Berita Biologi
LIPI
Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

10.14203/beritabiologi.v20i1.3991
P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

ULASAN LUMPY SKIN DISEASE: PENYAKIT INFEKSIUS BERPOTENSI MENGANCAM KESEHATAN SAPI DI INDONESIA

[*Review of Lumpy Skin Disease: An infectious disease potentially threaten the health of cattle in Indonesia*]

Ni Luh Putu Indi Dharmayanti*✉, Diana Nurjanah

Badan Riset dan Inovasi Nasional
Cibinong Science Center
Jl. Raya Jakarta-Bogor, Pakansari, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16915
email : nlpdharmayanti@gmail.com

ABSTRACT

Lumpy Skin Disease (LSD) is a viral disease in cattle and water buffaloes caused by the LSD virus. This virus belongs to the *Poxviridae* family, the genus *Capripoxvirus* along with two other virus species, namely *Goatpox* and *Sheeppox*. Even though LSD is not a *zoonotic* disease, LSD infection can reduce production and reproduction performance in cattle and water buffalo causing significant economic losses in various aspects included the decreased milk production, weight loss, abortion, infertility to death. Even though, Indonesia is a free country with low risk and potentially to moderate risk, however, it must be aware of the entry and outbreak of this virus. This paper reviewed the molecular characterization of the LSD virus which is an important step in the process of understanding the mechanisms of viral pathogenicity, viral transmission and viral epidemiology, as well as development of more effective diagnostic kits, reagents and vaccines.

Key words: *Lumpy Skin Disease, molecular characterization, transmission, vaccine.*

ABSTRAK

Lumpy Skin Disease (LSD) merupakan penyakit viral pada bangsa sapi dan kerbau air yang disebabkan oleh virus LSD. Virus ini termasuk ke dalam *family Poxviridae*, genus *Capripoxvirus* bersama dengan dua spesies virus lainnya yaitu *Goatpox* dan *Sheeppox.* Meskipun LSD bukan penyakit *zoonosis*, namun infeksi LSD dapat menurunkan performa produksi dan reproduksi pada sapi dan kerbau air yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan dalam berbagai aspek di antaranya penurunan produksi susu, penurunan berat badan, abortus, dan infertilitas hingga kematian. Meskipun Indonesia sebagai negara bebas dengan risiko rendah dan berpotensi sedang, namun perlu diwaspadai akan masuknya dan mewabahnya virus ini. Dalam tulisan ini diulas karakterisasi molekuler dari virus LSD yang menjadi langkah penting dalam proses pemahaman mekanisme patogenesitas virus, transmisi virus dan epidemiologi virus, pengembangan reagen kit diagnostik, dan vaksin yang lebih efektif.

Kata kunci: *Lumpy Skin Disease*, *karakterisasi molekuler*, *transmisi, vaksin*

PENDAHULUAN

Lumpy Skin Disease (LSD) merupakan penyakit viral pada bangsa sapi dan kerbau air yang disebabkan oleh virus LSD. Virus ini termasuk ke dalam famili *Poxviridae*, genus *Capripoxvirus* bersama dengan dua spesies virus lainnya yaitu *Goatpox* dan *Sheeppox* (OIE, 2017). Virus LSD adalah virus DNA dengan panjang genom 150.773 bp, memiliki 156 *open reading frames* (ORF) yang dianotasikan sebagai gen putatif. Meskipun LSD bukan penyakit zoonosis, namun infeksi LSD dapat menurunkan performa produksi dan reproduksi pada sapi dan kerbau air yang menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan dalam berbagai aspek di antaranya penurunan produksi susu, penurunan berat badan, abortus, dan infertilitas (Abutarbush *et al*., 2015; OIE, 2017). Gejala klinis infeksi LSD yaitu demam, lesi ekstensif pada kulit berupa nodul dengan ukuran 5–20 mm, pembesaran nodus limfa tikus, peningkatan opasitas kornea, gangguan respirasi disertai dengan leleran hidung/ingus, penurunan nafsu makan dan depresi (Annandale *et al*., 2010; Babiuk *et al*., 2008). Sapi dan kerbau air dapat tertular penyakit ini akibat gigitan caplak dan serangga penghisap darah. Penularan virus LSD melalui kontak langsung juga dapat terjadi meskipun dianggap kurang efektif (Roche *et al*., 2020). Bentuk penyakit ini bervariasi, mulai dari subklinis, akut, subakut, dan kronis dengan angka morbiditas mencapai 100% dan angka mortalitas bervariasi (1–3%) tergantung dari sensitivitas inang dan populasi vektor serangga (Salib dan Osman, 2011).

LSD pertama kali ditemukan di Zambia pada tahun 1929 dan menjadi endemik di sebagian besar negara di benua Afrika. Penyakit ini termasuk ke dalam daftar penyakit pada sapi menurut OIE. Pada tahun 2012, virus LSD menyebar secara luas ke Timur Tengah, Eropa Tenggara, Balkan, Kaukasus dan Kazakhstan. Pada tahun 2013, virus LSD ditemukan mewabah di Turki dan lebih lanjut mewabah di Bulgaria pada tahun 2016

*Diterima: 30 September 2020 - Diperbaiki: 2020 - Disetujui: 2020

(Tuppurainen dan Galon, 2016). Tindakan pencegahan yang dapat dilakukan yaitu pemberian vaksinasi, pengawasan lalu lintas ternak, kontrol vektor, penerapan *biosecurity* pada peternakan dan monitoring serta *surveilans* secara berkala. Pemusnahan hewan terinfeksi dan hewan kontak disarankan untuk negara bebas yang pertama kali mengalami wabah virus LSD. Deteksi awal penyakit dianggap sangat penting untuk menentukan kebijakan sehingga dapat menurunkan kemungkinan penyebaran virus secara luas oleh vektor serangga penghisap darah.

Lumpy skin disease merupakan penyakit yang berdampak signifikan terhadap perdagangan dan ketahanan pangan. Dalam tulisan ini diulas karakterisasi molekuler dari virus LSD yang menjadi langkah penting dalam proses pemahaman mekanisme patogenesitas virus dan epidemiologi virus, pengembangan reagen kit diagnostik, dan vaksin yang lebih efektif.

BIOLOGI MOLEKULER

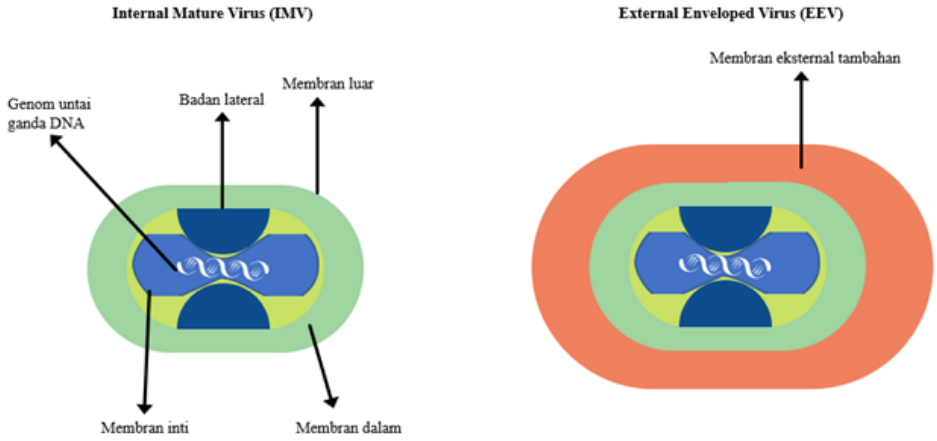
a. Struktur virus

Famili *poxvirus* memiliki ukuran virion yang lebih besar jika dibandingkan dengan kebanyakan virus lainnya. *Chordopoxvirinae* dibagi menjadi dua kluster secara filogenetik. Kluster pertama dibentuk oleh genus *Orthopoxvirus* (OPV), sedangkan kluster kedua dibentuk oleh genera *Yatapoxvirus*, *Leporipoxvirus*, *Capripoxvirus*, *Cervidpoxvirus,* dan *Suipoxvirus* (Hughes dan Friedman, 2005). Inang dari *Capripoxvirus* adalah hewan ruminansia, termasuk sapi, kambing dan domba. Virus *lumpy skin disease* (LSDV) termasuk ke dalam genus *Capripoxvirus* bersama dengan virus *sheeppox* dan *goatpox.* Nomenklatur dari spesies *Capripoxvirus* didasarkan pada spesies hewan di mana virus pertama kali diisolasi (Fields *et al*., 2001). Spesies *capripoxvirus* sangat sulit dibedakan baik secara morfologi dan serologi, dan hanya dapat dibedakan secara pasti melalui karakterisasi molekuler (Kitching, 1986). Secara mikroskopis, *Capripoxvirus* memiliki bentuk seperti bata (*brick shape*) dengan inti bikonkaf yang memiliki genom dalam kumparan atau tabung berlipat tiga. Virion LSD memiliki ukuran morfologi dengan rata-rata panjang 294±20 dan lebar 262±22 nm (Kitching dan Smale, 1986).

Poxvirus memiliki dua buah bentuk virion infektif yaitu *intracellular mature virion* (IMV) dan *extracellular enveloped virion* (EEV) (Gambar 1) (Fenner *et al*., 1987; Knowles, 2011; Moss, 2006). IMV dan EEV memiliki perbedaan pada komposisi membran yang dihasilkan ketika proses morfogenesis. Partikel IMV memiliki lapisan *envelope* luar yang terdiri dari lipid dan protein virus, sedangkan EEV adalah partikel IMV yang dilapisi oleh membran *lipid bilayer* tambahan. Proses infeksi sel oleh IMV dapat terjadi melalui fusi secara langsung dengan membran plasma atau dapat dibawa melalui vesikel yang kemudian berfusi dengan membran endosomal vesikel. Sedangkan proses infeksi oleh EEV dapat terjadi melalui proses yang sama dengan IMV atau dengan mekanisme lain melalui fagositosis dengan hasil akhir pelepasan inti virion ke dalam sitoplasma sel terinfeksi. Partikel EEV dibutuhkan untuk transmisi virus di antara sel dan jaringan pada hewan terinfeksi, sedangkan IMV berperan dalam penyebaran infeksi di antara individu. Hal tersebut disebabkan karena IMV lebih stabil di lingkungan eksternal dibandingkan dengan EEV (Acheson, 2011).

b. Genom virus

Virus LSD yang termasuk ke dalam genus *capripoxvirus* adalah virus DNA yang memiliki akhiran *hairpin loops* seperti *poxvirus* pada umumnya. Tulman *et al*., (2001) menyatakan bahwa genom isolat virus LSD Neethling 2490 yang diisolasi di Kenya pada tahun 1958 adalah sebesar 150.773 bp, sesuai dengan estimasi ukuran sebelumnya yaitu 145–152 kbp. Komposisi nukleotida virus LSD didominasi oleh A+T (73%) yang terdistribusi secara merata (*uniform*). Genom virus LSD memiliki *central coding region* yang terikat oleh dua *identical inverted terminal repeat (ITR) region* (2.418 bp pada setiap termini) dan memiliki 156 ORF sebagai gen putatif. *Central coding region* virus LSD yang berada pada ORF024 dan ORF123 memiliki gen yang homolog dengan *poxvirus* yang terlibat dalam proses replikasi virus, termasuk replikasi DNA virus, transkripsi, modifikasi RNA, *assembly* virus dan protein struktural virus baik pada IMV dan EEV. Sedangkan gen yang terlibat dalam penentuan inang, penginduksi kekebalan dan virulensi terletak di sekitar *central coding region.* Gen pada *poxvirus* tidak memiliki intron, namun setiap gen memiliki promoter transkripsionalnya masing-masing. Berdasarkan pengaturan dari promoter spesifik, virus LSD memiliki tiga macam gen yaitu *early*, *intermediate* dan *late* (Acheson 2011; Tulman *et al*., 2001; Tuppurainen, Babiuk, and Klement 2018).



Gambar 1. Dua bentuk virion infektif yaitu *intracellular mature virion* (IMV) dan *extracellular enveloped virion* (EEV) *poxvirus*. Modifikasi dari *Swiss Institute of Bioinformatics* 2008. (*Schematic of two forms of infective virions, namely intracellular mature virion* (*IMV*) *and extracellular enveloped virion (EEV) poxvirus. Modification of the Swiss Institute of Bioinformatics 2008*).

Genom isolat virus Evros/GR/15 yang diisolasi dari kasus wabah pertama di Yunani pada tahun 2015 telah berhasil dikarakterisasi dengan sekuensing secara utuh. Isolat virus Evros/GR/15 memiliki genom sebesar 150.554 bp dengan konten G+C sebesar 25.89% yang terdistribusi secara merata. Isolat virus Evros/GR/15 memiliki 145.935 bp *central coding region* yang diapit oleh dua *identical inverted terminal repeat (ITR)* region sebesar 2.190 bp pada setiap termini. Isolat virus Evros/GR/15 memiliki kemiripan sebesar 99.8% dengan isolat virus LSD Neethling Warmbaths LW (Agianniotaki *et al*., 2017).

Sekuensing genom virus secara utuh juga dila kukan pada virus isolat Serbia/Bujanovac/2016 yang diisolasi ketika wabah di area Balkan. Isolat virus Serbia/Bujanovac/2016 memiliki genom sebesar 150.661 bp dengan daerah *central coding region* yang terikat oleh dua *identical inverted terminal repeat (ITR)* region sebesar 2.357 bp pada setiap termini dan memiliki 156 gen yang mengkode protein virus LSD. Isolat virus Serbia/ Bujanovac/2016 memiliki kemiripan nukleotidase sebesar 99.95% dengan virus virulen strain Neethling Warmbaths LW Afrika Selatan dan 99.99% dengan virus strain Evros/GR/15 (Toplak *et al*., 2017).

