

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОМА ВИРУСА ЗАРАЗНОГО УЗЕЛКОВОГО ДЕРМАТИТА (НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА) КРС В ПОЛЕВЫХ ОБРАЗЦАХ ОТ КРС НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А. В. Кононов¹, А. В. Спрыгин², С. В. Кононова³, А. А. Нестеров⁴, П. В. Прутников⁵, Е. Е. Артюхова⁶, Е. С. Кострова⁷, И. Н. Шумилова⁸

¹ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kononov@arriah.ru

² Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: sprygin@arriah.ru

³ Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kononova@arriah.ru

⁴ Младший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: nesterov@arriah.ru

⁵ Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

⁶ Ведущий биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: artuhova@arriah.ru

⁷ Младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: kostrova@arriah.ru

⁸ Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: shumilova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты лабораторных исследований проб патологического и биоматериала на наличие генома вируса заразного узелкового дерматита с помощью тест-системы «Заразный узелковый дерматит ПЦР-РВ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Пробы от крупного рогатого скота были получены в 2016–2017 гг. из 16 регионов Российской Федерации. Исследовано 848 образцов проб стабилизированной крови, сыворотки крови, соскобов кожи (нодулы), носовых смывов. При прижизненной диагностике вирус заразного узелкового дерматита КРС был выявлен в носовых смывах (29,2%), сыворотке крови (19,5%) и стабилизированной крови (24,4%). При посмертной диагностике геном вируса заразного узелкового дерматита КРС выявляли в пробах пораженных кожных покровов в 77,7% случаев. В пробах трахеи, селезенки и от абортированных плодов геном вируса выявлен не был. Таким образом, при подозрении на заразный узелковый дерматит при прижизненной диагностике необходимо в первую очередь исследовать пробы крови и носовых смывов, а при посмертной диагностике – нодулы (бугры).

Ключевые слова: заразный узелковый дерматит, ПЦР в режиме реального времени, геном, полевые образцы.

UDC 619:616.98:578.821.2:616-076

DETECTION OF LUMPY SKIN DISEASE VIRUS GENOME IN FIELD SAMPLES COLLECTED FROM CATTLE IN THE RUSSIAN FEDERATION

A. V. Kononov¹, A. V. Sprygin², S. V. Kononova³, A. A. Nesterov⁴, P. V. Prutnikov⁵, Ye. Ye. Artyukhova⁶, Ye. S. Kostrova⁷, I. N. Shumilova⁸

¹ Head of the Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kononov@arriah.ru

² Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: sprygin@arriah.ru

³ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kononova@arriah.ru

⁴ Junior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: nesterov@arriah.ru

⁵ Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir

⁶ Leading Biologist, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: artuhova@arriah.ru

⁷ Junior Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: kostrova@arriah.ru

⁸ Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: shumilova@arriah.ru

SUMMARY

Results of laboratory tests of pathological and biological material samples for lumpy skin disease virus genome with the FGBI "ARRIAH" lumpy skin disease real-time PCR test system are presented. Samples were collected from cattle in 16 regions of the Russian Federation in 2016–2017. A total of 848 stabilized blood, serum, skin (nodule) scrape, nasal washing samples were tested. In the process of antemortem diagnosis lumpy skin disease virus genome was detected in nasal washings (29.2%), serum (19.5%) and stabilized blood (24.4%). Lumpy skin disease virus genome was detected in skin lesion samples (77.7% of cases) during postmortem diagnosis. No lumpy skin disease virus genome was detected in trachea, spleen and aborted fetus samples. Thus, in case of lumpy skin disease suspicion serum and nasal washing samples shall be tested first for antemortem diagnosis, while nodules (lumps) shall be primarily tested for postmortem diagnosis.

Key words: lumpy skin disease, real-time PCR, genome, sample.

ВВЕДЕНИЕ

Заразный узелковый дерматит (нодулярный дерматит, бугорчатка) крупного рогатого скота (ЗУД КРС) – особо опасная трансграничная инфекционная болезнь крупного рогатого скота, характеризующаяся лихорадкой, образованием кожных узлов (нодул, бугров), лимфаденитом, поражением конъюнктивы, слизистых оболочек органов дыхания, пищеварения и воспроизводства [10, 21].

Возбудителем заразного узелкового дерматита является ДНК-содержащий оболочечный вирус, относящийся к семейству *Poxviridae* рода *Capripoxvirus*, к которому принадлежат родственные ему возбудители оспы овец и оспы коз [7]. Геном вируса представлен двухцепочечной ДНК длиной 151 тыс. пар оснований [9].

