

VAKA RAPORU: BİR KÖPEK BARINAĞINDA KANIN KORONAVİRUS VARLIĞININ SEROLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

Sibel Gür¹

Turan Civelek^{2*}

Case report: Serologic Investigation of Canine Coronavirus presence in a dog shelter

Özet: Bu çalışmada; yavru köpeklerde dehidrasyon, şiddetli hemorajik gastroenteritis ve yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyöz bir tablonun izlendiği Bursa ilindeki bir köpek barınağında kanin koronavirus (CCoV) enfeksiyonunun varlığı serolojik olarak araştırıldı. Yavrularının hepsini veya birkaçını kaybeden 23 erişkin dişi ile iyileşen veya diyare tablosu devam eden 36 yavrudan kan örnekleri alındı. Ölen yavruların tümünde tipik otopsi bulgusu olarak hemorajik gastroenteritis kaydedildi. İndirek ELISA test sonuçlarına göre tüm erişkinlerin ve 36 yavrunun 34'ünün CCoV antikorları yönünden pozitif olduğu (57 / 59) tespit edildi. Barınaktaki yavrularda klinik ve serolojik olarak CCoV enfeksiyonunun varlığı tanımlanarak, CCoV enfeksiyonunun seropozitivitesi % 96.6 olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Enterit, parvovirus, antikor, dehidrasyon

Summary: In this study, the presence of canine coronavirus infection (CCoV) was serologically investigated in a dog shelter where an infection with dehydration, severe hemorrhagic gastroenteritis and high mortality in puppies were observed in Bursa region. Blood samples were obtained from 23 adult female dogs which lost all or a few of their puppies and from 36 puppies which were recovered from the infection or had continuous diarrhoea. As a typical autopsy findings, hemorrhagic gastroenteritis were noted in all dead puppies. According to the indirect ELISA test results all adult dog and 34 out of 36 puppies were found to be positive to CCoV antibodies. (57 / 59). Clinically and serologically CCoV infection was identified in puppies in the shelter and it was determined that the seropositivity of CCoV infection was %96.6.

Key Words: Enteritis, parvovirus, antibody, dehydration

Giriş

Kanin koronaviruslar köpeklerde gastroenteritise yol açan en önemli viral etkenlerdendir (Pollock ve Caemichael, 1983; Pratelli ve ark., 2001).

Etken ilk kez 1971 yılında Almanya'da gastroenteritli köpeklerde tanımlanmıştır (Binn ve ark., 1974). Tespit edilen ilk vakaların hafif seyirli olduğu ve sekonder olarak parvoviruslarla enfekte olmadıkça yüksek mortalite gelişmediği bildirilmektedir (Yasoshima ve ark., 1983; Appel, 1988; Greene, 1990). Köpeklerde gözlenen koronaviral hastalık klinik olarak oldukça değişken yapıdadır. Enfeksiyon, erişkin köpeklerde klinik tablo

oluşturmaz veya hafif semptomlarla seyreder. Erişkin hastalar kısa sürede iyileşir. Enfeksiyonun mortalitesi yeni doğanlarda oldukça yüksektir, prognozu ise oldukça kötüdür (Pratelli ve ark., 1999). Yavrularda olaya karışan sekonder bakteriyel, paraziter veya viral enfeksiyöz etkenler klinik tabloyu daha da ağırlaştırır ve ölümlere yol açar (Appel ve Binn, 1987; Martin ve Zeidner, 1992). Koronavirüsle enfekte köpekler etkeni dışkıları ile 6-9 gün boyunca yayırlar. Bununla birlikte, bireysel olarak bazı hayvanlarda bu süre uzayabilir (Appel ve Binn, 1987). Köpekler arası bulaşma başlıca fekal-oral yolla gerçekleşir (Pollock ve Caemichael, 1983; Pratelli ve ark., 2002).

