

שם המעבדה: נגיפי גורמי סרטן וכשל חיסוני

אחראי/ראש צוות: דר' אירית דוידסון

טל. 03-9681602

דואר אלקטרוני: IRITD@MOAG.GOV.IL

חברי צוות: גב' אמירה אל-טורי, טל. 03-9681602

רשימת אבחונים המבוצעים במעבדה

Marek's disease virus – MDV
Reticuloendotheliosis virus – REV
Avian Leukosis virus – ALV
Avian leukosis virus type J – ALV-J
Lymphoproliferative virus – LPDV
Chicken anemia virus – CAV
Infectious Laryngotracheitis virus – ILTV
Fowlpox virus - FWPV

שיטות הבדיקה ומסמכי הייחוס

Pathogen	Assay	Reference
Marek's disease virus – MDV	PCR	Davidson et al. (1995) Avian Pathology 24: 69-94.
Reticuloendotheliosis virus – REV	PCR	Davidson et al. (1995) Avian Pathology 24: 69-94.
Avian Leukosis virus – ALV	PCR	Davidson and Borenshtain (2001), Avian Dis. 45: 102-121
Avian leukosis virus type J – ALV-J	PCR	Davidson and Borenshtain (2001), Avian Dis. 45: 102-121
Lymphoproliferative virus – LPDV	PCR	Davidson and Borenshtain (2001), Avian Dis. 45: 102-121
Chicken anemia virus – CAV	PCR	Imai et al. (1998). Res. In Vet. Science 64: 205-208.
Infectious Laryngotracheitis virus – ILTV	PCR	Han and Kim (2003). Avian Dis. 47: 261-271.
Fowlpox virus - FWPV	PCR	Garcia et al. (2003). Avian Dis. 47, 343-354. Lushow et al. (2004). Avian Dis. 48: 453-462.

מגבלות השיטה

האבחון נעשה על איברים, ללא ריבוי קודם בביצים מעוברות או תרביות רקמה. לצורך אבחון הנגיפים MDV, REV, ALV, ALV-J, LPDV ו-CAV יש צורך לדגום כבד, טחול וכל איבר בעל לקות, וכן נוצות כנף אשר נתלשו מתוך העור. לאבחון ILTV יש צורך בקנה הנשימה המראה סימנים קליניים, ואילו לאבחון ה-FWPV יש לדגום את הנגעים האופייניים המופיעים על גבי העור. האיברים ישמשו ישירות להפקת ה-DNA והגברה ב-PCR. יש לשמור את האיברים בהקפאה בצלחת פטרי או בשקית ניילון, ולהביא למעבדה ללא דחיפות. הבדיקות נערכות בקבוצות של כ- 6-8 משקים, והתשובה ניתנת תוך שבוע עד שבועיים.

נושאי המחקר

1. נגיפים גורמי סרטן

רוב הגידולים בתרנגולות ובתרנגולי הודו נגרמים על ידי הדבקה בנגיפים המשותפים לשתיה משפחות: נגיף המארק (Marek's disease virus (MDV), שהוא נגיף הרפס, בעוד שאר הנגיפים משתייכים למשפחת הרטרו, והם הרטיקולואנדוליוזיס (Reticuloendotheliosis (REV, ולויקוזיס Avian Leukosis virus (ALV) (טיפוס A ו-J) בתרנגולות. בתרנגולי הודו מוכרים נגיפי ה-REV ו-Lymphoproliferative disease virus LPDV. נגיף ה-MDV גורם לשאתות הן בתרנגולות והן בתרנגולי הודו. נגיפים אלו גורמים ללקויות קליניות דומות ומצטלבות בחלקן, לכן לאבחון המעבדתי של הגידולים השיאתיים חשיבות יתרה.

MDV – נגיף ממשפחת נגיפי הרפס, הבנוי מחומצת גרעין DNA. הנגיף מתרבה בצורה יצרנית בתאי האפיתל של זקיקי הנוצות, נוצרים נגיפים עטופים אשר מופרשים אל מחוץ לתאים מועברים אופקית עם אבק, חלקי נוצות ותאי עור יבשים. מלבד אתר הנוצות, הנגיף הינו צמוד לתאים שלמים ומתרבה בצורה יצרנית למחצה בלימפוציטים מסוג B ו-T. נגיף ה-MDV גורם להתמרה של לימפוציטים מסוג T, תהליך המוביל לגידולים סרטניים באיברים הפנימיים, וכן לפגיעה במערכת החיסונית, לתחלואה ולתמותה מוגברת. MDV כולל נגיפים משלושה סרוטיפים, כאשר הנגיפים האלימים משתייכים לסרוטיפ 1. כנגד המחלה פותחו תרכיבי חיסון שונים מנגיפים שונים, המשותפים לשלושת הסרוטיפים, והם ניתנים לחוד או בהרכבים שונים.