Заболеванию подвержены крупный рогатый скот и буйволы [5], однако среди КРС наибольшей уязвимостью обладают коровы молочного направления, причем уровень заболеваемости может колебаться от 3 до 80% [12, 18, 21], что свидетельствует о возможной роли других, в настоящее время пока не изученных факторов, которые влияют на тяжесть клинических признаков.

Наиболее распространенным путем заражения животных вирусом ЗУД являются укусы кровососущих насекомых [4, 14, 15].

Все вспышки ЗУД с клиническими признаками инфекции подлежат обязательной нотификации в МЭБ. В настоящее время, по данным МЭБ, вспышки инфекции зафиксированы в Албании, Македонии, Греции, Турции и других странах [3, 6, 8].

В Российской Федерации болезнь впервые зарегистрирована в 2015 г. на территории Республики Дагестан [1]. В 2016 г. на территории страны отмечено 313 вспышек инфекции в 17 субъектах [22]. Всего заболело 17 853 головы КРС, пало 1559, уничтожено 30; показатель заболеваемости составил 10%, летальности – 8,7%, смертности – 0,9%. В 2017 г. нотифицировано 43 вспышки в 6 субъектах РФ.

Болезнь наносит значительный экономический ущерб скотоводству, так как вызывает существенное снижение молочной продуктивности у коров, вплоть до полной агалактии, потерю живой массы тела, накладывает ограничения на торговлю живыми животными и продуктами их убоя. У стельных животных отмечают аборт, приводящие к временному или постоянному бесплодию [13].

При генерализованной форме болезни на теле животного появляются узелки (нодулы) диаметром 2–7 см, в основном на голове, шее, вымени и в промежности. На отдельных участках тела происходит слияние узелков и образование язв. Пораженные участки кожи болезненны для животных, что ухудшает их состояние и снижает продуктивность [10]. У быков вирус может экскретироваться со спермой в течение длительного времени [17].

Беспрецедентное распространение вируса ЗУД КРС, в том числе по причине латентного вирусоносительства, требует разработки системных подходов для раннего выявления данного заболевания и мониторинга с целью недопущения его распространения и снижения экономических потерь при развитии болезни. Поскольку ЗУД КРС является недостаточно изученным заболеванием, необходимо установить, какие образцы должны быть использованы для ранней и достоверной детекции вируса в полевых условиях.

В связи с этим целью настоящей работы было выявление ДНК вируса ЗУД КРС с помощью разработанной ранее тест-системы «Заразный узелковый дерматит ПЦР-РВ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») в образцах биологического материала, отобранных от живых животных с клиническими признаками заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. Образцы для исследования поступали из ряда животноводческих хозяйств, где регистрировали ЗУД КРС в 2016–2017 гг. Использовали пробы биоматериала, отобранные от живых и павших животных с клиническими признаками заболевания ЗУД: стабилизированную кровь, сыворотку крови, соскобы кожи (нодулы), назальные и окулярные смывы, молоко, лимфатические узлы, легкие, трахею, селезенку и абортированные плоды. С момента идентификации подозрительных на заболевание животных пробы отбирали и доставляли в лабораторию в охлажденном состоянии в течение 24 ч.

Выделение ДНК. Пробоподготовку проводили в условиях лаборатории. Для исследования использовали сыворотку, стабилизированную кровь и 5–10%-ю суспензию биоматериала.

Для получения суспензии образец биологического материала гомогенизировали до кашицеобразного состояния с использованием стерильной фарфоровой ступки и пестика. Затем в ступку добавляли воду, свободную от нуклеаз, для получения 10%-й суспензии и перемешивали с гомогенатом. ДНК выделяли с помощью AllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Выявление генома вируса ЗУД КРС проводили с помощью тест-системы для выявления генома полевых изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «Заразный узелковый дерматит ПЦР-РВ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

ПЦР в режиме реального времени осуществляли с помощью Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия) согласно инструкции к набору. Реакцию проводили согласно следующему протоколу: активация 95 °С – 10 мин; 40 циклов – 95 °С – 15 с, 60 °С – 1 мин. Результаты интерпретировали на основании интенсивности флуоресценции. Наличие ДНК вируса ЗУД в образце считали подтвержденным и пробу положительной, если значение *Ct* было не более 35; отрицательной – если значение *Ct* отсутствовало или было более 37.

