3-19-79 et un immunosérum de souris Ar.Téh.193-172.MS.3858-3860.5-4-79. Ces réactifs ont été testés en fixation du complément vis-à-vis des réactifs de référence du YARU : antigène Wad Medani WHO Eg.Ar.492.Br.Sa.4-15-71 et ascite immune Wad Medani 1091.8/17-9/16-66 : l'ascite immune Ar.Téh.193-172 a un taux de 16/16 avec l'antigène homologue et de 32/64 avec l'antigène Wad Medani de référence ; l'ascite immune Wad Medani de référence donne un taux de 16/64 avec l'antigène homologue et de 16/16 avec l'antigène Ar.Téh.193-172. Ces réactions croisées dans les deux sens indiquent que la souche Ar.Téh.193-172 est identique au virus Wad Medani.

L'identification de cette souche a été complétée et confirmée au Centre OMS de référence et de Recherche pour les Arbovirus de l'Institut Pasteur de Dakar : en fixation du complément l'ascite immune Ar.Téh.193-172 (Dakar 79-1733) a un taux de 64/8 avec l'antigène homologue et de 32/8 avec l'antigène Wad Medani de référence ; l'ascite immune Wad Medani de référence a un taux de 64/8 avec l'antigène homologue et de 64/8 avec l'antigène Ar.Téh.193-172. En réaction de neutralisation, l'ascite immune Ar.Téh.193-172 a un indice de 2,5 avec le virus homologue et de 2,0 avec le virus Wad Medani de référence ; l'ascite immune Wad Medani de référence a un indice de 1,9 avec le virus homologue contre 1,6 avec le virus Ar.Téh.193-172. Ces réactions, pratiquement croisées, montrent que la souche Ar.Téh.193-172 est « très voisine, sinon identique, au virus Wad Medani » (tableau II).

3) Isolement de deux souches de virus Wanowrie à partir de *H. a. asiaticum* de chèvres.

De 11 lots de *H. a. asiaticum*, deux souches ont été isolées, Ar.Téh.193-4 et Ar.Téh.193-5, de deux lots de 6 mâles récoltés le 28 avril 1978 près de Ferdous, et elles ont été inoculées respectivement les 19 et 29 juin 1978.

Pour les deux souches, à l'isolement, l'incubation a été de 8 à 10 jours, les paralysies apparaissant entre le 9^e et le 11^e jour et la mortalité survient du 11 au 15^e jour. Après 4 passages en série par v. c., l'incubation s'est réduite à 6-7 jours, et la mortalité a atteint 100 % aux 8-10^e jours. Le réisolement a été obtenu pour les deux souches. Les deux souches sont pathogènes pour les souris infectées par v. p. : après 7 jours d'incubation, les paralysies sont observées du 8^e au 12^e jour et une morta-

TABLEAU II. — Virus Wad Medani :
identification de la souche Ar.Téh.193-172.

1) Réaction de fixation du complément (YARU) (*) :		
	Antigène	
	Ar.Téh.193-172 C-1159.4-19-79	Wad Medani WHO Eg.Ar.492.Br.Sa.4-15-71
Ar.Téh.193-172.MS.3858-3860.5-4-79	16/16	32/64
Wad Medani (Im.As.Fl.) 1091.8/17-9/16-66	16/16	16/64

2) Réaction de fixation du complément (I. P. Dakar) (*) :		
	Antigène	
	Ar.Téh.193-172	Wad Medani
Ar.Téh.193-172 (79.1733)	64/8	32/8
Wad Medani (79.1734)	64/8	64/8

3) Réaction de neutralisation (I. P. Dakar) (**) :		
	Virus	
	Ar.Téh.193-172	Wad Medani
Ar.Téh.193-172 (79.1733)	5,6	6,5
Wad Medani (79.1734)	2,5 1,6	2,0 1,9

(*) Dilution ascite ou sérum/dilution antigène.
(**) Indice de neutralisation (\log_{10}).

lité atteignant 100 % survient entre le 9^e et le 13^e jour. Par contre, les deux souches sont totalement apathogènes pour les souris sevrées infectées par v. c. et v. p. Les deux souches ont un effet cytopathogène pour les cellules PS mais n'en ont aucun pour les cellules PK, Véro et LLCMK2.

