

ВИРУС НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА, ВЫДЕЛЕННЫЙ В 2015 ГОДУ В РОССИИ ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ПРОЯВЛЯЕТ ПАТОГЕННОСТЬ ДЛЯ ОВЕЦ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ

Т.Р. УСАДОВ, Ю.П. МОРГУНОВ, С.П. ЖИВОДЁРОВ, В.И. БАЛЫШЕВА,
Е.Ю. ПИВОВА, А.Ю. КОЛЬЦОВ, М.М. СУХЕР, Д.В. ЯНЖИЕВА,
А.В. ЛУНИЦИН, Н.И. САЛЬНИКОВ

Нодулярный дерматит крупного рогатого скота — экономически значимое трансмиссивное инфекционное заболевание с летальностью от 4 до 95 %. Чистопородные животные более восприимчивы к этой инфекции, наиболее тяжело болезнь протекает у молодняка, недостаточно упитанных особей, лактирующих коров. В России заболевание регистрируют с 2015 года. Для искоренения этой инфекции необходимо изучение всех звеньев эпизоотического процесса. Работ по исследованию патогенности вируса нодулярного дерматита для мелкого рогатого скота и диких жвачных животных в настоящее время крайне недостаточно для оценки роли таких животных в передаче вируса. Мы впервые оценили патогенность российского полевого изолята вируса нодулярного дерматита, выделенного от КРС на территории Республики Северная Осетия—Алания в 2015 году, для овец. Возбудитель идентифицировали секвенированием гена GPCR. В эксперименте с 1,5-месячными ягнятами ($n = 4$) внутривенное и внутрикожное заражение суспензией биоштатов от больных коров вызывало образование узелков на коже в местах введения вируса. Нодулы имели доброкачественный характер, через 2 нед после их появления происходило образование струпуев, которые затем отделялись от кожи, оставляя небольшие шрамы. Геном вируса нодулярного дерматита выявляли методом ПЦР в режиме реального времени в пробах крови в период с 9-х по 17-е сут, в смывах с ротовой полости — с 2-х по 27-е сут после экспериментального заражения. Длительность виремии у ягнят составляла от 3 до 8 сут. Присутствие в крови ягнят инфекционного вируса нодулярного дерматита было также доказано его выделением в перевиваемой культуре клеток почки овцы. Клинические проявления у ягнят соответствовали 2 баллам по шкале оценки тяжести от 0 (отсутствие видимых реакций) до 10 баллов (тяжелая генерализация, требующая убоя). После эвтаназии для исследования на наличие вирусного генома отбирали пробы печени, подколенного лимфатического узла, легких и селезенки. Геном вируса был обнаружен только в ткани легкого и лимфоузлов. Таким образом, проведенные исследования подтвердили имеющиеся в литературе данные о патогенности вируса нодулярного дерматита для овец при экспериментальном заражении. Овцы потенциально могут участвовать в эпизоотическом процессе нодулярного дерматита, являясь источником вируса, передающегося трансмиссивным путем.

Ключевые слова: нодулярный дерматит, вирус нодулярного дерматита крупного рогатого скота, овцы, экспериментальное заражение, вирулентность, виремия, ПЦР-РВ, геном, культура клеток.

Нодулярный дерматит крупного рогатого скота (КРС) (заразный узелковый дерматит, злокачественный узелковый дерматит, бугорчатка, *Dermatitis nodularis bovim*) — трансмиссивная вирусная болезнь КРС, характеризующаяся появлением многочисленных нодул (узелков) в коже, эпителии слизистых оболочек ротовой и носовой полостей, пищевода, трахеи, бронхов. В естественных условиях клинические признаки заболевания наблюдали у КРС, африканских буйволов (*Syncerus caffer*), спрингбоков (*Antidorcas marsupialis*), сернобыков (*Oryx leucoryx*, *O. gazelle*) (1, 2).

Возбудитель нодулярного дерматита — ДНК-содержащий вирус семейства *Poxviridae* (род *Capripoxvirus*) (3, 4). Источником инфекции служат больные особи, а также животные-вирусоносители с бессимптомной формой болезни (5). Вирус нодулярного дерматита передается главным образом трансмиссивно. В экспериментах С.М. Chihota (6) показано, что вирус нодулярного дерматита могут передавать комары *Aedes aegypti* в течение 2-6 сут после того, как возбудитель попал в организм насекомого с кровью инфицированного животного. У иксодовых клещей родов *Rhipicephalus*, *Am-*

blyomma и *Hyalomma*, обитающих в Южной Африке, также установлена способность механически передавать вирус восприимчивым животным (7, 8). Есть указания на связь между вспышками нодулярного дерматита и активностью осенней мухи-жигалки (*Stomoxys calcitrans*) (9). Контактный путь передачи вируса нодулярного дерматита не доказан: так, в экспериментах V.M. Carn и R.P. Kitching (10) интактные животные, находившиеся в течение 1 мес в одном боксе с инфицированными, оставались клинически здоровыми на протяжении всего срока наблюдения.

