

UN NOUVEAU VIRUS, PHNOM-PENH BAT VIRUS,
ISOLÉ AU CAMBODGE
CHEZ UNE CHAÙVE-SOURIS FRUGIVORE,
CYNOPTERUS BRACHYOTIS ANGULATUS, MILLER, 1898

par J. J. Salaün, J. M. Klein et G. Hébrard

Institut Pasteur, B. P. 490, Abidjan (Côte-d'Ivoire)
Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, B. P. 1386, Dakar (Sénégal)
Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Tananarive (Madagascar)

SUMMARY

A NEW VIRUS, PHNOM-PENH BAT VIRUS,
ISOLATED IN CAMBODIA FROM A SHORT-NOSED FRUIT BAT,
« *CYNOPTERUS BRACHYOTIS ANGULATUS* » MILLER, 1898

A new virus A 38-69 was very easy to isolate by intra-cerebral inoculation of suckling mice with either salivary glands or brown fat of 8 bats, *Cynopterus brachyotis angulatus*, collected on the banks of the Mekong at Phnom-Penh. There was no virus found in brain or blood. The size of virus particles was under 50 nm as shown by filtration. The virus was sensitive to ether and deoxycholate.

A haemagglutinin was produced at high titer by any of three methods: crude alkaline, fluorocarbene and sucrose-acetone extraction.

The virus is pathogenic for adult mice and has a cytopathogenic effect for chick embryo cells, but not for monkey kidney cells.

Infection of mosquitoes by feeding on infected suckling mice was unsuccessful and no transmission to healthy suckling mice was demonstrated.

However, complement fixation tests indicates that A 38-69 belongs to group B of Arboviruses, but is different from the group B viruses held by the Reference Centers of YARU (Yale Arbovirus Research Unit) and Dakar, and the name of Phnom-Penh bat virus is proposed.

This rare virus was detected only in bats and only bats were found to have the homologous antibodies in the serum.

KEY-WORDS: Phnom-Penh bat virus, Bat, Cambodia, Arbovirus, Flavivirus; Isolation, Mice.

Manuscrit reçu le 25 février 1974, accepté le 3 mai 1974.

Travail de l'Institut Pasteur du Cambodge (Directeur : Y. Goueffon).

O. R. S. I. O. M. | INSTITUTE 1974
Collection de Référence
n° B7346 Ent. Med.

Outre le virus rabique, 25 virus ont été isolés chez des chauves-souris [30] depuis la découverte du virus Rio Bravo en 1954 par Burns au Texas [7, 8] et Johnson en Californie [16]. Les principaux virus isolés sont groupés dans le tableau I.

Les virus Chikungunya [15], de la maladie de la forêt de Kyasanur (KFD) [25, 26], West-Nile [24], des encéphalites japonaise B (JBE) [32], de St Louis (SLE) [1, 31] et du Venezuela (VEE) [13, 27] sont des arbovirus parfois retrouvés chez les chauves-souris. Les virus Catu [10], Guama [10], Nepuyo [9] et de la fièvre jaune [2] l'ont été exceptionnellement.

Quatre autres sont des arbovirus probables ou possibles : Issyk-Kul [19] et Keterah [10] isolés aussi à partir d'argasidés, Japanaut [10] retrouvé en même temps chez des moustiques, Sokuluk [20] isolé à la fois chez des chauves-souris et dans un sang humain.

Tacaribe [14] appartient au groupe du même nom ; apparenté sérologiquement au virus de la chorio-méningite lymphocytaire, il se rattache donc aux Arénavirus.

Deux autres, Entebbe bat salivary gland virus (Simpson, cité par Metselaar [21]) et Mount Elgon bat virus (Metselaar [21]) ont pu infecter expérimentalement *Aedes aegypti*, mais l'infection naturelle des arthropodes n'a jamais été démontrée.

Enfin les virus Dakar bat [6, 11, 29, 33, 34], Gossas [10], Kern Canyon et Lagos bat [5], Montana Myotis leukoencephalitis (MML) [4], Rio Bravo [3, 12] et Yogué [10] n'ont jamais pu faire la preuve de leur identité arbovirale.