Virus LSD memiliki kemiripan genetik sebesar 96% dengan SPPV dan GTPV. Perbedaan di antara spesies genus tersebut terletak pada sembilan gen virus LSDV yang tidak dimiliki oleh SPPV dan GTPV. Sembilan gen tersebut adalah LSDV002, LSDV004, LSDV009, LSDV013, LSDV026, LSDV132, LSDV136, LSDV153 dan LSDV155 yang dianggap memiliki peran dalam *virulensi* dan rentang inang spesifik pada bangsa sapi (Tulman *et al.*, 2002).

Berbeda dengan virus DNA pada umumnya, *poxvirus* bereplikasi pada sitoplasma sel terinfeksi. Ukuran genom yang besar memungkinkan *poxvirus* untuk mengkode berbagai enzim yang terlibat dalam metabolisme RNA dan DNA. Virus LSD memi liki gen yang homolog dengan *poxvirus* di antaranya 26 gen yang mengkode subunit RNA *polimerase*, inisiasi transkripsi mRNA, elongasi dan faktor terminasi serta enzim yang secara langsung terlibat dalam proses post-transkripsional mRNA virus. Selain itu, terdapat tujuh gen yang berperan dalam replikasi DNA termasuk LSDV039 DNA polimerase, LSDV077 DNA *topoisomerase*, LSDV082 *urasil* DNA *glikosilase*, LSDV083 *NTPase*, LSDV112 faktor prosesi DNA *polimerase*, LSDV133 DNA *ligase*, dan LSDV139 Ser/Thr *protein kinase*. Virus LSD memiliki 30 protein struktural yang homolog dengan *poxvirus* yang terlibat dalam *morfogenesis* dan perakitan virion di antaranya adalah protein yang berada dalam inti (LSDV048, LSDV057, LSDV063, LSDV094, LSDV095, LSDV126 dan LSDV141), intra seluler IMV (LSDV074, LSDV100, LSDV104 dan LSDV105) dan protein membran EEV (LSDV028, LSDV122, LSDV123, LSDV126 dan LSDV141). Sementara itu, virus LSD juga memiliki protein yang terlibat dalam metabolisme *nukleotidaya* yaitu LSDV018 *dUTPase*, LSDV020 *ribonukleotida reduktase* and LSDV066 *thymidine kinase* (Acheson 2011; Tulman *et al*., 2001; Tuppurainen, Babiuk, dan Klement 2018).

Virus LSD mampu mengkode gen komplemen unik yang digunakan untuk menentukan sifat

rentang inang spesifiknya. Dalam menentukan rentang inang dan tropisme jaringan, virus LSD memiliki gen LSDV016 *EGF-like growth factor*, LSDV034 *PKR inhibitor*, LSDV067 *host range protein*, LSDV104 *N1R-/ p28-like host range RING finger protein* dan *ankyrin repeat protein* LSDV012, LSDV145, LSDV147, LSDV 148 serta LSDV152 (Acheson, 2011; Tuppurainen *et al*., 2018).

Virulensi, tropisme sel dan respon apoptosis virus LSD diperankan oleh beberapa protein di antaranya LSDV003 *ER-localized apoptosis regulator*; LSDV016 *EGF-like growth factor*; LSDV017 *integral membrane protein apoptosis regulator*; LSDV067 *host range protein*; LSDV106 *virulence factor*; LSDV140 *N1R/p28-like host range RING finger protein* dan LSDV142 *secreted virulence factor*. Virus LSD memiliki lima protein yang mengkode *ankyrin repeat motif* yaitu LSDV012; LSDV145; LSDV147; LSDV148 dan LSDV152 yang dihubungkan dengan fungsinya dalam menentukan kisaran inang. *Ankyrin repeat motif* ditemukan lebih sedikit dalam genera *Capripoxvirus*, *Leporipoxvirus*, *Suipoxvirus*, *Yatapoxvirus* dan *Cervidpoxvirus*. Semakin besar jumlah *ankyrin repeat motif* pada genom mengindikasikan potensi kisaran inang yang luas diantara genera. Selain itu, virus LSD memiliki tiga gen homolog *poxvirus* yang menyerupai enzim seluler. Tiga gen tersebut adalah LSDV131 homolog *Cu-Zn superoxide dismutase*, LSDV143 homolog enzim *tyrosin protein kinase* dan LSDV146 homolog *phospholipase D-like protein* yang sejauh ini hanya ditemukan pada virus vaccinia dan LSD (Tulman *et al*., 2001; Tuppurainen *et al*., 2018).

EPIDEMIOLOGI

Bentuk penyakit

Penyakit yang disebabkan oleh virus LSD ini awalnya dianggap sebagai "*pseudo-urticaria*" akibat hipersensitivitas, keracunan dan gigitan serangga. Pada tahun 1943–1945, penyakit "*pseuodo-urticaria*" diketahui sebagai penyakit infeksius pada bangsa sapi yang disebabkan oleh virus *Lumpy Skin Disease* (LSD) (Backstrom, 1945). Meskipun virus LSD dianggap memiliki inang spesifik dari bangsa sapi, namun virus ini dapat ditemukan pada beberapa spesies hewan lain seperti kerbau air, domba, *Arabian oryx* dan *springbok*. Virus LSD juga dapat ditemukan pada jerapah dan impala di bawah kondisi penelitian (Tuppurainen *et al.*, 2017). Tingkat keparahan penyakit LSD dipengaruhi oleh virulensi virus, imunitas inang, umur dan bangsa inang. Pedet, sapi laktasi dan sapi dengan kondisi malnutrisi dapat terinfeksi virus LSD dengan tingkat keparahan yang lebih tinggi karena memiliki imunitas seluler yang kurang baik. Penyakit LSD juga menyebabkan gejala klinis pada kulit yang lebih parah pada sapi perah *Friesian Holstein* dibandingkan dengan bangsa sapi lokal (*Bos Indicus*) (Tageldin *et al*., 2014). Hal tersebut dianggap akibat dari faktor genetik dan manajemen peternakan yang membuat sapi perah mudah *stress* sehingga menimbulkan tingkat penyakit yang lebih parah. Hubungan LSD dengan faktor risiko usia, jenis kelamin, dan wilayah menunjukkan bahwa terdapat peningkatan yang signifikan dalam prevalensi penyakit pada sapi dengan umur >2–5 tahun (54.93%) dibandingkan kelompok usia lain (>5 dan <2 tahun); pada sapi betina (73.24%) dibandingkan sapi jantan (26.76%); dan di sub-pedesaan (42.25%) dan pedesaan (39.44%) dibandingkan dengan perkotaan (18.31%) (Gharban *et al*., 2019). Data tersebut menunjukkan bahwa prevalensi LSD lebih tinggi pada sapi dengan umur tua, sapi betina dan sapi dengan pemeliharaan di daerah pedesaan.

Gejala klinis terkarakterisasi dengan terbentuknya nodul pada lapisan kulit epidermis, dermis, subkutan hingga otot dengan ukuran yang bervariasi yaitu 2–5 cm. Nodul dapat ditemukan pada berbagai bagian tubuh utamanya di kepala, leher, punggung, perineum, ambing, testis, ekor, dan kaki. Nodul memiliki karakteristik keras, sedikit menonjol, dan dikelilingi cincin hemoragi yang membatasi dengan kulit normal. Penyakit ini juga menyebabkan edema pada kaki dan kepala, pembesaran nodus limfa (prescapular, supramammary, dan prefemoral), hipersalivasi, lakrimasi, leleran hidung yang bersifat mukoid hingga mukopurulen, kepincangan, emasiasi, penurunan produksi susu hingga kematian. Pada daerah ocular dapat ditemukan erosi pada mukosa konjungtiva, konjungtivitis, keratitis, sehingga menimbulkan opasitas kornea hingga kebutaan (Davies, 1982; Tageldin *et al*., 2014). Selain itu, melalui pemeriksaan post-mortem tampak lesi nodular di bagian atas sistem pencernaan (9.86%), rumen (2.82%), saluran pernapasan atas (7.04%), dan paru-paru (4.23%) (Gharban *et al*., 2019).

Berdasarkan waktu terjadinya penyakit, bentuk infeksi LSD terbagi menjadi bentuk akut, subakut dan kronis. Penyakit dalam bentuk akut menyebabkan timbulnya nodul dengan warna merah keabuan dan edema pada dermis serta jaringan subkutan dengan akumulasi cairan serosa berwarna merah keabuan. Pada kasus akut yang parah, terjadi edema pada tubuh bagian bawah sebelum timbulnya nodul. Pada kasus subakut, timbulnya noduldi diikuti dengan deskuamasi lesi nekrotik yang ada di kulit hingga di teracak kaki. Lesi kulit menjadi keras dan mengelupas menyebabkan terbentuknya *ulser*/ulkus yang dalam dan diisi oleh jaringan granulasi atau pus (nanah).

Sedangkan dalam bentuk penyakit kronis, nodul mengalami fibrosis dan mengeras (Weiss, 1968). Berdasarkan pengujian secara eksperimental pada hewan peka, infeksi LSD menyebabkan bentuk klinis penyakit berupa terbentuknya nodul pada lokasi injeksi dengan diameter mencapai 4 cm setelah infeksi disertai dengan lesi berbentuk targetoid dengan pusat berwarna merah dan dengan diameter kurang dari 0.5 cm dikelilingi oleh zona berwarna merah muda terang hingga diameter 1 cm, serta dikelilingi oleh garis merah tua berbatas tegas. Lesi targetoid berbentuk datar dan kemudian berubah warna menjadi coklat tua hingga hitam. Sebagian besar sapi yang diinfeksi menunjukkan gejala klinis pembesaran nodus limfa dan peningkatan suhu tubuh mencapai 39^{o}C hingga 40.6^{o}C (Sanz-Bernardo *et al*., 2020).

Pada sapi jantan, nodul/lesi dapat terjadi di skrotum, preputium, gland penis dan parenkim testis. Orchitis akut, fibrosis dan atropi testis dapat terjadi sehingga menghasilkan infertilitas yang bersifat sementara hingga permanen. Virus LSD dapat ditemukan pada semen sapi jantan dalam periode waktu yang lama, sehingga transmisi virus ini dapat terjadi ketika kawin alam atau melalui inseminasi buatan. Prosesi pada pembuatan semen beku pada umumnya tidak mampu mengeliminasi virus LSD dari semen. Di sisi yang lain, penambahan tripsin pada semen beku mampu menurunkan virus pada semen namun dengan efek samping penurunan kualitas semen. Pada sapi betina, timbulnya lesi pada organ reproduksi juga dapat menimbulkan infertilitas, sedangkan lesi pada ambing dapat menimbulkan infeksi sekunder dari bakteri penyebab mastitis hingga terjadi penurunan produksi susu yang signifikan (Annandale *et al*., 2018; Henning, 1956).

Pemeriksaan histopatologi pada nodul menunjukkan adanya nekrosis multifokal, radang pada dermis dan epidermis dengan sel radang yang didominasi oleh limfosit, sedikit makrofag dan eosinofil. *Nekrosis* adalah ciri khas dari lesi nodul kulit dalam bentuk subakut dan kronis. Pada lesi yang berkembang dengan baik, dermis dan epidermis seluruhnya digantikan oleh jaringan nekrotik. Sejumlah besar sel histiositik dan fibroblast terdapat di tepi jaringan nekrotik. Badan inklusi dapat ditemukan pada sel mononuklear. Pembuluh darah mengalami vaskulitis, perivaskulitis, perivaskular nekrosis dan thrombosis, sedangkan pembuluh darah arteri mengalami penebalan pada tunika media dan penyempitan lumen pembuluh darah (Tageldin *et al*., 2014). Pemeriksaan dengan mikroskop elektron menunjukkan virion LSD berhasil dideteksi pada berbagai jenis jaringan, termasuk histiosit dan fibroblast namun tidak ditemukan pada sel endotel (Sanz-Bernardo *et al*., 2020). Studi lain menyatakan hasil analisis histopatologi biopsy nodular kulit menunjukkan lesi berupa edema, hiperemia, akantosis, degenerasi hidropik berat, dan hiperkeratosis pada epidermis, sedangkan infiltrasi sel mononuklear, badan inklusi, dan vaskulitis terdeteksi pada dermis (Gharban *et al*., 2019).

Infeksi LSD dilaporkan menyebabkan perubahan parameter hematologi dan biokimia serta merangsang *stress* oksidatif. Pada sapi yang terinfeksi, hasil analisis hematologi menunjukkan *eritrositosis, trombositopenia* dan *leukopenia*. Analisis biokimia menunjukkan bahwa total protein dan kadar globulin meningkat secara signifikan, sedangkan albumin dan glukosa mengalami penurunan. Level *aspartate amino transferase* (AST), *alkaline phosphatase* (ALP), *lactate dehydrogenase* (LDH), *creatine phosphokinase* (CPK), dan kadar kreatinin meningkat tajam. Selain itu, kadar serum *glutathione* (GSH) berkurang secara nyata, di sisi yang lain *peroksidasi lipid* (MDA) dan *sitokinin inflamasi* (IL-4 dan TNF-α) ditemukan meningkat (Sanz-Bernardo *et al*., 2020).