REV – נגיף ממשפחת נגיפי הרטרו, בעל חומצת גרעין RNA ואנזים reverse transcriptase ההופך אותו ל-DNA. הנגיף מדביק לימפוציטים מסוג T ו-B (תלוי בזן הנגיף), מתמיר אותם. עקב ההדבקה נוצרים גידולים סרטניים באיברים שונים, אך גם פגיעה במערכת החיסונית התאית, תמותה ותחלואה מוגברת. הנגיף מדביק הן תרנגולות והן תרנגולי הודו.

ALV – נגיף ממשפחת נגיפי הרטרו, בעל חומצת גרעין RNA ואנזים reverse transcriptase ההופך אותו ל-DNA. הנגיף מדביק לימפוציטים מסוג B, מתמיר אותם. עקב ההדבקה נוצרים גידולים סרטניים באיברים שונים, אך גם פגיעה במערכת החיסונית התאית, תמותה ותחלואה מוגברת. הנגיף מדביק רק תרנגולות.

ALV-J – נגיף ממשפחת נגיפי הרטרו, בעל חומצת גרעין RNA ואנזים reverse transcriptase ההופך אותו ל-DNA. הנגיף התגלה בשנת 1987 ואופיין כנגיף רקומביננטי שנוצר כתוצאה משחלוף גנטי בין ALV לבין נגיף עוף אנדוגני AEV. הנגיף אופיין כמדביק מיילוציטים וגורם להופעת גידולים סרטניים על גבי העצמות.

LPDV – נגיף ממשפחת נגיפי הרטרו, בעל חומצת גרעין RNA ואנזים reverse transcriptase ההופך אותו ל-DNA. הנגיף תואר רק באנגליה ובישראל כגורם לגידולים סרטניים בתרנגולי הודו, אך בשנות ה-80, אך מלבד התיאורים הראשונים לא נמצאו יותר עדויות להדבקה בנגיף זה. רוב הגידולים הסרטניים בתרנגולי הודו מלהקות מסחריות אופיינו כנגרמים על ידי הדבקה ב-MDV.

2. נגיף האנמיה המדבקת של תרנגולות - CAV

נגיף האנמיה המדבקת של תרנגולות – (Chicken infectious anemia virus CAV) בודד ב-1979 ביפן ונפוץ מאוד. הנגיף משתייך למשפחת נגיפי ה-Circoviridae, ומבנהו ייחודי בהיותו קטן ביותר (כ-2300 זוגות נוקלאוטידים) ומורכב מחומצת הגרעין DNA חד-גדילי מעגלית בכיוון שלילי. הנגיף יציב לתנאי סביבה קיצוניים ולחומרים כימיים שונים, לכן יש חשיבות מיוחדת לחיטוי הלולים.

הנגיף מדביק תרנגולות, ומועבר אופקית ואנכית. לאחרונה אף תוארה הדבקה לטנטית. סימני המחלה הבולטים הם דלקת עור נמקית, שטפי דם חיצוניים ופנימיים, ניוון האיברים הלימפטיים, פיגור בגדילה ותמותה מוגברת. המחלה מתאפיינת בצורות ובדרגות חומרה שונות, ונעדרת מאפיינים אחידים. לעתים קרובות האבחון הקליני בשדה מסובך. בתרנגולות מבוגרות המצב מסובך אף יותר. לעתים קרובות התרנגולות נושאות את הנגיף במצב של הדבקה תת-קלינית, ללא סימנים בולטים. הנגיף מתרבה פוגע בתאי גזע במח העצם שעתידיים להתמייין ללימפוציטים, טרומבוציטים ומקרופגים, לכן פגיעתו רב כיוונית. תגובות חיסוניות תאיות נפגעות כי הנגיף הורס תאי T משופעלים, דימומים פנימיים וחיצוניים נגרמים כי הנגיף הורס טרומבוציטים, ופעילות של גרנולוציטים כי הנגיף הורס הטורפילים. השפעתו העיקרית של נגיף האנמיה מתבטאת בהשראת כשל חיסוני, דיכוי גדילה, השראת רגישות מוגברת להדבקה בפתוגנים אחרים, וכן עליה בחומרת המחלה המשנית. האבחון הקליני במקרים אלו מתאר את המחלה הנגרמת על ידי הפתוגן המשני או השלישון.