При первичном заносе инфекции в ранее благополучные регионы рекомендуется применять стемпинг аут (stamping out, подворный убой скота) с проведением радикальных карантинных мероприятий (11).

Помимо образования узелков в коже, вирус нодулярного дерматита вызывает у КРС лихорадку, лимфаденопатию, отеки подкожной клетчатки и внутренних органов, конъюнктивиты, снижение удоев молока, половую стерильность. Чистопородные животные более восприимчивы к этой инфекции, наиболее тяжело болезнь протекает у молодняка, недостаточно упитанных особей, лактирующих коров. Летальность составляет от 4 до 95 % (12-14).

Инкубационный период при экспериментальном заражении КРС вирусом нодулярного дерматита — 2-5 сут. У больных животных регистрируется виремия в течение 1-2 нед. Диссеминация вируса приводит к поражению слизистых оболочек, слюнных и молочных желез, тестикул и других органов. Через 6-9 сут после экспериментального заражения КРС на месте инокуляции вируса появляются узелки диаметром около 1 см, на 12-14-е сут температура повышается до 40,5 °С. Генерализованная форма болезни характеризуется появлением нодул на коже на всех участках тела животного. Образование нодул сопровождается воспалением подкожной клетчатки, а иногда и мышечной ткани. Вследствие вторичной бактериальной инфекции возникает воспаление лимфатических узлов и образуются язвы на коже (15, 16).

При патологоанатомическом исследовании больных животных нодулы обнаруживают на слизистых оболочках пищевода, трахеи, желудка, у лактирующих коров — в тканях молочной железы (17). Образование нодул сопровождается отеком кожи. При генерализованной форме болезни нодулы наблюдают на слизистых оболочках ротовой и носовой полостей, вульвы и на коже препуция, которые могут подвергаться некрозу и гнойному расплавлению. Изъязвления, проявляющиеся в дыхательных путях, вызывают сильный отек, возможна гибель животного от асфиксии или отека легких (18-20).

Первые случаи нодулярного дерматита в России были зафиксированы в 2015 году у крупного рогатого скота в пограничных с Азербайджаном и Грузией селах Глярятинского района Республики Дагестан. Позднее нодулярный дерматит выявили у крупного рогатого скота в Наурском районе Чеченской Республики и Кировском районе Республики Северная Осетия-Алания (21-23). По данным Информационно-аналитического отдела Россельхознадзора, в Российской Федерации в 2016-2017 года вспышки нодулярного дерматита КРС регистрировали в Республике Дагестан, в Республике Башкортостан, в Волгоградской, Саратовской, Самарской и Оренбургской областях (24).

Для эффективной защиты от нодулярного дерматита необходимо углубленное изучение всех звеньев эпизоотического процесса. Однако работ по исследованию патогенности вируса нодулярного дерматита для мелкого рогатого скота и диких жвачных животных в настоящее время недоста-

точно для оценки роли таких животных в передаче вируса. В литературе этому вопросу посвящены лишь отдельные публикации. Так, М.С. Кукушкина с соавт. (25) провели экспериментальное заражение взрослых овец вирусом нодулярного дерматита (штамм 95) и показали, что вирус слабопатогенен для овец, вызывает образование нодул в точках введения и лихорадку. Ранее сообщалось о патогенности вируса нодулярного дерматита для диких животных — импалы (*Aepyceros melampus*) и жирафа (*Giraffe camelopardalis*), которые оказались восприимчивыми при экспериментальному заражению: животные обоих видов пали на 6-15-е сут после заражения (26).

Мы впервые оценили патогенность российского полевого изолята вируса нодулярного дерматита, выделенного от КРС на территории Республики Северная Осетия—Алания в 2015 году, для овец. Наблюдения показали, что степень тяжести клинических проявлений у инфицированных животных соответствовала 2 баллам по 10-балльной шкале (10). Вирус обнаруживался в крови при ПЦР-анализе и прямом выделении в культуре клеток почки овцы (ПО ВНИИВВиМ), а также в легких и селезенке. Эти факты подтверждают слабую патогенность вируса нодулярного дерматита для овец при инфицировании, однако указывают на возможность участия этих мелких жвачных животных в трансмиссивной передаче вируса.

Цель работы заключалась в изучении патогенности полевого изолята вируса нодулярного дерматита, выделенного от крупного рогатого скота в 2015 году, при экспериментальном заражении овец.

