

BİR KUZUNUN DIŞ ETİNDEN ECTHYMA CONTAGIOSUM (ORF) VİRUSU  
İZOLASYONU

İbrahim Burgu\*

Asuman Toker\*\*

Isolation of Ecthyma Contagiosum virus (orf) from the gingiva of a lamb.

**Summary:** *Ecthyma Contagiosum* of sheep, causes considerable economic losses in many countries. Furthermore, its transmissibility to man makes it a zoonosis.

*In Turkey, this infection is not uncommon, and the clinical diagnosis is not always easy. Since other eruptive diseases can easily be mistaken for it. In the present study was attempt to virus isolation from the lambs clinically affected from Ecthyma Contagiosum infection. All animals were from the same herd in Elmadağ province near Ankara. Gingival swabs were taken as an isolation material. These materials were inoculated into the foetal lamb kidney cell cultures, and serials passages were made. At the 4 th passage, a cytopathogenic virus was isolated. The partical size of this virus was measured by filtration method. The infectious agent, passed easily through up to 450 nm filters but none passed through filters of 220 nm porosity. The nucleic acid type was found as DNA by IUDR. The isolated virus showed the typical CPE characterized by the rounding of cell for Ecthyma Contagiosum virus in cell cultures.*

*The isolated virus was found similar to Ecthyma Contagiosum virus according to the some physical and chemical characteristics mentioned above. This is the first report on the isolation of Ecthyma Contagiosum virus on foetal lamb kidney the cell cultures in Turkey.*

**Özet:** *Ankara iline bağlı Elmadağ ilçesinde klinik olarak Ecthyma Contagiosum semptomları gösteren sürüye ait bir kuzunun gingivasındaki lezyonlardan svapla alınan materyal ile, bu lezyon kabuklarından,*

\* Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

\*\* Dr. Med. Vet., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

*primer f3tal kuzu b3brek h3cre k3lt3rlerine yapılan inokulasyonlar sonunda sitopatojenik bir virus izole edildi. Bu virusun membran filt-rasyonla 3lç3len partik3l b3y3kl3g3, n3kleik asit tipinin DNA oluŐu ve h3cre k3lt3rlerinde Echyma Contagiosum virusuna 3zg3 h3cre yu-varlaklaŐması ile karakterize bir değişiklik meydana getirerek 3reme-sine bağlı olarak Echyma Contagiosum virusu olduğu kanısına varıldı.*

*Bu araŐtırma T3rkiye'de Echyma Contagiosum virusunun f3tal kuzu b3brek h3cre k3lt3rlerinde yapılan ilk izolasyonudur.*

### GiriŐ

Koyunların echyma contagiosum (p3st3ler dermatitis-Orf) has-talığı, Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi'nin (CIDE) 32. komite toplantısında da belirtildiği gibi 3oğunlukla hayvancılık iŐletmelerinde ağır ekonomik kayıplara neden olan ve insanlara da bulaŐan 3nemli bir zoonozdur (13).

B3ttner ve ark. (4) echyma contagiosum, pap3ler stomatitis ve milker's nod3l3 (yalancı meme 3içeği) viruslarını poxviruslar ile aynı morfolojik 3zellikleri g3sterdikleri i3in paravaccinia grubu i3inde toplamıŐlardır.

Matthews (9) ise, echyma contagiosum virusunu pap3ler sto-matitis virusu ile birlikte gruplandırmıŐtır.

Echyma contagiosum virusu 3ift iplik3ikli Deoksiribon3kleik asit (DNA) ihtiva etmektedir (19).

Rolle ve Mayr'ın (17) bildirdiklerine g3re echyma contagiosum enfeksiyonunda bulaŐma hayvandan hayvana direkt yolla ve virusun yerde bulunan kabuklarda kıŐın da bulaŐıcı 3zelliğini korumasıyla olur. Hastalığın inkubasyon s3resi 6-8 g3n olup, klinik olarak labial, podal ve genital formlarda seyrederek. Labial formda 3st ve alt dudak-larda ve memede vezik3l devrinden sonra kahverengi kırmızı kabuk-larla 3rt3l3 sarı p3st3ller g3r3l3r ve yaklaşık iki hafta i3inde nedbe dokusu bırakmadan kaybolurlar. Podal formda lezyonlar tırnağın 3st kısmında, tırnak arasında ve corium coronarium'da; genital formda ise memede, bacağın i3 kısımlarında, vulva'da, preputium'da Őekillenir. Enfeksiyondan sonra virus deri ve mukozalarındaki epi-tel h3crelerinde 3reyerek keratinize h3cre proliferasyonu, hastalığın

erken devrelerinde balonumsu hücre dejenerasyonu, vakuolizasyon, intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ve yüzeysel vezikül ve püs-tüller oluşturur.