Bien plus, grâce à leur morphologie en obus et à leur striation transversale, on a pu rattacher les virus Kern Canyon (Murphy [22]), Lagos bat et Mount Elgon bat (Murphy [23]) aux Rhabdovirus (Knudson [17]). Le virus Lagos bat possède dans sa nucléocapside le même antigène protéinique que le virus rabique et le virus Mokola, et appartient donc au groupe rabique des Rhabdovirus (Shope [28]).

Jusqu'à présent, seuls 6 arbovirus ont été isolés de chauves-souris en Asie :

- au Japon : JBE, par Sulkin en 1963 [32] ;
- en Malaisie : Keterah, en 1966 [10] ;
- aux Indes : KFD, par Pavri et coll. en 1968 [25] et Rajagopalan et coll. en 1969 [26], et West Nile par Paul [24] ;
- en République Kirghize soviétique : Issyk-Kul et Sokuluk, par Lvov et coll. [19, 20].

Le virus A 38-69, différent de tous les virus des Centres de Référence, a été isolé d'un lot de chauves-souris capturées dans un quartier de Phnom-Penh, capitale du Cambodge.

IC = injection intracérébrale.
IP = injection intrapéritonéale.

TABLEAU I. — Primo-isolements des principaux virus isolés
chez les chauves-souris (le virus rabique excepté).

Groupe	Virus	Auteur et réf.	Année	Chauves-souris	Pays
Arénavirus	Tacaribe	Downs [14]	1956	<i>Artibeus</i>	Trinidad
Alphavirus	Chikungunya VEE	Brès [6] Prias-Landinez [10]	1964 1966	<i>Scotophilus</i> <i>Carollia perspicillata</i>	Sénégal Colombie
Flavivirus	JBE KFD WN Sokuluk Phnom-Penh bat Rio Bravo SLE MML Entebbe bat Dakar bat	Sulkin [32] Rajagopalan [26] Paul [24] Lvov [20] Burns ; Johnson [7 ; 8 ; 16] Sulkin [31] Bell [4] Lumsden [18] Brès [6]	1963 1968 1968 1970 1969 1954 1966 1958 1957 1962	<i>Miniopterus-Rhinolophus</i> <i>Rhinolophus rouxi</i> <i>Rousettus leschenaulti</i> <i>Vespertilio pipistrellus</i> <i>Cynopterus brachyotis angulatus</i> <i>Tadarida brasiliensis mexicana</i> id. <i>Myotis lucifugus</i> <i>Tadarida chaerephon limbata</i> <i>Vespertilionides-Scotophilus</i>	Japon Indes Indes Sibérie Cambodge Texas-Californie Texas Montana Ouganda Sénégal
Rhabdovirus	Kern Canyon Lagos bat Mount Elgon bat	Johnson [5] Boulger [21] Metselaar	1956 1956 1964	<i>Myotis yumanensis</i> <i>Eidolon helvum</i> <i>Rhinolophus hildebrandtii eloquens</i>	Californie Nigeria Kenya
Non groupés	Keterah Japanaut Issyk-Kul Gossas Yogue	Marshall [10] Lvov [10] Lvov [19] Brès [10] Robin [10]	1966 1969 1970 1964 1969	<i>Scotophilus temmenckii</i> <i>Syconycteris crassa</i> <i>Nyctalus noctula</i> <i>Tadarida</i> <i>Rousettus aegyptiacus</i>	Malaisie Nouvelle-Guinée Sibérie Sénégal Sénégal

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. — ORIGINE DE LA SOUCHE

Dans le cadre des recherches sur l'épidémiologie des arbovirus, effectuées de 1965 à 1969 à l'Institut Pasteur du Cambodge, 633 chauves-souris ont été capturées et soumises aux prélèvements. Elles provenaient presque toutes de la région de Phnom-Penh, en particulier de Chruï Chang War, Prek Kadam, Prek Prakong et Prek Phnau. *Cynopterus brachyotis angulatus* Miller, 1898, *Pteropus giganteus* Brünnich, 1782, *Taphozous longimanus longimanus* Hardwicke, 1825 et *Scotophilus kuhlii gairdneri* Kloss, 1917, constituaient les principales espèces.