Методика. Биоптаты кожных узелков от больных нодулярным дерматитом коров из Республики Северная Осетия—Алания были отобраны сотрудниками ветеринарной службы республики в 2015 году и сохранялись до изучения в термомоконтейнере (+4...+10 °С). Биоптат растирали в фарфоровой ступке с фосфатно-солевым буфом. Полученную 10 % суспензию осветляли центрифугированием и использовали для заражения подопытных животных и выделения ДНК с целью идентификации возбудителя.

Вирусную ДНК для секвенирования и ПЦР-анализа выделяли с использованием набора РИБО-сорб (ЗАО «ИЛС», г. Москва).

Вирусную геномную ДНК в пробах биоматериала от экспериментально инфицированных животных выявляли по методике, предложенной Т.Р. Bowden с соавт. (27), с использованием олигонуклеотидных праймеров CaPV 074 F₁ (5'-AAAACGGTATATGGAATAGAGTTGGAA-3'), CaPV 074 R₁ (5'-AAATGAAACCAATGGATGGGATA-3') и гибридизационного зонда CaPV-074P₁ (5'-FAM-TGGCTCATAGATTTCCT-MGB-NFQ-3'). Реакционная смесь включала 10 пМ каждого праймера, 3 пМ флуоресцентного зонда (ЗАО «Синтол», Россия), 2,5 мкл 10× ДНК-буфера, 10 мМ смеси dNTPs и 1,5 IU рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы («Thermo Fisher Scientific», США). ПЦР в реальном времени проводили на детектирующем термоциклере Rotor Gene 6000 («Corbette Research», Австралия) по следующей программе: предварительная денатурация ДНК при 95 °С в течение 10 мин и 45 циклов амплификации (95 °С — 15 с, 60 °С — 1 мин).

Фрагменты гена GPCR амплифицировали методом ПЦР на термоциклере Palm Cycler («Corbett Research», Австралия) и секвенировали по методу Сэнгера на генетическом анализаторе 3130xl Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США). Амплификацию выполняли согласно протоколу, предложенному С. Le Goff с соавт. (28), с использованием олигонуклеотидных праймеров (5'-ТТААГТAAAGCATAACTССААСААААТG-3' и 5'-ТТТТТТТАТТТТТТАТССААТGCTAАТАCT-3') и набора Encyclo Plus PCR kit (ЗАО «Евроген», Россия). ПЦР проводили на термоциклере Gradient Palm Cycler («Corbett Research», Австралия) по следующей программе:

предварительная денатурация ДНК при температуре 94 °С в течение 3 мин и 35 циклов амплификации (94 °С — 30 с, 60 °С — 30 с, 72 °С — 60 с).

Филогенетический анализ полученной нуклеотидной последовательности проводили с использованием программы MEGA 7.0 (<https://www.mega-software.net/>), филогенетическое дерево строили с помощью алгоритма Neighbor Joining.

Инфекционную активность вирусосодержащей 10 % суспензии биоптата определяли на 2 клинически здоровых телятах калмыцкой породы 6-месячного возраста (живая масса 210-220 кг) при внутрикожном введении материала в разведениях 10^{-1} - 10^{-5} в четыре точки по 0,25 см³ по линиям перпендикулярно позвоночнику (каждое следующее разведение — на расстоянии 5-6 см от предыдущего). Об инфекционной активности вируса в суспензии судили по наличию кожных поражений на 14-20-е сут на месте введения материала. При визуальном осмотре учитывали наличие припухлостей.

Для оценки патогенности вируса нодулярного дерматита для овец экспериментально заражали 4 ягнят романовской породы 1,5-месячного возраста (живая масса 7-8 кг), вводя 1,0 см³ вирусосодержащей 10 % суспензии биоптата внутривенно в яремную вену и внутрикожно в четыре точки в подмышечную область по 0,25 см³. Перед заражением контрольный ягненок был отсажен в отдельный вольер и привит физиологическим раствором внутривенно в яремную вену и внутрикожно в четыре точки в подмышечную область. Ежедневно проводили клинический осмотр животных, через каждые 3 сут отбирали пробы крови и делали смывы со слизистой носовой полости для исследования образцов на наличие вирусного генома.

Положительные пробы крови инфицированных ягнят использовали для выделения вируса в перевиваемой культуре клеток почки овцы (ПО ВНИИВВиМ) согласно протоколу World Organization for Animal Health (Международное эпизоотическое бюро, Париж, OIE — МЭБ) (29-31). Инфекционную активность вируса в пробах определяли титрованием в культуре клеток почки овцы в 48-луночных культуральных планшетах фирмы «Corning-Costar» (США) в среде Игла MEM (ООО «Биолот», Россия). Титр вируса рассчитывали по Керберу.