Distribusi kejadian penyakit

Virus LSD pertama kali ditemukan di Zambia pada tahun 1929, yang kemudian teridentifikasi sebagai penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus LSD pada tahun 1940-an (Macdonald, 1931). Pada mulanya, penyakit ini diperkirakan hanya terjadi di Afrika bagian selatan, sampai penyebarannya meluas ke Afrika Tengah dan Timur pada tahun 1956 (Davies, 1982). Saat ini, virus LSD telah menyebar secara progresif dan meluas ke Afrika, Timur Tengah, Eropa Tenggara, Asia Tengah, dan baru-baru ini dilaporkan di Asia Selatan dan China (Roche *et al*., 2020).

Sejak tahun 2015, wabah LSD telah mencapai benua Eropa melalui Turki. Pada tahun 2016, wabah terjadi kembali dan meluas pada tujuh negara di Rusia yaitu Yunani, Bulgaria, (Republik) Makedonia Utara, Serbia, Kosovo, Albania dan Montenegro. Pada tahun 2019, sebanyak 131 wabah telah dilaporkan di Turki, sebagian besar wabah terjadi antara bulan April dan Oktober di bagian timur Turki. Dua puluh wabah di Turki Barat terjadi dekat dengan wilayah Thrace dan di Izmir. Pada bulan Maret hingga Oktober tahun 2019, 26 wabah LSD telah dilaporkan di enam provinsi di Rusia. Dibandingkan dengan tahun 2018, epidemi LSD di Federasi Rusia meluas ke utara dan timur di sepanjang perbatasan dengan Kazakhstan. Di Israel pada tanggal 31 Mei 2019, kasus LSD dideteksi pada beberapa pedet sapi perah di *Golan Heights* dengan populasi sapi 1.300 ekor. Meskipun sebagian besar ternak telah divaksinasi, penyakit ini terjadi pada 200 ekor sapi dara yang tidak menerima vaksinasi (Calistri *et al*., 2020). Pada tahun 2019-2020, wabah yang

disebabkan oleh virus LSD telah dilaporkan terjadi di beberapa negara di Asia termasuk Bangladesh (8 kasus), Bhutan (8 kasus), China (64 kasus), India (11 kasus) dan Nepal (10 kasus) (Roche *et al.,* 2020).

Transmisi dan Faktor Risiko

Transmisi virus LSD umunya terjadi secara *indirect* (tidak langsung) melalui serangga (Arthropoda) penghisap darah termasuk di dalamnya *biting flies* (Paslaru *et al*., 2020), nyamuk (Chihota *et al*., 2001) dan caplak (Tuppurainen *et al*., 2011) serta penularan secara iatrogenik melalui jarum suntik yang digunakan untuk pemberian obat atau vaksin pada sekelompok hewan peka (Carn dan Kitching, 1995). Transmisi secara *indirect* melalui vektor dianggap sangat berperan dalam penularan penyakit jarak dekat. Sedangkan penularan penyakit di antara ternak dengan jarak yang jauh atau antar negara dapat terjadi melalui perpindahan sapi terinfeksi atau vektor yang terbawa kendaraan pengangkut, angin atau burung (Gari *et al*., 2010; Saegerman *et al*., 2018). Hipotesis bahwa transmisi virus LSD terjadi melalui vektor diperkuat oleh penelitian bahwa wabah LSD terutama terjadi ketika musim panas dan hujan, khususnya pada daerah dataran rendah di sepanjang aliran air, sehingga penyebaran vektor sulit untuk dikontrol secara efektif (Weiss, 1968). Perubahan musim dalam hal ini juga perlu dipertimbangkan menjadi faktor meningkatnya kejadian penyakit berkaitan dengan siklus hidup serangga dan pathogen yang ditransmisikan. *Arthropoda* bersifat ektotermik, dengan suhu internalnya diatur oleh kondisi lingkungan eksternal. Tahap perkembangan larva serangga umumnya membutuhkan keberadaan air dan/atau kondisi kelembaban tertentu. Lebih jauh lagi, perkembangan dan kelangsungan hidup vektor dipengaruhi secara signifikan oleh kondisi suhu tertentu (Caminade *et al*., 2019).

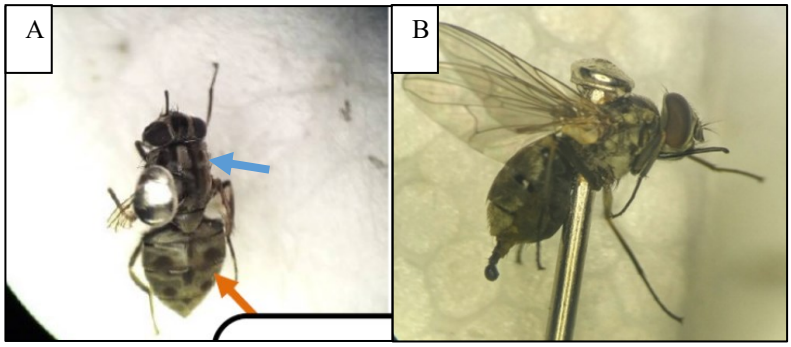
Transmisi melalui serangga penghisap darah seperti nyamuk, berperan dalam terjadinya wabah dengan lesi yang bersifat menyeluruh/sistemik (Gelaye dan Lamien, 2019). Sedangkan transmisi secara mekanik melalui lalat seperti *Stomoxys calcitrans* yang mampu memasukkan virus secara intradermal dapat terjadi secara lokal berkaitan dengan tingginya *viral load* pada lesi di kulit. Penularan secara mekanik dianggap berperan dalam menimbulkan lesi lokal pada inang (Carn dan Kitching, 1995; Knowles, 2011). *Stomoxys calcitrans* merupakan serangga yang dianggap paling memiliki peran dalam penularan virus LSD (Weiss, 1968). Lalat *S. calcitrans* menjadi penyebab wabah virus LSD di Israel pada tahun 1989 (Yeruham *et al*., 1995). Virus LSD juga berhasil diisolasi dari *S. calcitrans* yang ditangkap setelah menghisap darah sapi terinfeksi (Weiss, 1968).

Berbeda dengan pendapat sebelumnya, Chihota *et al*., (2003) menyatakan bahwa *S. calcitrans* mungkin tidak berperan secara signifikan dalam transmisi virus LSD karena tidak ditemukan virus dan asam nukelat pada *S. calcitrans* serta tidak terbentuknya antibodi pada hewan peka. Namun demikian, Issimov *et al*., (2020) melaporkan indikasi tiga spesies *Stomoxys* yaitu *Stomoxys calcitrans*, *Stomoxys sitiens*, dan *Stomoxys indica* sebagai vektor mekanik dari virus LSD. Di bawah kondisi penelitian, ketiga genus *Stomoxys* tersebut mampu menimbulkan gejala klinis berupa peningkatan suhu tubuh dengan rentang 39.5^{o}C hingga 40.1^{o}C serta gejala klinis lain berupa nodul kulit, edema pada kaki, pembengkakan kelenjar getah bening, leleran pada hidung dan mata. Informasi ini sejalan dengan studi *in vivo* yang dilakukan oleh Sohier *et al*., (2019) yang menyatakan bahwa *S.calcitrans* dan *Haematopota spp.* memiliki kemampuan sebagai vektor mekanik dalam transmisi virus LSD pada inang yang peka. Paslaru *et al*., (2020) melaporkan bahwa virus LSD yang diekskresikan melalui regurgitasi (muntahan) dan defekasi (feses) *S. calcitrans* persisten selama kurun waktu tiga hari. Gambaran specimen dari lalat *S. calcitrans* dapat dilihat pada (Gambar 2).

Nyamuk *Aedes aegypti* dianggap dapat berperan sebagai vektor mekanik virus LSD berkaitan dengan kemampuan virus LSD yang dapat bertahan hidup selama 6 hari tanpa penurunan kemampuan transmisi dan titer di bawah kondisi percobaan (Chihota *et al*., 2001). Genom virus LSD juga terdeteksi pada spesies serangga lain seperti *Anopheles stephensis*, *Culex quinquefasciatus* dan *Culicoides nubeculosus,* namun tidak ditemukan adanya transmisi yang terjadi (Chihota *et al*., 2003). Hal ini dikonfirmasi lebih lanjut oleh Gubbins, (2019) yang menyatakan bahwa *S. calcitrans* dan *Ae. aegypti* cenderung menjadi vektor virus LSD yang efisien, sedangkan *C. nubeculosus*, *An. stephensi* dan *Cx. Quinquefasciatus* kemungkinan besar bukan menjadi vektor yang efisien dalam transmisi virus LSD.

Selanjutnya, Tuppurainen *et al*., (2011) melaporkan pertama kalinya bahwa secara molekuler caplak berpotensi memiliki peran dalam transmisi virus LSD pada hewan peka. Caplak *Rhipicephalus decoloratus* berperan dalam transmisi trans-stadial dan transovarial, sedangkan caplak *Rhipicephalus apendiculatus* dan *Amblyomma hebraeum* berperan dalam transmisi secara mekanik dan intrastadial. Transmisi virus LSD secara mekanik oleh caplak jantan *R. apendiculatus* secara eksperimental dapat menyebabkan viremia dengan gejala klinis yang ringan (Tuppurainen *et al.*, 2013). Secara

transovarial, larva dari caplak betina *R. decoloratus* yang terinfeksi mampu mentransmisikan virus LSD dan menyebabkan gejala klinis yang ringan (Tuppurainen *et al*., 2013), selanjutnya caplak betina *A. hebraeum* dan *R. appendiculatus* juga



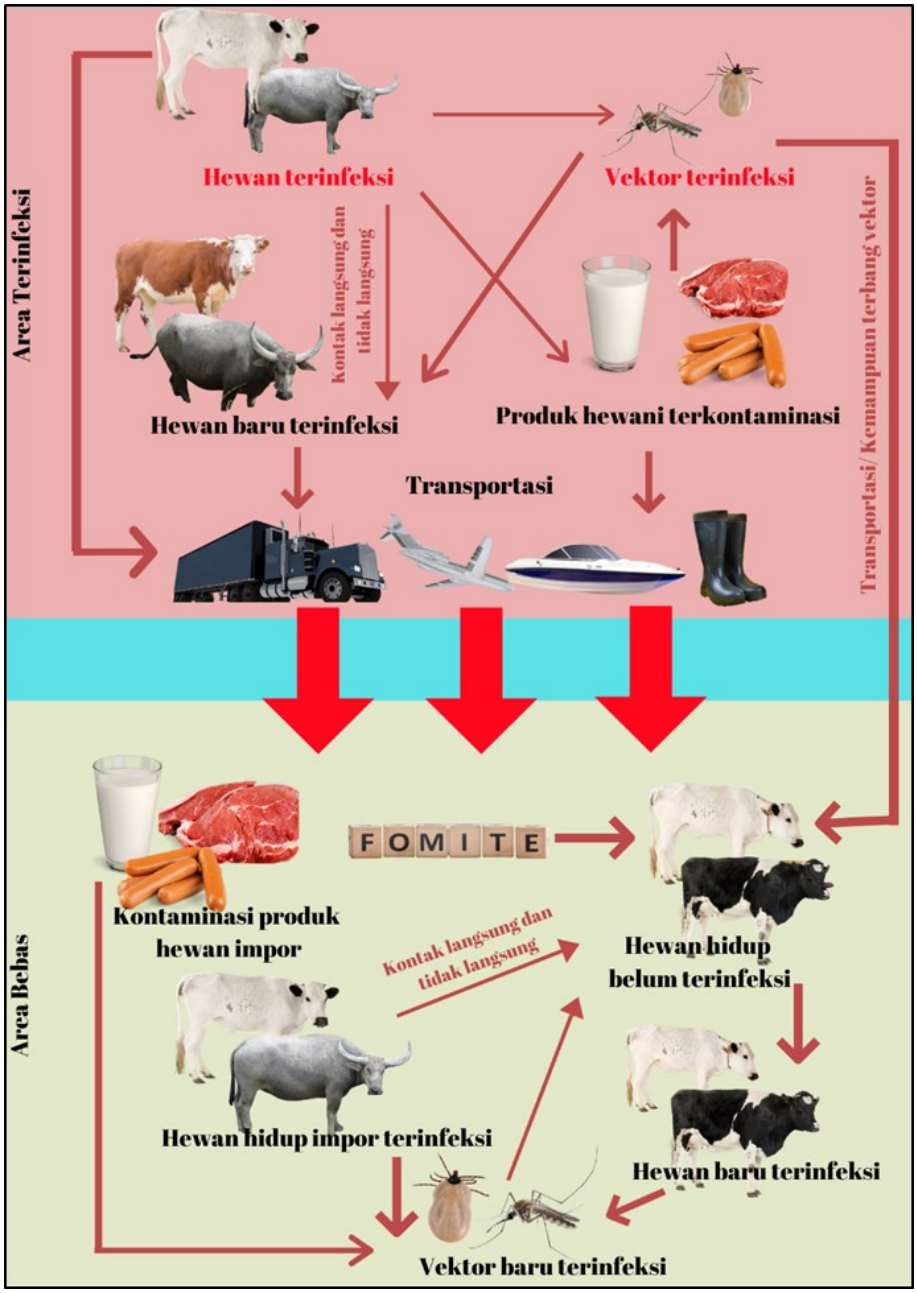
Gambar 2. Spesimen lalat *Stomoxys calcitrans* yang menjadi vektor dari LSD. Lalat ini memiliki tiga bintik hitam pada segmen kedua dan ketiga abdomen (A; panah oranye) dengan thorax berwarna abu-abu dan memiliki empat garis longitudinal yang gelap (A; panah biru); dan gambaran sisi samping dan venasi sayap dari *S. calcitrans* (*B*). (*Specimen of the Stomoxys calcitrans as the vector of LSDV.S.calcitrans has three black spots on the second and thrird segments of the abdomen* (*A; orange arrows*) *with four dark longitudinal stripes in the grey-coloured thorax* (*A; blue arrows*); *and the side view shows the pattern of S. calcitrans wing venation (b)*).