Ecthyma contagiosum enfeksiyonu koyun ve kuzuların dışında insanlarda da görülmektedir (7,15,16). Robinson ve Petersen (16) koyun ve kuzu eti endüstrisinde çalışanlardan ecthyma contagiosum virusunun izole edildiğini bildirmişlerdir. Güneş ve ark. (7) da, Tür-kiye'de İzmir bölgesinde 1979-1980 yılları arasında 31 kişiden ecthyma contagiosum virusunu izole ettiklerini belirtmişlerdir.

Roberts ve Carter (14), ecthyma contagiosum virusunun invitro sistemlerde üretilmesinin güç olduğunu, ancak laboratuvar suşlarının primer insan amnion hücre kültürleri ile koyun, keçi, sığır orijini hücre kültürlerine adapte edilerek üretilebildiğini belirtmişlerdir. Precausta ve Stellman (13), ecthyma contagiosum virusunun primer kuzu böbrek hücre kültüründe; Rossi (18) ise civciv ve ördek embri-yosu fibroblast hücre kültürlerinde ürediğini bildirmişlerdir. Ergin ve Köklü (5), ecthyma contagiosum virusunu koyun troid, dana böbrek ve kuzu böbrek hücre kültürlerinde üretmişlerdir. Nagington ve Whittle (10), virusun üretilmesinde maymun böbrek hücre kültürünü başarıyla kullanmışlardır.

Plowright ve ark. (12), ecthyma contagiosum virusu ile enfekte hücre kültürlerinde arka arkaya uygulanan dondurma ve çözme işlemlerinden sonra virusun enfeksiyözite gücünün yükseldiğini bil-dirmişlerdir. Precausta ve Stellman (13), Fransa'nın değişik bölge-lerindeki koyunlardan izole ettikleri 5 adet ecthyma contagiosum suşunun DKID<sub>50</sub> değeri dağılımlarını, 10<sup>-5.5</sup>-10<sup>-6.5</sup>/0.1 ml arasında saptamışlardır. Ergin ve Köklü (5), izole ettikleri ecthyma contagio-sum virusunun koyun tiroid hücre kültüründeki enfeksiyözite gücünü DKID<sub>50</sub> 10<sup>-4.4</sup>-10<sup>-5.2</sup>/0.1 ml olarak saptamışlardır.

Ecthyma contagiosum virusu hücre kültürlerinde üremesi sıra-sında hücre yuvarlaklaşması ile karakterize bir sitopatolojik efekt oluşturur. Bunu hücrelerin kültür şişesi yüzeyinden ayrılarak küme-leşmesi izler (15).

Abdussalam ve Coslett (1), ecthyma contagiosum virusunu elektron mikroskopta incelemişler ve boyutlarını 251.8x158.18 nm olarak bildirmişlerdir. Nagington ve Horne (11), yine elektron mik-rooskopik ölçüm sonunda virusun büyüklüğünü 263.1 x 157.4 nm

olarak tesbit etmişlerdir. Precausta ve Stellman (13) ise ecthyma contagiosum virusunun partikül büyüklüğünü ultrafiltrasyon yöntemi ile saptamışlar ve virusun 220 nm ile 300 nm filtrelerden geçmediğini, fakat 450 nm filtreden kolaylıkla geçtiğini bildirmişlerdir.

Türkiye'de ecthyma contagiosum enfeksiyonu üzerindeki ilk çalışma Böğrün ve ark. (2) tarafından hasta kuzulardan alınan kabuklarla aşı hazırlanması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Ergin ve Köklü (5), Türkiye'de çeşitli bölgelerden getirilen kabuk, papül ve veziküllerden, primer koyun tiroid hücre kültürlerine yaptıkları inokulasyonlar sonunda ecthyma contagiosum virusunu ilk defa izole etmeyi başarmışlardır. Aynı araştırmacılar (5), Pendik orijinli marazi maddenin inokulasyondan sonraki 11. günde, Bandırma orijinli marazi maddenin ise 23. günde primer koyun tiroid hücre kültürlerinde sitopatolojik değişiklikler oluşturduklarını saptamışlardır.