3. נגיף האבעבועות - FWPV

לנגיף האבעבועות גנום DNA גדול, הוא מתרבה בציטופלסמת התא והוא הנגיף הגדול ביותר בעופות, וגודלו 289 kbp. מחלת האבעבועות נפוצה בכל העולם בעופות משק תרנגולות ובתרנגולי הודו, וכן בציפורי שיר ובר, יונים, תוכים, ועוד. בעופות משק מוכרות שתי צורות תחלואה; העורית, עם נגעים יבשים בחלקי עור ללא ניצוי (כרבולת, דלדלים, עפעפיים, מקור ועוד) והדיפטריה, עם מופיעות התעבויות על משטחים ריריים בפה, דרכי הבליעה והטרכיאיות. פגיעות אלו מפריעות לאכילה, מעודדות ניקור, בעקבותיהם דימום ופצעים ותחלואה, ירידה בהטלה ועליה בתמותה. ההגנה בפני המחלה מושגת באמצעות חיסון עם תרכיבים שמהותם נגיף אבעבועות חי.

4. נגיף הלרינגוטרכאיטיס (ILT)

הנגיף גורם למחלה בדרכי הנשימה של תרנגולות, המלווה בסימנים קליניים בדרגות חומרה שונות, העלולים להגיע עד לתמותה נרחבת ונזקים כלכליים חמורים. העופות סובלים מהפרשת ריר דמי, השמעת קולות, הפרשות עיניים, ירידה בהטלה ופיגור בגידול. במקרי תחלואה מתונה קיים דמיון בין ILT לבין תחלואות אחרות בדרכי הנשימה, לכן חשוב לפתח שיטות אבחון מבדילות. ההגנה בפני המחלה מוקנית על ידי חיסון; בישראל נהוג לחסן בהצלחה בשיטה הייחודית של מריחת ביב, שפותחה על ידי דר' זמברג, ובזכותה מקרי המחלה כמעט ומוגרו. באופן פרדוקסאלי, נגיף התרכיב עלולים להפוך לאלימים תוך ריבויים בעוף ולגרום למחלה. בשנתיים האחרונות אירעו 6 מקרי תחלואה, מהם קבלנו דגימות קליניות למחקר הנוכחי.

הפעילות המחקרית

נגיפים גורמי סרטן: ALV, REV, MDV

האבחון המולקולרי שהונהג במעבדתי משנת 1993 ואילך הוביל להכרה כי כ- 25% מהלהקות המסחריות של תרנגולות ותרגולי הודו נושאים הדבקה משולבת בנגיפי MDV ואחד או יותר מהנגיפים ממשפחת נגיפי הרטרו. התרבות נגיפי הרטרו מחייבת השתלבות במקטע DNA דו גדילי, הגנום התאי או נגיף DNA המצוי באותו תא. כמו כן, בתאי תרבית רקמה המודבקים בו זמנית בנגיף MDV ובנגיפי רטרו מתרחשת השתלבות מולקולרית של נגיפי הרטרו בגנום נגיף MDV אשר מצוי באותו תא. משתי סיבות אלו המחקר כוון לחקר התרחשות התופעה גם באורגניזם החי IN VIVO. תהליך כזה עשוי להוביל להיווצרות נגיפים רקומביננטים בעלי תכונות ביולוגיות חדשות, בדומה לתהליך שהוביל להיווצרות נגיף ה- ALV-J. חקר תופעת ההשתלבות המולקולרית של נגיפי רטרו בנגיפי MDV בתרנגולות מודבקות בו זמנית בשני הנגיפים נחקרה על ידי במספר מערכות IN VIVO: בלהקות מסחריות של תרנגולות ותרגולי הודו, בניסויי הדבקה ניסויים של אפרוחים בתאי בידוד, ובביצים מעוברות. המחקר האחרון נמשך, ואף זכה למימון מטעם האגודה העולמית למדע העופות כפרס המחקר לשנת 2004-2008.

אפיק מחקרי נוסף עוסק בתפוצה האופקית של נגיפים דרך הנוצות בנגיפים שונים מלבד MDV והמשמעות הביולוגיות. לשם כך פותחו שיטות לאבחון מולקולרי של נגיפים בזיקי הנוצות של תרנגולות מודבקות בהדבקה טבעית או בתנאי מעבדה לעומת המעקב אחר הנגיפים באיברים הפנימיים ובדם וזאת לאיתור שילובים גנטיים ולאבחון כללי.