Наличие генома вируса ЗУД в пробах дополнительно подтверждали путем вирусовыделения и секвенирования фрагмента гена RPO30 с помощью генетического анализатора (Applied Biosystems, USA) [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За 2016–2017 гг. в референтной лаборатории болезни КРС было исследовано 848 проб биологического материала из 16 регионов Российской Федерации (Астраханская, Волгоградская, Воронежская, Рязанская, Ростовская, Самарская, Саратовская, Оренбургская, Тамбовская области, Краснодарский и Ставропольский края, Республики Дагестан, Калмыкия, Башкортостан, Карачаево-Черкесская, Чеченская Республики) от КРС с клиническими признаками заболевания.

Геном вируса ЗУД КРС был выявлен в 268 пробах, что составило 31,6% от общего числа исследованных проб (см. таблицу).

При исследовании проб, отобранных от живых животных, наиболее часто вирус ЗУД КРС выявляли в носовых смывах (29,2%), сыворотке крови (19,5%) и стабилизированной крови (24,4%).

При исследовании проб патологического материала геном вируса ЗУД КРС был выявлен в пробах пораженных кожных покровов (нодулах) в 77,7% случаев. В пробах трахеи, селезенки и от абортированных плодов геном вируса ЗУД КРС выявлен не был.

Дополнительно было проведено исследование 11 проб молока от КРС с клиническими признаками болезни, из которых в 6 пробах был выявлен геном вируса ЗУД КРС; из 5 проб лимфоидной ткани в 2 пробах выявлен геном вируса; из 6 проб легких в 3 пробах выявлен геном ЗУД КРС.

Следует отметить, что вирус ЗУД имеет тропизм к клеткам эпителия. При подкожном и внутрикожном заражении у КРС спустя 4–7 сут возникает воспалительная реакция, охватывающая эпидерму, дерму и нижележащие мышцы. В образующихся бугорках скапливается экссудат, а затем развивается некроз. Генерализация процесса происходит на 7–19-е сут после заражения животных и характеризуется лихорадкой. Вирус в крови появляется на 3–4-е сут после подъема температуры тела и массового образования бугорков. С кровью он разносится по организму, проникает в слизистые ротовой полости, носа, глаз, влагалища, препуция, в слюнные и молочные железы, семенники и другие органы и ткани, вызывает тромбоз сосудов и коагуляционный некроз окружающих тканей. Репродукция вируса в указанных органах приводит к появлению новых некротизирующихся кожных узлов (бугорков), развитию генерализованного лимфаденита, отеку конечностей, поражению глаз и слизистых оболочек органов дыхания, воспроизводства и пищеварения.

Постановка диагноза основывается на анализе эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений. Для установления окончательного диагноза проводят лабораторные исследования. В качестве материала для выявления и/или выделения вируса рекомендуется использовать пораженные кожные участки, лимфоидную ткань, носовые и окулярные смывы, стабилизированную кровь (сыворотку), образцы семени или молока.

В настоящее время для диагностики ЗУД КРС используют молекулярно-генетические методы. Диагноз на ЗУД считается установленным, если в пробах от больных или с подозрением на заболевание животных обнаружен вирус ЗУД КРС, или его антиген, или геном. С этой целью используется метод ПЦР [2].

В соответствии с вышесказанным в данной работе представлены результаты исследования полевых проб, отобранных от живых и вынужденно убитых животных, на наличие генома вируса ЗУД КРС с помощью тест-системы «Заразный узелковый дерматит ПЦР-РВ». Оперативная лабораторная диагностика ЗУД, особенно у живых животных, подозреваемых в заболевании, имеет большое значение для подтверждения предположительного диагноза и своевременных действий по предотвращению распространения вируса. Однако недостаточная изученность биологических свойств вируса ЗУД и его патогенеза требует объединения усилий

Таблица
Выявление генома ЗУД КРС в полевых образцах биоматериала от КРС

| Вид материала | Общее количество проб | Из них положительных | % положительных проб |
|-------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Нодулы (бугры) | 108 | 84 | 77,7 |
| Кровь стабилизированная | 417 | 102 | 24,4 |
| Сыворотка крови | 128 | 25 | 19,5 |
| Носовые смывы | 195 | 57 | 29,2 |

лабораторий и практикующих ветеринарных врачей для более глубокого понимания характерных особенностей данного вируса.

