



# האם הבדלים בין חלבון המעטפת EEV126-167 בזן התרכיב וזן השדה של נגיף קטרת העור משפיעים על אלימות הנגיף?

אורן ארסטר<sup>1</sup>, מריסול גויני-רובינשטיין<sup>1</sup>, סופיה מנשרוב<sup>1</sup>, מרטין בר<sup>2</sup>, דירק הופר<sup>2</sup>, אמיליה איבנובה<sup>3</sup>, אסטל וונטר<sup>4</sup>, מילנקו סקלר<sup>5</sup>, מישו קולרביץ<sup>5</sup>, יהודה שטרם<sup>1</sup>

1. החטיבה לזירולוגיה, המכון הווטרינרי ע"ש קמרון

2. Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald - Insel Riems, Germany

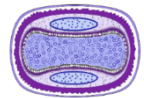
3. Bulgarian Food Safety Authority, Sophia, Bulgaria

4. Department of Veterinary Tropical Diseases, University of Pretoria, Pretoria, South Africa

5. Veterinary Specialist Institute "kraljevo", Kraljevo, Republic of Serbia



הכנס השנתי ה-30 למדעי הבקר

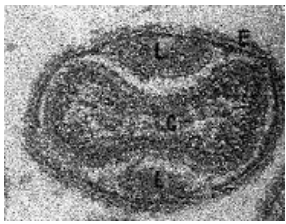


# מחלת קטרת העור (Lumpy Skin Disease LSD) בעולם ובישראל

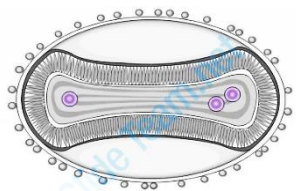
נגרמת על ידי נגיף בשם זה (Lumpy skin disease virus - LSDV) מקבוצת נגיפי אבעבועות  
Capripox



גורמת להופעת קטריות מוגלתיות (שלפוחיות) על העור, חום, בצקות  
בגפיים, ירידה חדה בתנובת החלב ובמשקל



זוהתה לראשונה באפריקה לפני כ-90 שנה, התפשטה למזה"ת ולאחרונה  
לאירופה



מנגנון העברת הנגיף לא הודגם בניסוי מבוקר. חשד להעברה מכנית ע"י  
חרקים מעופפים



התפרצה בישראל בשנים 1989, 2006-7, ולאחרונה ב-2012



הבקר בישראל חוסן בתחילה בתרכיב נגד אבעבועות צאן (Sheeppox) ואח"כ  
בתרכיב Neethling – זן מוחלש של LSDV



# אתגרים בשליטה ואבחון במחלת קטרת העור - LSD



מנגנון ההעברה אינו ידוע – חשד לחרקים והעברה ישירה. הדבקה מבוקרת הושגה בהצלחה חלקית בלבד



אינקובציה ארוכה, התפשטות מהירה, זמן תגובה ארוך להשפעת החיסון



אינה יוצרת תגובת נוגדנים חזקה, לכן:



(I) קשה לנטר חשיפה והידבקות ללא סימנים קליניים בעדרים שנבדקים

(II) קשה להעריך יעילות חיסון

(III) קשה להעריך יעילות הגנה חיסונית אימהית על עגלים

נדרש לפתח כלים לזיהוי נוכחות הנגיף



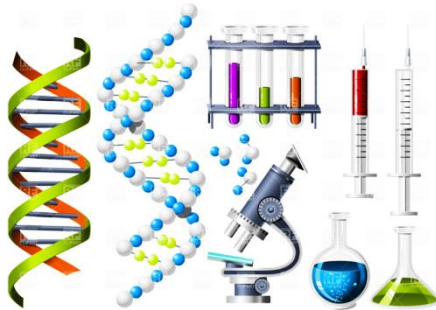
נדרשת אבחנה בין זני התרכיב לזן השדה



נדרש לפתח כלים לזיהוי חשיפה תת-קלינית



נדרש לפתח כלים להערכת יעילות החיסונים



# פיתוח כלים לזיהוי נגיף קטרת העור

כלים שפותחו במכון הווטרינרי ע"ש קמרון בשנים 2007-2017

זיהוי נוכחות ה-DNA הנגיפי ע"י Nested PCR – שיטה רגישה וספציפית



אבחנה בין נגיף LSDV ונגיף אבעבועות צאן (SPV) באמצעות Endpoint PCR ו-probe-based qPCR

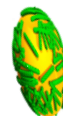


אבחנה בין נגיף השדה האלים ונגיף התרכיב של LSDV (Neethling) באמצעות מספר שיטות מולקולריות



מוצרים מסחריים שנמכרים ע"י חברת IDVet החל משנת 2018

זיהוי חשיפה לנגיפי Capripox ע"י בדיקת נוגדנים לקבוצת הנגיפים



➤ ID Screen<sup>®</sup> Capripox Double Antigen Multi-species

זיהוי נוכחות נגיף LSDV ואבחנה בין זן התרכיב וזן השדה האלים



➤ ID Gene<sup>®</sup> LSD DIVA Triplex

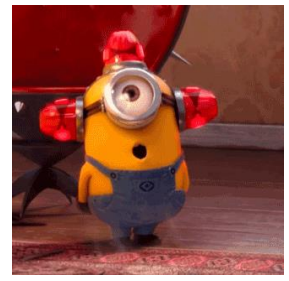


המכון הווטרינרי ע"ש קמרון

ID.vet  
Innovative Diagnostics

# התפשטות מחלת קטרת העור בשנים 2012-2018

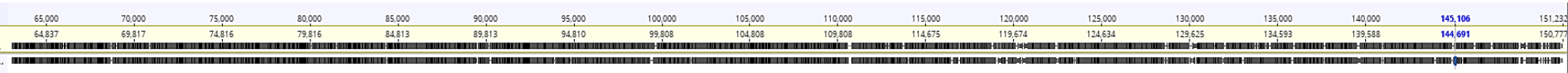
- 1929 - Zambia (then Rhodesia)
- 1940s - Sub-Saharan countries, RSA, Madagasca
- 1988 - Egypt
- 1989 - Israel
- 1990 - 2000 –Kuwait, Lebanon, Yemen, UAE
- 2006 – Egypt, Israel
- 2012-2014 – Turkey, Iran
- 2015-2016 - Greece, Serbia, FYROM, Albania, Bulgaria, Russia (Caucasus)
- 2017-2018 - Kazakhstan



