

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.08.12

牛结节性皮肤病病毒研究进展

周祉玉, 沈湛凝, 朱真, 杜吉革, 张嘉雯, 莘若兰, 陈小云*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2023-02-02 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 08-0088-07 [中图分类号] S852.65

[摘要] 牛结节性皮肤病(LSD)在全世界范围内均有流行和记载,对我国养牛业构成了严重的威胁。接种疫苗是目前防控 LSDV 最有效的方法,其中减毒活疫苗在许多国家均有使用。近年研究表明,LSDV 活疫苗的使用会造成疫苗重组病毒的流行,接种后会引引起动物不同程度的不良反应。对 LSDV 的病原学特征、分离鉴定方法、流行病学的情况、检测方法以及 LSDV 疫苗的研究进展进行了阐述,以期为牛结节性皮肤病的免疫预防以及鉴别诊断提供研究思路。

[关键词] 牛结节性皮肤病病毒;检测方法;疫苗

Research Progress on Lump Skin Disease Virus

ZHOU Zhi-yu, SHEN Zhan-ning, ZHU Zhen, DU Ji-ge,

ZHANG Jia-wen, XIN Ruo-lan, CHEN Xiao-yun*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: CHEN Xiao-yun, E-mail: caucxy@163.com

Abstract: Lump skin disease (LSD) has been reported worldwide and in many parts of the country, posing a serious threat to China's cattle industry. Vaccination is the most effective way to control LSDV and live attenuated vaccines are currently used in many countries. Recent studies have shown that the use of live LSDV vaccines can cause epidemics of vaccine recombinant viruses and can cause varying degrees of adverse reactions in animals after vaccination. In this paper, the pathogenic characteristics, isolation and identification methods, epidemiology of LSDV, detection methods and research progress of LSDV vaccine were described in order to provide research ideas for immunoprophylaxis and differential diagnosis of lump skin disease.

Key words: bovine lump skin disease virus; testing method; vaccine

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFD1800704)

作者简介: 周祉玉, 硕士研究生, 从事兽医生物制品方面的研究。

通讯作者: 陈小云。E-mail: caucxy@163.com

牛结节性皮肤病(lump skin disease, LSD)又称牛疙瘩性皮肤病、牛结节性皮炎、牛块状皮肤病。LSD 是由痘病毒科(Poxviridae),山羊痘病毒属(Capripoxvirus, CaPV)的牛结节性皮肤病病毒(lump skin disease virus, LSDV)引起的牛全身性、传染性疾病^[1]。世界动物卫生组织(WOAH)将其列为必须通报的疫病,我国于 2019 年 8 月 12 日在新疆伊犁首次发现此病流行,目前我国将其列为二类动物疫病^[2]。牛结节性皮肤病主要传播媒介是吸血节肢动物,潜伏期长达 28 d,特点是发热、淋巴结肿大、皮肤粘膜结节性病变、皮肤水肿,结节破溃后可长达数月不愈。此病的发生会引起大量经济损失,比如奶牛乳房炎和产奶量的暂时减少,动物体重增加缓慢,公牛不孕不育等^[3]。LSDV 在很长一段时间中仅存在于南非地区,逐渐向非洲东部北部扩散,1988 年埃及、以色列爆发疫情,土耳其 2013 年报告第一例 LSDV 病例,2015 年传播到希腊,2016 年传播到欧洲巴尔干、北高加索、俄罗斯地区,并于 2019 年传入中国,2020 年传至东南亚国家。

针对这种疾病暂无特效药,疫苗接种是控制此病传播的唯一经济可行方法。目前 LSD 流行国家使用减毒活疫苗实现对 LSDV 的控制。毒株中个别氨基酸的变化可能是羊痘病毒减毒的原因,kelch 样基因被证明是羊痘毒株中毒性的决定因素。山羊痘病毒属包括山羊痘(GTPV)、绵羊痘(SPPV)以及 LSDV,他们之间同源性高达 97%^[4],存在血清交叉反应,但是在自然条件下很少会交叉感染。其他羊痘病毒的减毒疫苗也可以用于预防 LSD,但以往数据表明,使用不同宿主减毒疫苗的保护效果不能达到 100%^[5-6]。此外,LSDV 正被开发为病毒疫苗载体。