נגיף האנמיה המדבקת של תרנגולות - CAV

חקרנו את המעורבות והחשיבות של נגיף ה- CAV בתרנגולות מסחריות נחקרה לשם הערכת תרומת הנגיף לתחלואה. עקבנו אחר להקות מסחריות עם תופעות קליניות העלולות להיגרם על ידי הדבקה בנגיף ה- CAV. המעקב היה כפול, הן אחר הפרמטרים הקליניים העשויים לשפוך אור יותר מדויק על משמעות הקלינית של ההדבקה בנגיף, והן אחר המצב היורולוגי של ההדבקה. כחמישית מסקר של 100 להקות היו חיוביות לנגיף מולקולרית, עם סימני מחלה המקושרים לנגיף, כעליה בתמותה, פיגור בגידול, צריכת מזון מוגברת ומדדי גדילה נחותים בהשוואה ללהקות מקבילות שנכללו במחקר כבקורת שלילית.

בידוד נגיפי CAV ממקרי תחלואה בלהקות מסחריות.

חקר תכונות ביולוגיות של בידודים שונים של CIAV, כלל מציאת פרמטרים להערכת האלימות בניסויי הדבקה מעבדתיים בתאי בידוד; יכולת ההדבקה האופקית מאפרוחים מוקעים לאפרוחים מודבקים במגע; מציאת ההשפעה של ההדבקה בנגיף בביצים מעוברות, חקר השינויים הגנומיים בבידודי שדה שונים, המצאות ה- CIAV בבדי נוצות ותרומת הנוצות בפיזור האופקי.

נגיף האבעבועות – FPV

המחקר בנושא עסק באינטראקציה המולקולרית בין נגיפי אבעבועות לנגיפי רטרו, והמשמעויות הביולוגיות של תהליך זה, כפי שהוסבר לגבי MDV, ובפיתוח שיטות מולקולריות לאיפיון בידודי ה-FPV, הן מבחינת המחדר של נגיף הרטרו, והן מבחינת התכונות הגנומיות של נגיף ה-FPV כשלעצמו.

נגיף הלרינגוטרכאיטיס (ILTV)

מטרתנו היתה כפולה: (I) לפתח שיטת זיהוי מולקולרית מהירה של נגיף ה-ILTV, אשר תתמוך בשיטה הקיימת לבידוד הנגיף בביצים מעוברות המלווה בשינוי מורפולוגית העובר, (II) לפתח שיטה דיפרנציאלית, המבדילה בין נגיף התרכיב לבין הנגיף האלים. הפיתוח ראשוני וכוון לספק כלי מולקולרי מהיר ורגיש לאיתור שני סוגי נגיפי ה-ILT ישירות באיברי העוף, ללא צורך בריבוי נוסף בביצים מעוברות או בתרביות רקמה. כמו כן, לזיהוי הנגיף בדגימת איברים מהעוף החשוד חשיבות בכדי למנוע היווצרות שינויים בגנום הנגיף, החל תוך כדי ריבוי. המחקר ייחודי, כי במסגרתו בחנו לראשונה את הימצאותו בבדי הנוצות ובטחול, בנוסף להימצאותו בהומוגנאט מטרכיאה של עוף עם סימנים קליניים. התמקדנו בבחינת הנוצות היות והן נוחות לדגימה, ומאפשרת בדיקות חוזרות מאותם עופות.

אנו בחנו 5 שיטות PCR לגבי יעילותן בזיהוי נגיפי תרכיב ונגיפים ממקרים קליניים, וחלקן אף לווה בבדיקות רצף. אחת השיטות, הכוללת שני שלבי הגברה עוקבים של ה-DNA הנגיפי, מתאימה לגילוי נגיף התרכיב ששימש לחיסון. שיטה זו יושמה להערכת רמת ביצוע החיסון בפועל. בשיטה זו בחנו 5 להקות מסחריות של תרנגולות בריאות אשר עברו חיסון באופן מסחרי על ידי צוות חיסון. הבדיקות נערכו במטרה ללמוד מהו שיעור העופות הבריאים בהן ניתן לגלות את נגיף תרכיב החיסון ואת חלון הזמן לכך, כרקע לפיתוח שיטת הזיהוי המבדלת, במיוחד בתנאי החיסון הייחודיים הנהוגים בישראל.

בחמשת השיטות הדגמנו את נוכחותם של נגיפי ILTV בדגימות הקליניות. בשיטה המקוננת, עוצמת ה-PCR שהניבו נגיפי הבר היתה הרבה יותר גדולה מאשר PCR להגברת נגיף התרכיב בעופות הבריאים לאחר חיסון. יחד עם זאת, ניתן היה לגלות את הנגיף בעופות עד חודש לאחר ביצוע החיסון. בנוסף, תוצרי ההגברה המקוננת, שהתקבלו בשיטה זו, עברו חיתוך עם אנזים הגבלה, ויכולנו להדגים את ההבדל בין נגיפי תרכיב לנגיפי בר. הזיהוי המבדיל נבע מהממצא שהתקבלו תוצרי חיתוך בעלי גדלים שונים מנגיפי תרכיב לעומת נגיפים ממקרי תחלואה בעופות. בעוד שהתוצר של נגיפי תרכיב נחתך לשתי מולקולות קטנות, תוצר ההגברה של נגיף הבר אינו נחתך בתנאים אלו, ובכך מחקרנו מספק שיטת הבדלה בין נגיפי תרכיב לנגיפי בר.