# אבחון נגיף קטרת העור במכון הווטרינרי

מבנה גנטי: dsDNA, ~150Kb 

השוואה בין גנומים של LSDV ו-SPV (אבעבועות צאן) – 96.7% 



❖ זיהוי הנגיף

❖ אבחנה בין LSDV ו-SPV (שימש כתרכיב חיסון)

❖ אבחנה בין LSDV זן השדה האלים וזן התרכיב (Neethling) ~99% זהות



נדרש מחקר הכולל מיפוי גנומי של בידודי נגיף ממקומות שונים  
והשוואתם לגנום נגיף התרכיב על מנת לאתר סמנים גנטיים

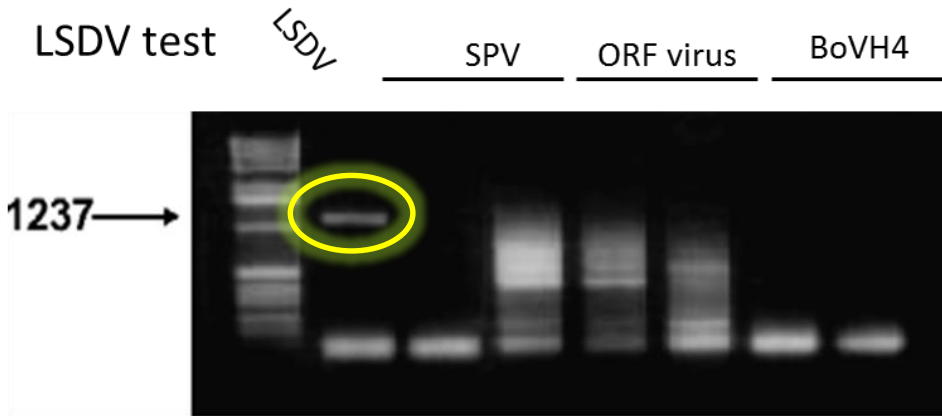


# זיהוי ייחודי של הנגיף באמצעות Endpoint PCR

## זיהוי ייחודי של LSDV

נגיפי אבעבועות של מעלי גירה

1. CMPV – אבעבועות גמלים
2. SPV – אבעבועות צאן
3. LSDV - נגיף קטרת העור
4. OrfV - נגיף פרצית



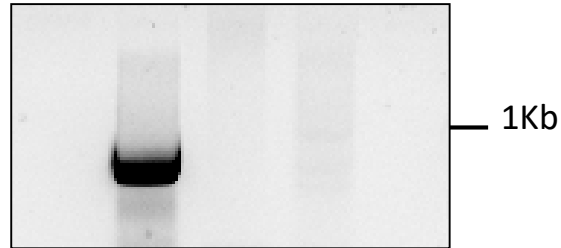
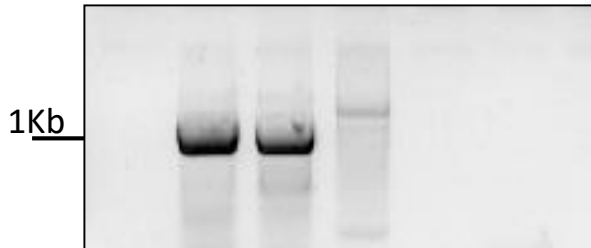
זיהוי של LSDV ו-SPV, וזיהוי של SPV בלבד

PCR 109377F - 110311R

PCR 110170F - 110161R

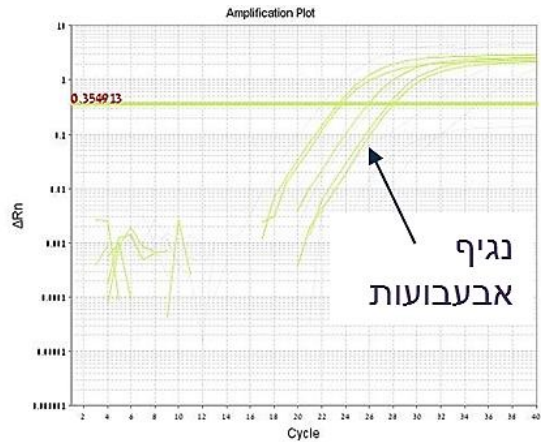
CMPV  
LSDV  
SPV  
OrfV  
C (-)

CMPV  
SPV  
LSDV  
OrfV  
C (-)

