

Assessment of immunity to tick-borne diseases in old cattle following revaccination

חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	ורדה שקאפ
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	זלמן הנקין
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	בני לבוביץ
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	מולד תיאה
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	פיש לאה
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	קריגל יורי
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	סוויצקי איגור
שה"מ/ בע"ח	הררי יוסי
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	מזוז מוניקה
חטיבה לפרזיטולוגיה, מכון וטרינרי, בית דגן	פליידרוביץ לודמילה

ב. תקציר

טפילים חד תאיים, בבזיה ביגמינה, ב. בוביס ותיילריה אנולטה המועברים על ידי קרציות גורמים לקדחות קרצית, שהנן מחלות הגורמות נזקים למשק הבקר באזורים רבים בעולם, לרבות ישראל. הדברה יעילה של מחלות אלו מבוססת על חיסון מונע עם תרכיבים המכילים טפילים ממויירים וחיים. התרכיב מוזרק פעם אחת בחיי הבהמה, כאשר החסיונות נתמכת ונמשכת ע"י חשיפת הבקר השוהה בשדה לקרציות מודבקות בטפילי קדחות. בשנים האחרונות התברר שבהעדר חשיפה מתמדת בחלק מהבקר נחלשת החסיונות או יורדת ובקר זה נעשה רגיש להדבקות חוזרות לקרציות הנושאות טפילים אלימים. עם זאת, נוכחות קרציות בשטח זה או אחר משתנה בהתאם לתנועת בע"ח ולכן לא ידועה בוודאות משך חסיונות הבקר הנתמכת ע"י הוקעה בשדה. בקר באזור אנדמי שחוסן לפני ארבע שנים נמצא שלילי ברובו הן בבדיקות סרולוגיות והן ב-PCR. בחלק מהבקר בוצע חיסון חוזר נגד בבזיוזיס ותיילריוזיס. במהלך השנה האחרונה התמקדה העבודה ביישום שיטת ה-RLB (reverse line hybridization) לגילוי DNA טפילי בבקר הנושא טפילי בבזיה, תיילריה והרקטסיה אנפלזמה בדגימות דם.

ג. מבוא (רקע מדעי ומטרות המחקר לתקופת הדוח)

"קדחות הקרצית" הן מחלות בבקר הנגרמות ע"י טפילי דם חד- תאיים בבזיה, תיילריה, והרקטסיות מסוג אנפלזמה, המועברות על ידי קרציות. המחלות מאופיינות בהתפתחות אנמיה קשה, איבוד משקל, ירידה בתנובת החלב, עיכוב בהתפתחות ואף תמותה בשיעור גבוה בקרב בע"ח חולים. בישראל, גורמות מחלות אלו נזקים כבדים למשק הבקר לבשר. להפחתת הנזקים מקדחות קרצית מחסנים בישראל את הבקר עם תרכיבים המכילים אורגניזמים חיים ממויירים פעם אחת בחיי בע"ח בגיל 6-9 חודשים. סוגיית משך חסיונות הבקר בעקבות החיסון טרם הוכרעה. בספרות המדעית דווח על חסיונות בין מספר חודשים בלבד ועד 3-4 שנים. במספר משקים חלה בקר זמן קצר יחסית לאחר חיסון. לתופעה זו תתכנה מספר סיבות: אי חשיפה ממושכת לקרציות נגועות, הופעת זנים של טפילים בעלי שונות אנטיגנית וירידה ברמת העמידות של הבקר המבוגר שחוסן בעבר. בקר שלא נחשף להוקעה בקרציות נגועות הופך לרגיש להדבקות עם טפילים אלימים. בארבע השנים האחרונות בוצע מעקב אחר עמידותו בפני הדבקות חוזרות בבבזיוזיס של עדר בקר לבשר שחוסן נגד גורמי קדחות והרועה באזור אנדמי. בעדר זה לא נצפתה תחלואה במשך 3 שנות המעקב. עם זאת, מבדיקות מעבדתיות נמצא שאצל רוב הבקר בעדר היו מבחני-PCR שליליים, דבר שהצביע עם רמה נמוכה של נשאות טפילים. בנוסף, אצל רוב הבקר לא נמצאו נוגדנים סגוליים לשתי הבבזיות. לאור עובדה זו ובהסתמך על ידע שנצבר לגבי מצב כגורם לחסיונות בקר, חוסן בקר זה שנית בטפילי בבזיה ביגמינה, ב.בוביס ותיילריה אנולטה על מנת לברר אם ניתן למנוע תחלואה מקדחות באמצעות

חיסון חוזר.