После эвтаназии с использованием препарата для бескровного умерщвления животных (Адилин-супер, «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань) согласно инструкции по применению отбирали образцы тканей печени, подколенного лимфатического узла, легких и селезенки для исследования на наличие вирусного генома.

Эксперименты с животными проводились в соответствии с разрешением ФАНО России (№ 33-11-0132/16.06.2016) под наблюдением Комиссии по биоэтике ФГБНУ ФИЦВиМ.

При расчете титров вируса определяли средние (M) и стандартные ошибки средних ($\pm SEM$).

Результаты. Возбудитель, вызвавший у коров в 2015 году в Республике Северная Осетия—Алания болезнь с клиническими признаками нодулярного дерматита, был идентифицирован секвенированием гена белка GPCR (G-protein-coupled chemokine receptor) — гомолога хемокиновых рецепторов, сопряженных с G-белком. Этот ген определяет спектр хозяев и может быть использован для дифференциации каприпоксвирусов (28). Филогенетический анализ, проведенный посредством сравнения полученной последовательности (депонирована в базе данных GenBank под номером KY595106) с опубликованными в GenBank полноразмерными нуклео-

тидными последовательностями гена GPCR у различных штаммов и изолятов вируса нодулярного дерматита, позволил идентифицировать выделенный изолят как вирус нодулярного дерматита (рис. 1).

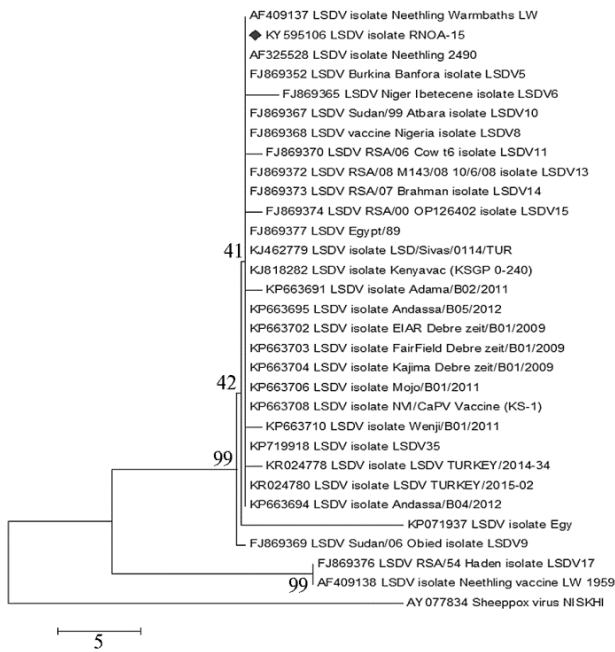


Рис. 1. Филогенетический анализ выделенного изолята вируса нодулярного дерматита на основе последовательности гена GPCR. В качестве внешней группы сравнения при построении дерева использовали нуклеотидную последовательность гена GPCR штамма НИСХИ вируса оспы овец. Исследуемый изолят отмечен ромбом. Длина ветвей дерева масштабирована в количествах нуклеотидных замен на последовательность.

В предварительном тесте на телятах вирусосодержащая суспензия биоптата вплоть до разведения 10^{-4} вызывала на 20-е сут появление узелков на коже в местах введения. С учетом вводимого объема материала ($0,25 \text{ см}^3$) титр вируса составил $10^{5,1}$ ИД₅₀/см³.



Рис. 2. Нодулы на коже ягненка в месте введения суспензии биоптата, содержащего вирус нодулярного дерматита крупного рогатого скота (13-е сут после экспериментального заражения; биоптат получен в 2015 году в Республике Северная Осетия—Алания).

В опыте по экспериментальному инфицированию ягнят (с учетом титра вируса в суспензии биоптата) суммарная доза вируса, введенного ягнятам внутривенно и внутрикожно, составила $10^{5,4}$ ИД₅₀. С 10-13-х сут после заражения у ягнят наблюдали появление нодул в местах введения вируса (рис. 2). Нодулы имели вид уплотнений кожи, диаметр которых постепенно увеличивался в течение 7 сут с 2 до 5 см. Со 2-й нед после заражения происходило заживление нодул и образование струпьев на пораженной коже. На 3-ю нед наблюдали полное заживление кожных поражений. Температурная реакция у всех зараженных ягнят в

течение 25 сут наблюдения оставалась в пределах нормы (температура составляла $38,8-40,5 \text{ }^\circ\text{C}$).