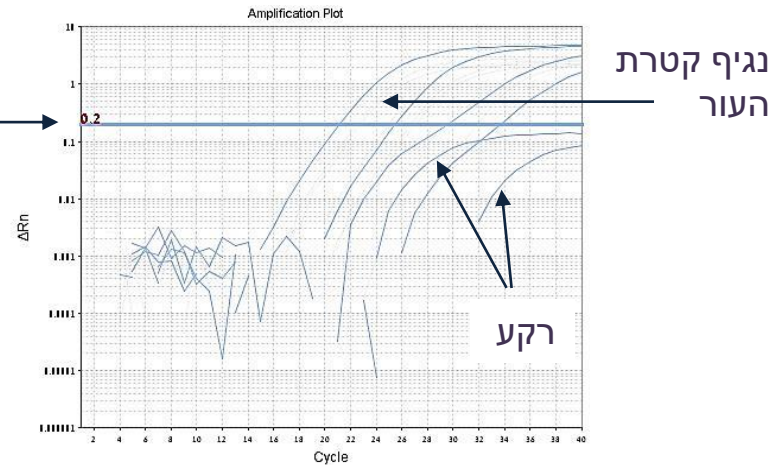


# זיהוי נגיף קטרת העור באמצעות Real-time PCR

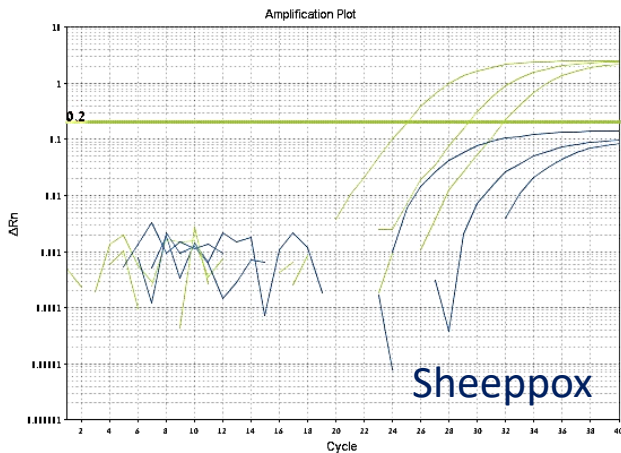
בדיקה כללית לנגיפי Capripox (צאן, עיזים וקטרת העור)



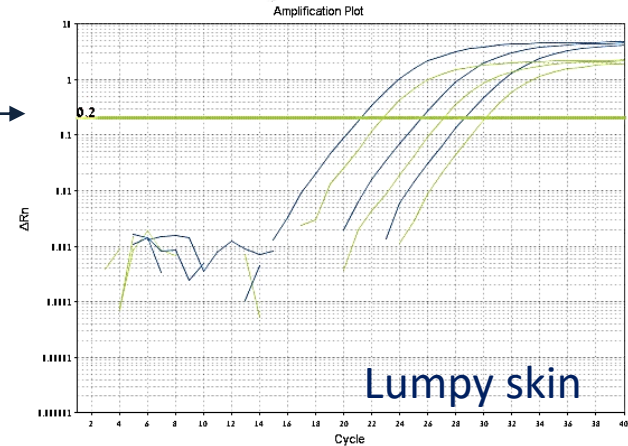
בדיקה ייחודית לנגיף קטרת העור



סף הגילוי



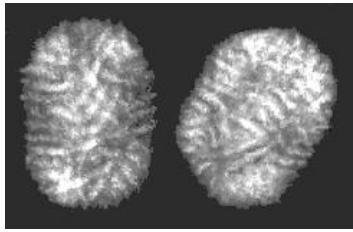
סף הגילוי



מארכת הבדיקה מאפשרת ליהוי ראש וספציפיות של נגיף קטרת העור



# אבחנה בין זנים שונים של אותו נגיף – דומים אבל לא זהים

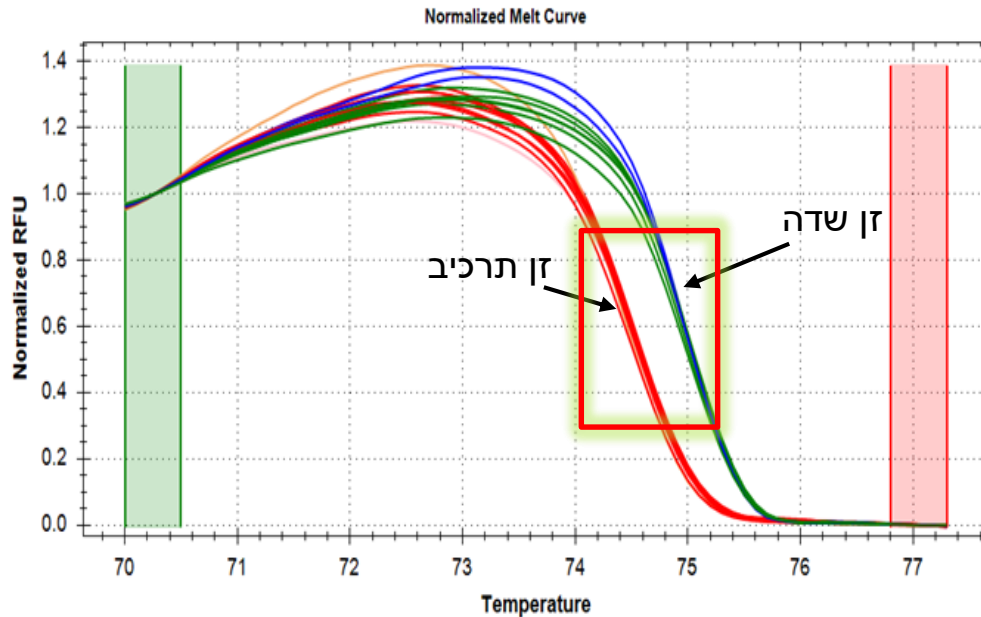
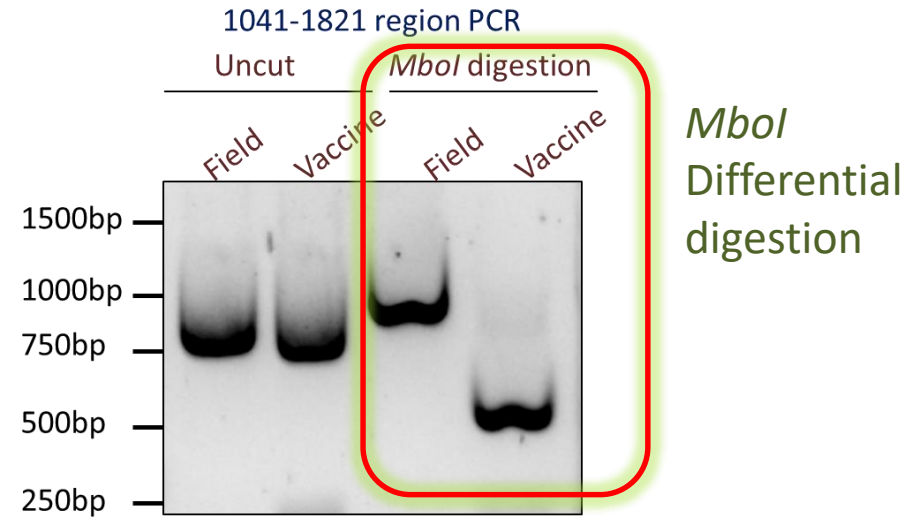
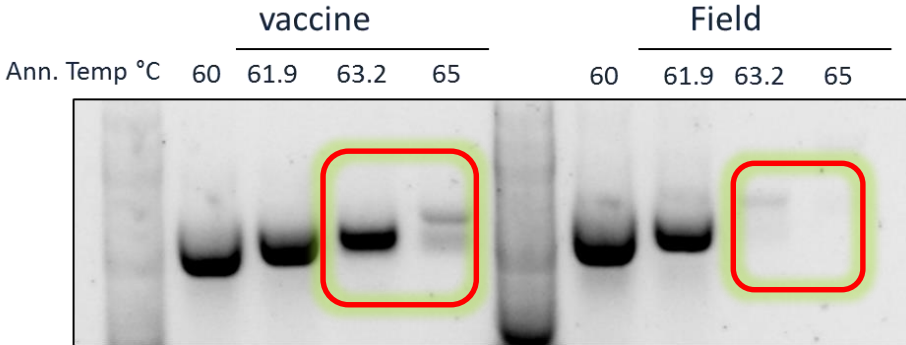