מטרות המחקר בשנה החולפת היו:

1. מעקב קליני ומעבדתי לגילוי (DNA טפילי) של בבזיה ו תיילריה
2. קביעת רמת חיסון הומורלי ע"י בדיקת רמת נוגדנים סגוליים לטפילים אלה
3. יישום שיטת RLB לגילוי נשאות של טפילי בבזיה, תיילריה ואנפלזמה בבקר הרועה בשדה אנדמי

1. פירוט הניסויים ותוצאות לתקופת הדוח

שיטות מולקולריות

ה-DNA הגנומי הופק מתאי דם מודבקים בב. ביגמינה, ב. בוביס ותיילריה אנולטה בעזרת ערכה של QIAamp DNA Blood Mini kit (QIAGEN). דוגמאות ה-DNA הומסו לריכוז של 100µg/ml ונשמרו ב C20⁰ - עד השימוש. דמים שנלקחו מעגלים לא מודבקים מוצו בצורה זזה ושימשו ביקורת שלילית. פירוט מבחני PCR לגילוי DNA של בבזיה בוביס, ב.ביגמינה, תיילריה אנולטה ושל אנפלזמה תוארו בדוח הקודם. ראקצית ה- RLB-PCR נעשתה עם תחלים המבוססים על הרצף של הגן 18S ribosomal RNA של בבזיה ותיילריה (Georges et al., 2001).

The forward primer was RLB-F2 GACACAGGGA GGTAGTGACAAG
The reverse primer was RLB-F2 Biotin- CTAAGAATTTACCTCTGAC AGT
במקביל תוכנו תחלים להגברת הרצף של הגן המקודד ל- small heat shock protein המבוססים על הרצף של ב. ביגמינה וב. בוביס מספרי גישה AF332567 ו- AF332567, בהתאמה.

The forward primer was BH13 Biotin- AAGAACCACG ACTACGTAAG
The reverse primer was BH565 Biotin -ATCCTGATGTCCAAGATACC
הראקציה בנפח של 25 µl הכילה 50pmole של תחלים RLB-F2 ו- RLB-F2 או BH13 ו- BH565, 0.25 µg של TaqStart antibody (Clontech, USA), 0.1 U של האנזים uracil-DNA glycosylase (UDG) (Gibco BRL, USA), dNTP's (200 µM dATP, dGTP, dCTP, 100 µM dUTP and 100 µM dTTP) בופר (10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 1x SuperTaq buffer Biotechnology, Ltd., 0.01% stabilizer, 0.1% Triton X-100), SuperTaq DNA polymerase Cambridge, UK) ו- 2 µl של DNA ששימש כתבנית. התערובת הדגרה 3 דקות ב-37°C על מנת להפעיל את האנזים UDG, לאחר מכן 10 דקות ב-94°C כדי לגרום לאנקטיבציה של UDG. בהמשך נעשה touchdown PCR אשר כל שני מעגלים של 94°C למשך 20 שניות, 65°C למשך 30 שניות, ו- 72°C למשך 30 שניות, שני מעגלים עם תנאים זהים למעגלים הקודמים, עם טמפרטורה הצמדות של -63°C, בכל זוג של המעגלים הבאים טמפרטורת ההצמדה הייתה נמוכה ב- 2°C עד אשר היא הגיעה ל- 57°C

C. ארבעים מעגלים נוספים כללו דנטורציה של 94°C למשך 20 שניות, הצמדות ב- 57°C למשך 30 שניות, הארכה למשך 30 שניות, והארכה סופית ב- 72°C למשך 7 דקות.

Reverse line blot hybridization assay (RLB)