Bu çalışma, Ankara'nın Elmadağ ilçesindeki bir sürüye ait yeni doğan kuzularda, ağızda ve deride klinik olarak ecthyma contagiosum benzeri lezyonlar meydana getiren ve ölümlere neden olan bir enfeksiyonun bildirilmesi üzerine bölgeye gidilerek alınan materyelden virus izolasyonu amacıyla yapılmıştır.

### Materyal ve Metot

*İzolasyon materyali:* Ankara iline bağlı Elmadağ ilçesinde klinik olarak ecthyma contagiosum belirtileri gösteren bir kuzunun lezyonlu gingivasi kanatılarak svap ile alınan materyal ve lezyonun kabuğu 10xantibiyotik (100 I.Ü. penisilin / ml, 100 mcg streptomisin / ml ve 0,005 mg kanamisin / ml) kapsayan Earle vasatı içine aktarıldı. Laboratuvarda steril bir havan içine alınan 10x antibiyotikli Earle süspansiyonundaki materyal ve lezyonun kabuğu steril kum ilave edilerek ezildi. Sonra 2500 dev./dak. 30 dakika 4°C'de santrifüj edildi. Üstteki sıvı alınarak sterilite kontrolü yapıldı ve kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı.

*Hücre kültürü:* Virus izolasyonunda, izole edilen virusun enfeksiyözite gücü tesbitinde kullanılan mikrotitrasyon testinde ve izolatın nükleik asit tipinin tayininde in vitro sistem olarak % 20 inaktif dana serumlu Hanks vasatında üretilen primer fötal kuzu böbrek (FKB) hücre kültürü kullanıldı.

*Virus izolasyonu:* Virus izolasyonu amacıyla hazırlanan materyal, ağız vidalı kapalı tüplerde üretilen 1 günlük FKB hücre kültürlerine 0.2 ml. miktarında ve adsorbsiyona bağlı yöntemle inokule edildi. Virus üretme vasatı olarak % 5 fetal dana serumu kapsayan yarı yarıya sulandırılmış Eagle MEM\*-Earle vasatı kullanıldı. İnokulasyon yapılan hücre kültürleri 4 gün süre ile doku kültürü mikroskobunda sitopatolojik değişiklikler yönünden kontrol edildi ve bu sürenin sonunda  $-80^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırıldı.

Bu kültürler birbirini izleyen sıralarla 3 defa dondurma ve çözme işlemine tabi tutulduktan sonra 30 dakika 2500 dev / dak.  $4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildi ve üst kısım alınarak yeniden  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de donduruldu. İnokulasyon materyalinin bu birinci pasajından sonra FBK hücre kültürlerinde ondördüncü pasaja kadar devam edildi.

*İzole edilen virusun enfeksiyözite gücünün tesbiti:* FKB hücre kültürlerine inokulasyonları sonucunda, üçüncü pasajda izole edilen virusun enfeksiyözite gücünü artırmak amacıyla yapılan 14 adet pasajdan sekizinci, dokuzuncu ve ondördüncü pasajlara ait izolatların enfeksiyözite güçleri aynı hücre kültürü sisteminde mikrotitrasyon yöntemi (6) ile tesbit edildi. Titrasyon sonuçları yedinci günde Karber'e (8) göre değerlendirildi.

*İzole edilen virusun nükleik asit tipinin tayini:* Bu amaçla DNA sentezinin bloke edilmesi prensibinden yararlanıldı ve araştırmada 5-iodo-2-deoxyuridine (IUDR)\*\* kullanıldı.

Araştırmada kontrol viruslar olarak DNA kapsayan Infectiose Bovine Rhinotracheitis (IBR-IPV Colorado suşu) ve ribonükleik asit (RNA) kapsayan Ankara virusundan (3) yararlanıldı.

Testte Eagle vasatı (200 ml Eagle MEM + 200 mg IUDR) kullanıldı. İzole edilen virus, IBR-IPV virusu ve Ankara virusu Eagle MEM vasatı içinde  $10^{-1}$  den  $10^{-6}$ 'ya kadar sulandırıldı. Her virus sulandırmasından FKB hücre kültürü iki adet tüpe ekim yapıldı. Bunun için tüplerdeki hücre üretme vasatı dökülerek hücre yüzeyleri PBS-M ile yıkandı. IUDR kapsayan Eagle MEM vasatından 0.2 ml. tüplere konularak  $37^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde bir saatlik inkübasyona alındı. Sonra tüplerdeki IUDR + Eagle MEM vasatı dökülerek PBS-M ile hücre yüzeyleri yeniden yıkandı. Virusların log 10 tabanına göre yapılan sulandırmalarından, her sulandırma basamağı için iki adet tüpte hazır-

\* Biomerieux, France.

