

Köpek İdrar ve Plazma Örneklerinde Canine Adenovirus (CAV) Antijeninin ELISA ile Araştırılması

Kezban CAN ŞAHNA^{1*}, Öznur ASLAN²

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.

Geliş Tarihi: 16.05.2015

Kabul Tarihi: 24.06.2015

Özet: Köpeklerde adenovirus (CAV) enfeksiyonlarının varlığı yönünden Türkiye’de sadece serolojik veriler bulunmaktadır. Bu çalışma ile ülkemizdeki köpeklerde CAV antijen tespiti yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, sağlıklı görünümlü, değişik ırk, yaş ve cinsiyette, farklı köpeklerden 36 adet idrar ve 36 adet plazma örneği toplanmıştır. CAV antijen tespiti için ticari ELISA kiti kullanılmıştır. İdrar örneklerinde antijen tespiti yapılamazken 36 plazma örneğinin 3 adedinde (% 8.3) pozitiflik saptanmıştır. CAV antijen pozitifliği ile ırk, yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu çalışma köpeklerde CAV antijen varlığının Türkiye’deki ilk bildirimidir.

Anahtar Kelimeler: Adenovirus, antijen, ELISA, köpek, Türkiye

Investigation of Canine Adenovirus (CAV) Antigen in Urine and Plasma Samples of Dog by

ELISA

Abstract: Only serologic data are available in Turkey for the presence of canine adenovirus infections (CAV). This study was aimed to investigate presence of CAV antigen in dogs in our country. For this purpose, total 36 urine and 36 plasma samples were collected from healthy, different breed and gender dogs. Commercial ELISA kit was used for detection of CAV antigen. CAV antigen was detected at 3/36 (8.3%) in plasma samples but no antigen was detected in urine samples. Statistical significant differences were not observed among breed, age and gender related with CAV antigen situation ($p>0.05$). This study is the first report of CAV antigen presence in dogs at Turkey.

Keywords: Adenovirus, antigen, ELISA, dog, Turkey

Giriş

Köpek adenovirusları (Canine Adenovirus-CAV), *Adenoviridae* familyasının *Mastadenovirus* cinsinde yer alan, zarsız, çift iplikçikli DNA genomu içeren viruslardır. CAV tip 1 (CAV-1) ve CAV tip 2 (CAV-2) olmak üzere iki alt tipi vardır. CAV-1 ve CAV-2 genetik, antijenik ve patogeneze karakterleri açısından birbirinden farklı, ancak çapraz reaksiyon göstermektedirler (Fauquet ve ark., 2005). CAV-1, akut nekrohemorajik hepatit ile karakterize enfeksiyöz canine hepatitise (ICH) neden olur. CAV-1 başlıca hepatositler ve birçok organın damar endotel hücrelerinde hasara neden olur.

Hastalığın akut safhasından sonra dolaşımdaki immunkompleksler corneal ödem (blue eye), uveit ve nefritis de oluşturabilir. Hastalığın akut döneminde virus tükürük, salya ve idrardan izole edilebilir.

Kronik hepatitisin oluşmadığı durumlarda virus böbreklerde persiste kalarak idrarla 6-9 ay kadar saçılabilir (Green, 2006). CAV-2 ise “kennel cough” olarak da bilinen, akut üst solunum yolu enfeksiyonu olan enfeksiyöz trakeobronşitin (ITB) etkenidir (Ford, 2012). Virus ayrıca enteritis ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonu da oluşturabilir (Almes ve ark., 2010; Decaro ve ark., 2007). Köpek adenovirus enfeksiyonu dünyada yaygın olarak görülmekte ve yüksek bir prevalansla

seyretmektedir. Köpeklerde enfeksiyöz hepatite bağlı mortalite oranının düşük olduğu, ancak başka mikroorganizmalarla miks enfeksiyon durumunda oranın yükseldiği belirlenmiştir (Decaro ve ark., 2007; Pratelli ve ark., 2001).

Genellikle üst solunum yolu enfeksiyonu oluşturan CAV-2 ise köpeklerde daha yüksek bir prevalansla seyretmektedir ancak mortalite oranı CAV-1’den daha düşüktür (Balboni ve ark., 2014). Enfeksiyonun teşhisinde virus izolasyonu, immunfloresan, PCR ve ELISA teknikleri kullanılmaktadır (Decaro ve ark., 2007; Chaturvedi ve ark., 2008). Ayrıca dokulardan immunohisto-kimyasal yöntemle antijen tespiti de bildirilmiştir (Damian ve ark., 2005). Enfeksiyonun serolojik olarak teşhisinde birçok test kullanılmakla birlikte ELISA, adenovirus antikorlarının tespitinde duyarlı, hızlı ve kısa sürede sonuç alınabilmesi sebebiyle en çok tercih edilen yöntemdir (Noon ve ark., 1979). Türkiye’de CAV enfeksiyonunu ile ilgili sınırlı çalışma vardır (Bulut ve ark., 2013; Can-Şahna ve Aslan, 2015; Gür ve Acar, 2009). Bu çalışmalarda enfeksiyonun seroprevalansı %36.2-87.2 olarak belirlenmiş ancak viral antijen ya da nükleik asit tespiti yapılamamıştır. Bu çalışmada ise sağlıklı köpeklerin idrar ve plazma örneklerinde CAV antijen tespiti yapılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada, farklı ırklardan, yaşları 3 ay ile 8 yaş arasında değişen, sağlıklı görünümlü, daha önce CAV aşısı yapılmamış, farklı köpeklerden 36 adet plazma ve 36 adet idrar örneği toplandı (Tablo 1).