应用常规 PCR、QPCR、HRM 等分子生物学方法,可实现 LSDV 的特异性检测、羊痘病毒属不同种病毒的通用检测以及 LSDV 野毒株与疫

苗株的区分。现有的 VNT、ELISA、IFAT、WB 等方法,仅能用于检测羊痘病毒属的特异性抗体和感染性抗原,而 LSDV 特异性抗体检测方法仍有待进一步研究。我国对此病研究尚且薄弱,研究内容多集中于遗传和系统发育分析,且没有血清学方法区分 LSDV 疫苗接种动物与自然感染动物。

1 病原学特征

LSDV 颗粒呈砖形或椭圆形。在 pH6.5 时,阴性染色显示 LSDV 颗粒的表面结构类似于 M 型痘病毒颗粒;在 pH8.6 时,阴性染色显示 LSDV 颗粒呈囊状,形态类似于 C 型痘病毒颗粒;在中性时,LSDV 的基因组是一个线性双链 DNA,大小为 145 ~ 152 kb,AT 含量高(约 73%),由一个编码序列区和两端的反向重复(ITR)组成。早期基因在病毒感染细胞后立即开始转录 mRNA,从感染后 10 h 开始逐渐转录晚期基因,这需要 DNA 复制。如果 DNA 复制受到抑制,内源性晚期 LSDV 基因就不会转录;DNA 复制启动后,内源性晚期 LSDV 基因转录被激活^[7]。

2 病毒的分离鉴定

山羊痘病毒可以在各种绵羊、山羊和牛的细胞中复制,WOAH 推荐用于该病毒分离的标准细胞是原代羔羊肾脏(LK)细胞或原代羊睾丸(LT)细胞。牛肌肉细胞、绵羊睾丸细胞株(OA3. Ts)和 MDBK 细胞也对 LSDV 敏感,可用于病毒分离。除细胞培养外,鸡胚也可用于病毒分离:接种 LSDV 后,在 9 ~ 11 日龄的 SPF 鸡胚的绒毛尿囊膜(CAM)上可观察到痘样病变^[8]。

3 流行病学

LSD 于 1929 年首次出现在东非的赞比亚,并在整个非洲大陆广泛传播了 50 多年;从 1981 年到 1986 年,坦桑尼亚、肯尼亚、津巴布韦、索马里和喀麦隆都发生了疫情,死亡率约为 20%。2006 年,在埃及爆发,同年在以色列爆发,4000 多头牛受到影

响;从 2006 年到 2012 年, LSDV 继续在非洲和中东地区蔓延, 在一些地区出现了流行病;2013 年, 引入土耳其, 并继续在中东地区蔓延, 到达伊朗、沙特阿拉伯、亚美尼亚和阿塞拜疆等国家;2015 年, 再次跨境传播, 到达东欧的希腊和俄罗斯;2016 年, 感染在欧洲蔓延, 到达保加利亚、马其顿、塞尔维亚、尼日尔和荷兰^[1];2015 年至 2016 年期间, 欧洲 7 个国家共报告了 1455 起疫情, 影响了 20183 头动物, 大多数 LSDV 疫情和病例报告在俄罗斯;2019 年 8 月, 新疆维吾尔自治区伊犁州察布查尔县英宁县和霍城县的牛只皮肤上发现了大小不一的肿胀结节, 并出现了体温升高等临床症状。8 月 12 日, 中国动物

卫生流行病学中心外来动物疫病研究中心证实, 新疆维吾尔自治区伊犁县发生一起牛结节性皮肤病疫情, 发病率为 17.83%, 死亡率为 0.20%, 这是中国首次大规模诊断出该疾病的病例。迄今为止, LSDV 已在中国多地广泛流行。