דר' אירית דוידסון - סיכום הפעילות המדעית

- מאמרים בספרות מדעית מבוקרת: 68
- מאמרים בספרות בלתי מבוקרת: 11
- פרקים בספרים ומאמרי סקירה: 7
- מאמרים בספרים מכנסים: 28
- תקצירים של הרצאות בכנסים: 115
- תוכניות מחקר מקומיות: 12
- תוכניות מחקר בינלאומיות: 14
- פרסים: 8

מאמרים בספרות מקצועית מבוקרת (5 שנים אחרונות 2003-2008)

- Borenshtain, R., Witter, R.L. and **Davidson, I.** (2003).
The persistence of chicken herpesvirus and retroviral chimeric molecules upon *in vivo* passage.
Avian Dis. 47: 296-308.
- Levy, A.M. Burgess, S.C., **Davidson, I.**, Underwood, G. Leitner, G. and Heller, E.D. (2003).
Interferon containing supernatants increase Marek's disease herpesvirus gene transcription levels but not virion replication *in vitro*.
Viral Immunol. 16: 501-509.
- Davidson, I.** and Borenshtain, R. (2003).
Novel applications of feather tip extracts from MDV-infected chickens; diagnosis of commercial broilers, whole genome separation by PFGE and synchronic mucosal infection.
FEMS Immunol. Med. Microbiol. 38: 199-203.
- Braverman, Y., **Davidson, I.**, Chizov-Ginzburg, A. and Chastel, C. (2003).
Detection of Israel turkey meningo-encephalitis virus from mosquito (*Diptera: Culicidae*) and *Culicoides* (*Diptera: Ceratopogonidae*) species and its survival in *Culex pipiens* and *Phlebotomus papatasi* (*Diptera: Phlebotomidae*).
J. Med. Entomol. 40: 518-521.
- Malkinson, M., Banet-Noach, C., **Davidson, I.**, Fadly, A.M. and Witter, R.L. (2004).
Comparison of serological and virological findings from subgroup J avian leucosis virus-infected neoplastic and non-neoplastic flocks in Israel.
Avian Pathol. 33: 281-287.
- Davidson I.**, Kedem, M., Borochovit, H., Kass, N., Ayali, G., Hamzani, E., Perelman, B., Smith, B. and Perk, S. (2004).
Chicken infectious anemia virus infection in Israeli commercial flocks; virus amplification, clinical signs, performance and antibody status.
Avian Dis. 48: 108-118.
- Davidson, I.** and Braverman, Y. (2005).
Insect contribution to the horizontal transmission of reticuloendotheliosis virus.
J. Med. Entomol. 42 (2): 128-133.
- David, D., Perl, S., **Davidson I.**, Avni-Magen, N. and Yacobson, B.A. (2007).
Rabies in an Israeli zoological garden.
Vet. Rec. 160: 301-303.
- David, D., Hughes, G.J., Yacobson, B.A., **Davidson, I.**, Un, O. H., Aylan, Kuzmin, I.V. and Rupprecht, C.E. (2007).
Identification of novel canine rabies virus clades in the Middle East and North Africa.
J. Gen. Virol. 88: 967-980.
- Davidson, I.**, Artzi, N., Shkoda, I., Lublin, A., Loeb, E. and Schat, K.A. (2008).
The contribution of feathers in the spread of chicken anemia virus.
Virus Res. 132: 152-159.
- Davidson, I.**, Loeb, E., Lublin, A., S. Perk, Shkoda, I. and Schat, K.A. (2008).
Assessment of various criteria to determine the chicken anemia virus pathogenicity in embryonated eggs and in day-old chicks.
Current Topics in Virol. 6: 95-111.
- Davidson, I.**, Shkoda, I. and Perk, S. (2008).
The integration of reticuloendotheliosis virus envelope gene into poultry fowlpox virus genome is not universal.
J. Gen. Virol. 89: 2456-2460.