Signalons que, dans la région considérée, *C. b. angulatus* a pour ectoparasites hématophages spécifiques un diptère pupipare, Nyctéribiuidé, *Cyclopodia ferrarii ferrarii* (Rondani, 1878) et une punaise, Cimicidé, *Aphrania vishnou* (Mathur, 1953).

II. — ISOLEMENT ET PASSAGES

Après anesthésie à l'éther et saignée à blanc par ponction cardiaque, on a prélevé les glandes salivaires (essentiellement sous-maxillaires et sublinguales), le cerveau et la graisse brune interscapulaire de chaque animal.

Le sérum non dilué, les glandes salivaires, le cerveau et la graisse brune, après broyage en milieu phosphaté tamponné, albuminé à 0,75 p. 100 ont été inoculés séparément, sans antibiotiques, par injections intracérébrale (IC, 0,02 ml) et intrapéritonéale (IP, 0,03 ml), à des souriceaux de moins de 48 heures de race albinos, Swiss.

Les passages ont été effectués à partir des cerveaux de souriceaux paralysés, broyés et dilués à 10^{-1} et 10^{-2} dans le même milieu, puis inoculés à 2 portées de souriceaux par injection IC (0,02 ml) pour les deux premiers passages et dilués à 10^{-2} et 10^{-3} pour les suivants.

III. — PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

Pour la filtration, on a utilisé les filtres « Metricel Gelman » de 200 nm et millipore de 100 nm et 50 nm de porosité.

Les tests à l'éther et au désoxycholate de sodium ont été conduits selon les techniques de Theiler (1957) et de Sunaga (1960).

Le sérum de lapin dilué au tiers en soluté physiologique stérile, a été utilisé comme support pour la lyophilisation des souches.

IV. — PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

A chaque passage, un contrôle histopathologique, après fixation dans le liquide de Bouin et coloration à l'hématéine-éosine-safran, a permis de suivre l'adaptation de la souche au souriceau par l'accroissement de l'intensité des lésions au fur et à mesure des passages.

Les antigènes aqueux alcalins, au fréon ou au saccharose-acétone, préparés selon la méthode de Porterfield (1960), ont permis d'exécuter les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination selon les techniques de Clarke (1958).

Le pouvoir pathogène expérimental a été recherché chez la souris adulte, le rat et le cobaye par voies IC et IP, et en cultures cellulaires de première explantation (Rein de singe. Fibroblastes de poulet).

Enfin, on a tenté de transmettre expérimentalement le virus Phnom-Penh bat

par *Aedes aegypti*, *Culex pipiens quinquefasciatus* et *Culex tritaeniorhynchus*. Au temps J moins 4, on a inoculé des cerveaux du 8^e passage à 10^{-2} à 6 portées de souriceaux par IC (0,02 ml).

Au temps J₀, on a nourri des moustiques femelles sur les souriceaux paralysés.

Aux temps J₀ (aussitôt après le repas sanguin), J₅, J₁₀ et J₁₅, on a broyé individuellement les moustiques dans 1 ml de solution de Hanks avec antibiotiques et 0,75 p. 100 d'albumine bovine. Après centrifugation à 2 000 tours par minute pendant 20 minutes, on a titré le surnageant par inoculation IC à des souriceaux, sous un volume de 0,02 ml.

De plus à J₅, J₁₀ et J₁₅, on a nourri les moustiques infectés sur des souriceaux sains, endormis au nembutal (0,01 ml d'une solution à 0,65 p. 100 à usage vétérinaire) et emmaillottés dans une épaisseur de gaze. On a ainsi étudié la transmission en observant les animaux pendant 8 jours et en tentant un passage aveugle à la fin de l'observation.

RÉSULTATS

I. — HISTORIQUE DES PASSAGES

La nouvelle souche virale a été isolée chez 8 *Cynopterus b. angulatus*, chauves-souris frugivores, réunies en un seul lot (A 38-69), capturées le 11 juin 1969 dans les greniers des cases sur pilotis, à Chruï Chang War (quartier banlieue de Phnom-Penh, situé sur la presqu'île que forme l'embouchure du Tonlé Sap dans le Mékong).