Для оценки тяжести клинических признаков нодулярного дерматита у ягнят использовали 10-балльную шкалу, предложенную V.M. Carn с соавт. (10), в которой 0 баллов — отсутствие видимых реакций, 1 балл — преходящая местная реакция, 2 балла — местные реакции умеренной тяжести (нодулы меньше 5 см в диаметре), отсутствует лимфаденопатия, 3 балла — местные реакции умеренной тяжести (нодулы меньше 6 см в диаметре), лимфаденопатия средней тяжести (10 баллов — тяжелая генера-

лизация, требующая убоа, многочисленные вторичные нодулы диаметром 0,5-5,0 см, характеризующиеся отечностью, гиперемией и болезненностью, тяжелая лимфаденопатия, конъюнктивиты, риниты, вялость, потеря аппетита). По этой шкале тяжесть клинических признаков болезни у ягнят, инфицированных ВНД, выделенным от КРС, соответствовала 2 баллам, что свидетельствует о низкой патогенности этого вируса для овец. У контрольного ягненка видимых изменений на поверхности кожи не обнаружено. Температура тела оставалась в пределах нормы и составляла 38,5-39,0 °С в течении всего периода наблюдения.

На 15-е сут после заражения ягненок № 2 был подвергнут эвтаназии для аутопсии внутренних органов. При вскрытии у него не обнаружили патологических изменений во внутренних органах, характерных для нодулярного дерматита КРС. В образцах ткани печени, подколенного лимфатического узла, легких и селезенки методом ПЦР-РВ геном вируса нодулярного дерматита выявили только в легких (St = 36,48) и лимфоузле (St = 32,94), тогда как в печени и селезенке его не обнаружили.

В крови инфицированных ягнят геном вируса нодулярного дерматита выявляли методом ПЦР-РВ на 9-17-е сут после экспериментального заражения, в смывах со слизистой полости рта — на 20-27-е сут (табл. 1). У контрольного ягненка геном вируса нодулярного дерматита в смывах с ротовой полости и пробах крови не обнаружили.

1. Результаты ПЦР в реальном времени (значения St) при выявлении генома вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота у ягнят в пробах крови и смывах с ротовой полости при экспериментальном заражении

Время после заражения, сут	Ягненок № 1		Ягненок № 2		Ягненок № 3		Ягненок № 4	
	кровь	смывы	кровь	смывы	кровь	смывы	кровь	смывы
3-и	—	—	—	—	—	—	—	—
6-е	—	—	—	—	—	—	—	—
9-е	—	—	—	—	—	—	37,45	—
13-е	—	—	—	—	—	—	36,23	—
15-е	35,99	—	—	—	—	—	—	—
17-е	38,38	—	—	—	39,08	—	37,23	—
20-е	—	36,65	—	—	—	—	—	35,71
23-и	—	35,51	—	—	—	—	—	36,43
27-е	—	38,34	—	—	—	—	—	33,19
29-е	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. Биоптат получен в 2015 году в Республике Северная Осетия—Алания. St — номер цикла, на котором кривая флуоресценции пересекает пороговую линию; положительными считаются образцы, для которых значения St ≤ 40 ; «—» — значения St отсутствуют, образец отрицательный. Ягненок № 2 был выведен из эксперимента на 15-е сут эвтаназией для патологоанатомического исследования внутренних органов на наличие генома вируса нодулярного дерматита.

2. Выделение вируса нодулярного дерматита из проб крови экспериментально инфицированных ягнят в культуре клеток почки овцы ПО ВНИИВВиМ

Время после заражения, сут	Титр вируса, lg ТЦД ₅₀ /см ³			
	контроль	ягненок № 1	ягненок № 3	ягненок № 4
3-и	н/и	н/и	н/и	н/и
6-е	н/и	н/и	н/и	н/и
9-е	—	—	—	—
13-е	—	—	—	—
15-е	—	1,0±0,12 (+)	—	1,5±0,14 (+)
17-е	—	1,5±0,24 (+)	1,6±0,15 (+)	1,7±0,18 (+)
20-е	—	—	—	—
23-и	—	—	—	—
27-и	н/и	н/и	н/и	н/и
29-и	н/и	н/и	н/и	н/и

Примечание. н/и — не исследовали; «—» — вирус не выделен (не наблюдали цитопатического действия вируса на протяжении 5 последовательных пассажей); «+» — наличие специфического цитопатического действия вируса на 2-м пассаже.

Для подтверждения виремии провели выделение вируса из проб

крови, отобранных от всех ягнят с 9-х по 23-и сут после заражения, в перевиваемой культуре клеток почки овцы. Отметим, что цитопатическое действие, специфическое для вируса нодулярного дерматита, наблюдали только на 2-м пассаже на 5-7-е сут после заражения культуры (титр вируса составил 1,5-1,7 lg ТЦД₅₀/см³) (табл. 2).

Проведенные исследования подтвердили имеющиеся в литературе данные о патогенности вируса нодулярного дерматита для овец при экспериментальном заражении (25).