Les antigènes préparés avec ces deux souches n'ont pas montré de pouvoir hémagglutinant pour les globules rouges d'oie. Une ascite immune préparée contre la souche Ar.Téh.193-5, testée en fixation du complément vis-à-vis de ces deux antigènes, a montré que les deux souches étaient identiques entre elles : taux de 32/16 avec l'antigène Ar.Téh.193-4 et de 32/64 avec l'antigène homologue. Les antigènes des deux souches, testés en fixation du complément avec les 21 ascites immunes de groupe (NIH) n'ont donné de réaction positive qu'avec l'ascite immune Polyvalent 10 : taux de 32/8 avec l'antigène Ar.Téh.193-4 et de 32/4 avec l'antigène Ar.Téh.193-5. Cette ascite immune polyvalente peut réagir avec les virus suivants utilisés pour sa préparation : Dera' Ghazi Khan, Dhori, Upolu et Wanowrie. Écartée d'emblée l'hypothèse de Upolu qui n'a été isolé que d'argasidés d'oiseaux, il restait à considérer les trois autres virus. Il était possible d'écarter Dhori nettement pathogène pour

les souris sevrées infectées par v. c. ou v. p., alors que nos deux souches ne l'étaient pas, et Dera Ghazi Khan peu pathogène pour les souriceaux infectés v. p., alors que nos deux souches l'étaient nettement. Cependant, ne disposant pas au laboratoire de Téhéran d'ascite immune monovalente spécifique du virus Wanowrie, la suite de l'identification a été faite au YARU.

La souche Ar.Téh.193-4, reçue sous forme lyophilisée du 4^e passage sur cerveau, a subi un 5^e passage : ces cerveaux ont servi à préparer un antigène Ar.Téh.193-5.C-1161.22-3-79 et un immunosérum de souris Ar.Téh.193-4.MS.J.1248.4-19-79. Ces réactifs ont été testés en fixation du complément avec les réactifs de référence du YARU : antigène Wanowrie (IG700)WHO.Sa.9-2-66 et ascite immune Wanowrie (IG700)WHO.AF.11-20-67; l'antigène Ar.Téh.193-4.C-1161 a malheureusement un titre très faible et ne réagit que très faiblement avec l'ascite immune de référence Wanowrie (taux de 4/2) ; par contre, l'immunosérum Ar.Téh.193-4.MS.J.1248 réagit très fortement avec l'antigène de référence Wanowrie (taux de 256/128), plus même qu'avec l'antigène homologue (taux de 64/8). Cette réaction croisée « dans un seul sens » permet de considérer que la souche Ar.Téh.193-4 est très proche du virus Wanowrie mais peut-être non identique (tableau III).

TABLEAU III. — Virus Wanowrie :
identification des souches Ar.Téh.193-4 et 193-5.

1) Réaction de fixation du complément (I. P. Iran) (*) :		
	Antigène	
	Ar.Téh.193-4	Ar.Téh.193-5
Ar.Téh.193-5	32/16	32/64
Polyvalent 10 (NIH)	32/8	32/4

2) Réaction de fixation du complément (YARU) (*) :		
	Antigène	
	Ar.Téh.193-4 C-1161.3-22-79	Wanowrie (IG700) WHO.Sa.9-2-66
Ar.Téh.193-4.MS.J-1248.4-19-79	64/8	256-128
Wanowrie (IG700) WHO.AF.11-20-67	4/2	16/64

(*) Dilution ascite ou sérum/dilution antigène.