Les tentatives d'isolement à partir du sérum, du cerveau et des ectoparasites de ces chauves-souris, même après un passage aveugle, ont été infructueuses.

Par contre, on a facilement isolé le virus, que ce soit dans les glandes salivaires ou dans la graisse brune. Chez tous les animaux, la maladie a commencé à se manifester dès le 8^e jour : ils ont présenté des crises épileptiformes avec cyanose et morsure de la langue, la maladie se compliquant le lendemain de paralysies des membres postérieurs. Les souriceaux laissés en observation, sont tous morts le 10^e jour.

Les passages poursuivis parallèlement avec les 2 isoléments A 38 C (glandes salivaires) et A 38 D (graisse brune) ont donné des résultats superposables :

- stabilisation de la période d'incubation à 5 jours dès le 5^e passage ;
- titre très élevé du virus :

a) à l'isolement :

10^{4,3} DL 50/0,02 ml dans les glandes salivaires,
10⁴ DL 50/0,02 ml dans la graisse brune ;

b) dans le cerveau des souriceaux :

supérieur à 10⁹ DL 50/0,02 ml au 3^e passage,
égal à 10^{11,1} DL 50/0,02 ml au 5^e passage ;

c) dans le sang des souriceaux :

supérieur à 10^9 DL 50/0,02 ml au 10^e passage.

Les tentatives de réisolement à partir des glandes salivaires et de la graisse brune ont été toutes deux fructueuses.

II. — PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

Les filtrations avec les filtres de porosité 200 nm et 100 nm n'ont pas entraîné de baisse notable du titre; et avec ceux de 50 nm de porosité, le titre s'est encore élevé au-dessus de 10^8 DL50/0,02 ml.

Les épreuves de sensibilité à l'éther et au désoxycholate ont montré respectivement des différences de 4 et 5 logarithmes avec l'épreuve témoin.

Après la lyophilisation, facile à réaliser, on n'a pas noté de baisse du titre.

III. — PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

Les lésions histopathologiques, d'abord discrètes et non spécifiques, puis plus marquées au fur et à mesure des passages, sont devenues évocatrices avec présence d'une nécrose massive dès le 5^e passage. Elle était beaucoup plus intense au niveau du cortex cérébral que dans les cornes d'Ammon. En outre, on a remarqué au niveau des poumons une alvéolite hémorragique et une pneumonie réticulée hypertrophique. Au niveau des reins, du foie et de la rate, on a observé des lésions congestives, hémorragiques et inflammatoires histiolympocytaires, relativement discrètes.

Dès le 4^e passage, on a facilement obtenu un antigène hémagglutinant aqueux alcalin, en fréon ou en saccharose-acétone, avec ou sans protamine, à 22° C, au pH optimal de 5,7 et avec un titre au $1/5$ 120^e , quelle que soit la méthode utilisée.

Chez les souris adultes, la souche a été pathogène régulièrement par IC et très irrégulièrement par IP.

Les cobayes, inoculés avec 0,15 ml à 10^{-2} par IC et 0,25 ml par IP sont morts au 26^e et au 40^e jours après l'inoculation, sans qu'on ait pu retrouver le virus.

Les rats inoculés par IC (0,1 ml) et IP (0,25 ml) n'ont jamais été malades.

En cultures cellulaires de rein de singe, aucune lésion n'a été décelée même après un passage aveugle; par contre, la souche s'est facilement adaptée aux fibroblastes de poulet avec un effet cytopathogène apparaissant au 6^e jour de l'incubation.

Les essais d'infection de *Aedes aegypti*, de *Culex pipiens quinquefasciatus* et de *Culex tritaeniorhynchus*, et les tentatives de transmission par ces mêmes moustiques ont toutes été infructueuses, bien que le titre du virus chez ces moustiques aussitôt après le repas infectant, se soit élevé à 10^8 DL50/0,02 ml.