Lubinga *et al*., (2013, 2015) mengkonfirmasi lebih lanjut dengan berhasil mendeteksi virus LSD pada saliva caplak *A. hebraeum* and *R. appendiculatus* baik dalam transmisi intrastadial maupun trans-stadial. Selain itu, pengujian yang didasarkan pada deteksi antigen virus LSD melalui metode immunohistokimia pada infeksi intrastadial maupun trans-stadial caplak *A. hebraeum* and *R. appendiculatus* juga telah di laporkan. Hasil pengujian tersebut menyoroti keberadaan antigen virus yang terdeteksi di kelenjar ludah, hemosit, synganglia, ovarium, testis, lapisan lemak, dan *midgut*. Berkaitan dengan kemampuan virus dalam menembus dinding *midgut* dan menginfeksi berbagai organ caplak, hal ini mungkin mengindikasikan potensi perkembangan dan transmisi secara biologis dari virus LSD dalam tubuh caplak tersebut (Lubinga *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil uji PCR dan isolasi virus, caplak betina *R. annulatus* juga dilaporkan mampu mentransmisikan virus LSD secara transovarial (Rouby *et al*., 2017). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan transmisi virus LSD secara mekanik oleh vektor di antaranya kemampuan virus LSD bertahan dalam jangka waktu yang lama di permukaan bagian mulut, kelenjar ludah dan saluran pencernaan bagian atas dari vektor (Sprygin *et al*., 2019). Oleh karena potensi caplak sebagai vektor virus LSD, pengendalian virus LSD di negara endemik juga harus mencakup pengendalian vektor caplak pada sapi.

Transmisi secara langsung dapat terjadi meskipun tidak efektif dalam penyebaran virus LSD (Weiss, 1968). Magori-Cohen *et al*., (2012) juga menyatakan bahwa secara eksperimental, transmisi secara kontak langsung memiliki peran yang terbatas terhadap kejadian wabah LSD. Infeksi LSD yang ditimbulkan oleh transmisi secara *indirect* memiliki risiko lima kali lebih besar dibandingan dengan transmisi secara kontak langsung dan dua kali lebih besar dibandingkan dengan transmisi melalui proses pemerahan susu. Virus LSD dapat ditemukan pada air liur, leleran hidung, semen dan susu hewan terinfeksi sehingga transmisi secara langsung dapat terjadi pada hewan peka yang minum dari sumber air yang sama dengan hewan terinfeksi. Pedet yang menyusu induk terinfeksi dan sapi betina yang menerima semen dari sapi jantan yang terinfeksi baik melalui kawin alam dan inseminasi buatan juga dapat terinfeksi oleh virus LSD (Babiuk *et al*., 2008; Irons *et al*., 2005; Weiss, 1968). Selain itu, virus LSD juga dilaporkan dapat ditransmisikan melalui intra-uterine dari induk terinfeksi yang menyebabkan kematian pada pedet beberapa waktu setelah dilahirkan dengan gejala klinis mengarah kepada infeksi virus LSD (Sherin dan Aboulsoud, 2016). Berbagai faktor risiko transmisi virus LSD pada negara terinfeksi ke negara bebas ditunjukkan oleh ilustrasi pada (Gambar 3).

Virus LSD memiliki stabilitas yang baik di luar lingkungan. Virus ini stabil dalam kondisi lingkungan untuk waktu yang lama. Sebagai contoh, virus mampu bertahan dalam krusta (keropeng) selama 35 hari, dalam nodul nekrotik selama 33 hari dan dalam kulit kering selama 18 hari. Virus LSD sangat stabil bahkan dari nodul kulit yang telah disimpan selama 10 tahun pada suhu -80ºC dan dari cairan kultur jaringan yang terinfeksi setelah disimpan selama 6 bulan pada suhu 4ºC. Sinar matahari dan deterjen dapat menghancurkan virus dengan cepat tetapi virus dapat bertahan selama berbulan-bulan di lingkungan yang gelap seperti kandang hewan dan

gudang pakan. Virus dapat dinonaktifkan pada suhu 55ºC selama 2 jam dan 65ºC selama 30 menit. Virus LSD sensitive terhadap pH yang sangat basa atau asam tetapi dapat bertahan pada pH 6.6–8.6 selama 5 hari pada suhu 37°C tanpa penurunan titer yang signifikan. Virus ini rentan terhadap eter (20%), kloroform, formalin (1%), fenol (2% selama 15 menit), natrium hipoklorit (2–3%), senyawa yodium (pengenceran 1:33) dan senyawa amonium kuarterner (0.5%) (Mulatu dan Feyisa, 2018; OIE, 2017).



Gambar 3. Faktor risiko transmisi virus LSD dari negara terinfeksi ke negara bebas. (Sumber gambar: Modifikasi (Roche *et al*., 2020)). (*Risk factors for transmission of LSD virus from infected countries to free countries.* (Image source: *Modification of (Roche et al., 2020)*).

DETEKSI/DIAGNOSA

Diagnosis secara klinis virus LSD di lapangan ditentukan berdasarkan gejala klinis yang terjadi pada inang yaitu demam, leleran hidung dan perubahan lesi patologi di kulit. Namun, gejala klinis pada inang tidak selalu tampak jelas dan dapat dikelirukan dengan penyakit lain seperti *pseudo lumpy skin disease* (*bovine herpesvirus-2 infection*), gigitan serangga, demodekosis, dermatophilosis, rinderpest, *bovine viral diarrhea/ mucosal disease*, dan *bovine malignant catarrhal fever*. Oleh karena itu, diagnosis laboratorium sangat penting dilakukan untuk konfirmasi virus LSD (Awad *et al*., 2010). Diagnosis laboratorium virus LSD dapat dilakukan dengan beberapa metode di antaranya secara serologi (ELISA, IHK dan VNT), klasik (mikroskop electron dan isolasi virus) dan molekuler (PCR, real-time PCR, LAMP PCR dan sekuensing DNA) (Tuppurainen *et al*., 2018).

Terbatasnya kemampuan uji diagnosis virus LSD secara serologi dan klasik serta diferensiasi genus *capripoxvirus* yang kompleks menekankan perlu adanya alat diagnosis yang lebih baik. Namun demikian, kit ELISA komersial *Capripox double antigen multi-species-ELISA* dilaporkan memiliki hasil deteksi yang lebih baik terhadap antibodi pasca vaksinasi LSD dibandingkan dengan alat uji lain seperti *virus neutralization test* (VNT) dan *indirect fluorescent antibody test* (IFAT) (Milovanović *et al.*, 2019). Pengembangan uji berbasis serologi kemudian dikembangkan lebih lanjut. Haegeman *et al*., (2020) mengembangkan *Immuno-Peroxidase Monolayer Assay* (IPMA) untuk mendeteksi antibodi terhadap LSD dalam pelaksanaan yang mudah dan dapat diaplikasikan pada laboratorium dengan teknologi terbatas. Uji tersebut terbukti sangat sensitif dan spesifik. Dibandingkan dengan VNT dan ELISA komersial, LSDV-IPMA mampu mendeteksi antibodi LSD lebih dini pada hewan yang terinfeksi dan divaksinasi. Pengujian IPMA dianggap sangat fleksibel karena dapat dengan mudah diadaptasi untuk mendeteksi antibodi *sheeppox* atau *goatpox* dan dapat ditingkatkan untuk menangani set sampel ukuran sedang dengan menyiapkan pelat IPMA terlebih dahulu. Pelat ini aman dan dapat ditangani di laboratorium dengan tingkat keamanan yang rendah.

Uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan uji ELISA (Ireland dan Binepal, 1998). Tuppurainen *et al*., (2005) menyatakan bahwa metode PCR mampu mendeteksi virus LSD lebih baik dibandingkan dengan metode lain seperti isolasi virus dan mikroskop elektron. Awad *et al*., (2010) juga menyatakan bahwa metode PCR lebih cepat dan ekonomis jika dibandingkan dengan metode lain seperti *dot blot hybridization* (DBH), *indirect enzyme-linked immunosorbent assay* (iELISA) dan isolasi virus. Uji PCR konvensional berbasis gel elektroforesis digunakan untuk mendeteksi DNA *capripoxvirus* pada supernatan kultur jaringan dan sampel biopsi yang menggunakan primer gen protein fusi dan *attachment* (Ireland dan Binepal, 1998). Heine *et al*., (1999) mengembangkan uji PCR dengan primer B68 dan B69 yang mampu membedakan virus *sheppox* dengan virus LSD berdasarkan situs restriksi unik pada gen P32. Primer B68 dan B69 didesain mampu untuk mengamplifikasi 0.39 kb fragmen dari *capripoxvirus* yang memiliki dua situs *EcoRV* dari virus *sheppox* yang tidak dimiliki oleh virus LSD. Orlova *et al*., (2006) mengembangkan multipleks PCR yang mampu membedakan spesies pada genus *capripoxvirus* menggunakan ORF26 yaitu S1 dan S2 untuk virus *sheeppox*, G1 dan G2 untuk virus *goatpox* dan L1 dan L2 untuk virus LSD, dengan masing-masing amplikon sebesar 311 bp, 415 bp dan 254 bp berturut-turut. Uji PCR konvensional juga digunakan untuk membedakan antara *capripoxvirus* dan *orfvirus* yang memiliki gejala klinis yang sama. Uji duplex PCR dengan target fragmen A29L *capripoxvirus* (413 bp) dan H3L *orfvirus* (708 bp) memiliki potensi sebagai metode diagnostik yang mampu mendeteksi dan membedakan *capripoxvirus* dan *orfvirus* (Zheng *et al*., 2007). Sedangkan Stram *et al*., (2008) mengembangkan genom virus LSD sebagai primer uji PCR dan analisis filogenetik untuk *capripoxvirus*. Uji PCR menggunakan gen RPO30 (subunit RNA polimerase yang homolog dengan gen E4L virus vaccinia) dikembangkan untuk membedakan virus *sheppox* dengan virus LSD dan *goatpox* berkaitan dengan delesi 21 nukleotida unik yang hanya ditemukan pada virus *sheppox* (Lamien *et al*., 2011).

Uji *real-time* PCR kemudian dikembangkan berdasarkan kelebihan dalam kecepatan, sensitivitas dan spesifisitas serta rendahnya risiko kontaminasi. Uji *real-time* PCR yang berbasis *TaqMan probes* dengan target ORF074 yang mengkode protein P32 IMV virus LSD berhasil dikembangkan oleh (Bowden *et al*., 2008). Balinsky *et al*., (2008) berikutnya mengembangkan uji *real-time* PCR berbasis *TaqMan probes* dengan target ORF068 [(*gen poly (A) polymerase (small subunit*)] yang mampu membedakan *capripoxvirus* dengan virus lainnya yang menyebabkan penyakit vesikular pada ruminansia. Hasil penelitian oleh Stubbs *et al*., (2012) menyatakan bahwa metode uji *real-time* PCR yang didesain oleh Bowden *et al*., (2008) dengan target fragmen 89 bp pada gen ORF074 yang mengkode protein P32 memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan

metode uji PCR konvensional berbasis agar yang direkomendasikan oleh OIE dan dianggap mampu mendeteksi DNA *capripoxvirus* asal wabah yang terjadi di seluruh dunia.

Uji *real-time* PCR menggunakan marker molekuler unik pada gen *G-protein-coupled chemokine receptor* (GPCR) kemudian dikembangkan dan berhasil membedakan spesies *capripoxvirus* dengan sensitivitas dan spesifisitas yang baik (Lamien *et al.*, 2011). Venkatesan *et al*., (2014) berhasil mengembangkan duplex *real-time* PCR yang mampu mendeteksi dan membedakan *capripoxvirus* dengan *orfvirus* dengan gejala klinis yang sama. Menasherow *et al*., (2014) menjelaskan pengembangan dan pemanfaatan uji molekuler yang dapat membedakan antara isolat strain virulen dan strain vaksin. Sistem ini didasarkan pada tiga pengujian berbeda; yang kemudian ditemukan bahwa strain vaksin membawa 27 basa lebih sedikit dibandingkan dengan virus virulen pada gen *extracellular enveloped virions* (EEV). Uji *temperature-gradient* PCR dilakukan dengan menggunakan primer yang identik dengan strain vaksin tetapi berbeda pada ujung 3 nukleotida virus virulen. PCR-RFLP dilakukan dengan adanya situs MboI yang unik pada strain vaksin. Dengan demikian, ketiga pengujian tersebut dianggap mampu dalam membedakan secara spesifik antara strain virus virulen dan strain virus vaksin.

