RESEARCH ARTICLE

Barınak köpeklerinde canine coronavirus varlığının belirlenmesi

Oğuzhan Avcı^{1*}, Sibel Yavru¹, Mehmet Kale², Irmak Dik¹

¹Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Konya,
²Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı,
Burdur, Türkiye
Geliş: 13.02.2015, Kabul: 01.04.2015
*oavci@selcuk.edu.tr

Determination of presence of canine coronavirus in shelter dogs

Eurasian J Vet Sci, 2015, 31, 3, 184-187
DOI:10.15312/EurasianJVetSci.2015310977

Öz

Amaç: Canine Coronavirus (CCV) köpeklerde viral gastroenteritise neden olan etkenlerden birisidir. Dünya genelinde köpeklerde bulunabilir ve yüksek bulaşıcı sindirim sistemi hastalığı ile sonuçlanabilir. Bu çalışma ishal görülen köpeklerde CCV'nin varlığının değerlendirilmesi amacı ile yapıldı.

Gereç ve Yöntem: CCV antijenleri ve buna karşı gelişen antikor varlığını araştırmak için klinik olarak diyare görülen toplam 121 adet barınak köpeğine (1 hafta - 8 aylık) ait kan serumu ve dışkı örnekleri toplandı. Köpekler CCV enfeksiyonuna karşı aşılama yapılmayan hastalardı. Serum örnekleri CCV'ye karşı gelişen spesifik antikor varlığı yönünden ticari olarak temin edilen indirekt Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile analiz edildi. Dışkı örnekleri CCV antijenleri yönünden rapid test kitleri ile test edildi.

Bulgular: Örneklerden 91 adet (%75.20) kan serumu CCV'ye karşı gelişen antikor varlığı yönünden seropozitif ve dışkı örneklerinin 18 adedinde (%14.87) CCV antijenleri belirlendi.

Öneri: CCV'nin barınak köpek enteritlerinde önemli rol alabileceği ifade edilebilir.

Anahtar kelimeler: Canine Coronavirus, köpek, diyare, ELISA

Abstract

Aim: Canine Coronavirus (CCV) is a cause of viral gastroenteritis in dogs. It can be found in dogs all around the world and result as a highly contagious intestinal disease. The purpose of this study was to evaluate the presence of CCV in diarrheic dogs.

Materials and Methods: A total of blood sera and feces belong to 121 shelter dog (1 week - 8 months age) with clinical signs of diarrhea were sampled in order to investigate system the presence of both antibodies against CCV antigens. All dogs were unvaccinated against mentioned infection. The sera samples were analyzed for presence of specific antibodies against CCV by a commercially available indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The feces samples were tested for presence of CCV antigens using rapid test kit.

Results: 91 (75.20%) blood sera sample were seropositive for antibodies against CCV, and CCV antigens were detected in 18 (14.87%) of feces samples.

Conclusion: It may be stated that CCV infections play an important role in the enteritis of shelter dogs.

Keywords: Canine Coronavirus, dog, diarrhea, ELISA

Giriş

İlk defa 1968'de elektron mikroskop ile morfolojik olarak tanımlanan coronavirus'lar; memeli ve kanatlı hayvanların patojen etkenlerini içine alan geniş bir virus familyasını temsil etmektedir (Zarnke ve ark 2001). Coronavirus'lar özellikle sığır, köpek, kedi, kanatlı, tavşan, fare, sıçan ve domuz gibi vertebrali hayvanlarda solunum (Kaneshima ve ark 2006) ve gastrointestinal sistem (Priestnall ve ark 2007) başta olmak üzere farklı birçok organda, özellikle yeni doğanlarda intestinal kanalda enfeksiyonlara yol açarak çok önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Pratelli ve ark 2001, Saif 2004). Canine coronavirus (CCV), Coronaviridae familyasında yer alan patojen bir virustur. Pleomorfik yapıda ve zarlı olan virus 60-220 nm çapındadır (Benetka ve ark 2006). Helikal simetrik kapsid tübüler yapıdadır. RNA virusları arasında en büyük genoma sahip olan coronavirus'lar; linear, segmentsiz, tek iplikçikli, pozitif polariteli, $5-6 \times 10^6$ moleküler ağırlığında ve 27-32 kb uzunluğunda bir genetik materyale sahiptir ve genomik RNA enfeksiyöz karakterdir (De Vries ve ark 1997).