היברידיזציה נעשתה כפי שתואר ע"י (Gubbels et al., 1999). הגלאים הייחודיים וגלאי ה- catch-all המוצגים בטבלה מס' 1 ותמונות מס' 1-2 הכילו בקצה הטרמינלי N -(tri-fluoroacetamido-hexyl-cyanoethyl, N,N -diisopropyl phosphoramidite [TFA])- C_6 אמינו לינקר. ממברנה מסוג Biodyne C blotting עברה אקטיבציה למשך 30 דקות עם 10% (EDAC) (3-dimethylamino-propyl) carbodiimide (EDAC) 10% הממברנה נשטפה במים מזוקקים והונחה ב-, MN 45 miniblotted, הגלאים נמהלו לריכוזים שבין 100 pmole ל- 700 pmole ב- 150 μm של 500 mM NaHCO_3 (pH 8.4) ובהמשך נקשרו בצורה קוולנטית לממברנה באמצעות האמינו לינקר ע"י מילוי הבארות של ה- miniblotted עם תמיסות אשר מכילות את הגלאים. לאחר הדגרה במשך דקה בטמפרטורת החדר, התמיסות המכילות את הגלאים נשאבו והממברנה הודגרה עם 100 mM NaOH למשך 8 דקות בטמפרטורת החדר. בהמשך הממברנה נשטפה עם 2% SSPE x (sodium dodecyl sulfate (SDS), למשך 5 דקות ב- 60°C (2xSSPE מכילים 36 mM NaCl , 2 mM NaH_2PO_4 and 0.2 mM EDTA [pH 7.4]). לפני ההיברידיזציה, הממברנה נשטפה במשך 5 דקות בטמפרטורת החדר עם 2% SSPE ו-0.1% SDS והונחה ב- miniblotted כשהבארות ניצבים לגלאים שהועברו לממברנה קודם לכן. תוצריה-PCR בנפח של 25 μL הושלמו לנפח סופי של 150 μL ב-, 2% SSPE -0.1% SDS x עברו הרתחה במשך 10 דקות ב- 100°C וקוררו מיידית בקרח. דוגמאות ה-PCR אשר עברו דנטורציה הועברו לבארות של ה- miniblotted - והודגרו למשך 60 דקות ב- 42°C - הדוגמאות הוסרו בשאיבה והממברנה נשטפה פעמיים עם 2% SSPE -0.5% SDS x למשך 10 דקות ב- 42°C - בהמשך הממברנה הודגרה עם peroxidase-labeled streptavidin במהול 1:4000 ב- 2% SSPE x 0.5% SDS למשך 30 דקות ב- 42°C . הממברנה נשטפה פעמיים ב- 2% SSPE -0.5% SDS למשך 10 דקות ב- 42°C כל שטיפה ופעמיים ב- 2% SSPE x למשך 5 דקות בטמפרטורת החדר. גילוי הריאקציה נעשה ב- enhanced chemiluminescence (ECL) detection liquid עם חשיפה ל- ECL hyperfilm על מנת להשתמש בממברנה פעמים נוספות תוצרי ה-PCR - הוסרו מהממברנה ע"י שתי שטיפות עם 1% SDS למשך 30 דקות ב-, 90°C כל שטיפה. בהמשך הממברנה נשטפה ב- 20 mM EDTA (pH 8.0) ומושמרה ב- EDTA ב- 4°C עד השימוש.

מבחנים סרולוגיים

נוכחות הנוגדנים ורמתם בדם הבקר נבדקו בעזרת מבחן ה- IFA כפי שתואר ע" (Goldman et al., 1972). האנטיגנים לבדיקות הנוגדנים של כל הטפילים הוכנו במעבדה לפרזיטולוגיה, פרט למבחן cELISA לבדיקות א. צנטרלה. כל החומרים למבחן זה פותחו והועברו לישראל באדיבותו של דר Molloy מאוסטרליה (Molloy et al., 2001).

טבלה מס' 1

Oligonucleotide probe	Gene	Sequence	Reference
Catch -all	18S rRNA	(Amin)TAATGGTTAATAGGARCRGTTG	Gubble et al., 1999
B.bovis	18S rRNA	(Amin)CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG	Gubble et al., 1999
<i>B. bigemina</i>	18S rRNA	(Amin)CGTTTTTCCCTTTTGTGTTGG	Gubble et al., 1999
<i>T. annulata</i>	18S rRNA	(Amin)CCTCTGGGGTCTGTGCA	Gubble et al., 1999
<i>B.bovis</i>	small HSP	(Amin)TCGTCGAAATCATGTTGGC	Designed in this study
<i>B. bigemina</i>	small HSP I	(Amin)TGCTTTATCGCACACACATG	Designed in this study