Kanin koronavirusların konaktaki başlıca hedefi ince barsak epitelyumudur. Etken ince barsaklarda

deskuamasyona, jejunal ve duodonal villilerde tahribata yol açar. Barsak lumeni dilate bir halde, gaz, sulu gıda içeriği ve dışkı ile doludur. Barsak mukozası ve mezenteral lenf nodülleri ödemlidir ve yoğun konjesyon diikatti çeker (Pratelli ve ark., 1999).

Klinik olarak enterit, etkenin alınmasını mü-takip 1-4 gün sonra ortaya çıkar (Pollock ve Carmichael, 1979). Hastalığın başlıca klinik bulguları; akut, kanlı ve sulu diyare, depresyon, anoreksi, kusma ve dehidrasyondur. Bazı hayvanlarda bronkopnömoni de görülebilir (Appel ve Binn, 1987). Kusma genellikle bir veya diyarenin başlamasından sonra iki gün içerisinde azalır. Bununla birlikte diyare enfeksiyon boyunca devam eder. Feçes sıklıkla kanlıdır. Özellikle yavrularda şiddetli diyare sonucu ortaya çıkan dehidrasyon hayatın devamlılığını tehdit eden en önemli unsurdur. Ölüm-ler genellikle şiddetli dehidrasyonla ilişkili olarak enfeksiyonun başlamasından sonraki 24-36 saat içerisinde görülür (Appel, 1980). Kanin koronavirüs enfeksiyonu geçiren köpeklerin birçoğunda vücut ısısında artış gözlenmez, hatta ateş normalin biraz altındadır. Sekunder olarak diğer viral enterit etkenleriyle (parvovirus) komplike olmamış olgularda lökopeni de nadiren görülen klinik-laboratuvar bir bulgudur (Carmichael ve Binn, 1981).

Sunulan raporda, Bursa ilinde bir köpek barınağında yavrularda yüksek mortalite ve hemorajik gastroenteritisle seyreden kanin koronavirüs enfeksiyonu tanımlanmış ve seroprevalansı tespit edilmiştir.

Materyal ve Metot

a. Hayvan materyali: Klinik semptom göstermeyen ancak yavrularının tamamını veya bir kısmını kaybeden 23 erişkin damızlık dişi (ortalama yaş, 55.35±6.00 ay) (8 Labrador, 8 Alman Çoban, 3 Mallinois, 3 Pointer, 1 Akbaş) ve iyileşme belirtileri gösteren veya klinik semptomları devam eden 40-70 gün yaşlı toplam 36 yavrudan kan örnekleri alındı. Alınan örnekler 3000 rpm'de 10 dakika süre ile santifüj edildikten sonra ayrılan kan serumları, stok tüplere aktararak serolojik teste kadar -20 °C'de saklandı.

b. Serolojik Test: Serum örneklerinde Kanin Koronavirüs spesifik antikor varlığı ticari indirek CCoV ELISA test kiti (EVL-The Netherlands) ile kontrol edildi. Test, üretici firmanın önerdiği prosedüre uygun olarak yapıldı. Pleytler 450 nm'de okundu ve veriler hesaplandı.

Bulgular

a. Klinik Bulgular: Erişkin damızlık köpeklerde (n=23) herhangi bir spesifik klinik semptom belirlenmedi. Bu köpeklerin 40-70 günlük yavrularında ise klinik olarak depresyon, dehidrasyon, anoreksi, kanlı-sulu diyare ve kusma tablosu tanımlandı. Klinik bulgu gösteren (kusma ve diyare) 91 yavrunun 55'i (% 60.4) ilk semptomların görülmesinden itibaren 1-3 gün içerisinde (şiddetli hemorajik gastroenteritis bulgularını takiben) öldü.