Erişkin köpeklerde enfeksiyon hafif semptomlarla seyreden yeni doğanlarda mortalite oranı çok yüksektir ve prognozu ise oldukça kötüdür (Pratelli ve ark 1999). Yavrularda sekonder enfeksiyöz etkenler ile birlikte miks enfeksiyon şeklinde görülmesi durumunda klinik tablo daha da ağırlaşır ve sıklıkla ölüm vakalarına rastlanabilir (Martin ve Zeidner 1992, Yachi ve Mochizuki 2006).

Canine Coronavirus'ların konaktaki başlıca hedefi ince barsak epitelyumudur. Etken, ince barsak epitellerinde deskuamasyona, jejunal ve duodenal villuslarda tahribata yol açmaktadır. Barsak lumeni dilate bir halde, gaz, sulu gıda içeriği ve dışkı ile doludur. Barsak mukozası ile mezenterial lenf nodülleri ödemlidir ve yoğun konjesyon dikkati çekmektedir (Pratelli ve ark 1999). CCV ile enfekte hayvanlarda etken 6-9 gün boyunca etrafa saçılabilir (Buonavoglia ve ark 2006). Bulaşma fekal-oral yolla gerçekleşir (Pratelli ve ark 1999). Pratelli ve ark. (2001) CCV ile doğal enfekte olmuş yavru köpeklerin dışkılarında 180 gün boyunca CCV tespit edilebileceğini bildirmişlerdir. Etkenin alınmasını takiben 1-4 gün sonra klinik olarak enterit ortaya çıkmaktadır (Carmichael ve Binn 1981). Hastalığın başlıca klinik bulguları arasında kilo kaybı, depresyon, anoreksi, akut, kanlı ve sulu diyare (Mosallanejad ve ark 2008), kusma (Yachi ve Mochizuki 2006) ve dehidrasyon sayılabilir (Priestnall ve ark 2006). Ölümler genellikle şiddetli dehidrasyonla ilişkili olarak enfeksiyonun başlamasından sonraki 24-36 saat içerisinde görülmektedir (Buonavoglia ve ark 2006).

Bu çalışma Türkiye'de çeşitli bölgelerde varlığı bildirilen CCV enfeksiyonunun, Adana ili barınak köpeklerindeki durumunun serolojik ve virolojik olarak belirlenmesi amacı ile yapıldı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Adana ilindeki köpek barınaklarında bulunan yaşları 1 hafta ile 8 ay arasında değişen ve klinik olarak ishal görülen 121 adet köpekten gaita ve aynı hayvanlara ait kan serum örnekleri toplandı. Gaita örnekleri CCV antijen varlığı yönünden immunokromatografik rapid kit (Rapid test kits, Türkiye) ile incelenirken, serumlar CCV'ye spesifik antikor varlığı yönünden ticari olarak temin edilen indirekt Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (EVL/European Veterinary Laboratory-Hollanda, Katalog no: D1005-AB01) kiti ile test edildi ve sonuçlar ELISA okuyucusunda (Rayto RT-2100C, Çin) spektrofotometrik olarak değerlendirildi. Testler kit içerisinde belirtilen prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilerek kontroller ve numuneler için ayrı ayrı absorbans değerleri belirlendi.

Bulgular

Kan serum örneklerinden 91 (%75.20) adedi CCV'ye karşı gelişen antikor varlığı yönünden seropozitif (Grafik 1) belirlenirken, 18 (%14.87) adet gaita örneğinde CCV antijenleri (Grafik 2) tespit edildi.

Tartışma

Almanya'da 1971 yılında gastroenteritli köpeklerde bildirilen etken daha sonraki yıllarda ise canine parvovirus (CPV) enfeksiyonları ile miks enfeksiyon şeklinde rapor edilmiştir (Martin ve Zeidner 1992, Evermann ve ark 2005).