4 LSDV 的疫苗研究进展

4.1 LSDV 活疫苗 研究表明, 犊牛 2~3 个月时母源抗体基本消失^[9], 应在 4~6 个月时接种疫苗。在流行此病的各个国家中通常弱毒活疫苗的方式进行预防接种, 制备方法通常为鸡胚或细胞传代致弱野生毒株。表 1 列举出一些常用的商业疫苗。

表 1 商业 LSDV 疫苗

Tab 1 Commercial vaccines for LSDV

名称	国家	厂商
Lumpy skin disease vaccine for cattle	南非	Onderstepoort Biological Products
Lumpy Skin Disease Vaccine	南非	Onderstepoort Biological Products
Lumpyvax	南非	MSD - Animal Health
Kenyavac	约旦	Jordan Bioindus - tries Center Jovac
Herbivac LS	南非	Deltamune
Vaccin LSD Neethling O vivand	摩洛哥	MCI Santé Animal

Neethling 疫苗株是由 LSDV 野毒株在羔羊肾细胞中连续传代 60 代, 然后在 8 日龄的鸡胚尿囊膜中连续传代 20 代获得的。多年以来此疫苗株被有 LSD 流行的国家广泛使用, 并被证实有效。既往研究表明, 进行弱毒活疫苗免疫有一定的风险副作用。在南非的弱毒活疫苗使用中, 发现进行注射疫苗免疫后, 牛群出现不同程度的皮肤结节性病变^[6], 暨“Neethling 病”, 这是一种接种疫苗后的不良反应, 症状比患病牛只要轻, 但会引起奶牛产奶量下降, 造成一定经济损失。在接种 Neethling 疫苗后 1~2 周, 较多的牛只出现皮肤小型结节, 但这种现象的发病率暂无完善的数据评估。在 2008 - 2009 年埃塞俄比亚 LSDV 爆发时, 发现接种 LSDV 疫苗动物仍然感染此病的情况, 且有 2.31% 的牛只死亡。

在中东非洲等地区的研究表明^[10], 目前常用的肯尼亚绵羊和山羊痘疫苗病毒 KSGP O - 240 不是 SPPV, 实际上是 LSDV。KSGP O - 240 毒株是 20 世纪 70 年代年代在肯尼亚暴发绵羊痘和山羊痘期间从受感染的山羊身上分离并在牛胎肌细胞中传代 6 次得到的。使用绵羊痘疫苗的安全性和保护效力仍存疑, 这种病毒作为疫苗使用不足以保证在牛身上使用的安全性, 在接种其中羊痘活疫苗的动物中, 有多达 10% 的动物在接种疫苗后出现并发症, 包括注射部位形成不同大小的肿块(在某些情况下遍及全身)、短期发烧、产奶量减少和体重增量减少。

据报道 2016 年, 在俄罗斯邻国没有 LSDV 减毒活疫苗的情况下, 俄罗斯的 LSD 疫情都是由当地 LSDV 毒株引起的。2017 年哈萨克斯坦开始接种 LSDV 减毒活疫苗之后, 重组疫苗毒株沿着与之相

邻的俄罗斯边境的东部地区广泛传播^[11],该株基因组包含减毒活疫苗的主干,以及许多野生型病毒 DNA 片段,这表明了野毒株和疫苗株之间存在基因交换,并实验室条件下确定了混合感染痘病毒之间重组的可能性^[12]。

对于活疫苗而言,对临床野毒感染和疫苗免疫动物的鉴别诊断(DIVA)十分重要。Agianniotaki 等^[8]开发了靶向 GPCR 基因的双重实时定量 PCR 方法,并在三个实验室进行了评估,此方法可以用于同时检测和区分野生型和疫苗样 LSDV 毒株,并能够在疑似 LSD 病例中确认诊断。此外一项研究对 ID Gene LSD DIVA 三联体试剂盒、Bio-T 试剂盒 LSD-DIVA,以及已发表的针对 GPCR 基因、ORF008 和 ORF126 的实时荧光定量方法分析进行了评估。证实这些方法可以鉴定野毒株(欧洲源)和疫苗(Neethling 疫苗)。但是这些方法都不能正确鉴定重组毒株^[13]。