4) Isolement d'une souche de virus CCHF à partir de larves de *A. lahorensis*.

La souche Ar.Téh.193-3 a été isolée d'un lot de 44 larves gorgées de *A. lahorensis*, récoltées sur un chevreau le 25 avril 1978 dans la région de Ferdous ; elle a été inoculée aux souriceaux le 1er juillet 1978.

A l'isolement, l'incubation a été de 6 jours, les souriceaux étant paralysés aux 8-10^e jours et mourant tous entre le 12^e et le 14^e jour. Au cours des passages en série, l'incubation s'est maintenue à 6 jours, suivie de paralysies au 8^e jour et d'une mortalité de 100 % aux 9-10^e jours. Cette souche est pathogène pour les souriceaux infectés par v. p., mais non pour les souris sevrées infectées par v. c. ou v. p.

L'antigène préparé avec des cerveaux de souriceaux infectés du 2^e passage n'a pas agglutiné les globules rouges d'oie. Cet antigène, testé en fixation du complément vis-à-vis des ascites immunes de groupe du NIH (gr. B, gr. Kemerovo, gr. Quarantil, Polyvalent 4, Polyvalent 5, Polyvalent 10 et Polyvalent Congo) n'a donné de réaction positive qu'avec cette dernière (taux de 32/64). Cette ascite immune de gr. Congo peut réagir aussi avec les virus Nairobi sheep disease et Bhanja. Le diagnostic a pu être précisé avec l'ascite immune monovalente Congo du NIH (taux de 64/64), ainsi qu'avec un immunosérum de cobaye anti- « Congo » du Centre collaborateur OMS de Référence et de Recherche pour les Arbovirus de Moscou (Pr. M. P. Chumakov) (taux de 32/32). Cet antigène a donné, d'autre part, des réactions négatives avec les ascites immunes Bhanja et Dubge (gr. Nairobi sheep disease) du Centre collaborateurs OMS de Référence et de Recherche pour les Arbovirus de Dakar. L'étude de cette souche a été poursuivie à l'Institut Pasteur de Dakar : les tests de fixation du complément ont montré que la souche Ar.Téh.193-3 était proche du virus CCHF avec cependant une certaine différence par rapport à la souche IB10200 : l'ascite immune Ar.Téh.193-4 a un taux de 128/8 avec l'antigène homologue, mais seulement de 16-128 avec l'antigène CCHF de référence ; l'ascite immune de référence Congo (Ib.An.10200) a un taux de 256/128 avec l'antigène homologue et de 128/8 avec l'antigène Ar.Téh.193-3 (tableau IV).

DISCUSSION

Virus Thogoto.

Les deux isolements du virus Thogoto obtenus au cours de ce travail à partir de récoltes de *H. a. anaticum* sur les bovins dans le Khorassan, permettent d'ajouter l'Iran à la répartition géographique actuellement connue pour ce virus (Afrique Centrale, Égypte, Sicile).

Rappelons que le virus Thogoto a été isolé en premier lieu au Kenya par Haig et coll. [17], à partir d'un lot mixte de tiques *Boophilus* et *Rhipicephalus* récoltées sur des bovins dans la forêt de Thogoto près de Nairobi. Au Kenya, ce virus a été retrouvé chez *B. decoloratus*, et au Nigéria, chez *B. decoloratus*, *Amblyomma variegatum* et *H. truncatum* [46] ; en République Centrafricaine et au Cameroun il a été retrouvé chez *B. decoloratus*, *B. annulatus* et *A. variegatum* récoltés sur les bovins [44]. Le virus Thogoto a aussi été isolé en Égypte chez les tiques *H. a. anaticum* récoltées sur les dromadaires [47], et en Sicile, chez *Rhipicephalus bursa* [1, 41].

TABLEAU IV. — Virus CCHF : identification de la souche Ar.Téh.193-3.