Геном вируса ЗУД наиболее часто регистрировали в кожных поражениях (77,7% проб), что согласуется с результатами других исследований и подтверждает, что у вируса выраженный тропизм к кожному эпителию [16]. К тому же E. S. Turpurainen и соавт. показали, что с помощью ПЦР геном в крови животных выявляют с момента появления нодул (бугров) [19]. Среди остальных образцов биологического материала геном вируса выявляли в 19–29% проб. Генетический материал вируса также выявляли в пробах легких, лимфоузлов и молока, однако из-за ограниченного количества проб невозможно провести однозначную статистическую оценку этих результатов. Важно отметить, что пробы от животных поступали в период начала развития клинических признаков, что могло сказаться на результативности выявления вируса ЗУД. Например, отсутствие генома вируса в большинстве проб (смывы, сыворотка крови и кровь) может быть объяснено тем, что вирус еще не успел накопиться в достаточной концентрации, чтобы его экскреция в биологических жидкостях превышала предел чувствительности тест-системы. Более того, S. Babiuk и соавт. установили, что при экспериментальном заражении экскреция вируса со слизистых поверхностей начинается после развития нодул (бугров), причем ДНК вируса в смывах выявляли в течение нескольких дней в слабой концентрации, а вiremия составляла около 9 сут и характеризовалась непостоянством наличия вируса на протяжении эксперимента [16, 19]. Данные свойства, возможно, объясняют слабую трансмиссию вируса между животными в условиях отсутствия лета насекомых-переносчиков.

Для анализа полученных с помощью тест-системы результатов использовали метод ПЦР с электрофоретической детекцией, рекомендованный МЭБ (классический метод). Анализ показал, что результаты совпадали с методом, предложенным D. C. Ireland и Y. S. Binpal [11], в 96% случаев, а в 4% классическим методом ДНК не выявили. Это логично, поскольку общепризнано, что классическая ПЦР обладает меньшей чувствительностью и на ранних стадиях инфекции концентрация вируса находится в диапазоне, не превышающем уровень чувствительности данного метода. Подтверждением может служить тот факт, что E. S. Turpurainen и соавт. [19] ранее установили период вiremии 4–6 сут при использовании классического метода ПЦР, тогда как S. Babiuk и соавт. [16] получили данные с помощью ПЦР в режиме реального времени. Последующий анализ сомнительных проб (23 проб сыворотки и смывов)

при помощи методов вирусывыделения и секвенирования (данные не представлены) подтвердил наличие вируса и тем самым свидетельствовал о более высокой чувствительности полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, осуществленной с помощью тест-системы «Заразный узелковый дерматит ПЦР-РВ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), по сравнению с классической ПЦР. Необходимо отметить, что результатом вирусывыделения, которое, как правило, успешно для вируса ЗУД [1], является детекция жизнеспособных вирионов, тогда как с помощью ПЦР выявляется ДНК генома вируса без дифференциации жизнеспособности, что является более предпочтительным при постановке диагноза, так как даже наличие нежизнеспособных вирионов в пробах от животных может свидетельствовать об инфицировании.