- Golander, N., Panshin, A., Banet-Noach, C., Nagar, S., Pokamunski, S., Pirak, M., Tendler, Y., **Davidson, I.**, Garcia, M-C., and Perk, S. (2008). Genetic Characterization of Avian Influenza viruses isolated in Israel during 2000- 2006. *Virus Genes* 37: 289-297.
- David., Dveres, N., Yacobson, B.A. and **Davidson, I.** (2008). Emergence of dog rabies in the Northern region of Israel. *Epidemiology and Infection* x: 1-5.
- Perk, S., Golander N., Lapin, E., Pokamunski, S., Berman, E., Tendler Y., Bellaiche, M., Panshin, A. and **Davidson I.** (2009). Genetic characterization of H5N1 influenza virus that caused new outbreak in Israel at the beginning of 2008. *Comparative Immunol. Microbiol. and Infectious Diseases*, XXX In Press.

2. ARTICLES IN REVIEWED JOURNALS IN HEBREW and ENGLISH

www.isrvm.org

- Lebel, E., **Davidson, I.**, Malkinson, M., Bar-Moshe, B. and Rapoport, E. (1982). Vaccination trials against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (Large Colony) infection in young goats. 2. Detection of antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ref. Vet.* 39; 85-90.
- Davidson, I.**, Weisman, Y., Orgad, U., Jacobson, B., Perl, S., Strenger, C., Becker, Y. and Malkinson, M. (1989). Pathogenicity studies of Marek's disease virus isolates in Israel. *Israel J. Vet. Sci.* 44; 223-232.
- Strenger, C., **Davidson, I.**, Weisman, Y., Segal, Y., Jacobson, B. and Malkinson, M. (1990). Studies on an Israeli rotavirus isolate of turkeys. *Israel J. Vet. Med.* 45; 241-247.
- Malkinson, M., **Davidson, I.**, and Weisman, Y. (1990). Serological survey of antibodies to chicken anemia agent in domestic poultry in Israel. *Israel J. Vet. Med.* 45: 188-189.
- Davidson, I.**, Malkinson, M., Asher, Y., Tabor, E., Maray, T. and Becker, Y. (1993). Changes in the biological properties of a neurolymphomatosis-inducing Marek's disease virus isolate following serial passages in duck embryo fibroblast culture. *Israel J. Vet. Med.* 48; 10-18.
- Davidson, I.**, Smith, E.J., Perl, S. and Malkinson, M. (1995). Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of natural infection of chickens and turkeys with avian oncogenic viruses. *Israel J. Vet. Med.* 50: 97-104.
- Davidson, I.**, O'Sullivan, G. and Ross, N. (1998). Prediction of vaccination efficacy against Marek's disease by semi-quantitative PCR assay. *Israel J. Vet. Med.* 53: 25-30.

- Meir, R., **Davidson, I.** and Weisman, Y. (2003).
A comparison of three Israeli Infectious bronchitis virus isolates by genotyping and virus neutralization.
Israel J. Vet. Med. 58: 7-9.
- Davidson, I.** and Kedem, M. (2003).
An apparent association between Newcastle disease and Marek's disease in commercial flocks.
Israel J. Vet. Med. 58: 1-3.
- Davidson, I.,** Shkoda, I., Elkin, N., Ayali, G. Hamzani, E., Kaas, N., Smith, B., Borochovitsh, H., Gilat, G., Krispin, H., Kedem, M. and Perk, S. (2004). Chicken Infectious anemia in young broiler flocks in Israel.
Israel J. Vet. Med. 59 (4): 78-82 www.isrvm.org
- Bendheim, U., Karnieli, A. , Perl, S., Lublin, A. and **Davidson, I.** (2006).
Prevalence of psittacine circovirus in Israel.
Israel J. Vet. Med. 61 (1):12-16 www.isrvm.org

BOOKS, BOOK CHAPTERS AND INVITED REVIEWS

- Davidson, I.,** Smith, E.J., Perl, S. and Malkinson, M. (1995).
PCR diagnosis of Marek's disease, reticuloendotheliosis and lymphoid leukosis in chickens and turkeys.
In: *PCR Protocols for diagnosis of Human and Animal virus diseases.* Eds.: Becker Y and Darai G. Suppl. of *Frontiers of Virology*, Vol. 1, pp. 543-553. *Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.*
- Kung, H.-J., Kamil, J., Witter, R. and **Davidson, I.** (2001).
Retroviral insertion into herpesviruses: discovery and implications.
Evolving Scientific and Regulatory Perspectives on Cell Substrates for Vaccine Development, Karger Publisher, Ed. A. Lewis 106: 223-229.
- Davidson, I.** and Shkoda, I. (2005).
The impact of feathers on the detection and study of DNA viral pathogens in commercial poultry.
World's Poultry Science Assoc. J. 61: 407-417 (Invited review).
- Davidson, I.** (2006).
The oncogenicity mechanism of the chicken herpesvirus, Marek's disease virus.
Recent Research Development in Virology, Vol., 7: Eds. XXXXXXXXXXXXX pp. 13-29.
Transworld Research Network, India, Review Book Series. (Invited Chapter in book).
- Davidson, I.** (2007).
Avian oncogenic viruses: The correlation between clinical signs and molecular virus identification, knowledge acquired from the examination of over 1000 flocks.
Israel Vet. Med. J. 62: 42-47 (Invited review).
- Davidson, I.** and Silva, R. F. (2008).
Creation of diversity in the animal virus world by inter-species and intra-species recombinations: lessons learned from poultry viruses.
Virus Genes 36: 1-10 (Invited review).