1) Réaction de fixation du complément (I. P. Iran) (*) :

	Antigène
	Ar.Téh.193-3
IA Ar.Téh.193-3 (Téhéran)	32/32
IA Polyvalent Congo (NIH)	32/64
IS Congo (OMS, Moscou)	32/32
IA Monovalent Congo (NIH)	64/64
IA Bhanja (OMS, Dakar)	0/0
IA Dugbe (OMS, Dakar)	0/0

2) Réaction de fixation du complément (I. P. Dakar) (*) :

	Antigène	
	Ar.Téh.193-3	CCHF
IA Ar.Téh.193-3 (Dakar)	128/8	16/128
IA Congo Ib. An.10200 (Dakar)	128/8	256-128

(*) Dilution ascite ou sérum/dilution antigène.

IA = ascite immune ; IS = immunsérum.

Virus Wad Medani.

L'isolement d'une souche du virus Wad Medani à partir des tiques *H. a. anatolicum* récoltées sur les bovins au Khorassan permet de compléter nos connaissances sur la répartition géographique de ce virus. Le premier isolement a été obtenu par Taylor et coll. [45] au Soudan, à partir de *Rhipicephalus sanguineus* récolté sur les moutons ; cette identification doit être rapportée à *R. guilhoni*, selon Main et coll. [28]. Au Sénégal, ce virus a été isolé également de *R. guilhoni*, ainsi que de *R. evertsi evertsi* [37, 28]. En Inde, il a été isolé de tiques *Hyalomma* sp. récoltées près de Poona [45], et au Pakistan, d'un lot mixte *H. anatolicum* et *B. microplus* récoltées sur les bovins [5]. Ces derniers auteurs signalent encore des isollements du virus Wad Medani en Malaisie, à Singapour et à la Jamaïque, à partir de tiques de différents genres, *Amblyomma*, *Boophilus*, *Hyalomma*, et *Rhipicephalus*, tous parasites d'animaux domestiques.

A proximité de l'Iran et en particulier du Khorassan, le virus Wad Medani a été isolé en Turkménie, dans les régions de Iolotan et Zakhmet, à partir de *H. a. asiaticum* récoltée sur les moutons et les dromadaires [25, 42] et un peu plus loin, au Tadjikistan, à partir de *H. a. anatolicum* récoltées dans un enclos de pâturage [24].

Virus Wanowrie.

L'isolement de deux souches du virus Wanowrie à partir de *H. a. asiaticum* récoltée sur les chèvres au Khorossan, nous permet d'ajouter

une nouvelle espèce aux *Hyalomma* déjà connues comme hôtes, et un nouveau territoire à la répartition géographique actuellement connue pour ce virus.

Le premier isolement a été obtenu par Dandawate et coll. [8] à Poona (en Inde) à partir de *H. marganitum isaaci* récoltée sur les moutons. Le virus Wanowrie a été isolé également en Égypte chez *H. impellatum* [47] et à Sri Lanka à partir du cerveau d'un enfant décédé [33].

Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo.

L'isolement d'une souche du virus CCHF, à partir des larves de *A. lahorensis*, nous permet d'apporter la preuve de la circulation de ce virus en Iran. Ce fait avait déjà été mis indirectement en évidence par des enquêtes sérologiques [6, 38].

Dans la liste actuelle des tiques associées en Eurasie au virus CCHF, liste qui comprend 17 espèces ou sous-espèces [19], les argasidés ne sont représentés que par *A. persicus* à partir duquel 2 souches virales ont été isolées dans la région de Samarkand (Ouzbékistan) [7]. Ces isolements, à partir d'une espèce liées exclusivement aux oiseaux en principe réfractaires au virus CCHF, sont exceptionnels et demandent une confirmation. D'autres recherches chez les argasidés (*A. persicus*, *Ornithodoros tholozani*, *A. lahorensis*) effectuées en URSS asiatique sont restées négatives [7, 23, 29].