IV. — IDENTIFICATION

En typage de groupe, seul le sérum polyvalent anti-groupe B des arbovirus a inhibé l'hémagglutination à un taux de 1/640^e et en fixation du complément, le virus a réagi avec ce sérum à un titre de 1/4.

Au sein du groupe B, l'identification a été menée successivement par le Docteur J. Casals au Centre International (« Yale Arbovirus Research Unit » ou YARU) et par le Docteur Y. Robin au Centre Régional de Référence (Institut Pasteur de Dakar).

Au YARU, l'identification en fixation du complément a été réalisée avec des immunsérums préparés sur souris (2 injections, et saignée une semaine après). Le titre homologue du virus Phnom-Penh bat a été de 1/256. Contre les virus suivants du groupe B, le sérum anti-A 38-69 a donné les titres de :

- 1/64 avec Alfuy, Banzi, Ilheus, MVE, SLE, Tembusu et West Nile ;
- 1/32 avec Apoi, Cowbone Ridge, Edge Hill, Israel turkey meningoencephalitis, JBE, Kadam, Langat, Ntaya, Powassan, RSSE, Tyuleniy, Usutu, Wesselsbron et Zika ;
- 1/16 avec Rio Bravo, Bussuquara, Central European tick-borne, Dakar bat, dengue type 3, KFD, Kunjin, Looping ill, MML, Negishi, Spondweni et fièvre jaune ;
- 1/8 avec dengue type 4, Entebbe bat, IbAn 10 069, Modoc et Omsk haemorrhagic fever ;
- au-dessous de 1/8 avec les virus de la dengue des types 1 et 2, Kokobera et Stratford.

On a alors pratiqué une réaction croisée en fixation du complément avec les virus qui ont donné une réaction positive au 1/64^e (tableau II).

TABLEAU II. — Identification de Phnom-Penh bat par réaction croisée de fixation du complément.

Antigènes	Immunsérums								
	A 38-69	Fièvre jaune	Banzi	West Nile	Alfuy	Tembusu	Ilheus	MVE	SLE
A 38-69	512/128	0/0	0/0	8/8	8/8	0/0	0/0	0/0	16/8
Fièvre jaune	32/64	64/256+							
Banzi	32/64		64/256+						
West Nile	64/128			256+/256+					
Alfuy	128/32				256/128				
Tembusu	32/128					64/256			
Ilheus	128/256						256/256+		
MVE	64/256+							256+/256+	
SLE	128/128								256+/256+

(Inverse du titre sérum/Inverse du titre antigène.)

A Dakar, en fixation du complément, A 38-69 a réagi au 1/16^e avec le sérum homologue et a donné des résultats négatifs avec les virus suivants du groupe B :

Ntaya, Dak Ar B 209 (Bagaza), Wesselsbron, Dak Ar Y 310, Usutu, Dak Ar Y 276, West Nile, Dak An D 5443 (Koutango), Dakar bat, Uganda S, Dak An D 4600 (Saboya), Banzi, Dak Ar B 490 (Bouboui), fièvre jaune, Zika, Spondweni, Bukalasa bat, Ar T 285 (Royal Farm), Kadam et Dak H D 10 674 (dengue type 2).

Le virus Phnom-Penh bat appartient donc sérologiquement aux Flavivirus, c'est-à-dire au groupe B des arbovirus, ce que ne contredisent pas ses propriétés physico-chimiques, mais il est différent de toutes les souches du groupe B répertoriées au YARU et à Dakar.

DISCUSSION

Ce virus est donc un nouveau prototype. Il a été facile à isoler et à adapter au souriceau chez lequel il atteint un titre particulièrement élevé. Ses caractéristiques sont très franches et cependant, comme beaucoup de virus isolés chez les chauves-souris, Phnom-Penh bat n'a pas donné la preuve formelle de sa nature arbovirale. Toutes les tentatives de transmission ou d'infection de moustiques ont abouti à des échecs. Mais nous n'avons pas poursuivi l'expérimentation au-delà du 15^e jour, en raison du faible nombre de moustiques utilisés. Or, Metselaar [21] n'a détecté Mount Elgon bat chez les moustiques contaminés par repas sanguin qu'après une éclipse de 22 jours, alors que le virus s'est manifesté dès le 6^e jour après l'inoculation intra-thoracique des moustiques. Et des expérimentations plus prolongées ou des tentatives d'inoculation intra-thoracique auraient pu alors être positives avec le virus Phnom-Penh bat. Quoi qu'il en soit, les caractéristiques physico-chimiques franches paraissent rattacher A 38-69 aux arbovirus et ses propriétés sérologiques le font classer dans les Flavivirus.