*פרטים שונים מאותו מין (species) יכולים להיות כמעט זהים אנטיגן, טיפוס*

*אבל עם תכונות שונות מאד – Genotype Vs. Phenotype*

# אבחנה בין זן השדה לזן התרכיב של LSDV

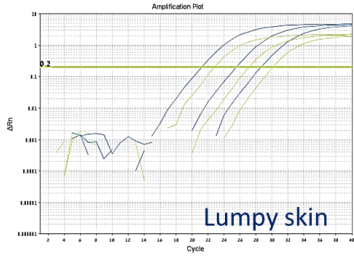
## Temperature-dependent PCR



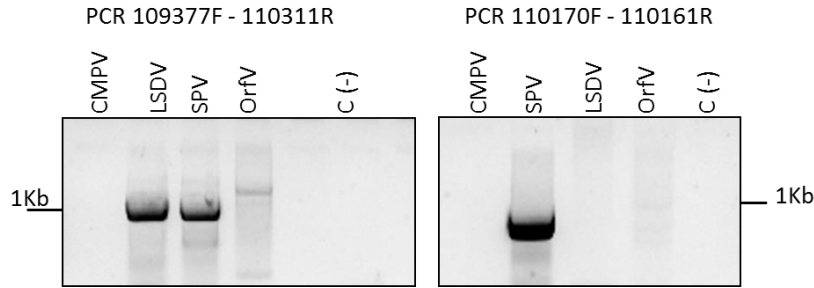
## Real-time PCR High Resolution Melt analysis

בדיקה מהירה ורגישה שמבחינה בין זן השדה  
זן התרכיב (Neethling)

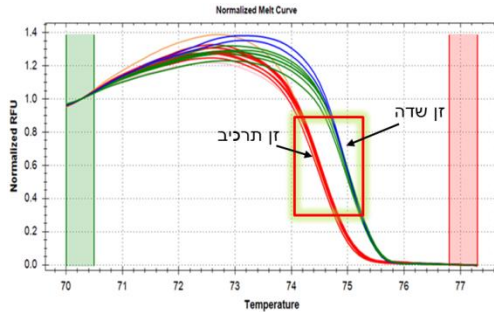
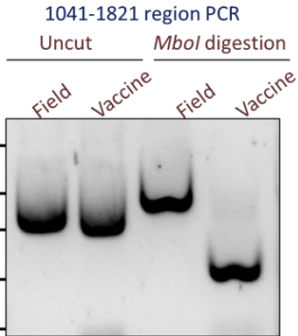
# אבחון נגיף קטרת העור במכון הווטרינרי - המשך