Le premier isolement du virus CCHF chez les tiques en Eurasie a été obtenu de *H. marginatum marginatum* en Crimée [16]. Par la suite, de nombreux isolements ont été obtenus à partir d'espèces appartenant surtout aux genres *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* et *Boophilus* [19]. Suivant les différentes régions enzootiques, les vecteurs principaux se trouvent parmi les espèces prédominantes parasitant les animaux domestiques de pâturage, qui sont les principaux hôtes vertébrés du virus CCHF. Dans les paysages à vastes steppes semi-désertiques, comme ceux de l'Iran et des régions voisines, les vecteurs principaux appartiennent au genre *Hyalomma*. Ces vecteurs sont *H. anatolicum* et *H. asiaticum* en Turkménie [26], *H. anatolicum* au Pakistan [5], *H. anatolicum* et *H. marginatum* en Arménie, et *H. marginatum* en Azerbaïdjan soviétique [29, 39].

Au Khorassan, les espèces prédominantes sont *H. asiaticum* chez les chèvres et les moutons et *H. anatolicum* chez le bétail. Elles y représentent très vraisemblablement les vecteurs principaux du virus CCHF. L'infection naturelle des larves de *A. lahorensis* décelée au cours de ce travail correspond très probablement à une survie virale dans un repas sanguin virémique.

Des recherches ultérieures montreront si cet argasidé, tique à hôtes multiples et parasitant abondamment les jeunes animaux domestiques sujets à la virémie, peut jouer un rôle de réservoir ou de vecteur du virus CCHF.

RÉSUMÉ

Au cours d'une enquête entomologique et arbovirologique réalisée en 1978 dans la région nord-est de l'Iran, des tiques ont été récoltées sur des mammifères domestiques et sauvages.

Les critères d'identification de ces tiques sont évalués et la littérature qui s'y rapporte est passée en revue.

Les identifications de virus pratiquées aux Instituts Pasteur de Téhéran et de Dakar, ainsi qu'au YARU (New Haven), ont confirmé l'isolement de deux souches de virus Thogoto et d'une souche de virus Wad Medani, à partir de *Hyalomma anatolicum*, de deux souches de virus Wanowrie, à partir de *H. asiaticum* et d'une souche du virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, à partir de larves gorgées de *Alveonatus lahorensis*.

Pour tous ces virus, ces isollements sont les premiers à être rapportés en Iran.

MOTS-CLÉS : Virus Thogoto, Virus Wad Medani, Virus Wanowrie, Virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma asiaticum*, *Alveonatus lahorensis*, Iran ; Épidémiologie, Isolement.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALBANESE, M., BRUNO-SMIRAGLIA, C., DI CUONZO, G., LAVIGNINO, A., & SRIHONGSE, S., Isolation of Thogoto virus from *Rhipicephalus bursa* ticks in western Sicily. *Acta virol.*, 1972, **16**, 267.
- [2] ABBASSIAN-LINTZEN, R., A preliminary list of ticks (*Acarina*, *Ixodoidea*) occurring in Iran and their distributional data. *Acarologia*, 1960, **2**, 43-61.
- [3] ABBASSIAN-LINTZEN, R., Records of ticks (*Acarina*, *Ixodidae*) from south-east Iran (Iranian Baluchistan and the Jiroft area). *Acarologia*, 1961, **3**, 546-559.
- [4] BARME, M., BRES, P., HERY, G., & ROBIN, Y., Techniques des Laboratoires des Virus et Arbovirus. Rapport sur le fonctionnement technique de l'Institut Pasteur de Dakar, 1969-1970, 161-203.
- [5] BEGUM, F., WISSEMAN, C. L. & CASALS, J., Tick-borne viruses of West Pakistan. — IV. Viruses similar to or identical with Crimean hemorrhagic fever (Congo-Semunya), Wad Medani and Pak Argas 461 isolated form ticks of the Changa Manga Forest, Lahore District, and of Hunza, Gilgit Agency. *Amer. J. Epidemiol.*, 1970, **92**, 197-202.
- [6] CHUMAKOV, M. P. & SMIRNOVA, S. E., Detection of antibodies to CHF virus in wild and domestic animal blood sera from Iran and Africa. in « Aktual. Probl. Virus Profilakt Zabolev » (Mater. 17, Sess. Inst. Polio. Ensef., Akad. Med. Nauk SSSR, Moscou, Oct. 1972, p. 367-368) (en russe).
- [7] CHUMAKOV, M. P., ZAVODOVA, T. I. & al., Detection of Crimean hemorrhagic fever virus in a few bloodsucking tick species collected in 1973 in Kirgiz SSR and Uzbek SSR. in *Med. Virol. Trud. (Inst. Polio. Virus. Ensef., Akad. Med. Nauk, SSSR)*, 1974, **22**, 35-39 (en russe).