Davidson, I. and Shulman, L. M. (2008).
Unravelling the puzzle of human anellovirus infections by comparison with
avian circovirus infections. (Invited review) *Virus Research* 137: 1-15.

Laboratory of avian oncogenic and immunosuppressive viruses

Head: Dr. Irit Davidson, Tel. 972-3-9681602

e-mail: iritd@moag.gov.il

Staff: Mrs. Amira Al-Tori, Tel.: 972-3-9681602

Pathogens: Marek's disease virus (MDV), reticuloendotheliosis virus (REV) avian leucosis virus (ALV), lymphoproliferative virus (LPDV), chicken infectious anemia virus (CIAV), fowlpox virus (FPV).

Avian oncogenic viruses: MDV, REV, ALV, ALV-J, LPDV

Tumors in commercial poultry are caused mainly by infection with avian herpes and retroviruses. Oncogenic Marek's disease virus (MDV), serotype 1 alphaherpesvirus, has been widely disseminated, in spite of the extensive vaccination procedures employing avirulent strains of MDV of the three serotypes (1, 2 and 3). MDV infects chickens and causes a malignant transformation of T cells, but lately, using molecular differential diagnosis, it was described also as a causative virus of turkey tumors also, where the target cells for transformation is still not completely clear.

The chicken oncogenic retroviruses include reticuloendotheliosis (REV), lymphoid leukosis, subgroups A-I (ALV), and the recently described avian lymphoid leukosis virus, subgroup J. The avian oncogenic retroviruses are exogenic, and transmitted as infectious virus, in contrast to the avian endogenic viruses, transmitted genetically and have no clinical effects.

REV is an avian type-C retrovirus, which transforms pre-B and pre-T lymphocytes, causing bursal and T-cell lymphomas in chickens and turkeys.

ALV is an ubiquitous chickens that transforms B lymphocytes and causes B-cell neoplasia.

MDV and the retroviruses, both transform lymphocytes, and ALV-J, according to presently available data, transforms myelocytes, but their tissue affinity is believed to be considerably broader.

ALV-J transforms myeloid cells of meat-type chickens and causes predominantly late-onset myelocytomatosis. However, additional knowledge on this relatively new virus is being added continuously, and new types of ALV-J tumors, such as erythroblastosis were reported.

Chickens are susceptible to all viruses except LPDV, whereas turkeys are susceptible to MDV, REV and LPDV.

LPDV is a C-type retrovirus of turkeys only whose target cell for transformation has not been determined yet.

These viruses are also immunosuppressive, cause growth retardation and are a source of major financial damage to the poultry industry. Infection with one virus

might biologically alter the clinical outcome of birds that are already infected by another oncogenic virus and consequently, that they might even have a more profound molecular interaction that could influence the final outcome of the disease. Further observations revealed the joint ability of MDV-1 and ALV to cause tumors and to increase mortality in experimentally dually-infected chickens.

Diagnosis

The clinical signs caused by infection with the five avian oncogenic viruses overlap and are of a low degree of pathognomy. The diagnosis based on clinical signs is often indefinite, therefore specific laboratory diagnosis is needed. The classical differential diagnosis is based on virus isolation, demonstration of specific antibodies and the histopathological examination of the tumor tissues.

The preferred differential diagnosis method is the polymerase chain reaction, which is a rapid and sensitive method adapted for several genes of each pathogen.

Research on oncogenic viruses

1. Several trends could be traced among the single virus infected flocks:

a) Both in chickens and in turkeys most flocks were MDV-infected, although a much higher rate was seen in turkeys: 36% vs. 66%, respectively;

b) REV-infection of chickens was prevalent in 16% of the flocks mostly until 1995, and sporadic afterwards;

c) ALV (subgroups A+C)-infection was sporadic over the entire period and prevailed in 6% of the flocks;

d) ALV-J-infection, was analysed only from 1996, emerged during the years 1997-1998 in 16% of the flocks.

2. About a quarter of the tumor-bearing commercial flocks carried a mixed MDV and retrovirus-infection. Although both viruses were found in such a remarkable rate of flocks, their presence in a bird or in a tumor does not necessarily reflect on the cause of a particular tumor, and the disease severity can not be predicted.