Medikal kayıtlara göre; barınakta CCoV enfeksiyonuna yönelik koruyucu aşılama yapılmadığı tespit edildi. Bununla birlikte, çalışma materyalini oluşturan tüm damızlık köpeklerin rutin aşı takvimine uygun olarak, 45. gün yaştan itibaren, 14-21 gün arayla üç kez karma (Kanin Adenovirüs (CAV 1-2), Leptospirosis, Parvovirus ve Distemper) ve sonrasında tek doz parvoviral enterit aşısı ile aşılandığı ve yılda bir kez tekrar olmak üzere aşılamaların düzenli olarak takip edildiği belirlendi. Barınakta paraziter mücadelenin de takvime uygun olarak yapıldığı kaydedildi.

Köpeklerin beslenmesinde, uygun saklama koşullarında muhafaza edilen ticari köpek malmalarının kullanıldığı öğrenildi.

b. Serolojik test: ELISA test sonuçları yetişkinlerin tümünün ve 36 yavrunun 34'ünün seropozitif olduğunu ortaya koydu. Negatif olarak belirlenen iki yavrunun kardeş oldukları (Alman Çoban) ve örnekleme sırasında süt emmeye devam ettikleri tespit edildi.

c. Otopsi bulguları: Klinik semptomları takiben ölen yavruların nekropsisinde makroskopik bulgu olarak; duodenum ve ileumda seröz peteşiler, karın boşluğunda kanlı eksudat birikimi, mukozal dokularda ödem ve alimenter kanalda yaygın hemorajik gastroenterit bulguları belirlendi.

Tartışma ve Sonuç

Yüksek patojenik özellik taşıyan kanin enterik koronavirüs (CCoV) enfeksiyonu tüm dünyada köpek yetiştiriciliği yapılan barınakların yaygın bir sorundur (Buonavoglia ve ark., 2006).

Tennant ve ark (1993) İngiltere'deki ticari köpek barınaklarında yaptıkları çalışmada CCoV enfeksiyonunun seroprevalans değerlerinin % 76 ile % 100 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Naylor ve ark. (2001) ise Avustralya'da yaptıkları serolojik taramada, bireysel yetiştirilen köpeklerde % 15.8, barınaklarda ise ortalama % 40.8 oranında se-

ropozitiflik tespit etmişlerdir.

Kanın koronavirüsler diyare problemi olan veya sağlıklı köpeklerin dışkılarında en sık belirlenen viral etkenlerdendir (%55.4) (Mochizuki ve ark., 2001).

CCoV spesifik antikörlerin tespiti için yaygın olarak virus nötralizasyon test (VNT) (Mochizuki ve ark., 1987) ve indirek ELISA testleri (Rimelzwaan ve ark., 1991; Tuchiya ve ark., 1991) kullanılmaktadır. Pratelli ve ark (2002) geliştirdikleri indirek ELISA testi ile virus nötralizasyon testini karşılaştırmıştır. Doğrulama amaçlı altın standart test olarak VNT ile birleştirilmiş Western Blot testin kullanıldığı çalışmada, indirek ELISA metodunun daha duyarlı ve güvenilir olduğu gösterilmiştir. VNT'nin ise epidemiyolojik çalışmalarda yanıtıcı sonuçlar verebileceği tespit edilmiştir. Bu nedenlerle sunulan çalışmada da indirek ELISA testi tercih edilmiştir.

CCoV enfeksiyonunun yüksek morbiditeye sahip olduğu ve salgın sırasında barınaktaki tüm köpeklerin etkilenebileceği bilinmektedir (Pratelli ve ark., 2001; Erles ve ark., 2003).

Bu çalışmada, bir köpek barınağında süt emme periyodunun son döneminde ve süttten kesme döneminin hemen sonrasında yavrualarda akut olarak ortaya çıkan enfeksiyöz salgın hastalık -Kanın Koronavirüs- tanımlanmıştır. Barınaktaki yaşları 40-70 gün arasında değişen, değişik ırklarda 91 safkan yavrunun tamamına yakını enfeksiyondan etkilenmiş olup, 55 tanesi yapılan destekleyici tedaviye yanıt vermeyerek 1-3 gün içerisinde ölmüştür. Yavru köpeklerde depresyon ve anoreksi ile başlayıp 1-2 gün içinde gelişen hemorajik gastroenteritis, kanlı/sulu diyare, dehidrasyon ve kusma ile devam eden enfeksiyöz bir tablo kaydedilmiştir.