Vidanović *et al*., (2016) melaporkan dua pengujian *real-time* PCR berbeda untuk deteksi secara spesifik strain lapangan virus LSD virulen menggunakan primer dan probe yang mengenali regio gen *extracellular enveloped virion* (EEV). Dalam strain vaksin LSD, regio ini memiliki delesi 27 bp jika dibandingkan dengan strain lapangan yang virulen, dan oleh karena itu strain vaksin LSD tidak dapat terdeteksi oleh pengujian ini. Agianniotaki *et al*., (2017) berhasil melaporkan pengembangan dan validasi metode *real-time* PCR berbasis *TaqMan probes* untuk membedakan virus LSD *wild type* dari strain virus vaksin/ DIVA (*differentiation of infected from vaccinated animals*). Assay ini berbasis pada gen GPCR (ORF 011) *host range gene* yang mengkodekan *G-protein -coupled chemokine receptor,* sebuah protein terikat membran yang terlibat dalam imunnomodulasi inang. Multipleks DIVA *real-time* PCR yang dikembangkan ini memungkinkan deteksi cepat dan mampu membedakan secara akurat strain *wild type* virus LSD dari strain vaksin virus LSD hidup yang dilemahkan dan dapat mengkonfirmasi diagnosis dalam kasus suspek infeksi virus LSD. Möller *et al*., (2019) melaporkan beberapa alat pengujian termasuk pan-capripox *real-time* PCR, uji duplex *real-time* qPCR yang baru dikembangkan untuk membedakan antara strain virus LSD yang virulen dan yang dilemahkan, dan beberapa metode serologis (ELISA, *indirect immune fluorescence test* dan uji netralisasi serum [SNT]). Hasil penelitian tersebut menunjukkan sensitivitas analitik yang tinggi dari *duplex real-time PCR* yang dapat membedakan antara strain lapang dan strain vaksin LSD. Selain itu, *capripox double-antigen* ELISA yang tersedia secara komersial dianggap memiliki spesifisitas yang sama dengan SNT dan oleh karena itu dapat menjadi alat pemeriksaan serologis cepat pada sapi yang divaksinasi atau terinfeksi LSD. Alexander *et al.,* (2019) mengembangkan uji *real-time* PCR berdasarkan situs unik di LSD044 untuk deteksi universal DNA dari strain virus LSD lapangan, vaksin, dan rekombinan. Uji ini menawarkan sebuah alat uji yang cepat, efisien, dan sensitif yang dapat digunakan dalam studi surveilans. Selain itu, alat uji tersebut dapat digunakan untuk pengujian laboratorium rutin terhadap sampel hewan selama program eradikasi virus LSD.

Byadovskaya *et al*., (2020) melakukan evaluasi terhadap reliabilitas tes *real-time* PCR komersial; Kit Triplex ID Gene ™ LSD DIVA dan kit Bio-T® LSD-DIVA, serta pengujian lain yang menargetkan gen GPCR (Agianniotaki *et al*, 2017) dan ORF008 serta ORF126 (Sprygin *et al*, 2019). Berbagai pengujian DIVA *real-time* PCR tersebut mampu meng identifikasi isolat lapangan klasik (*European lineage*) dan vaksin (vaksin Neethling) dengan baik. Sebaliknya, ketika diuji menggunakan virus *vaccine-like recombinant*, tes komersial dan tes yang sebelumnya telah dipublikasikan tidak dapat meng identifikasi isolat rekombinan dengan baik. Pada saat yang sama, virus rekombinan terdeteksi sebagai virus lapangan dan/atau vaksin, atau tidak terdeteksi sama sekali tergantung pada pengujian nya. Perbedaan urutan gen yang ada dalam virus rekombinan menyebabkan tes DIVA ini tidak mampu menetapkan virus rekombinan sebagai virus lapangan atau virus vaksin.

Uji *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) merupakan metode amplifikasi asam nukelat yang dikatalisis oleh DNA polymerase dengan aktivitas perpindahan *strand* di bawah kondisi isothermal pada suhu 60–65^{o}C. Uji LAMP dapat diamati dengan beberapa cara di antaranya *elektroforesis gel agarose, turbiditas magnesium pirofosfat, fluorosence* seperti *SYBR green*, ikatan ion logam fluorophore seperti *calcein*, perubahan warna dengan ikatan ion logam dengan *dye* seperti *hydroxynaphthol blue* (HNB) (Mori and Notomi, 2009; Parida *et al.,* 2008). Uji LAMP yang memi liki target primer pada gen *conserved poly (A) polymerase small subunit (VP39) capripoxvirus* dikembangkan sebagai deteksi cepat yang sederhana, terjangkau dari segi biaya, memiliki sensitivitas yang tinggi, dan sesuai untuk laboratorium dengan fasilitas dan sumber daya

yang terbatas (Das *et al*., 2012). Metode *single* LAMP yang memiliki target pada *conserved region* gen P32 *capripoxvirus* dioptimasi dengan penambahan primer *loop* berhasil mempercepat waktu reaksi uji. Metode ini mampu membedakan spesies di dalam *capripoxvirus* dengan sensitivitas yang menyerupai uji *real-time* PCR (Murray *et al*., 2013). Metode pengujian cepat virus LSD menggunakan *recombinase polymerase amplification* (RPA) kemudian dikembangkan. Uji RPA merupakan teknik yang berbasis amplifikasi isothermal DNA yang menggunakan enzim dan protein untuk mengganti siklus berulang dari tiga suhu yang digunakan pada uji PCR. Selain itu, reagen RPA tidak membutuhkan penyimpanan pada suhu dingin sehingga sangat ideal untuk kebutuhan pengujian di lapang atau stasiun karantina. Uji RPA dianggap memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang sama dengan *real-time* PCR namun dengan pengujian yang lebih cepat dan sederhana (Shalaby *et al*., 2016).

Meskipun *poxvirus* memiliki genom *double stranded* DNA yang dianggap lebih stabil jika dibandingkan dengan virus yang memiliki genom *single stranded* DNA atau RNA, namun kejadian rekombinan di antara virus masih dapat terjadi. Untuk mengkarakterisasi spesies *capripoxvirus* dan memahami kekerabatan virus, digunakan metode molekuler sekuensing genom. Analisis sekuen mampu mengungkapkan perbedaan urutan asam amino secara mayor dan bahkan beberapa *frameshifts* antara strain lapangan virus LSD virulen dan strain vaksin yang dilemahkan, sedangkan perbandingan dua strain virulen yang berbeda hanya menunjukkan perbedaan urutan asam amino minor (Kara *et al*., 2003). Meskipun secara umum tidak digunakan untuk pemeriksaan diagnostik rutin, namun metode sekuensing mampu memberikan pemahaman tentang asal, kekerabatan dan distribusi geografis strain *capripoxvirus* (Tuppurainen *et al*., 2018).

Sanger sequencing yang juga disebut sebagai prosedur *dideoxy* berhasil dikembangkan oleh *Fredrick Sanger* pada tahun 1970. *Sanger sequencing* mampu menghasilkan pembacaan 1000bp sekuen DNA pada tiap reaksi. Sekuensing Sanger dilakukan untuk menganalisis sekuen virus LSD pertama yang dipublikasikan yaitu virus virulen LSD2490 Kenya (Kara *et al*., 2003). Dengan menggunakan metode sekuensing yang sama, sekuen genom dari strain vaksin Afrika Selatan (LSDV LW 1959) dibandingkan dengan isolat lapangan yang virulen serta LSDV 2490 (Tulman *et al*., 2001). Sprygin *et al*., (2019) menggunakan metode sekuensing Sanger untuk melakukan sekuensing lengkap genom virus LSD dari wabah pertama yang terjadi di Rusia. Selain itu, Adedeji *et al*., (2019) menggunakan sampel dari wabah lapangan infeksi *Capripoxvirus* di Nigeria untuk mengevaluasi protokol sekuensing parsial yang baru dikembangkan. Metode ini memungkinkan klasifikasi molekuler pendek dan analisis filogenetik lebih lanjut dari strain *capripoxvirus*. Di sisi yang lain, Douglass *et al*., (2019) melakukan sekuensing lengkap dari genom vaksin virus LSD Herbivac LS dan mengungkapkan terjadinya mutasi pada homolog gen superoksida dismutase (SOD). Keberadaan homolog SOD, baik itu *full-length* (seperti dalam Herbivac LS) atau terpotong (seperti di Neethling) berpotensi dapat mempengaruhi imunogenisitas vaksin. Metode sekuensing Sanger juga diaplikasikan oleh Ochwo *et al*., (2020) untuk mengkonfirmasi infeksi virus LSD dari enam wabah yang terjadi di berbagai distrik di Uganda pada tahun 2017–2018 dan menganalisis filogenetik gen GPCR virus LSD yang diamplifikasi dari sampel ternak yang diperoleh selama terjadinya wabah.

Next Generation Sequensing (NGS) merupakan tehnik yang sangat berpengaruh dalam bidang genetik dan kesehatan. Metode NGS memiliki keunggulan dalam hal sekuensing yang lebih cepat dengan biaya yang lebih murah jika dibandingkan dengan metode Sanger. *Next Generation Sequencing* (NGS) digunakan untuk melakukan sekuensing dari virus LSD yang diisolasi dari kulit hewan yang mendapatkan vaksinasi (Lojkić *et al*., 2018). Selain itu, metode sekuensing NGS juga digunakan. Dalam sekuensing genom pada isolat virus SERBIA/Bujanovac/2016, yang terdeteksi selama wabah di Area Balkan dan strain virus LSD yang diisolasi dari lesi kulit pada sapi Namibia selama wabah yang terjadi pada tahun 2016 (Di Felice *et al*., 2020; Toplak *et al*., 2017).

KONTROL DAN ERADIKASI

Virus *lumpy skin disease* (LSDV) adalah penyakit menular pada sapi yang ditularkan oleh vektor arthropoda yang mengakibatkan kerugian ekonomi yang besar karena berdampak pada penurunan efisiensi produksi dan menjadi ancaman yang muncul terhadap perdagangan produk ternak dan hewan hidup secara global. Secara umum, pengendalian LSD didasarkan pada: 1) vaksinasi populasi rentan dengan cakupan>80 persen; 2) pengendalian pergerakan sapi dan kerbau serta karantina; 3) biosekuriti dan pengendalian vektor; 4) memperkuat surveilans aktif dan pasif; 5) peningkatan kesadaran tentang mitigasi risiko di antara semua pemangku kepentingan yang terlibat; dan 6) zonasi - zona perlindungan dan pengawasan yang luas serta zona vaksinasi (Roche *et al*., 2020).

Vaksin

Vaksinasi merupakan satu-satunya cara efektif untuk mengendalikan penyakit di daerah endemis. Dikarenakan adanya perlindungan silang dalam genus *Capripoxvirus* (CaPV), semua isolat CaPV dapat digunakan sebagai vaksin terhadap virus LSD. Vaksin *live attenuated* (VLA) dihasilkan pada tahun 1963 di Afrika Selatan di *Onderstepoort Veterinary Research Institute* dengan serial pasase virus LSD lapangan tipe Neethling dalam kultur sel dan pada membran *chorioallantoic* telur ayam berembrio, serta uji *in vivo* pada sapi yang membuktikan keamanan dan efikasinya untuk digunakan sebagai vaksin (Weiss, 1968). Penggunaan formulasi komersial vaksin ini secara berkesinambungan dan meluas dianggap efektif dalam mengurangi jumlah wabah infeksi virus LSD, terutama dalam pengendalian penyakit di daerah endemis (Hunter dan Wallace, 2001).

Perlindungan terhadap LSD dapat dicapai dengan menggunakan salah satu strain VLA strain-Neethling yang tersedia secara komersial, atau dengan menggunakan virus vaksin *sheeppox* atau *goatpox* yang dilemahkan (Coetzer *et al*., 2018; Getachew *et al*., 2015; Kitching, 2003). Vaksin VLA virus LSD dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama: (1) Vaksin homolog yang didasarkan pada strain LSD yang dilemahkan seperti vaksin Neethling (*Onderstepoort Biological Products Lumpy skin disease vaccine for cattle; MSD Animal Health Lumpyvax; BOVIVAX LSD; Herbivac LS; LSD-NDOLL; Lumpyvac™*) atau vaksin *homologous Kenyan goat and sheep pox* (KSGP) (2) Vaksin heterolog berbasis *goatpox* yang dilemahkan (*Caprivac; Goat Pox Vaccine*) dan (3) Vaksin *sheeppox* heterolog yang dilemahkan *(Jovivac*) (Klement *et al*., 2020). Namun demikin, berbagai vaksin tersebut memiliki keterbatasan, baik dalam efikasi, efek samping yang ditimbulkan dan rekombinasi dengan virus lapangan yang virulen.

Pada 2019, semua negara di Eropa Tenggara (Albania, Bosnia dan Herzegovina, Bulgaria, Yunani, Kosovo, Montenegro, Makedonia Utara, Serbia) terus melakukan vaksinasi terhadap virus LSD; lebih dari 1.8 juta sapi telah divaksinasi, kecuali Kroasia yang menghentikan vaksinasi pada tahun 2018. Di semua negara ini, vaksin *live attenuated* berbasis strain vaksin LSD homolog digunakan. Vaksin yang digunakan di Eropa Tenggara berasal dari perusahaan yang berbeda, baik berdasarkan strain Neethling seperti *Lumpy Skin Disease Vaccine for Cattle* (*Onderstepoort Biological Products; OBP, South Africa*) atau Bovivax (*MCI Sante Animale, Morocco*), atau berdasarkan *SIS Neethling type* (*Lumpyvax, MSD Animal Health-Intervet, Afrika Selatan*) (Calistri *et al*., 2020). Satu-satunya vaksin dengan data lapangan yang tersedia adalah vaksin homolog, berbasis strain Neethling LSD yang dilemahkan. Vaksin ini berhasil digunakan untuk mengendalikan epidemi virus LSD di Israel dan Balkan (Ben-Gera *et al*., 2015; Klement *et al*., 2020).