3. Molecular interactions between MDV and retroviruses in a multiple virus-infection was studied in vivo as recombinations between retroviruses and dsDNA viruses, i.e. retroviral insertion into DNA viruses might emerge in the creation of novel DNA viruses. These might possess altered biological properties. We questioned whether retrovirus integrates into MDV in vivo, in the bird, in multiple viral infections. We determined the prevalence of dually-infected individual birds in commercial flocks. About 25% of the commercial flocks infected with avian oncogenic viruses had a multiple virus infection. To provide a comprehensive notion on whether MDV and retroviruses interact molecularly in the bird, we analysed: a) Commercial birds carrying a mixed infection; b) Experimentally infected chickens with MDV and ALV-J; c) Commercial chickens infected experimentally with virus obtained from commercial cases of double infection with MDV and ALV-J; d) Embryonated eggs infected with MDV vaccine viruses and retroviruses.

We found that integration events happened at various rates, depending on the experimental system used. By increasing the virus adaptation to laboratory conditions, the rate of retrovirus LTR integration into MDV increases, as judged by the extent of chimeric molecules that contained sequences of MDV and retroviral long terminal repeat fragment (LTR).

Chicken infectious anemia virus (CAV)

The chicken infectious anemia virus (CAV) is a circovirus, a very small ssDNA circular molecule of about 2300 nucleotides with three open reading frames. CAV has a high stability to temperature, pH extreme conditions and organic compounds seems to be related to its ubiquitous nature.

CAV infections are manifested with either clinical or subclinical signs. In young chicks, the infection may be apparent with different signs and various degrees of severity. These symptoms include stunting, runting, increased mortality, anemia, bone marrow cell depletion, subcutaneous hemorrhage and atrophy of secondary lymphatic organs. The effects are caused because of the multi-potent efficacy of CAV to infect stem cells of both the hematopoietic and lymphocytes cell lineages in the bone marrow and thymus. A close association between direct signs of CAV infection and a decreased resistance to secondary bacterial diseases such as gangrenous dermatitis and campylobacter colonization was observed. Although the present notion that CAV infection in older chickens is subclinical, and not completely understood, latest suggestions indicate that it has a negative influence on the immunological resistance to various pathogens and productivity parameters.

Research on CAV

The diseased commercial flocks were diagnosed for CAV infections. We found a correlation between clinical signs, virus presence and decreased economic parameters, including three CAV outbreaks in young broiler flocks. These cases served for the isolation of 12 CAV isolates, which we characterized biologically. These isolates were used to develop an in vivo system for biological CAV characterization. We explored the inoculation of embryonated eggs and analyzed the CAV replication and pathogenicity. Two of the 12 isolates and the CIA-I prototype were also inoculated in day old chicks. The chicks were kept in isolators and the outcome was surveyed over a period of 35 days. In each isolator half of the chicks were inoculated and the other half was infected by the contact with the injected chicks. We surveyed the presence of CAV sequences in various organs, the growth rate of the chicks, the atrophy of lymphatic tissues and the CAV lesions and anemia. For the first time we explored the involvement of feathers in the horizontal CAV spread, and found them as a possible means of CAV reservoir.

Fowlpox virus (FPV)

Pox is a viral disease of commercial poultry (chickens and turkeys), caused by FPV, leading to economical damages due to a drop in egg production and increased mortality. Pox at a slow rate and is characterized by discrete nodular proliferative skin lesions on the non-feathered parts of the body (cutaneous form) or fibrinonecrotic and proliferative lesions of the mucous membrane of the upper respiratory tract, mouth and esophagus (diphtheric form). A simultaneous systemic infection might appear in some cases. The FPV spreads only horizontally through aerosol and poultry house dust generated by feathers and dried scabs, although occasionally, insects were also implicated in the environmental spread of the disease.

Research on FPV

The implication of REV in FPV isolated from commercial flocks is studied from the molecular and biological aspects, to determine whether whole REV viruses or only REV-LTR remnants can be found in recent isolates. As major efforts are done to reduce the prevalence of REV, which is an oncogenic and immunosuppressive, one of the concerns about FPV reside in the possibility that it can serve as an environmental reservoir for REV. We prepared five experimental systems of molecular amplification; these include the envelope genes of FPV and REV, the REV-LTR and two systems to amplify the junction between the REV and FPV. To demonstrate “true” integration between the two viruses, their sequences were shown on the same molecule, in cis. We sequenced the junctions between the two viruses and found evidences of integration. These findings were shown for the first time in Israel, and raise numerous open questions. The study also showed that REV integration into FPV is not universal in commercial flocks and was published in *J. Gen. Virol*, 89: 2456-2460, 2008.