\*\* Serva-Feinbiochemica, Heidelberg.

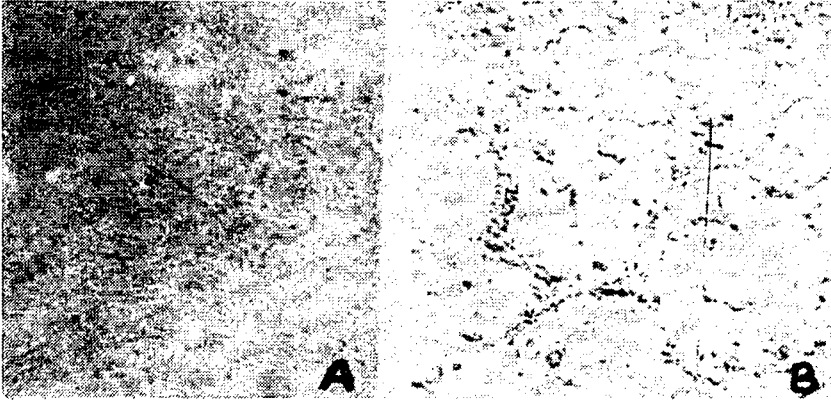
lanmış hücreye 0.2 ml. kondu. Etüvde 37°C'de bir saat adsorbsiyona bırakıldı. Bu süre sonunda tüplerdeki virus sulandırılmaları dökülerek, hücre yüzeyleri PBS-M ile yıkandı. Son olarak bütün tüplere 2ml. IUDR kapsayan Eagle MEM vasatından kondu. Tüpler yeniden 37°C'lik etüvde inkübe edildi.

Testle birlikte IBR-IPV, Ankara ve izole edilen virusun enfeksiyözite güçleri, virus kontrolleri ve hücre kontrolleri da paralel yürütüldü.

*İzole edilen virusun büyüklüğünün tesbiti:* Bu amaçla virus süspansiyonu 220 nm ve 450 nm'lik Sartorius membran filtrelerden süzüldü. Filtrasyon sonunda virusun filtreyi geçip geçmediği ise süzülen süspansiyonun FKB hücre kültürlerine inokulasyonu ile araştırıldı.

### Bulgular

*Virus izolasyonu:* İzolasyon materyalinden hazırlanan inokulumun FBK hücre kültürüne yapılan üçüncü pasajının, dördüncü gününde hücre yuvarlaklaşması ile karakterize bir sitopatolojik değişiklik meydana getirdiği saptandı. Üçüncü FKB pasajında izole edilen virusun devam edilen seri pasajları sonunda ondördüncü FKB pasajında 24 saat içinde tam bir sitopatolojik değişiklik ile karakterize üreme gösterdiği tesbit edildi (Şekil 1).



Şekil 1. Fötal kuzu böbrek hücre kültüründe izole edilen ecthyma contagiosum virusunun CPE görünümü.

a) Hücre kontrol, b) İnokulasyondan 24 saat sonra oluşan CPE tablosu.

Figure 1. Cytopathic effect of isolated ecthyma contagiosum virus in foetal lamb kidney cells.

a) Uninfected control cultures.

b) 24 hours post infection.

*Virusun enfeksiyözite gücü:* İzole edilen virusun FKB hücre kültürlerinde yapılan sekizinci, dokuzuncu ve ondördüncü pasajlarına ait enfeksiyözite gücü sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen virusun çeşitli pasajlardaki enfeksiyözite gücü.

Pasaj sayısı	DKID <sub>50</sub> / 0.1 ml
Sekizinci	10 <sup>-3.75</sup> / 0.1 ml
Dokuzuncu	10 <sup>-4.5</sup> / 0.1 ml
Ondördüncü	10 <sup>-5.25</sup> / 0.1 ml

*Virusun nükleik asit tipi:* İzole edilen virusun nükleik asit tipi DNA olarak saptandı. Şöyleki, izole edilen virusun IUDR ile muameleden sonra enfeksiyözite gücünün bloke edildiği, kontrol viruslardan IBR / IPV'nin aynı şekilde enfeksiyözitesini kaybettiği, Ankara virusunun ise herhangi bir enfeksiyözite kaybına uğramadığı görüldü. Kontrol viruslar ile izole edilen virusun teste paralel olarak saptanan enfeksiyözite güçleri ise IBR-IPV DKID<sub>50</sub> 10<sup>-5.5</sup> / 0.1 ml, Ankara virusu DKID<sub>50</sub> 10<sup>-4</sup> / 0.1 ml, ve izole edilen virus DKID<sub>50</sub> 10<sup>-5.25</sup> / 0.1 ml olarak değerlendirildi.