Vaksin LSD yang dilemahkan memberikan perlindungan yang baik pada sapi jika cakupan vaksinasi 80 persen dapat dicapai. Terdapat efek samping ringan dari vaksin LSD yang dilemahkan yang disebut "*Neethling response*" sebagai munculnya nodul kecil hingga dua minggu setelah vaksinasi. Namun demikian, tidak ditemukan tanda adanya penularan strain Neethling ke sapi yang tidak divaksinasi (Ben-Gera *et al*., 2015). Pada saat yang sama, menurut penelitian terbaru, setelah vaksinasi dengan vaksin Neethling LSD yang dilemahkan, tidak ada perubahan signifikan dalam kematian atau produksi susu selama 30 hari pasca vaksinasi dan tidak ada perbedaan antara periode sebelum dan sesudah vaksinasi terhadap pemusnahan rutin, pemusnahan segera dan kematian di dalam peternakan untuk hewan yang divaksinasi untuk pertama kali (Morgenstern dan Klement, 2020).

Sementara itu, virus KSGP–180 dan KSGP–240 dikoleksi dari domba dan kambing yang terinfeksi selama wabah *sheeppox* dan *goatpox* di Kenya pada tahun 1970-an. Virus KSGP–180 dilemahkan dengan 18 pasase dalam sel *bovine foetal muscle*; sedangkan KSGP–240 hanya dipasasekan sebanyak enam kali dalam kultur sel. KS–1 adalah virus yang berasal dari KSGP–240 yang dilemahkan; juga digunakan sebagai vaksin virus LSD (Tuppurainen dan Oura, 2014). Studi di Ethiopia melaporkan bahwa vaksin KS–1 tidak efektif untuk perlindungan terhadap virus LSD (Ayelet *et al*., 2013). Vaksinasi sapi perah di Israel pada tahun 1992 dengan KSGP-240 dilaporkan menyebabkan efek samping yang tinggi yang ditandai dengan lesi kulit intradermal LSD menyeluruh, demam, sekresi mata dan hidung, pembesaran kelenjar getah bening, anoreksia dan penurunan produksi susu (Yeruham *et al*., 1994). Di sisi yang lain, terdapat laporan lapangan dari Kenya yang menyatakan bahwa vaksin KSGP-180 aman dan protektif (Davies dan Mbugwa, 1985).

Vaksin virus *sheppox* (SPPV) dengan dosis yang lebih tinggi (tiga, lima dan sepuluh kali lipat) telah digunakan pada sapi untuk melawan virus LSD di daerah di mana terjadi infeksi virus LSD dan SPP. Dikarenakan perlindungan yang diberikan oleh vaksin SPPV terhadap LSD diyakini bersifat parsial, pemilihan vaksin harus selalu didasarkan pada efikasi yang ditunjukkan terhadap virus LSD melalui uji coba yang dilakukan di lingkungan yang terkendali. Dosis sepuluh kali lipat dari vaksin SPPV yang dilemahkan direkomendasikan untuk

imunisasi sapi terhadap LSD (Roche *et al*., 2020). Dibandingkan dengan vaksin LSDV yang dilemahkan, vaksin SPPV (JovivacTM, *Sheeppox* virus strain RM-65, $5\times10^{2.5}$TCID50/ml = $10^{3.5}$TCID50/dose, Jovac®, Jordan) memiliki efektivitas yang lebih rendah. Risiko kasus LSD dan kasus parah yang muncul setelah dua minggu pasca vaksinasi adalah masing-masing 2.635 dan 11.2 kali lipat lebih tinggi, pada sapi yang mendapatkan vaksin SPPV dibandingkan dengan sapi yang divaksinasi vaksin LSDV yang dilemahkan (Ben-Gera *et al*., 2015).

Vaksin *Gorgan goatpox* (GTP) adalah alternatif yang baik dan hemat biaya di negara-negara di mana GTP dan LSD terjadi. Data terbaru dari Kazakhstan juga mengungkapkan tentang potensi penggunaan strain vaksin virus *goatpox* (G20-LKV) yang diperoleh dengan melakukan 20 pasase serial di sel ginjal domba (*kidney lamb*), mampu menimbulkan respon imun protektif yang kuat pada sapi terhadap infeksi virus LSD (Zhugunissov *et al*., 2020). Hasil ini selaras dengan studi sebelumnya oleh Gari *et al*. (2015) tentang efikasi tiga strain CaPV terhadap infeksi LSD di Ethiopia, di mana vaksin Gorgan GTP secara efektif melindungi sapi terhadap virus LSD dan hasil serupa juga telah diperoleh dari studi di Iran (Varshovi *et al*., 2017). Selain itu, pengembangan vaksin berbasis virus *goatpox* juga dilakukan di India dengan strain GTPV Uttarkashi (Roche *et al*., 2020).

Vaksinasi umumnya dilakukan ketika virus sudah ada dan menyebar di wilayah tersebut dan perlindungan maksimum setidaknya dicapai setelah tiga minggu pasca vaksinasi. Keberhasilan pengendalian dan pemberantasan virus LSD di Israel dan Balkan di Eropa tidak terlepas dari pelaksanaan vaksinasi tahunan yang diulang selama beberapa tahun setelah penghentian kasus klinis. Vaksinasi darurat dapat dilakukan segera dalam merespons terjadinya wabah di dalam sebuah negara setelah kasus pertama terdeteksi. Namun demikian, di lapangan, kasus pertama virus LSD biasanya tidak terdeteksi cukup dini karena rentang waktu antara infeksi dan viremia adalah satu sampai lima hari, di mana cukup sulit untuk mengidentifikasi gejala klinis hewan yang terinfeksi (Roche *et al*., 2020).

Antisipasi/Rekomendasi

Indonesia bersama dengan beberapa negara lain seperti Malaysia dan Filipina telah dinilai menjadi negara dengan risiko rendah hingga berpotensi sedang karena tidak terdeteksinya LSD di negara-negara tetangga. Selain itu, di Indonesia kepadatan sapi dan kerbau relatife lebih rendah, dan/atau impor sapi dan kerbau hidup terutama didapatkan dari Oseania dalam hal ini Indonesia mendapatkan impor dari Australia, perdagangan sapi, kerbau dan produknya dalam skala yang relatife kecil, biosekuriti yang kurang baik dalam sistem produksi sapi/kerbau, jumlah vektor kompeten yang sedang selama Bulan Oktober-Desember, dan vaksinasi belum tersedia (Roche *et al*., 2020). Sebagai negara dengan risiko rendah hingga berpotensi sedang, Indonesia harus memonitoring situasi dengan tingkat kesiapsiagaan yang tinggi.

Rekomendasi yang dapat dilakukan pada negara dengan risiko rendah hingga sedang menurut Roche *et al*., (2020) di antaranya (1) Penguatan pemeriksaan perbatasan untuk semua hewan impor yang rentan dengan pemeriksaan klinis wajib, karantina, dan pengujian; (2) pelaksanaan surveilans secara aktif; (3) Peningkatan biosekuriti di semua tingkat produksi sapi/kerbau, serta pembersihan, desinfeksi, dan pengendalian vektor. Pengendalian vektor bertujuan untuk membatasi penularan pathogen dengan cara mengurangi atau menghilangkan kontak antara inang peka dengan vektor (Wilson *et al*., 2020).

Penerapan vaksinasi, pembatasan pergerakan, dan kebijakan *stamping out* berhasil memberantaspenyakit LSD di Mesir dan Israel selama tahun 2006 (Alkhamis dan VanderWaal, 2016). Namun dalam hal ini, penerapan kebijakan di setiap negara berbeda disesuaikan dengan kondisi negara masing-masing (negara terdampak atau negara bebas virus LSD). Khususnya terkait kebijakan *stamping out* yang berpengaruh terhadap perekonomian peternak serta ketersediaan sumber daya/infrastruktur negara. Selain itu, edukasi peternak di Indonesia terkait penyakit LSD tampaknya juga perlu dilakukan agar informasi mengenai penyakit ini dapat tersampaikan dan pelaporan kejadian penyakit oleh peternak dapat dilakukan sebagai upaya proses monitoring penyakit LSD di Indonesia.

KESIMPULAN

Virus *lumpy skin disease* (LSDV) termasuk ke dalam genus *capripoxvirus* bersama dengan virus *sheeppox* dan *goatpox* merupakan penyakit hewan ruminansia yang berdampak signifikan terhadap perdagangan dan ketahanan pangan. Gejala klinis yang tampak berupa nodul pada lapisan kulit, edema pada beberapa bagian tubuh, hipersalivasi, lakrimasi, *leleran hidung* yang bersifat mukoid hingga mukopurulen, kepincangan, emasiasi, penurunan produksi susu hingga kematian. Transmisi virus LSD umunya terjadi secara *indirect* (tidak langsung) melalui serangga (Arthropoda) penghisap darah termasuk di dalamnya *biting flies*, nyamuk dan caplak. Penularan secara iatrogenik melalui jarum suntik yang digunakan untuk pemberian obat atau vaksin pada sekelompok hewan peka. Virus LSD telah menyebar secara

progresif dan luas keseluruh Afrika, Timur Tengah, Eropa Tenggara, Asia Tengah, Asia Selatan dan Cina. Vaksinasi tersedia dalam bentuk vaksin *live attenuated* yang dapat mengatasi infeksi ini di beberapa negara. Indonesia termasuk ke dalam negara dengan risiko rendah hingga berpotensi sedang. Indonesia harus memonitoring situasi dengan tingkat kesiapsiagaan yang tinggi, dengan beberapa rekomendasi di antaranya memperkuat pemeriksaan perbatasan, pelaksanaan surveilans dan penguatan biosekuriti.

DAFTAR PUSTAKA

Abutarbush, S.M., Ababneh, M.M., Al Zoubi, I.G., Al Sheyab, O.M., Al Zoubi, M.G., Alekish, M.O. and Al Gharabat, R.J., 2015. Lumpy skin disease in Jordan: Disease emergence, clinical signs, complications and preliminary-associated economic losses. *Transboundary and Emerging Diseases*, *62*(5), pp. 549–554. https://doi.org/10.1111/tbed.12177

Acheson, N., 2011. *Fundamentals of Molecular Virology* (2nd ed.). Wiley.

Adedeji, A.J., Möller, J., Meseko, C.A., Adole, J.A., Tekki, I.S., Shamaki, D. and Hoffmann, B., 2019. Molecular characterization of Capripox viruses obtained from field outbreaks in Nigeria between 2000 and 2016. *Transboundary and Emerging Diseases*, tbed.13197. https://doi.org/10.1111/tbed.13197

Agianniotaki, E.I., Chaintoutis, S.C., Haegeman, A., Tasioudi, K.E., De Leeuw, I., Katsoulos, P.-D., Sachpatzidis, A., De Clercq, K., Alexandropoulos, T., Polizopoulou, Z.S., Chondrokouki, E.D. and Dovas, C.I., 2017. 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. *Journal of Virological Methods*, *249*, pp. 48–57. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.08.011

Alexander, S., Olga, B., Svetlana, K., Valeriy, Z., Yana, P., Pavel, P. and Aleksandr, K., 2019. A real-time PCR screening assay for the universal detection of lumpy skin disease virus DNA. *BMC Research Notes*, *12*(1), pp. 371. https://doi.org/10.1186/s13104-019-4412-z

Alkhamis, M.A., and VanderWaal, K., 2016. Spatial and temporal epidemiology of lumpy skin disease in the middle east, 2012–2015. *Frontiers in Veterinary Science*, *3*. https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00019

Annandale, C., Irons, P., Bagla, V., Osuagwuh, U. and Venter, E., 2010. Sites of persistence of lumpy skin disease virus in the genital tract of experimentally infected bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, *45*(2), pp. 250–255. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01274.x

Annandale, C., Smuts, M., Ebersohn, K., du Plessis, L., Venter, E., and Stout, T., 2018. Effect of semen processing methods on lumpy skin disease virus status in cryopreserved bull semen. *Animal Reproduction Science*, *195*, pp. 24–29. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.04.080

Awad, W.S., Ibrahim, A.K., Mahran, K., Fararh, K.M. and Abdel Moniem, M.I., 2010. Evaluation of different diagnostic methods for diagnosis of Lumpy skin disease in cows. *Tropical Animal Health and Production*, *42*(4), pp. 777–783. https://doi.org/10.1007/s11250-009-9486-5

Ayelet, G., Abate, Y., Sisay, T., Nigussie, H., Gelaye, E., Jemberie, S. and Asmare, K., 2013. Lumpy skin disease: Preliminary vaccine efficacy assessment and overview on outbreak impact in dairy cattle at Debre Zeit, central Ethiopia. *Antiviral Research*, *98*(2), pp. 261–265. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.02.008

Babiuk, S., Bowden, T.R., Parkyn, G., Dalman, B., Manning, L., Neufeld, J., Embury-Hyatt, C., Copps, J. and Boyle, D.B., 2008. Quantification of lumpy skin disease virus following experimental infection in cattle. *Transboundary and Emerging Diseases*, *55*(7), pp. 299–307. https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01024.x

Backstrom, U., 1945. Ngamiland cattle disease: Preliminary report on a new disease, the etiological agent being probably of an infectious nature. *Journal of the South African Veterinary Association*, *16*(1), pp. 29–35.