此外,值得注意的是,从 2017 年到 2019 年,在哈萨克斯坦以及俄罗斯和中国的邻近地区发现了几种 LSDV 的疫苗样重组菌株。Vandenbussche 等^[14]对此毒株进行了全基因组分析,确定疫苗免疫与病毒爆发之间存在联系。

4.2 LSDV 灭活疫苗 弱毒活疫苗有致病风险,且近些年来有疫苗毒株和野毒株发生重组的报道^[10-11],因此没有 LSD 疫情的国家不愿意使用活疫苗,使得灭活疫苗的研究成为值得关注的热点。但迄今为止,没有针对 LSDV 的商业化灭活疫苗在牛身上使用,2020 年 Hamdi 等^[15]以细胞培养的 LSD Neethling 毒株为基础,研制了一种含油性佐剂的灭活疫苗,并在保加利亚进行了实地试验。该疫苗安全可靠,无不良反应,接种后第 7 天可获得高水平特异性抗体,对于引起对照动物典型疾病症状的强毒株表现出良好的保护效果。诱导保护效果与活疫苗相似,无不良反应,并在长达一年的时间内诱导了高水平的抗体。2021 年 Es-sadeqy 等^[16]以 LSDV Neethling 株和 BTV4 为基础,研制了一种抗这两种疾病的油佐剂二价灭活疫苗,该疫苗通过了安全性测试,已证明对预防 BTV4 病毒复制有

效,进行 BTV 攻毒时,未接种疫苗和受感染的牛都没有表现出任何临床症状,且抗体持续存在 1 年以上,但是未进行 LSDV 的攻毒实验。

4.3 LSDV 活载体疫苗 由于 LSDV 基因组较大,还可以作为表达其他病原抗原的有效载体,如小反刍兽疫病毒、裂谷热病毒、狂犬病病毒、牛流行热、布鲁氏菌等。通常重组病毒采用的方法都是将外源基因通过同源重组的方式插入到 LSDV 的非必须基因中,这种方法制备的疫苗可以对多种疫病显示出较好的保护效果。

4.4 羊痘病毒活疫苗 羊痘病毒只有一种血清型,羊痘病毒、山羊痘病毒和 LSDV 在抗原性上相关,核苷酸同源性至少为 96%,属内具有交叉保护作用,因此常采用绵羊痘或山痘病毒减毒活疫苗毒株对 LSD 进行免疫预防。羊痘减毒活疫苗常通过连续传代致弱的方法降低其毒力,目前已有多个强毒株通过此方法致弱,例如 Romanian 株(SPPV)、Mysore 株(GTPV)和 KSGP O-240/KS-1 株^[17]。使用 SPPV 和 GTPV 作为 LSDV 的疫苗需要增加剂量使用,国内常用 GTPV-AV41 株山羊的 5 倍剂量对牛进行免疫^[18]。

与 SPPV 相比,GTPV 疫苗对牛的免疫保护效果似乎更好。一项研究对三种市售 LSDV 疫苗的安全性、免疫原性和效力进行了评估。研究中评估的三种疫苗包括 Neethling 疫苗、KSGP-180 疫苗 Grogan GTP 疫苗^[7]。这项研究的结果表明与其他两种疫苗相比,Grogan GTP 疫苗接种的牛在接种部位表现出更强的细胞免疫反应水平,有更高水平的免疫原性。Grogan GTP 疫苗保护了所有接种过疫苗的小牛免于 LSD 的临床症状,保护效果高于 Neethling 疫苗和 KSGP-180 疫苗^[7]。

羊痘弱毒活疫苗不仅能提供交叉保护,还能在体内诱发强大的体液免疫和细胞免疫,其生产成本相对较低,在冷链条件下可储存一年以上。

4.5 羊痘病毒灭活疫苗 灭活疫苗安全、稳定,允许与其他抗原结合制成多价疫苗,可在无病源国家应用。无疾病国家出于安全原因和国际贸易限制的影响,会对使用活疫苗犹豫不决,但目前市场上