זיהוי הנגיף באמצעות qPCR ו- Endpoint PCR



אבחנה בין LSDV ו- SPV



אבחנה בין זן השדה לזן התרכיב של LSDV

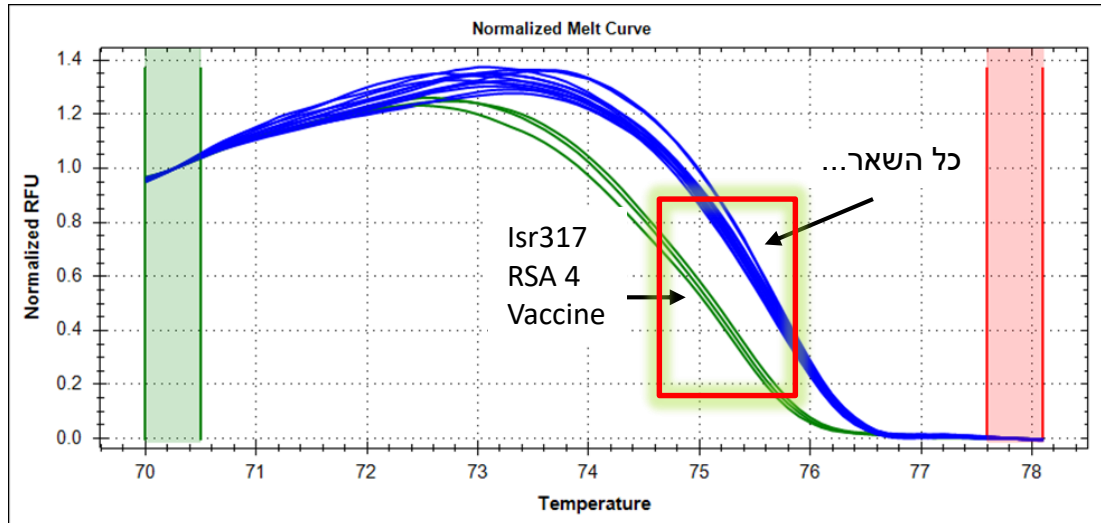
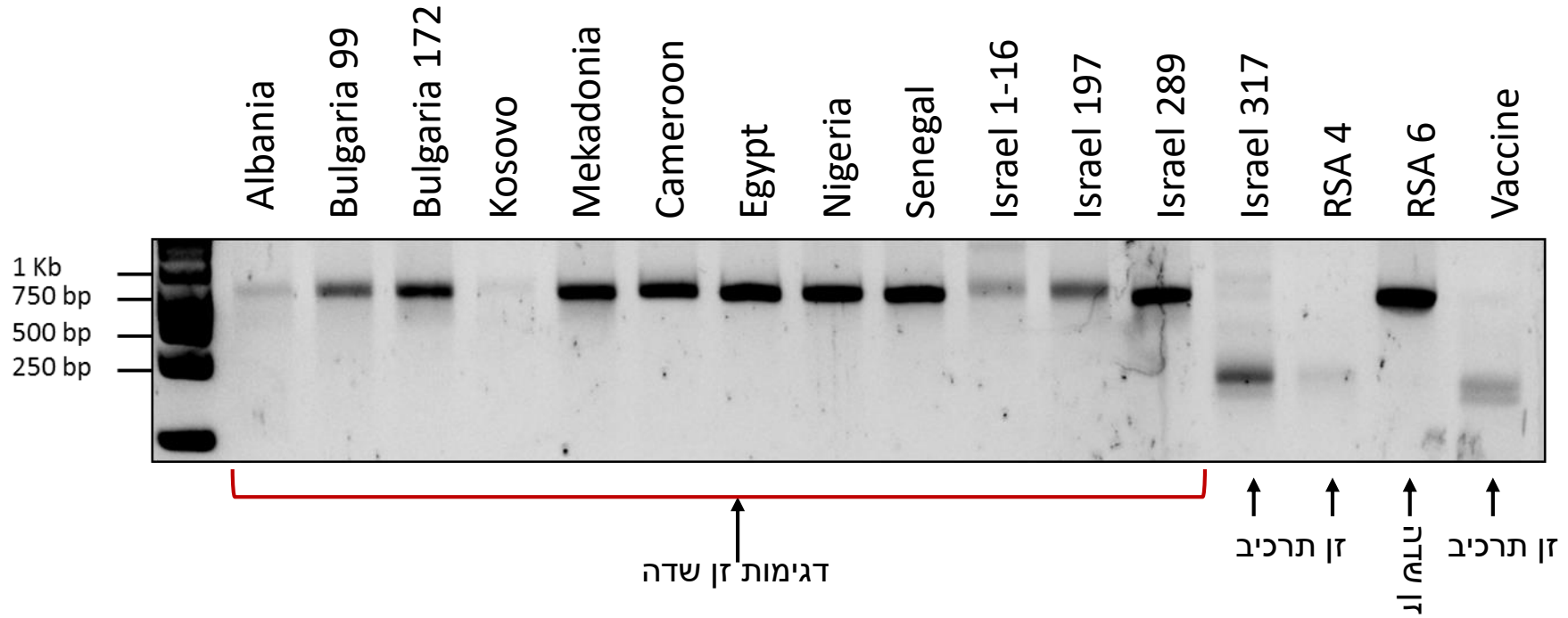


פותחו כלי אבחון ומחקר המאפשרים אבחנה בין הנגיף ה"ישראלי" לזן התרכיב

ומה לאבי הנאיף שהופיע באפריקה ואירופה?