Coronavirus enfeksiyonlarının serolojik teşhisinde yaygın olarak kullanılan tanı testlerinden birisi indirekt ELISA'dır (Yeşilbağ ve ark 2004, Gür ve Civelek 2007, Gür ve ark 2008, Pratelli 2008, Ellis ve ark 2011). Ayrıca serum nötralizasyon testi (Kaneshima ve ark 2006) ve direkt floresan antikor testi (dFAT)'de (Addie ve ark 2004, Hansa ve ark 2012) Canine coronavirus'ların teşhisinde kullanılabilir. Virolojik teşhisinde ise direkt ELISA (Hasöksüz ve ark 2002), direkt immunfloresan (Heckert ve ark 1991) ve PCR (Pratelli ve ark 2002, Erles ve ark 2003) yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada örneklenen köpeklere ait kan serumlarından 91 (%75.20) adedi CCV'ye karşı gelişen antikor varlığı yönünden seropozitif belirlenirken, aynı hayvanlara ait gaita örneklerinden 18 adedi (%14.87) CCV antijen yönünden pozitif tespit edildi (Grafik 1 ve 2). Gür ve Civelek (2007) Bursa'da bir köpek barınağındaki yavru köpeklerde dehidrasyon, şiddetli hemorajik gastroenteritis ve yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonda klinik ve serolojik olarak CCV enfeksiyonunun varlığını tanımlamış ve CCV enfeksiyonunun seropozitivitesini %96.6 olarak belirlediklerini rapor etmişlerdir. İç Anadolu'da Akbaş köpeği, Türk tazısı ve Kangal köpeklerinde CCV enfeksiyonunun serolojik olarak varlığını gösteren ilk veriler Gür ve ark. (2008) tarafından rapor

Grafik 1. Kan serumu örneklerinin antikor yönünden % seropozitifliği.

Grafik 2. Gaita örneklerinin antijen yönünden % oranı.

edilmiştir. Araştırmacılar (2008) Sivrihisar (Eskişehir) ve Konya illerinde, sağlıklı görünen saf ırk Akbaş köpeği, Türk tazısı ve Kangal köpeklerinde enfeksiyonun varlığını araştırmışlar; Eskişehir bölgesinde %94.7 oranında seropozitiflik, Konya'da ise 27 adet Kangal ırkı köpek örneğinin hepsinde, 41 adet Türk tazısı kan serumu örneğinin %95.1'inde pozitiflik bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen oranlar daha önceki veriler (Gür ve Civelek 2007, Gür ve ark 2008) ile karşılaştırıldığında düşük bulunsu da tespit edilen yüksek (%75.20) seropozitivite oranı il açısından CCV enfeksiyonu yönünden önlem alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Öneri

Türkiye'de bazı bölgelerde olduğu gibi Adana ilinde de CCV varlığı tespit edilmiş, CCV'ye karşı oluşan antikorların serolojik olarak belirlenmesinin yanı sıra gaitada etken belirlenmiş olması enfeksiyon ile mücadele edilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Teşekkür

Bu çalışmanın özeti 20th FECAVA Eurocongress, Münih, Almanya, 2014'de sunuldu ve özet kongre kitapçığında basıldı.

Kaynaklar

Addie DD, Paltrinieri S, Pedersen NC, 2004. Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. J Feline Med Surg, 6, 125-130.