还没有商业化灭活羊痘疫苗。摩洛哥 MCI Sante Animale 公司 Zineb Boumart 等^[19]研发出 Romanian SPPV 疫苗并与罗马尼亚 SPPV 减毒活疫苗相比较,结果显示这种疫苗提供了良好的保护作用,类似于活疫苗,其特异性抗体从接种疫苗后 7 d 开始出现,并持续 9 个月。

灭活疫苗的病毒粒子不具有完整的囊膜,不能有效刺激机体的免疫保护,通常只提供短期的保护效果,而且灭活疫苗通常不能激活有效的细胞免疫,但羊痘病毒的免疫反应主要是细胞免疫,故而效果不是很好。使用灭活疫苗应被视为紧急情况下的短期解决方案,因为灭活疫苗提供的保护可能不会持续很长时间,需要每 6~12 个月进行一次加强接种^[20]。

据报道,使用二联疫苗进行免疫注射可以有效节约农户成本,减少多次注射的限制,具有更大的疫苗接种范围。目前已经有一些联合疫苗的报道,一种针对炭疽和梭状芽孢杆菌感染的福尔马林灭活 SPV 疫苗已经过测试^[21]。在另一项试验中, Hosaman 等^[22]研制了 SPV 与炭疽结合的二联疫苗。近些年,学者研发了 SPV 与小反刍兽疫(PPR)的联合疫苗来预防这两种疾病,并在摩洛哥和其他非洲国家大规模使用^[23-25]。

5 LSDV 的诊断方法研究进展

易于诊断的 LSD 典型临床症状常见于重症重病例。牛丘疹性口炎、牛疱疹病毒 2 型感染、蚊虫叮咬等症状,与较轻的 LSDV 病例难以区分。对于 LSDV 的确诊快速准确的检测方法必不可少,利用抗原抗体结合的检测方法包括酶联免疫吸附实验以及病毒中和实验等免疫学方法,但特异性较差,通常无法与羊痘病毒区分。

常规 PCR、实时荧光定量 PCR、环介导等温扩增、高分辨率溶解曲线分析等分子生物学的检测方法也广泛应用。Lamien 等^[26]设计了针对 SPPV RPO30 蛋白基因 21 bp 缺失区域的引物,可以检测出 172 bp 的 LSDV 和 GTPV 阳性产物,而 SPPV 阳性产物为 151 bp,与其他病毒无交叉反应特异性良好。2022 年伍子昂等^[28]建立了一种 TaqMan 实时

荧光定量 PCR 方法,与其他牛病病毒以及山羊痘弱毒疫苗 AV41 不发生交叉反应,且与 WOA 推荐的普通 PCR 方法符合率为 96.7%,敏感性、特异性和重复性较好。Tesfaye 等^[27]根据 B22R 基因同源物序列 Tm 均值差异,建立了羊痘病毒属通用 HRM 方法,准确检出羊痘病毒属病毒细胞培养及临床样品且特异性良好。Yana 等^[29]建立了检测限均为 0.1TCID₅₀且可以区分 LSDV 野毒株与疫苗株的 HRM 方法。此外数字 PCR、微控流等新型技术也是未来的研究方向。

6 结语

自 2019 年 LSD 传入我国,此病对养牛业产生了重大经济影响,4 年以来全国各地均有发病,主要使用羊痘弱毒活疫苗对其预防,对发病牛采取扑杀或整群退回。目前针对 LSDV 的疫苗都是减毒活疫苗多为连续传代致弱的方法,疫苗毒株的减毒是由病毒基因组中的自发突变引起,不但影响毒力基因,还可能影响宿主范围基因、病毒复制必需基因,这种方法非常慢且费工。减毒活疫苗的接种会引起不同程度并发症,且会形成重组病毒造成新的 LSD 疾病流行。因此,有必要在目前研究的基础上,开发一种针对结节性皮肤病的安全、有效的疫苗。