רצפי הגלאים אשר עברו היברידיזציה לממברנה להמשך המבחן (תמונה מס' 1)

```

801
B.bovis ATATTAAACT TGTTGCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGTACT TCACGTCCCC
B.big ATATTAAACT TGTTGCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGTATT TCAGCCTCGC
T.annu ATATTAAAT TGTTGCAGTT AAAAAGCTCG TAGTTGAATT TCTGCTGCAT
851
B.bovis CGCTTGGTCC ..... TTTCC TCG.....
B.big GTTTTTTCCC ..... TTTTG TTGGGTCTTT
T.annu TGCTTGTGTC CCTCTGGGGT CTGTGCATGT GGCTTTTTTTC GGACGGAGTT
901
B.bovis ..CCGGGACG CCTCGTTACT TTGAGAAAAT TAGAGTGTTT CAAGCAG..G
B.big TCGCTGGCTT TTTTTTTACT TTGAGAAAAT TAGAGTGTTT CAAGCAGACT
T.annu TCTTTGTCTG AATGTTTACT TTGAGAAAAT TAGAGTGCTC AAAGCAGGCT
951
B.bovis TTTGCCTGT ATAATTGAGC ATGGAATAAC CTTGTATGAC CCTGTCGTAC
B.big TTTGTCTTGA ATACTTCAGC ATGGAATAAT AGAGTAGGAC CTTGGTTCTA
T.annu TTCGCCTTGA ATAGTTTAGC ATGGAATAAT AAAGTAGGAC TTTGGTTCTA

```

המיקום של הגלאים היחודיים בגן 18S rRNA, הגלאי של ב.בוויס מסומן בוורוד הגלאי של ב.ביגמינה מסומן בכחול ושל ת. אנולטה באדום.

תמונה מס' 2

```

HSPBIG ATGTGACGCAGAAAGCGCGCACCTTAAAGGCAGCTCAATTCGCAGTGTAGATAGCTTG 165
BIGprobe -----TG 2
HSPBOV TCTCTTTTCCCTTAGTATATTGTAATTCATGTATAAGACGCAGAATAAATTGTCAGGTGAA 480
BOVprobe -----
HSPBIG CTTTATCGCACACACATGTTTTCTCAGACTGAGAAGCCCTCTGTGATTTACAAGCCGTCG 225

```

BIGprobe CTTTATCGCACACACATC----- 20
 HSPBOV AATCGTCGAAATCATGTTGGCATAAATAGTGCATTTCATTAATATTGTGCAGAGTGAGAA 540
 BOVprobe --TCGTCGAAATCATGTTGGC----- 19
 * * * * *

המיקום של הגלאים הייחודיים בגן המקודד ל- small heat shock protein, רצף הגלאי של *B. bigemina* מסומן בסגול רצף הגלאי של *B. bovis* מסומן בכחול.

2. תוצאות עיקריות

זיהוי *B. bovis*, *B. bigemina* ותיילריה אנולטה בעדר לבשר אשר חוסן בפני קדחת הקרציות באמצעות הגן המקודד ל-S rRNA18.

תוצרי RLB-PCR מדגימות דם של עדר שעבר חיסון כנגד קדחות הקרציות נקשרו לממברנה ובהמשך נעשתה אנליזה ב- RLB התוצאות שהתקבלו ב- RLB השוואו לתוצאות שהתקבלו בסריקה שנעשתה לעדר ב-nested PCR.

הדגימות בערוצים 8, 7, 11 ו-13 נמצאו שליליות (תמונה מס' 3) בעוד שב-nested PCR התקבלו תוצאות חיוביות. בערוץ 15 התקבלו תוצאות חיוביות ל-*B. bovis* ו-*B. bigemina* (תמונה מס' 3) בעוד שב-nested PCR התקבלה תוצאה חיובית רק ל-*B. bovis*.

תמונה מס' 3



זיהוי *B. bovis*, *B. bigemina* ותיילריה אנולטה ב- RLB- לצורך היברדיזציה תוצרי PCR הועברו לממברנה בשורות אנכיות. הגלאים הייחודיים ל-*B. bigemina* (*B. bigemina* ל-*B. bovis*) (*B. bovis*) לת. אנולטה (*T. annulata* וגלאי (catch- all) למינים –לבבזיה/תיילריה שמקורו מהאזור השמור של הגן S rRNA18 נקשרו קוולנטית לממברנה בשורות אופקיות. ריכוז הגלאים היה 100 pmole, מלבד הגלאי לת. אנולטה שהיה בריכוז 400 pmole, ערוץ 1, עגל לא מודבק, ביקורת שלילית, ערוצים 2-4 ביקורת חיוביות, ערוץ 2, *B. bovis*, ערוץ 3, *B. bigemina*, ערוץ 4, *T. annulata*, ערוצים 5-22, זיהוי נשאים בעדר אשר חוסן בפני קדחת הקרציות לפני ארבע שנים.