Yetişkin damızlık dişilerde hiç bir semptom gözlenmezken, biri hariç çalışmaya dahil olan bu damızlık dişilerin tamamı yavrularının hepsini veya bir kısmını kaybetmiştir.

Barınakta ilk klinik semptomların, 40-50 günlük süt emme periyodunu henüz bitirmiş veya bitirmek üzere olan yavrualarda mamaya geçiş döneminde başladığı ve hızla yayıldığı tespit edildi. Çalışmada tüm anneler ile (n=23) iyileşme görülen veya klinik semptomları devam eden 36 yavrudan kan örnekleri alındı.

Elde edilen kan serumları CCoV spesifik antikör varlığının tespiti için indirek ELISA test ile kontrol edildi ve 59 örneğin 57'sinin (% 96.6) seropozitif olduğu belirlendi.

Barınakta CCoV için hiç aşılama yapılmamış

olmasına rağmen, erişkin dişilerin tamamının seropozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu durum hayvanların daha önce veya salgın sırasında enfekte olduklarını göstermektedir.

Barınak kayıtlarına göre, seronegatif oldukları tespit edilen bu iki yavrunun 40 gün yaşlı kardeş (Alman Çoban) yavrular oldukları belirlenmiştir. Bu yavruların annelerinin sürüye damızlık olarak dışarıdan yakın zamanda katıldığı, ayrıntılı kayıtlarının bulunmadığı, son batında sadece iki yavru doğurduğu ve ikisinde de hiçbir semptom görülmediği tespit edildi. Salgından etkilenmeyen ve örnekleme döneminde emme periyodunda bulunan bu iki yavrunun düşük titrede de olsa anneden antikör almış olabilecekleri ve maternal bir koruma olasılığı düşünülmektedir.

Sürüye çifletirme programı dahilinde ve belirli dönemlerde gen kaynağı olarak dışarıdan yeni damızlık köpeklerin katıldığı bilinmektedir.

Örneklemeden sonraki bir haftalık dönemde, klinik semptomları devam eden yavruardan 12 tanesinin daha öldüğü rapor edilmiştir.

CCoV enfeksiyonu barınak ortamında daha hızlı yayılım gösterir. Bu nedenle sunulan çalışmada tespit edilen seroprevalans değerleri bireysel yetiştirilen köpeklerden daha yüksektir. Benzer şekilde Yeşilbaş ve ark (2004), Bursa ilinde özel işletmelerde yetiştirilen köpeklerde %70 oranında seropozitiflik belirlemişlerdir.

Erişkin köpeklerde asemptomatik veya hafif seyreden CCoV enterit, yenidoğanlarda şiddetli enfeksiyona yol açar. Bazı CCoV salgınlarının ise sunulan çalışma sonuçlarına benzer olarak çok yüksek mortalite ile seyrettiği bildirilmiştir (Pratelli ve ark., 1999).

Safkan köpek yetiştiriciliği yapılan bir köpek barınağında, yavrualarda ağır gastrointestinal semptomlar ve yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyöz bir salgınının tanımlandığı bu çalışmada -her ne kadar antijen tespiti yapılmamış ise de- belirlenen klinik semptomlar, sürüye uygulanan önceki aşılama kayıtları ve CCoV serolojik test verileri birlikte değerlendirildiğinde, tespit edilen enfeksiyonun CCoV olabileceği sonucuna varılmış ve bu sürüde enfeksiyonun seroprevalansı % 96.6 olarak tespit edilmiştir.

Kaynaklar

Appel, M. (1980) Canine viral enteritis. *Canine Pract.*, 7, 22-34.