Sur les 25 virus isolés chez les chauves-souris, 11 appartiennent donc au groupe B des arbovirus (Rio Bravo, Entebbe bat, MML, Dakar bat, Phnom-Penh bat, Sokuluk, JBE, KFD, SLE, fièvre jaune, West Nile), 2 au groupe A (Chikungunya et VEE), 1 au groupe C (Nepuyo), 2 au groupe Guama (Catu et Guama), Tacaribe appartient aux Arénavirus et 3 autres (Lagos bat, Kern Canyon et Mount Elgon bat), naguère classés dans les arbovirus non groupés, sont des Rhabdovirus. Quant aux 5 derniers, Gossas, Issyk Kul, Japanaut, Keterah et Yogué qui sont eux aussi des virus non groupés, il serait intéressant de vérifier si leur morphologie ne les apparente pas aux Rhabdovirus.

Phnom-Penh bat semble un virus rare, car il n'a jamais été trouvé ailleurs que chez des chauves-souris (2 souches isolées sur 633 examinées, aucune souche sur 218 rongeurs, 132 oiseaux, 2 676 reptiles, 1 139 hommes, 247 966 arthropodes dont 238 576 moustiques). En sérologie de routine, on a détecté des anticorps inhibant l'hémagglutination de Phnom-Penh bat,

mais ce sont sans doute des anticorps hétérologues, car ils sont accompagnés que ce soit chez l'homme ou chez le singe, par d'autres anticorps du groupe B, généralement à un taux supérieur. Par contre, on a trouvé des anticorps isolés, à des titres variant entre le 1/20^e et le 1/160^e, chez *Cynopterus brachyotis angulatus* (9 sérums positifs sur 64 testés). Les sérums des autres chauves-souris ont tous été négatifs.

CONCLUSION

Le virus Phnom-Penh bat (A 38-69), isolé à la fois dans les glandes salivaires et dans la graisse brune de 8 *Cynopterus brachyotis angulatus*, souche nouvelle, peu répandue, se rattache par ses propriétés physico-chimiques et sérologiques au groupe B des arbovirus, les Flavivirus, bien que la preuve formelle de sa nature arbovirale n'ait pas été fournie.

RÉSUMÉ

Le virus A 38-69, Phnom-Penh bat, a été isolé facilement à la fois dans les glandes salivaires et dans la graisse brune de 8 chauves-souris, *Cynopterus brachyotis angulatus*, capturées à Phnom-Penh, au Cambodge, par inoculation à des souriceaux nouveau-nés.

Ses caractéristiques physico-chimiques, en particulier la sensibilité à l'éther et au désoxycholate, et l'existence d'une hémagglutinine semblent le rattacher aux arbovirus.

Ce virus est pathogène pour la souris adulte par voie cérébrale et pour les fibroblastes de poulet. Les tentatives de transmission par les moustiques ou d'infection de moustiques ont échoué.

L'identification par fixation du complément classe ce virus dans le groupe B des arbovirus, mais montre qu'il est différent de toutes les souches de référence de ce groupe des Centres du « Yale Arbovirus Research Unit » et de Dakar.

Ce virus n'a été trouvé que dans un seul lot de chauves-souris, et c'est uniquement dans la même espèce de chauves-souris que l'on a découvert des anticorps homologues.