Следует отметить, что не все инфицированные животные могут иметь симптомы заболевания либо они могут быть слабо выражены, что создает сложность в дифференциальной диагностике от герпесвируса КРС 2-го типа (псевдоузелкового дерматита / герпетического маммилита). В связи с этим при формировании мониторинговых исследований необходимо учитывать и клинически здоровых животных в зонах высокого риска, поскольку они могут находиться в инкубационном периоде или переболеть без видимых симптомов [19] и способствовать передаче вируса через кровососущих насекомых. Это имеет особое практическое значение, так как при контроле эпизоотической ситуации по заразному узелковому дерматиту КРС проводится прижизненная диагностика, что позволяет значительно снизить экономический ущерб от заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, из 848 исследованных проб положительный результат был получен в 268, что составляет 31,6% от общего числа. Наиболее часто вирус ЗУД КРС выявляли в следующих пробах: кожные поражения (77,7%), носовые смывы (29,2%), сыворотка крови (19,5%) и стабилизированная кровь (24,4%). Также геном вируса обнаружен в молоке, лимфоидной ткани и легких. В пробах трахеи, селезенки и от абортированных плодов геном вируса ЗУД КРС выявлен не был.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Культурально-биологические свойства возбудителя нодулярного дерматита крупного рогатого скота, выделенного на территории Российской Федерации в 2015 году / А. В. Кононов, С. В. Кононова, И. Н. Шумилова [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 3. – С. 8–18.
2. Проблема нодулярного дерматита крупного рогатого скота / А. В. Мищенко, В. А. Мищенко, А. В. Кононов [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 5. – С. 3–6.
3. Al-Salih K. A., Hassan I. Q. Lumpy skin disease in Iraq: Study of the disease emergence // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2015. – Vol. 62, No. 5. – P. 457–462.
4. Carn V. M., Kitching R. P. An investigation of possible routes of transmission of lumpy skin disease virus (Neethling) // *Epidemiol. Infect.* – 1995. – Vol. 114, No. 1. – P. 219–226.
5. Elhaig M. M., Selim A., Mahmoud M. Lumpy skin disease in cattle: Frequency of occurrence in a dairy farm and a preliminary assessment of its possible impact on Egyptian buffaloes // *Onderstepoort J. Vet. Res.* – 2017. – Vol. 84, No. 1. – doi: 10.4102/ojvr.v84i1.1393.
6. Emergence of lumpy skin disease in Greece, 2015 / K. E. Tsaioudi, S. E. Antoniou, P. Iliadou [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2016. – Vol. 63, No. 3. – P. 260–265.
7. Family Poxviridae / R. M. Buller, B. M. Arif, D. N. Black [et al.] // *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* / ed. C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff [et al.]. – Oxford: Elsevier Inc., 2005. – P. 117–133.
8. First cases of lumpy skin disease reported in the EU // *Vet. Rec.* – 2015. – Vol. 177, No. 9:218. – doi: 10.1136/vr.h4668.
9. Genome of lumpy skin disease virus / E. R. Tulman, C. L. Afonso, Z. Lu [et al.] // *J. Virol.* – 2001. – Vol. 75, No. 15. – P. 7122–7130.
10. Hunter P., Wallace D. Lumpy skin disease in Southern Africa: A review of the disease and aspects of control // *J. S. Afr. Vet. Assoc.* – 2001. – Vol. 72, No. 2. – P. 68–71.
11. Ireland D. C., Binopal Y. S. Improved detection of capripoxvirus in biopsy samples by PCR // *J. Virol. Methods.* – 1998. – Vol. 74, No. 1. – P. 1–7.
12. Long-term changes in the spatial distribution of lumpy skin disease hotspots in Zimbabwe / S. Swiswa, M. Masocha, D. M. Pfukenyi [et al.] // *Trop. Anim. Health Prod.* – 2017. – Vol. 49, No. 1. – P. 195–199.
13. Lumpy skin disease in Jordan: Disease emergence, clinical signs, complications and preliminary-associated economic losses / S. M. Abutarbush, M. M. Ababneh, I. G. al Zoubi [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2015. – Vol. 62, No. 5. – P. 549–554.
14. Lumpy skin disease: Attempted propagation in tick cell lines and presence of viral DNA in field ticks collected from naturally-infected cattle / E. S. M. Tuppurainen, E. H. Venter, J. A. W. Coetzer, L. Bell-Sakyi // *Ticks Tick Borne Dis.* – 2015. – Vol. 6, No. 2. – P. 134–140.
15. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) / C. M. Chihota, L. F. Rennie, R. P. Kitching, P. S. Mellor // *Epidemiol. Infect.* – 2001. – Vol. 126, No. 2. – P. 317–321.
16. Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle // S. Babiuk, T. R. Bowden, G. Parkyn [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2008. – Vol. 55, No. 7. – P. 299–307.
17. Sites of persistence of lumpy skin disease virus in the genital tract of experimentally infected bulls / C. H. Annandale, P. C. Irons, V. P. Bagla [et al.] // *Reprod. Domest. Anim.* – 2010. – Vol. 45, No. 2. – P. 250–255.
18. Temporal and spatial distribution of lumpy skin disease (LSD) outbreaks in Mashonaland West Province of Zimbabwe from 2000 to 2013 / C. Gomo, K. Kanonhuwa, F. Godobo [et al.] // *Trop. Anim. Health Prod.* – 2017. – Vol. 49, No. 3. – P. 509–514.
19. Tuppurainen E. S. M., Venter E. H., Coetzer J. A. W. The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques // *Onderstepoort J. Vet. Res.* – 2005. – Vol. 72, No. 2. – P. 153–164.
20. Use of the Capripoxvirus homologue of Vaccinia virus 30 kDa RNA polymerase subunit (RPO30) gene as a novel diagnostic and genotyping target: development of a classical PCR method to differentiate Goat poxvirus from Sheep poxvirus / C. E. Lamien, C. Le Goff, R. Silber [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2011. – Vol. 149, No. 1–2. – P. 30–39.
21. Woods J. A. Lumpy skin disease: A review // *Trop. Anim. Health Prod.* – 1988. – Vol. 20, No. 1. – P. 11–17.
22. World Organisation for Animal Health / OIE. – URL: <http://www.oie.int/>.