*Virusun partikül büyüklüğü:* İzole edilen virus süspansiyonunun 220 nm'lik Sartorius membran filtreden süzülükten sonra inokule edildiği FKB hücre kültürlerinde herhangi bir sitopatolojik değişiklik gözlenmedi. Aynı virusun 450 nm'lik filtreden süzülükten sonra yapılan FKB ekiminde ise tipik sitopatolojik değişikliklerin oluştuğu görüldü. Sonuca göre virusun partikül büyüklüğü 220 nm'den büyük, 450 nm'den küçük olarak saptandı.

### Tartışma ve Sonuç

Türkiye'de ilk defa Ecthyma contagiosum virusu Ergin ve Köklü (5) tarafından çeşitli bölgelerden toplanan kabuk, papül ve veziküllerden koyun tiroid hücre kültürlerinde izole edilmiştir. Aynı araştırmacılar (5), yurdun çeşitli bölgelerinden getirdikleri marazi maddelerden koyun tiroid, kuzu böbrek ve dana böbrek hücre kültürlerine yaptıkları inokulasyonlarda virus izolasyonunu yalnızca koyun tiroid hücre kültürlerinde gerçekleştirdiklerini, fakat bu izolatın daha sonra kuzu böbrek ve dana böbrek hücre kültürlerine adapte edilebildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamız da, klinik olarak ecthyma contagiosum

tablosu gösteren kuzuların gingivalarından sağlanan materyalden FKB hücre kültürlerine yapılan inokulasyonlar sonunda virus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Precausta ve Stelman (13) da, ecthy-ma contagiosum virusunu primer kuzu böbrek hücre kültüründe izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Ergin ve Köklü (5), Pendik orijinli marazi maddenin koyun hücre kültürüne inokulasyonundan 11 gün, Bandırma orijinli marazi maddenin inokulasyonun da ise 23 gün sonra ecthy-ma contagiosum virusuna has karakteristik sitopatolojik değişiklik görüldüğünü kaydetmişler ve izolasyonlarda 15-28 günde üreme gösteren virusların ilk pasajlarında 6-7 günde, onuncu pasajdan sonra 2-3 günde % 75 sitopatolojik değişiklik meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Biz ise araştırmamızda izolasyon materyalinin FKB hücre kültüründeki üçüncü pasajında dördüncü günde sitopatolojik değişiklik meydana getirdiğini tesbit ettik. Ondördüncü pasajda ise virusun FKB hücre kültüründe 24 saatte tam bir sitopatolojik değişiklik oluşturarak ürediğini saptadık. Bu sonuçlar da ecthy-ma contagiosum virusu izolasyonu çalışmalarında koyun tiroid hücre kültürü yerine FKB hücre kültürü kullanılmasının daha uygun olduğunu göstermektedir.

Precausta ve Stelman (13), izole ettikleri 5 adet ecthy-ma contagiosum virusu suşunun enfeksiyözite güçlerini primer kuzu böbrek hücre kültüründe  $DKID_{50} 10^{-5.5}-10^{-6.5} / 0.1$  ml olarak tesbit etmişlerdir. Ergin ve Köklü (5), izole ettikleri ecthy-ma contagiosum virusunun pasaj sayısına bağlı olarak enfeksiyözite gücünde de yükselme görüldüğünü bildirmişler ve virusun son pasajlarının koyun tiroid hücre kültürlerinde yapılan enfeksiyözite gücü ölçümlerinde titreleri  $DKID_{50} 10^{-4.4}-10^{-5.2} / 0.1$  ml olarak belirtmişlerdir. Biz de izole ettiğimiz virusun enfeksiyözite güçlerini pasaj sayılarına bağlı olarak logaritmik artan değerler olarak saptadık.

Abdussalam ve Coslett (1) ile Nagington ve Horne (11), ecthy-ma contagiosum virusu partikülünün büyüklüğünü elektron mikroskopik ölçümde yaklaşık 260 nm olarak bildirmişlerdir. Precausta ve Stelman (13) ise ultrafiltrasyonla yaptıkları ölçümlerde virusun 220-300 nm den büyük, 450 nm'den küçük olduğunu bildirmişlerdir. Biz de ultrafiltrasyon yöntemi ile yaptığımız ölçümlerde araştırıcıların (1,11,13) bildirdikleri değerleri saptadık.