MOTS-CLÉS : Virus Phnom-Penh bat, Chauve-souris, Cambodge, Arbovirus, Flavivirus ; Isolement, Souris.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement les Docteurs J. Casals (Yale Arbovirus Research Unit, Yale University, 60, College street, New Haven, Connecticut 06 510, USA) et Y. Robin (Institut Pasteur de Dakar, B. P. 220, Dakar, Sénégal) pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée en menant à bien l'identification complète du virus Phnom-Penh bat.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALLEN, R., TAYLOR, S. K. & SULKIN, S. E., Studies of arthropod-borne virus infections in *Chiroptera*. VIII. Evidence of natural St Louis encephalitis virus infection in bats. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1970, 19, 851-859.
- [2] ANDRAL, L., BRÈS, P., SÉRIÉ, C., CASALS, J. & PANTHIER, R., Études sur la fièvre jaune en Éthiopie. 3. Étude sérologique et virologique de la faune sylvatique. *Bull. Org. mond. Santé*, 1968, 38, 855-861.
- [3] BAER, G. M. & WOODALL, D. F., Bat salivary gland virus carrier state in a naturally infected Mexican freetail bat. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1966, 515, 769-771.
- [4] BELL, J. F. & THOMAS, L. A., A new virus, « MML », enzootic in bats (*Myotis lucifugus*) of Montana. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1964, 13, 607-612.
- [5] BOULGER, L. R. & PORTERFIELD, J. S., Isolation of a virus from Nigerian fruit bats. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1958, 52, 421-424.
- [6] BRÈS, P. & CHAMBON, L., Isolement à Dakar d'une souche d'arbovirus à partir des glandes salivaires de chauves-souris. *Ann. Inst. Pasteur*, 1963, 104, 705-711.
- [7] BURNS, K. F. & FARINACCI, C. J., Virus of bats antigenically related to St Louis encephalitis. *Science*, 1956, 123, 227-228.
- [8] BURNS, K. F., FARINACCI, C. J. & SHELTON, D. F., Virus of bats antigenically related to group B arthropod-borne encephalitis viruses. *Amer. J. clin. Path.*, 1957, 27, 257-264.
- [9] CALISHER, C. H., CHAPPELL, W. A., MANESS, K. S. C., LORD, R. D. & SUDIA, W. D., Isolations of Nepuyo virus strains from Honduras, 1967. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1971, 20, 331-337.
- [10] Catalogue of arthropod-borne and selected vertebrate viruses of the world. Public Health Service Publication.
- [11] CHIPPAUX, A. & CHIPPAUX-HYPPOLITE, C., Une souche d'arbovirus isolée à Bangui à partir de glandes salivaires de chauves-souris. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1965, 58, 164-169.
- [12] CONSTANTINE, D. G. & WOODALL, D. F., Latent infection of Rio Bravo virus in salivary glands of bats. *Publ. Hlth Rep.*, 1964, 79, 1033-1039.
- [13] CORREA-GIRON, P., CALISHER, C. H. & BAER, G. M., Epidemic strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from a vampire bat captured in Oaxaca, Mexico, 1970. *Science*, 1972, 175, 546-547.
- [14] DOWNS, W. G., ANDERSON, C. R., SPENCE, L., AITKEN, T. H. G. & GREENHALL, A. H., Tacaribe virus, a new agent isolated from *Artibeus* bats and mosquitoes in Trinidad, West Indies. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1963, 12, 640-646.
- [15] *East Afr. Virus Res. Inst.* (Ann. Rep.), 1956-1957, 22. 1960-1961, 28. 1962-1963, 20-24. 1963-1964, 4-5 & 42. 1965, 14-15. 1967, 27-28.
- [16] JOHNSON, H. N., The Rio Bravo virus: virus identified with group B arthropod-borne viruses by hemagglutination inhibition and complement fixation tests. Abstr. in *Proc. 9th Pacif. Sci. Congr. Bangkok*, 1962, 17, 39.
- [17] KNUDSON, D. L., Rhabdoviruses. *J. gen. Virol.*, 1973, 20, 105-130.
- [18] LUMSDEN, W. H. R., WILLIAMS, M. C. & MASON, P. J., A virus from insectivorous bats in Uganda. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1961, 55, 389-397.
- [19] LVOV, D. K., KARAS, F. R. & coll., « Issyk Kul » virus, a new arbovirus isolated from bats and *Argas* (Carios) *vespertilionis* Latr, 1802, in the kirghiz S. S. R. *Arch. ges. Virusforsch.*, 1973, 42, 207-209.
- [20] LVOV, D. K., TSYRKIN, Y. M., KARAS, F. R., TIMOPHEEV, E. M., GROMASHEVSKI, V. L., VESELOVSKAYA, O. V., OSIPOVA, N. Z., FOMINA, K. B. & GREBENYUK, Y. I., « Sokuluk » virus, a new group B arbovirus isolated from *Vespertilio pipistrellus* Schreber, 1775, bat in the kirghiz S. S. R., *Arch. ges. Virusforsch.*, 1973, 41, 170-174.