- [8] DANDAWATE, C. N., SHAH, K. V. & D'LIMA, L. V., Wanowrie virus: a new arbovirus isolated from *Hyalomma marginatum isaaci*. *Indian J. med. Res.*, 1970, **58**, 985-989.
- [9] DELPY, L., Notes sur les Ixodidés du genre *Hyalomma* Koch. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1936, **14**, 206-245.
- [10] DELPY, L., Notes sur les Ixodidae du genre *Hyalomma* Koch. — II. *Hyalomma schulzei* Olenev, 1931. *Ann. Parasit. human. comp.*, 1937, **15**, 419-430.
- [11] DELPY, L. P., Révision par les voies expérimentales du genre *Hyalomma* C. L. Koch, 1844, (2e partie). *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1949, **24**, 97-109.
- [12] DELPY, L. P., Essai critique de synonymie du genre *Hyalomma* C. L. Kloch, 1844 depuis Linné, 1758. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 1949, **24**, 464-469.
- [13] FELDMAN-MUHSAM, B., Revision of the genus *Hyalomma*. — I. Description of Koch's types. *Bull. Res. Council. Israel E.*, 1954, **4**, 150-170.
- [14] FILIPPOVA, N. A., Redescription of the lectotype of *Alveonasmus canestrinii* (Birula, 1895). (*Ixodoidea*, *Argasidea*). *Ent. Obozr.*, 1966, **45**, 904-907.
- [15] FILIPPOVA, N. A., NERONOV, V. M. & FARHANG-AZAD, A., Données sur la faune des tiques Ixodidés (*Acarina*, *Ixodidae*) des petits mammifères de l'Iran. *Ent. Obozr., Leningr.*, 1976, **55**, 467-479.
- [16] GROBOV, A. G., On the question of vectors of Crimean hemorrhagic fever. *Med. Parasit. paraz. Bol.*, 1946, **15**, 59-63.
- [17] HAIG, D. A., WOODALL, J. P. & DANSKIN, D., Thogoto virus: a hitherto undescribed agent isolated from ticks in Kenya. *J. gen. Microbiol.*, 1965, **38**, 389-394.
- [18] HOOGSTRAAL, H., Viruses and ticks. in *Viruses and Invertebrates*, (A. J. Gibbs), **18**, (pp. 349-390). North Holland Publ., Amsterdam, 1973.
- [19] HOOGSTRAAL, H., The epidemiology of thick-borne Crimean Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. *J. med. Entomol.*, 1979, **15**, 307-417.
- [20] HOOGSTRAAL, H., African *Ixodoidea*. — I. Ticks of the Sudan. U. S. Navy Washington, 1956.
- [21] HOOGSTRAAL, H. & KAISER, M. N., Observations on egyptian *Hyalomma* ticks (*Ixodoidea*, *Ixodidae*). — 5. Biological notes and differences in identity of *H. anatolicum* and its subspecies *anatolicum* Koch and *excavatum* Koch among russian and other workers. Identity of *H. lusitanicum* Koch., *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 1959, **52**, 243-261.
- [22] KAISER, M. N. & HOOGSTRAAL, H., The *Hyalomma* ticks (*Ixodoidea*, *Ixodidae*), of Afghanistan. *J. Parasit. hum. comp.*, 1963, **49**, 130-139.
- [23] KARAS, F. R., RISALIEV, D. D. & VARGINA, S. G., Crimean hemorrhagic fever foci in the southwestern climatic region of Kirgizia. *Tez. Dokl. Vses. Konf. Prirod. Ochag. Bolez., Chelov, Zhivot (Omsk, mai 1976)*, 1976, **12** (en russe).
- [24] KOSTYUKOV, M. A., BULYCHEV, V. P., DANİYAROV, O. A., PAK, T. P., SKVORTSOVA, T. M., GROMASHEVSKY, V. L. & LVOV, D. K., Isolation of Wad Medani virus from ticks *Hyalomma anatolicum anatolicum* Koch, 1844, in Tadzhikistan. in « *Simp. Ekol. Virus Dushanbe* », (1975, 33-34) (en russe).
- [25] LVOV, D. K., KURBANOV, M. M., NERONOV, V. M., GROMASHEVSKY, V. L., SKVORTSOVA, T. M., GOFMAN, Y. P., KLIMENKO, S. M., BERDYEV, A., KISELEVA, N. V., VATOLIN, V. P. & ARISTOVA, V. A., Isolation of Wad Medani arbovirus from *Hyalomma asiaticum* Sch. et Schl., 1929, ticks in Turkmen SSR. *Med. Parazit. paraz. Bol.*, 1976, **45**, 452-455 (en russe).
- [26] LVOV, D. K., TIMOFEEVA, A. A. & al. (30 auteurs), Results from virological investigation of *Hyalomma p. plumbeum*, *H. anatolicum*, *Rhipicephalus bursa* and *Boophilus calcaratus* ticks collected in a few regions of Armenian SSR. in « *Aktual. Probl. Virus Profilak. Zabol.* » (Mater. 17 Sess. Inst. Polio. Virus. Ensef., 1975, Akad. Med. Nauk SSSR), p. 374.