Таким образом, полевой изолят вируса нодулярного дерматита, выделенный от крупного рогатого скота в Республике Северная Осетия—Алания в 2015 году, при подкожном и внутривенном инфицировании вызывал у ягнят появление кожных узелков только в местах введения вируса, что соответствует 2 баллам по 10-балльной шкале оценки тяжести клинических признаков нодулярного дерматита. Исследование методом ПЦР в реальном времени показало наличие генома вируса нодулярного дерматита в пробах крови и смывах с ротовой полости экспериментально инфицированных ягнят, а также в пробах легких и подколенного лимфоузла от подвергнутого эвтаназии ягненка. Выделение в культуре клеток вируса из положительных в ПЦР проб крови подтвердило присутствие инфекционного агента. В связи с этим допустимо предположить, что овцы могут служить источником вируса нодулярного дерматита, передающегося трансмиссивно. Для окончательного ответа на вопрос о возможности передачи вируса нодулярного дерматита овцами в естественных условиях необходимы дополнительные исследования, в том числе изучение роли переносчиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рябикина О.А., Диев В.И., Кукушкина М.С. Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота (обзор литературы). *Вопросы ветеринарной биологии*, 2015, 4(28): 45-52.
2. European Food Safety Authority. Scientific opinion on lumpy skin disease. *EFSA Journal*, 2015, 13(1): 3986.
3. Tulman E.R., Afonso C.L., Lu Z., Zsak L., Kutish G.F., Rock D.L. Genome of lumpy skin disease virus. *J. Virol.*, 2001, 75(15): 7122-7130 (doi: 10.1128/JVI.75.15.7122-130.2001).
4. *Virus Taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* /A.M.Q. King (ed.). Elsevier Academic Press, 2012.
5. Закутский Н.И., Балышев В.М., Юрков С.Г., Гузлова А.Г., Луницин А.В. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота: характеристика возбудителя болезни, распространение, диагностика и меры борьбы (обзор литературы). *Ветеринарный врач*, 2016, 4: 3-12.
6. Chihota C.M., Rennie L.F., Kitching R.P., Mellor P.S. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Epidemiology and Infection*, 2001, 126(2): 317-321.
7. Lubinga J.C., Tuppurainen E.S.M., Mahlare R., Coetzer J.A.W., Stoltz W.H., Venter E.H. Evidence of transstadial and mechanical transmission of lumpy skin disease virus by *Amblyomma hebraeum* ticks. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2015, 62(2): 174-182 (doi: 10.1111/tbed.12102)
8. Tuppurainen E.S.M., Stoltz W.H., Troskie M., Wallace D.B., Oura C.A.L., Mellor P.S., Coetzer J.A.W., Venter E.H. A potential role for ixodid (hard) tick vectors in the transmission of lumpy skin disease virus in cattle. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2011, 58(2): 93-104 (doi: 10.1111/j.1865-1682.2010.01184.x).
9. Chihota C.M., Rennie L.F., Kitching R.P., Mellor P.S. Attempted mechanical transmission of lumpy skin disease virus by biting insects. *Med. Vet. Entomol.*, 2003, 17(3): 294-300 (doi: 10.1046/j.1365-2915.2003.00445.x).
10. Carn V.M., Kitching R.P. An investigation of possible routes of transmission of lumpy skin disease virus (Neethling). *Epidemiol. Infect.*, 1995, 114(1): 219-226.
11. Мищенко А.В., Мищенко В.А., Кононов А.В., Шевкопляс В.Н., Джаилиди Г.А., Дресвянникова С.Г., Черных О.Ю. Проблема заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота. *Ветеринария Кубани*, 2015, 5: 3-6.
12. Черных О.Ю., Мищенко А.В., Мищенко В.А., Губеева Е.Г., Папуниди К.Х., Чернов А.Н., Лысенко А.А., Шевченко А.А., Шевкопляс В.Н., Вацаев Ш.В. Патоморфологические изменения при нодулярном дерматите крупного рогатого скота. *Ветеринария Кубани*, 2017, 3: 1-3.

13. Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Непоклонов Е.А., Воронин Е.С., Фомина Н.В., Гринь С.А., Белоусов В.И., Мельник Н.В., Губан Е.А., Еремец В.И., Сапегина Е.П., Ямникова С.С., Цыбанов С.Ж. *Нодулярный дерматит. Инфекционная патология животных*. Т. 1 /Под ред. А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьева, Е.А. Непоклонова, Е.С. Воронина. М., 2006.
14. Косарева, О.А., Кукушкина М.С., Константинов А.В., Диев В.И., Старов С.К., Яснева Е.А., Басова Д.К. Заразный узелковый дерматит (бугорчатка), клинические признаки при экспериментальном заражении крупного рогатого скота. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных* (Владимир), 2010, 8: 73-84.
15. Body M., Singh K.P., Hussain M.H., Al-Rawahi A., Al-Maawali M., Al-Lamki K., Al-Habsy S. Clinico-histopathological findings and PCR based diagnosis of lumpy skin disease in the Sultanate of Oman. *Pak. Vet. J.*, 2012, 32(2): 206-210.
16. Iros P.S., Tupprainen E.S.M., Venter E.H. Excretion of lumpy skin disease virus in bull semen. *Theriogenology*, 2005, 63: 1290-1297 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.06.013).
17. Babiuk S.L., Bowden T.R., Parkyn G., Dalman B., Manning L., Neufeld J., Embury-Hyatt C., Copps J.S., Boyle D.B. Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2008, 55(7): 299-307 (doi: 10.1111/j.1865-1682.2008.01024).
18. Brenner J., Haimovitz M., Oron E., Stram Y., Fridgut O., Bumbarov V., Kuznetzova L., Oved Z., Wasserman A., Garazzi S., Perl S., Lahav D., Edery N., Yadin H. Lumpy skin disease (LSD) in a large dairy herd in Israel. *Isr. J. Vet. Med.*, 2006, 61: 73-77.
19. Tuppurainen E., Alexandrov T., Beltrán-Alcrudo D. *Lumpy skin disease field manual for veterinarians*. FAO Animal Production and Health Manual No. 20. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, 2017: 7-15.
20. Tuppurainen E., Oura C. Lumpy skin disease: an African cattle disease getting closer to the EU. *Vet. Rec.*, 2014, 175(12): 27 (doi: 10.1136/vr.g5808).
21. Мищенко А.В., Мищенко В.А. Эпизоотическая ситуация по трансграничным и экономически значимым инфекционным болезням КРС в России в 2013-2014 гг. *Тез. конф. «X Балтийский форум ветеринарной медицины и продовольственной безопасности 2014»*. СПб, 2014: 165-167.
22. Кривонос Р.А., Джаилиди Г.А., Мищенко А.В., Мищенко В.А., Черных О.Ю., Шевкопляс В.Н., Дресвянникова С.Г., Коломиец Д.В., Тихонов С.В. Проблема профилактики и ликвидации очагов заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*, 2017, 1(20): 38-44.
23. Герасимов В.Н., Луницин А.В., Сальников Н.И., Гогин А.Е., Еремеев Н.А., Колбасов Д.В. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота в Республике Северная Осетия-Алания. *Ветеринария*, 2016, 3: 11- 14.
24. Россельхознадзор. *Неблагополучные регионы РФ по нодулярному дерматиту в 2017 году*. Режим доступа: <http://fsvps.ru>. Без даты.
25. Кукушкина М.С., Рябикина О.А., Кононов А.В., Диев В.И. Изучение чувствительности крупного рогатого скота и овец к вирусу заразного узелкового дерматита при экспериментальном заражении. *Ветеринария сегодня*, 2016, 4(19): 46-48.
26. Young E., Basson P.A., Weiss K.E. Experimental infection of game animals with lumpy skin disease virus prototype strain Neethling. *Onderstepoort J. Vet.*, 1970, 37(2): 79-87.
27. Bowden T.R., Babiuk S.L., Parkyn G.R., Copps J.S., Boyle D.B. Capripoxvirus tissue tropism and shedding: a quantitative study in experimentally infected sheep and goats. *Virology*, 2008, 371: 380-393 (doi: 10.1016/j.virol.2007.10.002).
28. Le Goff C., Lamien Ch.E., Fakhfakh E., Chadeyras A., Abu-Adulugba E., Libeau G., Tuppurainen E., Wallace D.B., Adam T., Silber R., Gulyaz V., Madani H., Caufour P., Hammami S., Diallo A., Albina E. Capripoxvirus G-protein-coupled chemokine receptor: a host-range gene suitable for virus animal origin discrimination. *J. Gen. Virol.*, 2009, 90: 1967-1977 (doi: 10.1099/vir.0.1010686-0).
29. Юрков С.Г., Колбасова О.Л., Зуев В.В., Кушнир С.Д., Неверовская Н.С., Анисимова Л.И., Смыслова Н.Ю., Прилепская Е.П., Жданова Н.А., Филатов А.В. *Каталог коллекции клеточных культур ГНУ ВНИИВВиМ*. Покров, 2010.
30. Office International des Epizooties (OIE). *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2017. Chapter 2.4.13. Lumpy skin disease*. Режим доступа: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/>. Без даты.
31. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. *Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных*. М., 1986.

ФБГНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии,

601125 Россия, Владимирская обл., Петушинский р-н, пос. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр. 1,
e-mail: usadov.tr@mail.ru, morgunovvv@mail.ru, zhivoderov-serg@mail.ru, vbalysheva@vniivvm.ru, epivova@vniivvm.ru, akoltsov@vniivvm.ru,

*Поступила в редакцию
16 декабря 2017 года*

LUMPY SKIN DISEASE VIRUS, ISOLATED IN 2015 IN RUSSIA FROM CATTLE, IS PATHOGENIC FOR SHEEP AT EXPERIMENTAL INFECTION

T.R. Usadov, Yu.P. Morgunov, S.P. Zhivoderov, V.I. Balysheva, E.Yu. Pivova,
A.Yu. Koltsov, D.V. Yanzhieva, M.M. Sukher, A.V. Lunitsyn, N.I. Salnikov

Federal Research Center for Virology and Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, 1, ul. Akade-
mika Bakuleva, pos. Vol'ginskii, Petushinskii Region, Vladimir Province, 601125 Russia, e-mail usadov.tr@mail.ru,
morgunovyu@mail.ru, zhivoderov-serg@mail.ru, vbalysheva@vniivvm.ru, epivova@vniivvm.ru, akoltsov@vniivvm.ru,
suhemail@mail.ru, darima.yanzhieva.90@mail.ru, lunicy@mail.ru, nikolai.salnikov2010@yandex.ru (✉ correspon-
ding author)

ORCID:

Usadov T.R. orcid.org/0000-0003-3102-1931

Morgunov Yu.P. orcid.org/0000-0003-4980-8302

Zhivoderov S.P. orcid.org/0000-0002-4919-3080

Balysheva V.I. orcid.org/0000-0003-0687-2734

Pivova E.Yu. orcid.org/0000-0003-4831-0852

The authors declare no conflict of interests

Received December 16, 2017

Koltsov A.Yu. orcid.org/0000-0003-3294-6602

Yanzhieva D.V. orcid.org/0000-0001-7390-3874

Sukher M.M. orcid.org/0000-0002-1335-310X

Lunitsyn A.V. orcid.org/0000-0002-5043-446X

Salnikov N.I. orcid.org/0000-0002-0481-3872

doi: 10.15389/agrobiologia.2018.2.438eng

Abstract

Lumpy skin disease is an economically significant transmissible infectious disease with mortality rate from 4 to 95 %. Purebred animals are more susceptible to this infection, most seriously the disease occurs in young animals, not enough well-fed individuals, lactating cows. In Russia, the disease is registered since 2015. To eradicate this infection, it is necessary to study all components of the epizootic process. Currently, the studies on the pathogenicity of lumpy skin disease virus for sheep and goats and wild ruminants are insufficient to assess the role of such animals in the transmission of the virus. We estimated for the first time that lumpy skin disease virus isolated from cattle in the Republic of North Ossetia-Alania in 2015 is pathogenic for sheep. The causative agent was identified by sequencing the *GPCR* gene. In the experiment with 1.5-month-old lambs ($n = 4$), intravenous and intradermal administration of the suspension of the biopsy samples from sick cows caused the formation of nodules on the skin at the sites of virus inoculation. Nodules were benign in nature, after two weeks it formed the scabs and separated from the skin. On the skin in places of formation nodules there were small scars. The genome of lumpy skin disease virus was detected by real-time PCR in blood samples collected from 9 to 17 days post infection, and in the oral swabs collected from 17 to 27 days post infection. The duration of viremia in lambs ranged from 3 to 8 days. The presence of infectious virus was confirmed by isolation of virus on continuous cell culture of sheep kidney. The clinical signs of the disease corresponded to 2 points calculated in accordance with clinical scoring system within the range from 0 («no visible response») to 10 points («severe generalization, requiring slaughter»). After euthanasia the samples of the liver, popliteal lymph node, lungs and spleen were collected to test for the presence of the viral genome. The genome of the virus was detected only in the lung and lymph nodes. So, our results confirmed literature data about pathogenicity of lumpy skin disease virus for sheep. Potentially, sheep can be involved in the epizootic process of lumpy skin disease as source of virus transmitted by blood feeding arthropods.

Keywords: lumpy skin disease, lumpy skin disease virus, sheep, experimental infection, vire-
lence, viremia, PCR, genome, cell culture.

Научные собрания

MICROBIOME FUTURES: A GLOBAL TRANSLATIONAL ROADMAP

(May 23, 2018, New York, USA, New York Academy of Medicine)

Information: <http://www.global-engage.com/event/microbiome-futures/>

EMBL COURSE: WHOLE TRANSCRIPTOME DATA ANALYSIS

(June 5-8, 2018, Heidelberg, Germany)

Tools for RNA-seq data analysis, experimental design, quality control, normalisation and data reformatting, basic statistics, selecting differentially regulated genes/microRNAs, selecting alternative splicing events, multiple testing, biological interpretation

Information: <https://www.embl.de/training/events/2018/DAT18-01/index.html>