- [21] METSELAAR, D., WILLIAMS, M. C., SIMPSON, D. I. H., WEST, R. & MUTERE, F. A., Mount Elgon bat virus: A hitherto undescribed virus from *Rhinolophus hildebrandtii eloquens* (K. Anderson). *Arch. ges. Virusforsch.*, 1969, 26, 183-193.
- [22] MURPHY, F. A. & FIELDS, B. N., Kern Canyon virus: electron microscopic and immunological studies. *Virology*, 1967, 33, 625-637.
- [23] MURPHY, F. A., SHOPE, R. E., METSELAAR, D. & SIMPSON, D. I. H., Characterization of Mount Elgon bat virus, a new member of the rhabdovirus group. *Virology*, 1970, 40, 288-297.
- [24] PAUL, S. D., RAJAGOPALAN, P. K. & SREENIVASAN, M. A., Isolation of the West Nile virus from the frugivorous bat *Rousettus leschenaulti*. *Indian J. med. Res.*, 1970, 58, 1169-1171.
- [25] PAVRI, K. M. & SINGH, K. R. P., Kyasanur Forest disease virus infection in the frugivorous bat, *Cynopterus sphynx*. *Indian J. med. Res.*, 1968, 56, 1202-1204.
- [26] RAJAGOPALAN, P. K., PAUL, S. D. & SREENIVASAN, M. A., Isolation of Kyasanur Forest disease virus from the insectivorous bat, *Rhinolophus rouxi* and from *Ornithodoros* ticks. *Indian J. med. Res.*, 1969, 57, 805-808.
- [27] SCHERER, W. F., DICKERMAN, R. W., LA FIANDRA, R. P., WONG CHIA, C. & TERRIAN, J., Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico: IV. Infections of wild mammals. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1971, 20, 980-988.
- [28] SHOPE, R. E., MURPHY, F. A., HARRISON, A. K., CAUSEY, O. R., KEMP, G. E., SIMPSON, D. I. H. & MOORE, D. L., Two African viruses serologically and morphologically related to rabies virus. *J. Virol.*, 1970, 6, 690-692.
- [29] SIMPSON, D. I. H., WILLIAMS, M. C., O'SULLIVAN, J. P., CUNNINGHAM, J. C. & MUTERE, F. A., Studies on arboviruses and bats (*Chiroptera*) in East Africa: II. Isolation and haemagglutination-inhibition studies on bats collected in Kenya and throughout Uganda. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1968, 62, 432-440.
- [30] SULKIN, S. E., The bat as a reservoir of viruses in nature. *Progr. med. Virol.*, 1962, 4, 157-207.
- [31] SULKIN, S. E., SIMS, R. A. & ALLEN, R., Isolation of St Louis encephalitis virus from bats (*Tadarida b. mexicana*) in Texas. *Science*, 1966, 152, 223-225.
- [32] SULKIN, S. E., ALLEN, R., MIURA, T. & TOYOKAWA, K., Studies of arthropod-borne virus infections in *Chiroptera* : VI. Isolation of Japanese B encephalitis virus from naturally infected bats. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1970, 19, 77-87.
- [33] WILLIAMS, M. C., SIMPSON, D. I. H. & SHEPHERD, R. C., Bats and arboviruses in East Africa. *Nature* (Lond.), 1964, 203, 670.
- [34] WILLIAMS, M. C., SIMPSON, D. I. H. & SHEPHERD, R. C., Studies on viruses in East African bats (*Chiroptera*) : 2. Virus isolation. *Zoonoses Res.*, 1964, 3, 141-152.