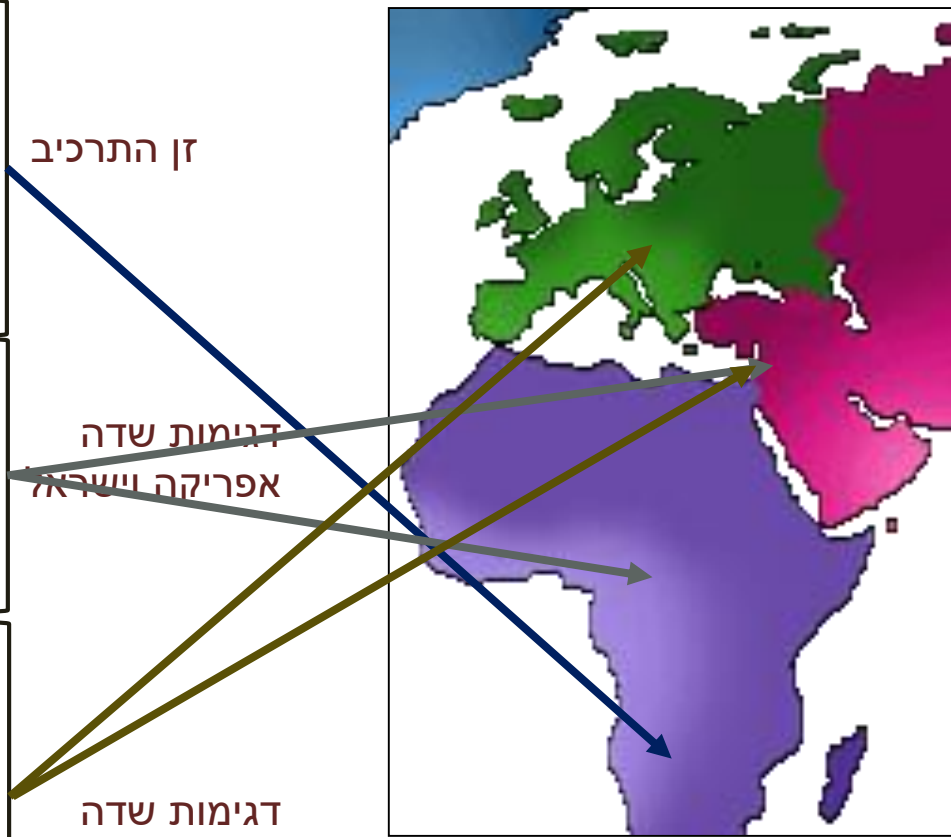
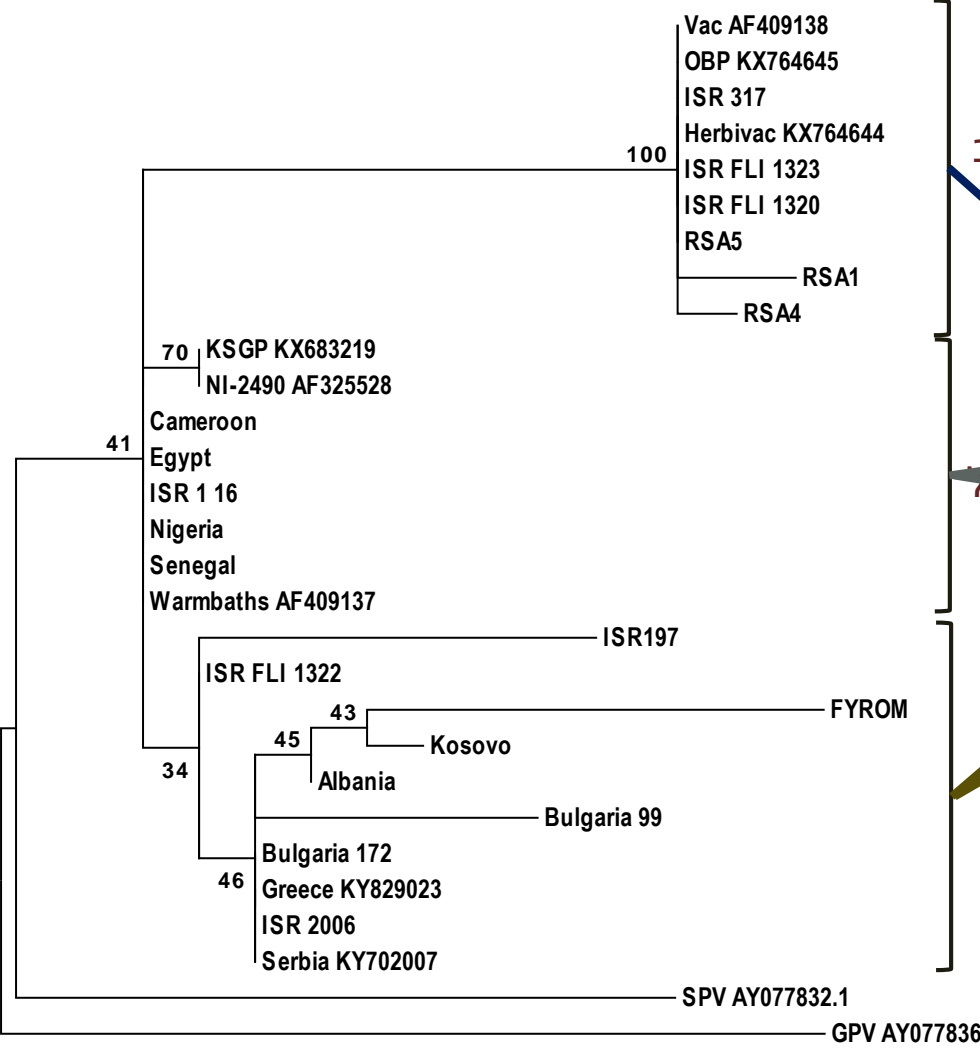
# ניתוח DNA מדגימות מאפריקה, מזה"ת ואירופה

## MboI Differential digestion



Real-time PCR  
High Resolution Melt analysis

# ניתוח רצפי דגימות מאפריקה, מזה"ת ואירופה - המשך



0.005

10,000 20,000 30,000 40,000 50,000 60,000 70,000 80,000 90,000 100,000 110,000 120,000 130,000 140,000 150,773

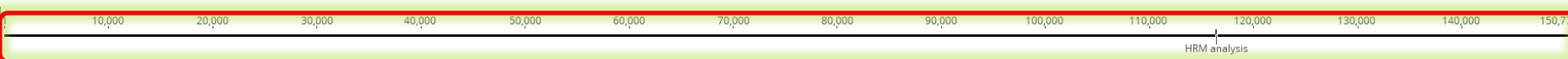
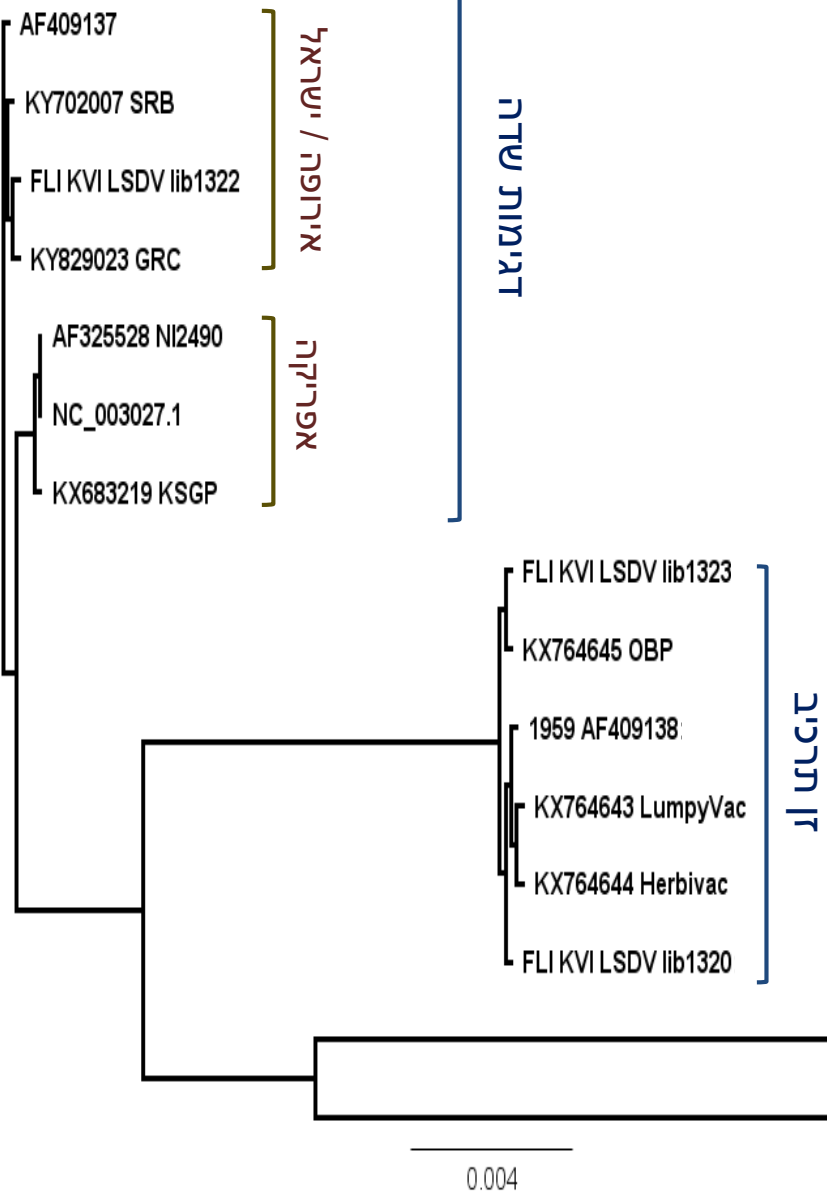