LSDV 中存在许多与宿主免疫系统调节有关的非必需基因,利用分子生物学方法修改病毒基因组,使病毒毒力减弱,从而显著改变病毒的致病性和免疫原性,多个基因缺失可以减少病毒毒力反强的可能性,可以获得更安全有效的疫苗,但目前有限的研究仅对少数基因靶点进行了评估。

总之,开发针对 LSD 安全有效的理想疫苗并建立鉴别诊断的血清学方法,将有助于该病的防控,减少农户的经济损失,防止其对我国养牛业进一步的危害。

参考文献:

- [1] 赛力克·巴合达吾列提,刘存,刘砚涵,等.牛结节性皮肤病研究进展[J].中国兽医杂志,2020,56(12):73-76.
Sailik B H, Liu C, Liu Y H, et al. Research Progress on lump

- skin disease[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2020, 56(12): 73-76.
- [2] 景志忠, 贾怀杰, 陈国华, 等. 牛结节性皮肤病的流行现状与传播特征及其我国的防控策略[J]. 中国兽医科学, 2019, 49(10): 1297-1304.
- Jing Z Z, Jia H J, Chen G H, *et al.* Development status of prevention and control technology to bovine lumpy skin disease and its strategy in China [J]. Chinese Veterinary Science, 2019, 49(10): 1297-1304.
- [3] 张敏敏, 孙亚杰, 刘文兴, 等. 我国首次牛结节性皮肤病病毒的分离鉴定[J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42(10): 1058-1061.
- Zhang M M, Sun Y J, Liu W X, *et al.* Isolation and identification of lumpy skin disease virus from the first outbreak in China [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2020, 42(10): 1058-1061.
- [4] Tulman E R, Afonso C L, Lu Z, *et al.* The genomes of sheeppox and goatpox viruses [J]. Journal of Virology, 2002, 76(12): 6054-6061.
- [5] Ayelet G, Abate Y, Sisay T, *et al.* Lumpy skin disease: Preliminary vaccine efficacy assessment and overview on outbreak impact in dairy cattle at Debre Zeit, central Ethiopia [J]. Antiviral Research, 2013, 98(2): 261-265.
- [6] Agianniotaki E I, Tasioudi K E, Chaintoutis S C, *et al.* Lumpy skin disease outbreaks in Greece during 2015-16, implementation of emergency immunization and genetic differentiation between field isolates and vaccine virus strains [J]. Veterinary Microbiology, 2017, 201: 78-84.
- [7] Gari G, Abie G, Gizaw D, *et al.* Evaluation of the safety, immunogenicity and efficacy of three capripoxvirus vaccine strains against lumpy skin disease virus [J]. Vaccine, 2015, 33(28): 3256-3261.
- [8] Agianniotaki E I, Chaintoutis S C, Haegeman A, *et al.* Development and validation of a TaqMan probe-based real-time PCR method for the differentiation of wild type lumpy skin disease virus from vaccine virus strains [J]. Journal of Virological Methods, 2017, 249: 48-57.
- [9] Agianniotaki E I, Babiuk S, Katsoulos P-D, *et al.* Colostrum transfer of neutralizing antibodies against lumpy skin disease virus from vaccinated cows to their calves [J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2018, 65(6): 2043-2048.
- [10] Tuppurainen E S, Pearson C R, Bachanek-Bankowska K, *et al.* Characterization of sheep pox virus vaccine for cattle against lumpy skin disease virus [J]. Antiviral Res, 2014, 109: 1-6.
- [11] Sprygin A, Pestova Y, Bjadovskaya O, *et al.* Evidence of recombination of vaccine strains of lumpy skin disease virus with field strains, causing disease [J]. Plos One, 2020, 15(5): e0207480.
- [12] Sprygin A, Babin Y, Pestova Y, *et al.* Analysis and insights into recombination signals in lumpy skin disease virus recovered in the field [J]. Plos One, 2018, 13(12): e0232584.
- [13] Byadovskaya O, Pestova Y, Kononov A, *et al.* Performance of the currently available DIVA real-time PCR assays in classical and recombinant lumpy skin disease viruses [J]. Transboundary and Emerging Diseases, 2021, 68(6): 3020-3024.
- [14] Vandebussche F, Mathijs E, Philips W, *et al.* Recombinant LSDV strains in Asia: vaccine spillover or natural emergence [J]. 2022, 14(7): 1429.
- [15] Hamdi J, Boumart Z, Daouam S, *et al.* Development and evaluation of an inactivated lumpy skin disease vaccine for cattle [J]. Veterinary Microbiology, 2020, 245: 108689.
- [16] Es-sadeqy Y, Bamouh Z, Ennahli A, *et al.* Development of an inactivated combined vaccine for protection of cattle against lumpy skin disease and bluetongue viruses [J]. Veterinary Microbiology, 2021, 256: 109046.
- [17] Boshra H, Thang T, Nfon C, *et al.* Capripoxvirus-vectored vaccines against livestock diseases in Africa [J]. Antiviral Research, 2013, 98(2): 217-227.
- [18] 何宇乾, 段笑笑, 刘枢清, 等. 羊痘病毒活载体疫苗研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019, 15: 51-54.
- He Y Q, Duan X X, Liu S Q, *et al.* Progress in the study of live vector vaccines against sheeppox virus [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2019, 15: 51-54.
- [19] Boumart Z, Daouam S, Belkourati I, *et al.* Comparative innocuity and efficacy of live and inactivated sheeppox vaccines [J]. BMC Vet Res, 2016, 12(1): 133.
- [20] Kitching R P. The control of sheep and goat pox [J]. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics), 1986, 5(2): 503-511.
- [21] Awad M, Michael A, Soliman S M, *et al.* Trials for preparation of inactivated sheep pox vaccine using binary ethyleneimine [J]. Egypt J Immunol, 2003, 10(2): 67-72.
- [22] Kadymov R A. Combined vaccination of sheep against anthrax, pox and anaerobic infections [J]. Veterinariia, 1975(2): 50-52.
- [23] Hosamani M, Singh S K, Mondal B, *et al.* A bivalent vaccine against goat pox and Peste des Petits ruminants induces protective immune response in goats [J]. Vaccine, 2006, 24(35/36):