Sonuç olarak ecthy-ma contagiosum semptomları gösteren bir kuzunun gingivasından sağlanan materyalden, FKB hücre kültürlerine yapılan ekimler sonunda izole edilen virus, nükleik asit tipinin



DNA olması, partikül büyüklüğünün ecthyma contagiosum virusu için diğer araştırmacılar (1,11,13) tarafından saptanan değerlere eş değer bulunması, FKB hücre kültüründe ecthyma contagiosum virusuna özgü sitopatolojik değişiklikler oluşturması yanında klinik tablonun da bu bulgulara eklenmesi sonucu ecthyma contagiosum virusu olarak değerlendirilmiştir.

İzole edilen ecthyma contagiosum virusunun fiziksel, kimyasal ve diğer serolojik özellikleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

#### Literatür

- 1- Abdussalam, M. and Coslett, V.E. (1957): *Contagious pustular dermatitis virus. I. Studies on morphology.* J. Comp. Path., 67: 145-156.
- 2- Böğrün, Ö., Gürsoy, N., Ataman, B. ve Işıldar, B. (1960): *Ecthyma aşısı üzerinde çalışmalar.* Türk. Vet. Hek. Dern. Derg., 162-163: 687-689.
- 3- Burgu, İ. (1979): *Koyunlarda abort yapan orbivirüsler dahil bir serotipin özellikleri ile Türkiye'deki durumu üzerinde araştırmalar.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 26, (3-4): 135-150.
- 4- Büttner, D., Giese, H., Müller, G. and Peters, D. (1964): *Die feinstruktur reifer Elementar Körper des Ecthyma contagiosum und der stomatitis papulosa.* Arch. für Virusforsch., 14: 657-673.
- 5- Ergin, H. ve Köklü, A. (1973): *Ektima virusunun doku kültürlerinde pasajı ve antijenik özelliklerinin incelenmesi.* Pendik Vet. Bakt. Serol. Enst. Derg., 6, (2): 12-20.
- 6- Frey, H.R. und Liess, B. (1971): *Vermehrungs kinetik und Verwedbarkeit einer stark zytopathogenen VD-MD Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode.* Zbl. Vet. Med., 18: 61-71.
- 7- Güneş, A.T., Gezen, C., Kapdağlı, H. und Marchall, H.J. (1982): *Ecthyma-contagiosum-Epidemien in der Türkei.* Der Hautarzt, 33: 384-387.
- 8- Karber, G. (1964): *In diagnostic produres for virus and rickettsial disease.* Public Health Assn. (New-York), 3: 48-50.
- 9- Matthews, R.E.F. (1979): *Classification and nomenclature of viruses. Third report of the International Comiittee on Taxonomy of viruses.* Intervirology, 12: 150-180.
- 10- Nagington, J. and Whittle, C.G. (1961): *Human orf: Isolation of the virus by tissue culture.* Br. med. J. ii: 1324-1326.
- 11- Nagington, J. and Horne, R.W. (1962): *Morphological studies of Orf and Vaccinia viruses.* Virology, 16: 248-260.
- 12- Plowright, W. Whitcomb, M.A. and Ferris, R.D. (1959): *Studies with a strain of contagious pustular dermatitis virus in tissue culture.* Arch. ges. Virusforsch., 9: 214-231.
- 13- Precausta, P. and Stellman, Ch. (1973): *Isolation and comparative study "in vitro" of five strains of contagious ecthyma of sheep.* Zbl. Vet. Med., 20: 340-355.
- 14- Roberts, A.W. and Carter, G.R. (1981): *Essentials of Veterinary Virology.* Michigan State University Press.

- 15- **Robinson, A.J. and Balassu, T.C.** (1981): *Contagious pustular dermatitis (orf)*. Vet. Bull., 51: 771-782.
- 16- **Robinson, A.J. and Petersen, G.V.** (1983): *Orf virus infection of workers in the meat industry*. New Zealand Med. J., 96, 725: 81-85.
- 17- **Rolle, M. und Mayr, A.** (1978): *Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre*. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- 18- **Rossi, G.A.** (1973): *Adaptation of the virus of contagious ecthyma to cellular substrates of avian origin*. Vet. Ital., 24: 218-222.
- 19- **Wittek, R., Kuenzle, C.C. and Wyler, R.** (1979): *High C+G content in parapoxvirus DNA*. J. gen. Virol., 43: 231-234.