- [27] MAGHAMI, G., External parasites of livestock in Iran. *Arch. Inst. Razi.* (Téhéran), 1968, 20, 81-83.
- [28] MAIN, A. J., JR., KLOTER, K. O., CAMICAS, J. L., ROBIN, Y., & SAAR, M., Wad Medani and Soldado viruses from ticks (*Ixodoidea*) in West Africa. *J. med. Entomol.*, à paraître.
- [29] MATEVOSYAN, K. Sh., SEMASHKO, I. V., MARUTYAN, E. M., RUBIN, S. G. & CHUMAKOV, M. P., Detection of CHF virus in *Hyalomma plumbeum*, *H. anatolicum*, *Rhipicephalus bursa* and *Boophilus calcaratus* ticks in Armenia. in, *Med. Virol. Trud. (Inst. Polio. Virus. Ensef., Akad. Med. Nauk. SSSR)*, 1974, 22, 169-172 (en russe).
- [30] MAZLUM, Z., *Hyalomma asiaticum asiaticum* Schulze et Schlottke, 1929. Its distribution, hosts, seasonal activity, life cycle and role in transmission of bovine theileriosis in Iran. *Acarologia*, 1968, 10, 437-442.
- [31] MAZLUM, Z., Ticks of domestic animals in Iran. Geographic distribution host relation and seasonal activity. *J. Vet. Fac. Univers.*, (Téhéran), 1971, 27, 1-32 (en persan).
- [32] MOREL, P. C. & VASSILIADES, G., Les *Rhipicephalus* du groupe *sanguineus* : espèces africaines (Acariens, *Ixodidae*). *Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1963, 15, 343-386.
- [33] PAVRI, K. M., ANANDARAJAH, M., HERMON, Y. E., NAYAR, M., WIKRAMSINGHE, M. R., & DANDAWATE, C. N., Isolation of Wanowrie virus from brain of a fatal human case from Sri Lanka. *Indian J. med. Res.*, 1973, 61, 1416-1420.
- [34] PERVOMAISSKY, G. S., On the *Ixodidae* of Iran fauna. *Trud. Voennno Med. Akad. Krasnoi Armii*, 1948, 44, 35-40.
- [35] POMERANTZEV, B. I., Ixodid Ticks. in « Fauna of the USSR ». 4, (p. 224) Moscou, 1950.
- [36] RAFYI, A., NIAK, A. & RAK, H., Bref compte rendu sur les tiques, les maladies transmises par les tiques et le contrôle de ces parasites en Iran. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1974, 81, 1-7.
- [37] ROBIN, Y., Rapport annuel 1977 du Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche des Arbovirus. Institut Pasteur de Dakar, Sénégal, 1977.