- Benetka V, Kolodziejek J, Walk K, et al. 2006. M gene analysis of atypical strains of feline and canine coronavirus circulating in an Austrian animal shelter. Vet Rec, 159, 170-174.
- Buonavoglia C, Decaro N, Martella V, Elia G, Campolo M, Desario C, Castagnaro M, Tempesta M, 2006. Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. Emerg Infect Dis, 12, 492-494.
- Carmichael LE, Binn LN, 1981. New canine enteric viral infection. Adv Vet Sci, 25, 1-37.
- De Vries AAF, Horzinek MC, Rottier PJM, De Groot RJ, 1997. The genome organization of the Nidovirales: Similarities and differences between arteri-, toro- and corona viruses. Semin Virol, 8, 33-47.
- Ellis J, Anseeuw E, Gow S, Bryan H, Salb A, Goji N, Rhodes C, Coste SL, Smits J, Kutz S, 2011. Seroepidemiology of respiratory (group 2) canine coronavirus, canine parainfluenza virus, and *Bordetella bronchiseptica* infections in urban dogs in a humane shelter and in rural dogs in small communities. Can Vet J, 52, 861-868.
- Erles K, Toomey C, Brooks HW, Brownlie J, 2003. Detection of a group 2 corona virus in dogs with canine infectious respiratory disease. Virology, 310, 216-223.
- Evermann JF, Abbott JR, Han S, 2005. Canine corona virus-associated puppy mortality without evidence of concurrent canine parvovirus infection. J Vet Diag Invest, 17, 610-614.
- Gür S, Civelek T, 2007. Vaka Raporu: Bir köpek barınağında Kanin Koronavirus varlığının serolojik olarak araştırılması. Eurasian J Vet Sci, 21, 103-106.
- Gür S, Gençay A, Doğan N, 2008. A Serologic investigation for canine corona virus infection in individually reared dogs in central Anatolia. J Fac Vet Med Univ Erciyes, 5, 67-71.
- Hansa A, Rai RB, Wani MY, Dhama K, 2012. Pathology and diagnosis of corona virus infection in bovine. Indian J Vet Pathol, 36, 129-135.
- Hasöksüz M, Hoet AE, Loerch SC, Wittum TE, Nielsen PR, Saif LJ, 2002. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in an Ohio feedlot. J Vet Diagn Invest, 14, 308-313.
- Heckert RA, Saif LJ, Myers GW, Agnes AG, 1991. Epidemiologic factors and isotype-specific antibody responses in serum and mucosal secretions of dairy calves with bovine coronavirus respiratory tract and enteric tract infections. Am J Vet Res, 52, 845-851.
- Kaneshima T, Hohdatsu T, Satoh K, et al. 2006. The prevalence of a group 2 coronavirus in dogs in Japan. J Vet Med Sci, 68, 21-25.
- Martin HD, Zeidner NS, 1992. Concomitant cryptosporidia, coronavirus and parvovirus infection in a raccoon (*Procyon lotor*). J Wildl Dis, 28, 113-115.
- Mosallanejad B, Ghorbanpoor NM, Avizeh R, 2008. The first report of concurrent detection of canine parvovirus and coronavirus in diarrhoeic dogs of Iran. Iranian J Vet Res, 9, 284-286.
- Pratelli A, 2008. Comparison of serologic techniques for the detection of antibodies against feline coronaviruses. J Vet Diagn Invest, 20, 45-50.
- Pratelli A, Martella V, Elia G, Tempesta M, Guarda F, Capucchio

- MT, Carmichael LE, Buonavoglia C, 2001. Severe enteric disease in an animal shelter associated with dual infections by canine adenovirus type 1 and canine coronavirus. *J Vet Med*, 48, 385-392.
- Pratelli A, Tempesta M, Roperto FP, Sagazio P, Carmichael L, Buonavoglia C, 1999. Fatal coronavirus infection in puppies following canine parvovirus 2b infection. *J Vet Diagn Invest*, 11, 550-553.
- Pratelli A, Tinelli A, Decaro N, Camero M, Gabriela E, Gentile A, Buonavoglia C, 2002. PCR assay for the detection and the identification of atypical canine corona virus in dogs. *J Virol Methods*, 209, 209-213.
- Priestnall SL, Brownlie J, Dubovi EJ, Erles K, 2006. Serological prevalence of canine respiratory coronavirus. *Vet Microbiol*, 115, 43-53.
- Priestnall SL, Pratelli A, Brownlie J, Erles K, 2007. Serological prevalence of canine respiratory coronavirus in southern Italy and epidemiological relationship with canine enteric coronavirus. *J Vet Diagn Invest*, 19, 176-180.
- Saif LJ, 2004. Animal coronaviruses: What can they teach us about the severe acute respiratory syndrome? *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 23, 643-660.
- Yachi A, Mochizuki M, 2006. Survey of dogs in Japan for group 2 canine coronavirus infection. *J Clin Microbiol*, 44, 2615-2618.
- Yeşilbağ K, Yılmaz Z, Torun S, Pratelli A, 2004. Canine Coronavirus infection in Turkish dog population. *J Vet Med B*, 51, 353-355.
- Zarnke RL, Evermann J, Ver Hoef JM, McNay ME, Boertje RD, Gardner CL, Adams LG, Dale BW, Burch J, 2001. Serologic survey for canine coronavirus in wolves from Alaska. *J Wildl Dis*, 37, 740-745.