External Envelop Virion protein gene - EEV

# ניתוח רצפי דגימות מאפריקה, מזה"ת ואירופה - המשך

➤ **כאן הנאיבים שרוצפו, לון התרכיב שונה אנטי מנדיות השדה**

➤ **ההבדלים באן EEV משקפים את ההבדלים באנום המלא בין נאיבי התרכיב והשדה**



# השוואה גנטית – זן השדה מול זן התרכיב (99%~ זהות)

DNA

10,000 20,000 30,000 40,000 50,000 60,000 70,000 80,000 90,000 100,000 110,000 120,000 130,000 140,000 150,773

HRM analysis

EEV

תרכיב

290		300		310		320		330		340		350		360		370		380		390		400		410		420		430		440		450		460									
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGATTTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															
ATTTGAAGAA	STAAATAAAC	GTTTTAGAAAAT	GGTGTAC	CACAAATAC	AGGTGAAGAAA	TTTTAAATTTGGG	GATAAC	AAC											GTTTATGATTTACC	ACTAAC	GATTTGAGT	TGTAAAC	AAC	GATTGTC	TTTTATAC	ATTACC	CGA	TGATA															

שדה

חלבון

40		50		60		70		80		90		100		110		120		130		140		150		160		170		180																															
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	D	N	V	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		
MLFKKIKGNOKRT	ICVRLNS	IYSTNS	TESTI	SES	IWSNG	SNDT	FVKN	EKENVE	VEI	KRC	DNE	EE	NN	LV	ENG	FTI	NI	GEEN	I	WDD	NN	----	V	DI	PP	N	S	NN	D	G	V	Y	L	P	P	N	S	N	I	E	E	K	I	K	I	M	H	K	N	N	S	S	N	Y	A	N	C		