- [38] SAIDI, S., CASALS, J. & FAGHIH, M. A., Crimean hemorrhagic fever-Congo (CHF-C) virus antibodies in man and in domestic and small mammals in Iran. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 1975, 24, 353-357.
- [39] SEMASHKO, I. V., CHUMAKOV, M. P., MATEVOSYAN, K. Sh., SAFAROV, R. K. & al., Results from the 1972-1974 works on isolation and investigation of CHF-Congo, Dhori and Bhanja viruses in Azerbaidjan and Armenia. *Tez. Konf. Vop. Med. Virus*, Moscou, 1975, 354-355 (en russe).
- [40] SERDYUKOVA, G. V., Tiques Ixodidés de la faune de l'URSS. Identifications. *Izd. Zool. Inst. Akad. Sci. USSR*, 1956, 64, 1-122.
- [41] SHRIHONGSE, S., ALBANESE, M., & CASALS, J., Characterization of Thogoto virus isolated from ticks (*Rhipicephalus bursa*) in western Sicily, Italy. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1974, 23, 1161-1164.
- [42] SKVORTSOVA, T. M., KURBANOV, M. M., GROMASHEVSKY, V. L., L'VOV, D. K., ARISTOVA, V. A., NERONOV, V. M., & BERDYEV, A., Identification of Wad Medani virus. in « Turkmen SSR. Mater. 9 Simp. Ekol. Virus, Dushanbe », 1975, 45-46 (en russe).
- [43] SONENSHINE, D. E., CLIFFORD, C. M. & KOHLS, G. M., The systematics of the subfamily *Ornithodorinae* (*Acarina*, *Argasidae*). — 3. Identification of the larvae of the eastern hemisphere. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 1966, 59, 92-122.
- [44] SUREAU, P., RAVISSE, P., GERMAIN, M., RICKENBACH, A., CORNET, J. P., FABRE, J., JAN, Ch. & ROBIN, Y., Isolement du virus Thogoto à partir de tiques *Amblyomma* et *Boophilus* en Afrique centrale. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1976, 69, 207-212.

- [45] TAYLOR, R. M., HOOGSTRAAL, H. & HURLBUT, H. S., Isolation of a virus (Wad Medani) from *Rhipicephalus sanguineus* collected in Sudan. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1966, 15, 75.
- [46] WILLIAMS, R. W., CAUSEY, O. R. & KEMP, G. E., Ixodid ticks from domestic livestock in Ibadan, Nigeria, as carriers of viral agents. *J. Med. Entomol.*, 1972, 9, 443-445.
- [47] WILLIAMS, R. E., HOOGSTRAAL, H., CASALS, J., KAISER, M. N. & MOUSSA, M. I., Isolation of Wanowrie, Thogoto and Dhori viruses from *Hyalomma* ticks infecting camels in Egypt. *J. Med. Entomol.*, 1973, 10, 143-146.
-