Appel, M.J., Binn, L.N. (1987) Canine Coronavirus. In:

- In: *Virus Infections of Carnivores* (M Apel ed.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 115-122.
- Appel, M.J. (1988) Does canine coronavirus augment the effects of subsequent parvovirus infection? *Vet. Med.*, 83, 360-366.
- Binn, L.N., Lazar, E.C., Kenan, K.P., Huxsoll, D.L., Marchwicki, R.H., Strano, A.J. (1974) Recovery And Characterisation Of A Coronavirus From Millitary Dogs With Diarrhea. *Proc. US Anim. Health. Assoc.*, 78, 359-366.
- 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, 3, 492-494.
- Carmichael, L.E., Binn, L.N. (1981) New enteric viruses in the dog. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 25, 1-35.
- Erles, K., Toomey, C., Brooks, H.W., Brownlie, J. (2003) Detection of a Group 2 Coronavirus in Dogs with Canine infectious Respiratory Disease. *Virology*, 310, 216-223.
- Greene, C.E. (1990) Canine coronaviral enteritis. In: *Infectious diseases of the dog and cat* (CE Greene ed.), W.B. Saunders, Philadelphia, 281-283.
- Martin, H.D., Zeidner N.S. (1992) Concomitant cryptosporidia, coronavirus and parvovirus infection in a raccoon. *J. Wildl. Dis.*, 28, 113-115.
- Mochizuki, M., Sugiura, R., Akuzawa, M. (1987) Micro-Neutralisation Test With Canine Coronavirus for Detection of Coronavirus Antibodies in Dogs and Cats. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 563-565.
- Mochizuki, M., Hashimoto, M., Ishida, T. (2001) Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and Giardia infection in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 63, 5, 573-575.
- Naylor, M.J., Monckton, R.P., Lehrbach, P.R., Deane, E.M. (2001) Canine Coronavirus in Australian Dogs. *Aust. Vet. J.*, 79, 116-119.
- Pollock, R.V., Carmichael L.E. (1979) Canine Viral Enteritis. *Mod. Vet. Pract.*, 60, 375-380.
- Pollock, R.V., Carmichael, L.E. (1983) Canine Viral Enteritis. *Vet. Clin. North Anim. Pract.*, 13, 551-566.
- Pratelli, A., Tempesta, M., Roperto, P., 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., Martella, V., Elia, G., Tempesta, M., Guarda, F., Capucchio, M.T., Carmichael, L.E., 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, 5, 385.
- Pratelli, A., Elia, G., Martella, V., Palmieri, A., Cirone, F., Tinelli, A., Corrente, M., Buonavoglia, C. (2002) Prevalance of Canine Coronavirus Antibodies by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in Dogs in The South of Italy. *J. Virol. Meth.*, 102, 67-71.
- Rimelzwaan, G.F., Groen, J., Egberink, H., Borst, G.H., Uytdehaag, F.G., Osterhaus, A.D. (1991) The Use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Systems for Serology and Antigen Detection in Parvovirus, Coronavirus and Rotavirus Infection in Dogs in The Netherlands. *Vet. Microbiol.*, 26, 25-40.
- Tennant, B.J., Gaskell, R.M., Jones, R.C., Gaskell, C.J. (1993) Studies on the Epizootiology of Canine Coronavirus. *Vet. Rec.*, 132, 7-11.
- Tuchiya, K., Horimoto, T., Azeteka, M., Takahashi, E., Konishi, S. (1991) Enzyme-Linked immunosorbent Assay for the Detection of Canine Coronavirus and its Antibody in Dogs. *Vet. Microbiol.*, 26, 41-51.
- Yasoshima, A., Fujinami, F., Doi, K. (1983) Case report on mixed infection of canine parvovirus and canine coronavirus. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 45, 217-225.
- Yeşilbağ, K., Yılmaz, Y., Torun, S., Pratelli, A. (2004) Canine Coronavirus Infection in Turkish Dog Population. *J. Vet. Med.*, 51, 353-355.