6058 – 6064.

- [24] Fakri F, Ghzal F, Daouam S, *et al.* Development and field application of a new combined vaccine against Peste des Petits ruminants and sheep pox [J]. *Trials in Vaccinology*, 2015, 4: 33 – 37.
- [25] Fakri F, Embarki T, Baha W, *et al.* Large mass vaccination of small ruminants against Peste des Petits ruminants and Sheeppox using a combined live attenuated vaccine [J]. *Journal of Veterinary Medicine and Research*, 2020, 7: 1200.
- [26] Lamien C E, Le Goff C, Silber R, *et al.* 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 Goatpoxvirus from Sheeppoxvirus [J]. *Veterinary Microbiology*, 2011, 149(1/2): 30 – 39.
- [27] Chibssa T R, Settypalli T B K, Berguido F J, *et al.* An HRM assay to differentiate sheeppoxvirus vaccine strains from sheeppoxvirus field isolates and other capripoxvirus species [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1):1 – 8.
- [28] 伍子昂, 南文龙, 吴晓东, 等. 牛结节性皮肤病病毒 TaqMan 实时荧光定量 PCR 方法的建立与应用[J]. *畜牧与兽医*, 2022, 54(11): 100 – 105.
- Wu Z A, Nan W L, Wu X D, *et al.* Establishment and application of a TaqMan real – time PCR assay for detection of lumpy skin disease virus [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 54(11): 100 – 105.
- [29] Pestova Y, Byadovskaya O, Kononov A, *et al.* A real time high – resolution melting PCR assay for detection and differentiation among sheeppoxvirus, goatpoxvirus, field and vaccine strains of lumpy skin disease virus [J]. *Molecular and Cellular Probes*, 2018, 41: 57 – 60.

(编辑:李文平)