Balinsky, C.A., Delhon, G., Smoliga, G., Prarat, M., French, R. A., Geary, S.J., Rock, D.L. and Rodriguez, L.L., 2008. Rapid Preclinical Detection of Sheeppox Virus by a Real-Time PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, *46*(2), pp. 438–442. https://doi.org/10.1128/JCM.01953-07

Ben-Gera, J., Klement, E., Khinich, E., Stram, Y. and Shpigel, N.Y., 2015. Comparison of the efficacy of Neethling lumpy skin disease virus and x10RM65 sheep-pox live attenuated vaccines for the prevention of lumpy skin disease – The results of a randomized controlled field study. *Vaccine*, *33*(38), pp. 4837–4842. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.07.071

Bowden, T.R., Babiuk, S.L., Parkyn, G.R., Copps, J.S. and Boyle, D.B., 2008. Capripoxvirus tissue tropism and shedding: A quantitative study in experimentally infected sheep and goats. *Virology*, *371*(2), pp. 380–393. https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.10.002

Byadovskaya, O., Pestova, Y., Kononov, A., Shumilova, I., Kononova, S., Nesterov, A., Babiuk, S. and Sprygin, A., 2020. Performance of the currently available DIVA real-time PCR assays in classical and recombinant lumpy skin disease viruses. *Transboundary and Emerging Diseases*, tbed.13942. https://doi.org/10.1111/tbed.13942

Calistri, P., De Clercq, K., Gubbins, S., Klement, E., Stegeman, A., Cortiñas Abrahantes, J., Marojevic, D., Antoniou, S. and Broglia, A., 2020. Lumpy skin disease epidemiological report IV: data collection and analysis. *EFSA Journal*, *18*(2). https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6010

Caminade, C., McIntyre, K.M. and Jones, A.E., 2019. Impact of recent and future climate change on vector-borne diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1436*(1), pp. 157–173. https://doi.org/10.1111/nyas.13950

Carn, V.M. and Kitching, R.P., 1995. An investigation of possible routes of transmission of lumpy skin disease virus (Neethling). *Epidemiology and Infection*, *114*(1), pp. 219–226. https://doi.org/10.1017/S0950268800052067

Chihota, C.M., Rennie, L.F., Kitching, R.P. and Mellor, P.S., 2003. Attempted mechanical transmission of lumpy skin disease virus by biting insects. *Medical and Veterinary Entomology*, *17*(3), pp. 294–300. https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00445.x

Chihota, C., Rennie, L., Kitching, R.P. and Mellor, P., 2001. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). *Epidemiology and Infection*, *126*(2), pp. 317–321. https://doi.org/10.1017/S0950268801005179

Coetzer, J., Tuppurainen, E., Babiuk, S. and Wallace, D., 2018. Lumpy skin disease. In *Infectious Diseases of Livestock, Part II*. Anipedia.

Das, A., Babiuk, S. and McIntosh, M.T., 2012. Development of a Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of Capripoxviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(5), pp. 1613–1620. https://doi.org/10.1128/JCM.06796-11

Davies, F.G., 1982. Observations on the epidemiology of lumpy skin disease in Kenya. *Journal of Hygiene*, *88*(1), pp. 95–102. https://doi.org/10.1017/S002217240006993X

Davies, F.G. and Mbugwa, G., 1985. The alterations in pathogenicity and immunogenicity of a Kenya sheep and goat pox virus on serial passage in bovine foetal muscle cell cultures. *Journal of Comparative Pathology*, *95*(4),

pp. 565–572. https://doi.org/10.1016/0021-9975(85)90026-X

Di Felice, E., Pinoni, C., Khaiseb, S., Camma, C., Capobianco Dondona, A., Polci, A., Molini, U. and Monaco, F., 2020. Complete coding sequences of lumpy skin disease virus strains isolated from cutaneous lesions in Namibian Cattle during 2016 Outbreaks. *Microbiology Resource Announcements*, *9*(28). https://doi.org/10.1128/MRA.00124-20

Douglass, N., Van Der Walt, A., Omar, R., Munyanduki, H. and Williamson, A.-L., 2019. The complete genome sequence of the lumpy skin disease virus vaccine Herbivac LS reveals a mutation in the superoxide dismutase gene homolog. *Archives of Virology*, *164*(12), pp. 3107–3109. https://doi.org/10.1007/s00705-019-04405-8

Fenner, F., Bachmann, P., Gibbs, E., Murphy, F., White, M. and Studdert, D., 1987. *Veterinary Virology*. Academic Press, Inc. London.

Fields, B., Knipe, D., Howley, P. and Griffin, D., 2001. *Fields virology* (6th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.

Gari, G., Waret-Szkuta, A., Grosbois, V., Jacquiet, P. and Roger, F., 2010. Risk factors associated with observed clinical lumpy skin disease in Ethiopia. *Epidemiology and Infection*, *138*(11), pp. 1657–1666. https://doi.org/10.1017/S0950268810000506

Gari, Getachew, Abie, G., Gizaw, D., Wubete, A., Kidane, M., Asgedom, H., Bayissa, B., Ayelet, G., Oura, C.A.L., Roger, F. and Tuppurainen, E.S.M., 2015. Evaluation of the safety, immunogenicity and efficacy of three capripoxvirus vaccine strains against lumpy skin disease virus. *Vaccine*, *33*(28), pp. 3256–3261. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.01.035

Gelaye, E. and Lamien, C.E., 2019. Lumpy skin disease and vectors of LSDV. In *Transboundary Animal Diseases in Sahelian Africa and Connected Regions* (pp. 267–288). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-25385-1_13

Gharban, H.A.J., Al-Shaeli, S.J.J., Al-Fattlī, H.H.H. and Altaee, M.N.K., 2019. Molecular and histopathological confirmation of clinically diagnosed lumpy skin disease in cattle, Baghdad Province of Iraq. *Veterinary World*, *12*(11), pp. 1826–1832. https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1826-1832

Gubbins, S., 2019. Using the basic reproduction number to assess the risk of transmission of lumpy skin disease virus by biting insects. *Transboundary and Emerging Diseases*, *66*(5), pp. 1873–1883. https://doi.org/10.1111/tbed.13216

Haegeman, A., De Leeuw, I., Mostin, L., Van Campe, W., Aerts, L., Vastag, M. and De Clercq, K., 2020. An Immunoperoxidase Monolayer Assay (IPMA) for the detection of lumpy skin disease antibodies. *Journal of Virological Methods*, *277*, pp. 113800. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.113800

Heine, H., Stevens, M., Foord, A. and Boyle, D., 1999. A Capripoxvirus detection PCR and antibody ELISA based on the major antigen P32, the homolog of the vaccinia virus H3L gene. *Journal of Immunological Methods*, *227*(1–2), pp. 187–196. https://doi.org/10.1016/S0022-1759(99)00072-1

Henning, M., 1956. *Animal disease in South Africa. Central News Agency, South Africa* (3rd ed.).

Hughes, A.L. and Friedman, R., 2005. Poxvirus genome evolution by gene gain and loss. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *35*(1), pp. 186–195. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.12.008

Hunter, P. and Wallace, D., 2001. Lumpy skin disease in southern Africa : a review of the disease and aspects of control. *Journal of the South African Veterinary Association*, *72*(2). https://doi.org/10.4102/jsava.v72i2.619

Ireland, D. and Binepal, Y., 1998. Improved detection of Capripoxvirus in biopsy samples by PCR. *Journal of Virological Methods*, *74*(1), pp. 1–7. https://doi.org/10.1016/S0166-0934(98)00035-4

Irons, P.C., Tuppurainen, E.S.M. and Venter, E.H., 2005. Excretion of lumpy skin disease virus in bull semen. *Theriogenology*, *63*(5), pp. 1290–1297. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.06.013

Issimov, A., Kutumbetov, L., Orynbayev, M.B., Khairullin, B., Myrzakhmetova, B., Sultankulova, K. and White, P.J., 2020. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by Stomoxys spp. (Stomoxys calsitrans, Stomoxys sitiens, Stomoxys indica), Diptera: Muscidae. *Animals*, *10*(3), pp. 477. https://doi.org/10.3390/ani10030477

Kara, P.D., Afonso, C.L., Wallace, D.B., Kutish, G.F., Abolnik, C., Lu, Z., Vreede, F.T., Taljaard, L.C.F., Zsak, A., Viljoen, G.J. and Rock, D.L., 2003. Comparative sequence analysis of the South African vaccine strain and two virulent field isolates of Lumpy skin disease virus. *Archives of Virology*, *148*(7), pp. 1335–1356. https://doi.org/10.1007/s00705-003-0102-0

Kitching, R., 1986. Passive protection of sheep against Capripoxvirus. *Res. Vet. Sci*, *41*, pp. 247–250.

Kitching, R., 2003. Vaccines for lumpy skin disease, sheep pox and goat pox. *Dev Biol (Basel)*, *114*, pp. 161–167.

Kitching, R. and Smale, C., 1986. Comparison of the external dimensions of Capripoxvirus isolates. *Res Vet Sci*, *41*(3), pp. 425–427.

Klement, E., Broglia, A., Antoniou, S.-E., Tsiamadis, V., Plevraki, E., Petrović, T., Polaček, V., Debeljak, Z., Miteva, A., Alexandrov, T., Marojevic, D., Pite, L., Kondratenko, V., Atanasov, Z., Gubbins, S., Stegeman, A. and Abrahantes, J.C., 2020. Neethling vaccine proved highly effective in controlling lumpy skin disease epidemics in the Balkans. *Preventive Veterinary Medicine*, *181*, 104595. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.12.001

Knowles, D., 2011. *Fenner's Veterinary Virology* (N. MacLachlan. and E. Dubovi (eds.); 4th ed.). Elsevier. https://doi.org/10.1016/C2009-0-01816-9

Lamien, C.E., Le Goff, C., Silber, R., Wallace, D.B., Gulyaz, V., Tuppurainen, E., Madani, H., Caufour, P., Adam, T., Harrak, M.El, Luckins, A.G., Albina, E. and Diallo, A., 2011. Use of the Capripoxvirus homologue of Vaccinia virus 30kDa 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. *Veterinary Microbiology*, *149* (1–2), pp. 30–39. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.09.038

Lamien, C.E., Lelenta, M., Goger, W., Silber, R., Tuppurainen, E., Matijevic, M., Luckins, A.G. and Diallo, A., 2011. Real time PCR method for simultaneous detection, quantitation and differentiation of capripoxviruses. *Journal of Virological Methods*, *171* (1), pp. 134–140. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.10.014

Lojkić, I., Šimić, I., Krešić, N. and Bedeković, T., 2018. Complete genome sequence of a lumpy skin disease virus strain isolated from the skin of a vaccinated animal. *Genome Announcements*, *6* (22). https://doi.org/10.1128/genomeA.00482-18

Lubinga, J.C., Tuppurainen, E.S.M., Mahlare, R., Coetzer, J.A.W., Stoltsz, W.H. and Venter, E.H., 2015. Evidence of Transstadial and Mechanical Transmission of Lumpy Skin Disease Virus by Amblyomma hebraeum Ticks. *Transboundary and Emerging Diseases*, *62* (2), pp. 174–182. https://doi.org/10.1111/tbed.12102

Lubinga, J.C., Tuppurainen, E.S.M., Stoltsz, W.H., Ebersohn, K., Coetzer, J.A.W. and Venter, E.H., 2013. Detection of lumpy skin disease virus in saliva of ticks fed on lumpy skin disease virus-infected cattle. *Experimental and Applied Acarology*, *61*(1), pp. 129–138. https://doi.org/10.1007/s10493-013-9679-5

Lubinga, J., Clift, S., Tuppurainen, E., Stoltsz, W., Babiuk, S., Coetzer, J. and Venter, E., 2014. Demonstration of lumpy

skin disease virus infection in Amblyomma hebraeum and Rhipicephalus appendiculatus ticks using immunohistochemistry. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *5* (2), pp. 113–120. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.09.010

Lubinga, J., Tuppurainen, E., Coetzer, J., Stoltsz, W. and Venter, E., 2014. Transovarial passage and transmission of LSDV by Amblyomma hebraeum, Rhipicephalus appendiculatus and Rhipicephalus decoloratus. *Experimental and Applied Acarology*, *62*(1), pp. 67–75. https://doi.org/10.1007/s10493-013-9722-6

Macdonald, R., 1931. *Pseudo urticaria of cattle. Northern Rhodesian Department of Health Annual Report.*

Magori-Cohen, R., Louzoun, Y., Herziger, Y., Oron, E., Arazi, A., Tuppurainen, E., Shpigel, N.Y. and Klement, E., 2012. Mathematical modelling and evaluation of the different routes of transmission of lumpy skin disease virus. *Veterinary Research*, *43*(1), pp. 1. https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-1

Menasherow, S., Rubinstein-Giuni, M., Kovtunenko, A., Eyngor, Y., Fridgut, O., Rotenberg, D., Khinich, Y. and Stram, Y., 2014. Development of an assay to differentiate between virulent and vaccine strains of lumpy skin disease virus (LSDV). *Journal of Virological Methods*, *199*, pp. 95–101. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.12.013

Milovanović, M., Dietze, K., Milićević, V., Radojičić, S., Valčić, M., Moritz, T. and Hoffmann, B., 2019. Humoral immune response to repeated lumpy skin disease virus vaccination and performance of serological tests. *BMC Veterinary Research*, *15*(1), pp. 80. https://doi.org/10.1186/s12917-019-1831-y