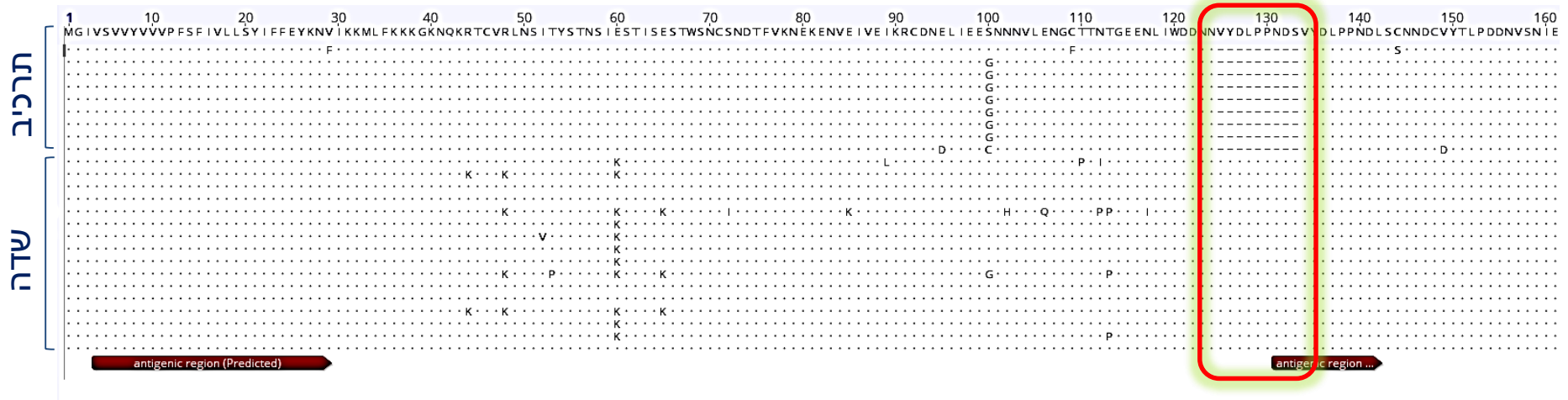
antigenic region

➤ החלבון EEV126-127 מכיל קטע שאינו קיים בלון התרכיב

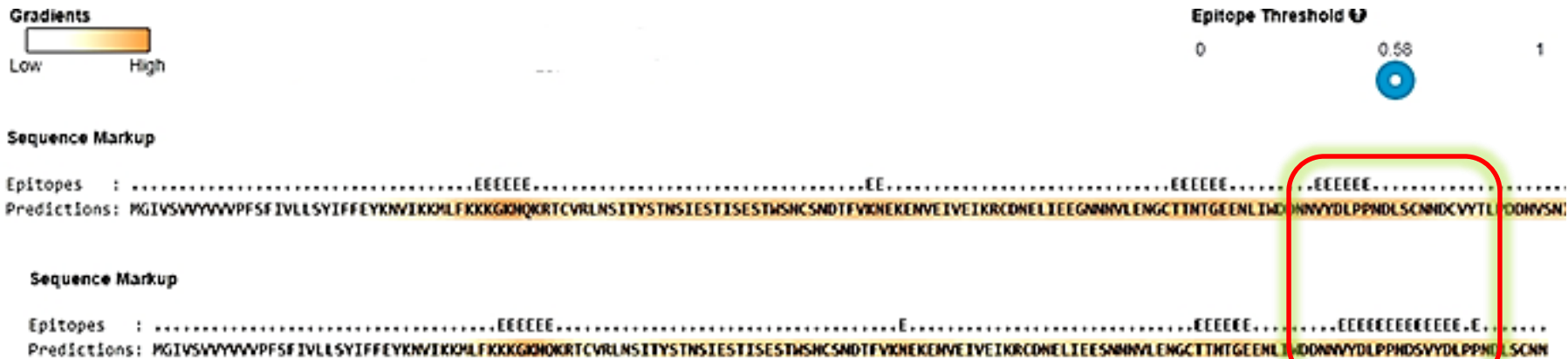
➤ לקטע זה צפויה להיות חשיבות באפיונות הנאיף בהקר

# ניתוח רצף החלבון EEV126-127 – External Envelop Virion

## תוכנת (EMBOSS) antigenic



## תוכנת BepiPred-2.0



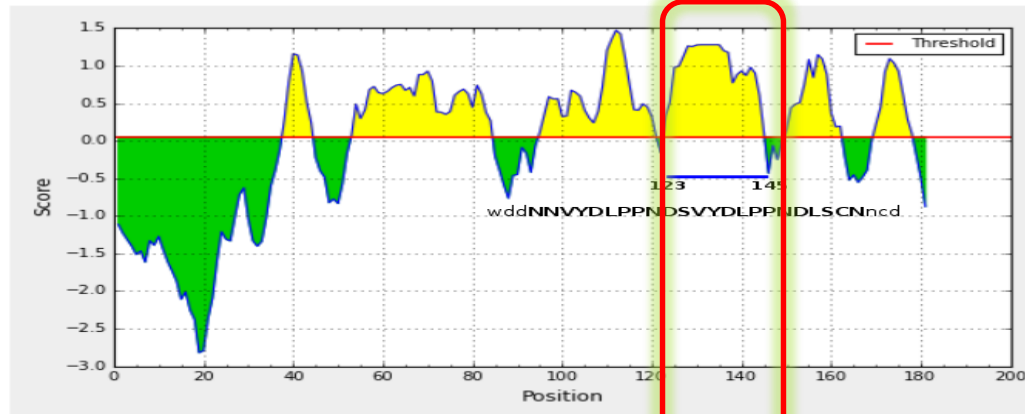
תרכיב  
שדה



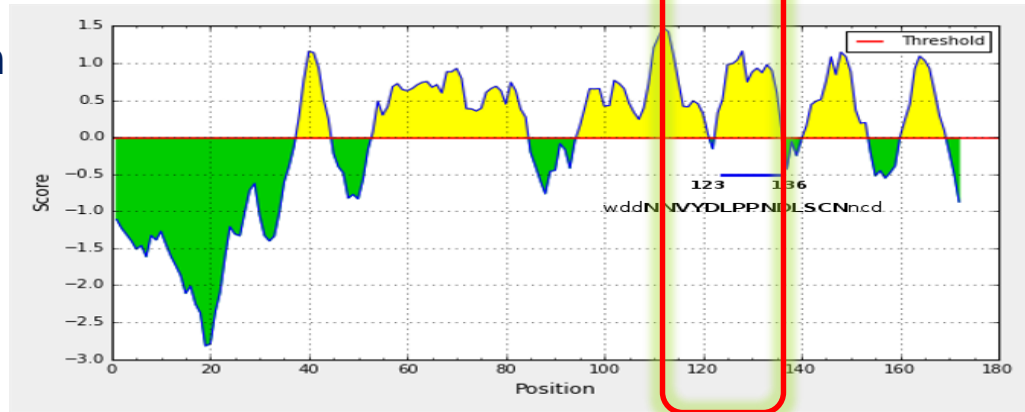
# המשך - ניתוח רצף החלבון EEV - External Envelop Virion

תוכנת IEDB-AR

שדה



תרכיב



ניתוח האזור המשתנה בחלבון EEV ב-3 תוכנות שונות מצביע על פוטנציאל להכרת האאימות ואיזירת תאובה חיסונית



במכון הווטרינרי ע"ש קמרון פותחו מספר שיטות מולקולריות לזיהוי נגיף קטרת העור ולאבחנה בינו לבין אבעבועות צאן, ובין זני התרכיב והשדה



השיטות שפותחו עבור הזן המקומי נמצאו יעילות גם בבדיקת דגימות מאפריקה ואירופה



ניתוח האזור המקודד לחלבון External Envelop Virion (EEV126-127) מראה כי בכל דגימות השדה שנבדקו, יש אזור שאינו קיים בזן התרכיב ובנגיפי אבעבועות צאן



האזור הייחודי לדגימות השדה זוהה כבעל פוטנציאל לתפקיד בהקניית אלימות לנגיף כלפי בקר



*נדרש מחקר המשק על מנת לבסס את המסקנות ולהבין מה תפקיד החלבון בהדבקה והתפשטות הבקר*



# תודה על ההקשבה!



הכנס השנתי ה-30 למדעי הבקר