זיהוי *B. bovis* ו-*B. bigemina* ב- RLB בעדר לבשר אשר חוסן בפני קדחת הקרציות באמצעות הגן המקודד ל- small heat shock protein. תוצרי RLB-PCR מדגימות דם של עדר שעבר חיסון כנגד קדחות הקרציות עברו היברדיזציה לממברנה ובהמשך נעשתה אנליזה ב- RLB. תוצאות של ה- RLB השוואו לאלו שהתקבלו ב-nested PCR. ערוצים 1 ו-4 התקבלו תוצאות חיוביות ב- nested PCR בעוד שב- RLB התקבלו תוצאות שליליות. ערוצים 12 ו-17

התקבלו תוצאות חיוביות לב.בוביס בעוד שב-nested PCR התקבלו תוצאות חיוביות גם לב. בוביס וגם לב.ביגימנה.

תמונה מס' 4

B.bov
E
F
B.big G
H



A B C 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

זיהוי של ב.בוביס וב. ביגימנה באמצעות RLB. לצורך היברדיזציה תוצרי PCR הועברו לממברנה בשורות אנכיות. גלאים ייחודיים לב.ביגימנה (*B. big*) של הגן small heat shock protein בריכוזים של 700pmole (H) ו-600pmole (G), ולב.בוביס בריכוזים של 200pmole (E) ו-300 pmole (F) נקשרו קוולנטית בשורות אופקיות. ערוץ A *neospora caninum*, בקורת שלילית, ערוץ B, *B. bovis*, ערוץ C, *B. bigemina*, ערוצים 1-19, זיהוי נשאים בעדר אשר חוסן בפני קדחת הקרציות לפני ארבע שנים.

שיטת ה-RLB שפותחה רגישה פחות משיטת nested PCR. רמת הרגישות במערכת ה-nPCR לזיהוי של בבזיה בוביס, בבזיה ביגימנה ולתיילריה אנולטה היא 10^{-6} - 10^{-7} % (תאי דם אדומים מודבקים) תוצאות שהתקבלו בעבודה שנעשתה במחלקה טרם פורסמו. שיטת ה-RLB לבבזיה ולתיילריה שיושמה בעבודה זו מאפשרת זיהוי בזמנית של שלושת הפתוגנים, בבזיה בוביס, בבזיה ביגימנה וטיילריה אנולטה, אבל התברר שהנה רגישה פחות משיטת ה-nested PCR - אשר פותחו ויושמו ומאפשרת זיהוי ייחודי של שתי הבבזיות ושל תיילריה אנולטה. מערכות ה-nested PCR נמצאו יעילות ורגישות והשימוש בהם ימשך. בטבלה מס' 2 הובאו תוצאות בדיקות מולקולריות וסרולוגיות השוואתיות לאנפלזמה בבקר הרועה באזור אנדמי. לגילוי א.צנטרלה DNA בוצע nPCR עם תחלים ייחודיים לסוג הריקטסיה, לעומת א. מרגינלה אותה ניתן לגלות עם תחלים המבוססים על הגן *mSP1b* שאינו קיים בא. צנטרלה. בדומה, מבחן ה-cELISA מגלה נוגדנים לא. צנטרלה בלבד. במבחן IFA מגלה נוגדנים של שני סוגי הרקטסיות ללא הבדלה ביניהם, ונראה שהיתרון של מבחן ה-RLB הוא ביכולת לגלות DNA סגולי לסוגים השונים של אנפלזמה וברגישות גבוהה.

תוצאות מעקב לאחר בקר שחוסן שנית לפני שלוש שנים בפני טפילי בבזיה ותיילריה

כפי שסוכם בטבלה מס. 3 המעקב שנעשה ל-84 ראשי בקר הרועה באזור אנדמי מצביע על כך שלנוכחות טפילי בבזיה או תיילריה החיסון החוזר לא תרם (לא נמצאו הבדלים בין אם בקר חוסן או לא חוסן שנית). התוצאות מראות מספר רב יותר של נשאים בתקופת הקיץ, כשלקרציות פעילות מוגברת לעומת חודשי החורף. בעדר לא נרשמו אירועי "קדחות קרצית" ונראה אפוא

שהבקר קיבל הוקעה טבעית מקרציות. למרות שחצי שנה מאוחר יותר (בחודשי החורף) מספר הנשאים היה נמוך יותר וברמה של עדר לפחות שליש היה חיובי סרולוגית. תוצאות PCR שישומו בחורף מחזקות את המסקנה לגבי נוכחות טפילים בבהמות וקשר ישיר לפעילות קרציות בזמן נתון ולא להזרקת טפילים חיים שבתרכיבים.