Möller, J., Moritz, T., Schlottau, K., Krstevski, K., Hoffmann, D., Beer, M. and Hoffmann, B., 2019. Experimental lumpy skin disease virus infection of cattle: comparison of a field strain and a vaccine strain. *Archives of Virology*, *164*(12), pp. 2931–2941. https://doi.org/10.1007/s00705-019-04411-w

Morgenstern, M. and Klement, E., 2020. The effect of vaccination with live attenuated neethling lumpy skin disease vaccine on milk production and mortality—an analysis of 77 dairy farms in Israel. *Vaccines*, *8*(2), pp. 324. https://doi.org/10.3390/vaccines8020324

Mori, Y. and Notomi, T., 2009. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *15*(2), pp. 62–69. https://doi.org/10.1007/s10156-009-0669-9

Moss, B., 2006. Poxvirus entry and membrane fusion. *Virology*, *344*(1), pp. 48–54. https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.037

Mulatu, E. and Feyisa, A., 2018. Review: Lumpy Skin Disease. *Journal of Veterinary Science and Technology*, *09*(03). https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000535

Murray, L., Edwards, L., Tuppurainen, E.S., Bachanek-Bankowska, K., Oura, C.A.L, Mioulet, V. and King, D.P., 2013. Detection of Capripoxvirus DNA using a novel loop-mediated isothermal amplification assay. *BMC Veterinary Research*, *9*(1), pp. 90. https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-90

Ochwo, S., VanderWaal, K., Ndekezi, C., Nkamwesiga, J., Munsey, A., Witto, S.G., Nantima, N., Mayanja, F., Okurut, A.R.A., Atuhaire, D.K. and Mwiine, F.N., 2020. Molecular detection and phylogenetic analysis of lumpy skin disease virus from outbreaks in Uganda 2017–2018. *BMC Veterinary Research*, *16*(1), pp. 66. https://doi.org/10.1186/s12917-020-02288-5

OIE., 2017. Lumpy skin disease. In *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (pp. 1–5).

Orlova, E.S., Shcherbakov, A.V., Diev, V.I. and Zakharov, V. M., 2006. Differentiation of Capripoxvirus species and strains by polymerase chain reaction. *Molecular Biology*, *40*(1), pp. 139–145. https://doi.org/10.1134/S0026893306010183

Parida, M., Sannarangaiah, S., Dash, P.K., Rao, P.V.L. and Morita, K., 2008. Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Reviews in Medical Virology*, *18*(6), pp. 407–421. https://doi.org/10.1002/rmv.593

Paslaru, A.I., Verhulst, N.O., Maurer, L.M., Brendle, A., Pauli, N., Vögtlin, A., Renzullo, S., Ruedin, Y., Hoffmann, B., Torgerson, P.R., Mathis, A. and Veronesi, E., 2020. Potential mechanical transmission of Lumpy skin disease virus (LSDV) by the stable fly (Stomoxys calcitrans) through regurgitation and defecation. *Current Research in Insect Science*, 100007. https://doi.org/10.1016/j.cris.2020.100007

Roche, X., Rozstalnyy, A., TagoPacheco, D., Pittiglio, C., Kamata, A., Beltran Alcrudo, D., Bisht, K., Karki, S., Kayamori, J., Larfaoui, F., Raizman, E., VonDobschuetz, S., Dhingra, M. and Sumption, K., 2020. *Introduction and spread of lumpy skin disease in South, East and Southeast Asia*. FAO. https://doi.org/10.4060/cb1892en

Rouby, S, Hussein, K., Aboelhadid, S. and Ahmed, E., 2017. Role of rhipicephalus annulatus tick in transmission of lumpy skin disease virus in naturally infected cattle in Egypt. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, *5* (4), pp. 185–191.

Rouby, Sherin and Aboulsoud, E., 2016. Evidence of intrauterine transmission of lumpy skin disease virus. *The Veterinary Journal*, *209*, pp. 193–195. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.11.010

Saegerman, C., Bertagnoli, S., Meyer, G., Ganière, J.-P., Caufour, P., De Clercq, K., Jacquiet, P., Fournié, G., Hautefeuille, C., Etore, F. and Casal, J., 2018. Risk of introduction of lumpy skin disease in France by the import of vectors in animal trucks. *PLOS ONE*, *13*(6), e0198506. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198506

Salib, F. and Osman, A., 2011. Incidence of lumpy skin disease among Egyptian cattle in Giza Governorate, Egypt. *Veterinary World*, *4*(4), pp. 162–167. https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.162-167

Sanz-Bernardo, B., Haga, I. R., Wijesiriwardana, N., Hawes, P. C., Simpson, J., Morrison, L.R., MacIntyre, N., Brocchi, E., Atkinson, J., Haegeman, A., De Clercq, K., Darpel, K. E. and Beard, P.M., 2020. Lumpy skin disease is characterized by severe multifocal dermatitis with necrotizing fibrinoid vasculitis following experimental infection. *Veterinary Pathology*, *57*(3), pp. 388–396. https://doi.org/10.1177/0300985820913268

Shalaby, M.A., El-Deeb, A., El-Tholoth, M., Hoffmann, D., Czerny, C.-P., Hufert, F.T., Weidmann, M. and Abd El Wahed, A., 2016. Recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of lumpy skin disease virus. *BMC Veterinary Research*, *12*(1), pp. 244. https://doi.org/10.1186/s12917-016-0875-5

Sohier, C., Haegeman, A., Mostin, L., De Leeuw, I., Campe, W. Van, De Vleeschauwer, A., Tuppurainen, E.S.M., van den Berg, T., De Regge, N. and De Clercq, K., 2019. Experimental evidence of mechanical lumpy skin disease virus transmission by Stomoxys calcitrans biting flies and Haematopota spp. horseflies. *Scientific Reports*, *9*(1), pp. 20076. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56605-6

Sprygin, A., Pestova, Y., Wallace, D.B., Tuppurainen, E. and Kononov, A.V., 2019. Transmission of lumpy skin disease virus: A short review. *Virus Research*, *269*, pp. 197637. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.05.015

Sprygin, Alexander, Babin, Y., Pestova, Y., Kononova, S., Byadovskaya, O. and Kononov, A., 2019. Complete genome sequence of the lumpy skin disease virus recovered from the first outbreak in the northern caucasus Region of Russia in 2015. *Microbiology Resource Announcements*, *8*(8). https://doi.org/10.1128/

MRA.01733-18

Stram, Y., Kuznetzova, L., Friedgut, O., Gelman, B., Yadin, H. and Rubinstein-Guini, M., 2008. The use of lumpy skin disease virus genome termini for detection and phylogenetic analysis. *Journal of Virological Methods*, *151*(2), pp. 225–229. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2008.05.003

Tageldin, M.H., Wallace, D.B., Gerdes, G.H., Putterill, J.F., Greyling, R.R., Phosiwa, M.N., Al Busaidy, R.M. and Al Ismaaily, S.I., 2014. Lumpy skin disease of cattle: an emerging problem in the Sultanate of Oman. *Tropical Animal Health and Production*, *46*(1), pp. 241–246. https://doi.org/10.1007/s11250-013-0483-3

Toplak, I., Petrović, T., Vidanović, D., Lazić, S., Šekler, M., Manić, M., Petrović, M. and Kuhar, U., 2017. Complete genome sequence of lumpy skin disease virus isolate SERBIA/Bujanovac/2016, Detected during an Outbreak in the Balkan Area. *Genome Announcements*, *5*(35). https://doi.org/10.1128/genomeA.00882-17

Tulman, E.R., Afonso, C.L., Lu, Z., Zsak, L., Kutish, G.F. and Rock, D.L., 2001. Genome of lumpy skin disease virus. *Journal of Virology*, *75*(15), pp. 7122–7130. https://doi.org/10.1128/JVI.75.15.7122-7130.2001

Tulman, E.R., Afonso, C.L., Lu, Z., Zsak, L., Sur, J.-H., Sandybaev, N.T., Kerembekova, U.Z., Zaitsev, V.L., Kutish, G.F. and Rock, D.L., 2002. The Genomes of Sheeppox and Goatpox Viruses. *Journal of Virology*, *76* (12), pp. 6054–6061. https://doi.org/10.1128/JVI.76.12.6054-6061.2002

Tuppurainen, E.S.M., Stoltsz, W.H., Troskie, M., Wallace, D. B., Oura, C.A.L., Mellor, P.S., Coetzer, J.A.W. and Venter, E.H., 2011. A potential role for Ixodid (Hard) tick vectors in the transmission of lumpy skin disease virus in Cattle. *Transboundary and Emerging Diseases*, *58*(2), pp. 93–104. https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01184.x

Tuppurainen, E.S.M., Venter, E.H. and Coetzer, J.A.W., 2005. The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques. *Onderstepoort J Vet Res*, *72*(2). https://doi.org/10.4102/ojvr.v72i2.213

Tuppurainen, E.S.M., Venter, E.H., Coetzer, J.A.W. and Bell-Sakyi, L., 2015. Lumpy skin disease: Attempted propagation in tick cell lines and presence of viral DNA in field ticks collected from naturally-infected cattle. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *6*(2), pp. 134–140. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.11.002

Tuppurainen, E. and Galon, N., 2016. *Technical item II lumpy skin disease: Current situation in Europa and neighbouring regions and necessary control measures to halt the spread in Southeast Europe.*

Tuppurainen, Eeva. and Oura, C., 2014. Lumpy skin disease: an African cattle disease getting closer to the EU. *Veterinary Record*, *175*(12), pp. 300–301. https://doi.org/10.1136/vr.g5808

Tuppurainen, ESM., Venter, E., Shisler, J., Gari, G., Mekonnen, G., Juleff, N., Lyons, N., De Clercq, K., Upton, C., Bowden, T., Babiuk, S. and Babiuk, L., 2017. Review: Capripoxvirus diseases: current status and opportunities for control. *Transboundary and Emerging Diseases*, *64* (3), pp. 729–745. https://doi.org/10.1111/tbed.12444

Tuppurainen, ESM, Babiuk, S. and Klement, E., 2018. *Lumpy Skin Disease*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92411-3

Tuppurainen, ESM, Lubinga, J.C., Stoltsz, W.H., Troskie, M., Carpenter, S.T., Coetzer, J.A.W., Venter, E.H. and Oura, C.A.L., 2013. Mechanical transmission of lumpy skin disease virus by Rhipicephalus appendiculatus male ticks. *Epidemiology and Infection*, *141*(2), pp. 425–430. https://doi.org/10.1017/S0950268812000805

Varshovi, hamid R., Norian, R., Azadmehr, A. and afzal ahangaran, N., 2017. Immune response characteristics of Capri pox virus vaccines following emergency vaccination of cattle against lumpy skin disease virus. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, *9* (2), pp. 33–40. https://doi.org/10.22067/veterinary.v9i2.65381

Venkatesan, G., Balamurugan, V. and Bhanuprakash, V., 2014. TaqMan based real-time duplex PCR for simultaneous detection and quantitation of capripox and orf virus genomes in clinical samples. *Journal of Virological Methods*, *201*, pp. 44–50. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.02.007

Vidanović, D., Šekler, M., Petrović, T., Debeljak, Z., Vasković, N., Matović, K. and Hoffmann, B., 2016. Real-Time PCR assays for the specific detection of field balkan strains of lumpy skin disease virus. *Acta Veterinaria*, *66*(4), pp. 444–454. https://doi.org/10.1515/acve-2016-0038

Weiss, K.E., 1968. *Lumpy Skin Disease Virus* (pp. 111–131). https://doi.org/10.1007/978-3-662-39771-8_3

Wilson, A.L., Courtenay, O., Kelly-Hope, L.A., Scott, T.W., Takken, W., Torr, S.J. and Lindsay, S.W., 2020. The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(1), pp. e0007831. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007831

Yeruham, I., Nir, O., Braverman, Y., Davidson, M., Grinstein, H., Haymovitch, M. and Zamir, O., 1995. Spread of lumpy skin disease in Israeli dairy herds. *Veterinary Record*, *137*(4), pp. 91–93. https://doi.org/10.1136/vr.137.4.91

Yeruham, I., Perl, S., Nyska, A., Abraham, A., Davidson, M., Haymovitch, M., Zamir, O. and Grinstein, H., 1994. Adverse reactions in cattle to a capripox vaccine. *Veterinary Record*, *135*(14), pp. 330–332. https://doi.org/10.1136/vr.135.14.330

Zheng, M., Liu, Q., Jin, N., Guo, J., Huang, X., Li, H., Zhu, W. and Xiong, Y., 2007. A duplex PCR assay for simultaneous detection and differentiation of Capripoxvirus and Orf virus. *Molecular and Cellular Probes*, *21*(4), pp. 276–281. https://doi.org/10.1016/j.mcp.2007.01.005

Zhugunissov, K., Bulatov, Y., Orynbayev, M., Kutumbetov, L., Abduraimov, Y., Shayakhmetov, Y., Taranov, D., Amanova, Z., Mambetaliyev, M., Absatova, Z., Azanbekova, M., Khairullin, B., Zakarya, K. and Tuppurainen, E., 2020. Goatpox virus (G20-LKV) vaccine strain elicits a protective response in cattle against lumpy skin disease at challenge with lumpy skin disease virulent field strain in a comparative study. *Veterinary Microbiology*, *245*, pp. 108695. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108695