טבלה מס' 2 בדיקות PCR, IFA, RLB ו-cELISA לנוכחות נוגדנים ו-DNA של א. מרגינלה או צנטרלה בבקר מאזור אנדמי

סוג של אנפלזמה	מספר דגימות (%) חיוביות במבחנים:				
	One-stage nPCR	nPCR	RLB	IFA	cELISA
א. מרגינלה		70 (78)	70 (78)		
א. צנטרלה	76 (84)		76 (84)		84 (93)
א. צנטרלה וא. מרגינלה			64 (71)	76 (84)	

טבלה מס' 3 תוצאות מעקב לנוכחות נוגדנים ו-DNA - טפילי לאחר שנתיים ושנתיים וחצי לאחר החיסון החוזר בפני טפילי בבזיה ותיילריה

טפיל / רקטסיה	חוסנו	% חיובי ב-PCR (קיץ 2006)	% חיובי ב-PCR (חורף 2007)	% חיוביים סרולוגית חורף (2007)
תיילריה	חוסנו	49.0	28.3	35.0
	ביקורת	56.3	31.0	56.0
ב.ביגמינה	חוסנו	87.5	16.4	36.0
	ביקורת	85.0	1.5	62.0
ב.בוביס	חוסנו	48.0	13.4	26.4
	ביקורת	37.0	0	18.0
א. מרגינלה	לא חוסנו שנית	81.0	90.0	81.0
א. צנטרלה	לא חוסנו שנית	60.7	71.0	60.7

מסקנות והשלכותיהן על המשך ביצוע המחקר, כולל הצעות ליישום תוצאות

1. על פי תוצאות שהתקבלו במהלך השנה האחרונה נראה שלחיסון חוזר לא הייתה השפעה על נשאות טפילים ונוגדנים לבזיה ותיילריה. תוצאות דומות נמצאו בקבוצת הביקורת. פעילות הקרציות בחודשי הקיץ היא זו שתומכת בהדבקות כרוניות ומחזקת את חסינות הבקר באזור אנדמי.
2. מבחן ה-RLB הנו בעל רגישות גבוהה המאפשרת גילוי מולקולרי של בקר נשא טפילים או רקטסיות (א. מרגינלה או/ו א. צנטרלה) ההדבקה המשולבת מתאימה לבדיקות המוניות של עדר לעומת שיטות אחרות המתאימות לבדיקת בהמות בודדות.

4. סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
במהלך השנה שחלפה המטרה העיקרית הייתה לבצע מעקב קליני ומעבדתי שכלל גילוי DNA טפילי של בבזיה ו תיילריה וקביעת רמת חיסון הומורלי ע"י בדיקת רמת נוגדנים סגוליים לטפילים האלה. כמו כן יושמה שיטה חדשנית RLB המאפשרת בדיקות המוניות לנשאים של טפילים סמויים.
עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.
הניסויים כללו בדיקות דם לנוכחות DNA טפילי ובדיקות נסיונים לנוכחות רמת הנוגדנים בעקבות חיסון חוזר נגד טפילי בבזיה ו תיילריה .
המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.
מתוצאות שהתקבלו נראה שהחיסון חוזר נגד בבזיה ו תיילריה לאחר שלוש שנים לא תרם לנוכחות טפילים. מאידך, העדר נחשף להוקעה טבעית ע"י קרציות מודבקות בחודשי הקיץ ולכן מספר יחסי גבוה של הבהמות נמצא עם כייל נוגדנים סגוליים בחורף למרות שבאותו זמן אחוז הנשאים ב-PCR היה נמוך. שיטת ה-RLB יושמה ל בבזיה , תיילריה ו אנפלזמה , בדיקות של דוגמאות מהשדה נעשו ל אנפלזמה . ונמצא ששיטת ה-RLB הנה רגישה ומסוגלת להבדיל בין סוגי אנפלזמה שונים.
הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר.
לא היו בעיות בעבודה
5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט : פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.
טרם הוצאו פרסומים
פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)
<input type="checkbox"/> רק בספריות
<input type="checkbox"/> ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט)
<input checked="" type="checkbox"/> חסוי – לא לפרסם X

הממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר: _____