Bulgular

36 idrar örneğinin hiçbirinde ELISA ile CAV antijeni tespit edilemedi. 36 plazma örneğinin 3

adedinde (%8.3) ELISA ile CAV antijeni tespit edildi. CAV antijeni tespit edilen plazma örneklerinin iki adedi erkek, bir adedi dişi köpeklere aitti. Antijen pozitif bulunan köpeklerin 2 tanesi Kangal, 1 tanesi de Danua ırkı köpeklerdi. ELISA ile pozitiflik tespit edilen plazma örneklerinin yaş dağılımı ise 1 yaş (Danua), 2 ve 3 yaş (Kangal) olarak belirlendi (Tablo 2). CAV antijen pozitifliği ile ırk, yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 1. Örneklenen köpeklerin ırk, cinsiyet ve yaş dağılımları.

	Irak	Kangal n:8	Retriever n:4	Terrier n:8	Sokak Köp. n:16		
İdrar	Cinsiyet	Dişi n:21	Erkek n:15				
	Yaş	6ay↓ n:5	1 yaş n:6	2 yaş n:11	3 yaş n:4	4 yaş n:4	5 yaş ve ↑ n:6
Plazma	Irak	Kangal n:14	Retriever n:5	Terrier n:4	Danua n:4	Pitbull n:5	Doberman n:4
	Cinsiyet	Dişi n:17	Erkek n:19				
	Yaş	6 ay↓ n:11	1 yaş n:5	2 yaş n:8	3 yaş n:4	4 yaş n:2	5 yaş ve ↑ n:6

Tablo 2. CAV antijeni tespit edilen plazma örneklerinin ırk, cinsiyet ve yaş dağılımı.

	Irak			Yaş			Cinsiyet	
	+/-	%		+/-	%		+/-	%
Kangal	2/12	14.28	6ay↓	0/11		Dişi	1/16	5.8
Retriever	0/5		1yaş	1/4	20	Erkek	2/17	10.5
Terrier	0/3		2yaş	1/7	12.5			
Danua	1/4	25	3yaş	1/3	25			
Pitbull	0/5		4yaş	0/2				
Doberman	0/4		5 yaş ve ↑	0/6				

Tartışma ve Sonuç

CAV enfeksiyonlarının farklı ülkelerde değişken prevalanslarda seyrettiğini bildiren birçok çalışma vardır. Meksika'da Damian ve ark. (2005), evcil köpeklerde CAV antijenini immunohistokimyasal olarak %57 oranında tespit ederlerken, Japonya'da solunum sistemi enfeksiyonu geçiren 68 köpekle yapılan çalışmada prevalans %2.9 olarak belirlenmiş (Mochizuki ve ark., 2008), Kore'de immunfloresan testi kullanılarak yapılan çalışmada enfeksiyonun prevalansı %19.9 oranında saptanmış (Kim ve ark., 2006) ve İtalya'da ise PCR tekniği kullanılarak yapılan çalışmada 51 köpekten 30 adedinde (%58.8) CAV nükleik asidi tespit edilmiştir (Balboni ve ark., 2014). Türkiye'de enfeksiyonun seroprevalansının incelendiği çalışmalarda %36.3 ile %87.2 arasında seropozitiflik bildirilmiştir (Can-Şahna ve Aslan, 2015; Gür ve Acar 2009). Bulut ve ark. (2013) ELISA ile %54.7 oranında CAV antikorunu tespit etmiş ancak immunfloresan testi ile CAV antijeni tespit edememişlerdir. Can-Şahna ve Aslan (2015) yaptıkları çalışmada 91 adet köpek kan serumu

örneğinde enfeksiyona karşı antikor pozitifliğini %36.2 olarak belirlemişler ancak CAV antijen araştırması yapamamışlardır. Bu çalışmada ise ELISA ile CAV antijeni tespit etmek amacıyla yeniden farklı köpeklerden idrar ve plazma örneği toplanmış ve Türkiye'de ilk kez CAV antijen tespiti yapılarak ve sağlıklı köpeklerde enfeksiyonun prevalansı %8.3 olarak belirlenmiştir.

Hastalıktan iyileşen köpeklerin dışkı ve idrarı ile virus saçılışı enfeksiyon sonrası 6-9 ay sürebilmektedir (Green, 2006). Bu yüzden idrar ve gaita virus tespitinde en çok kullanılan örneklerdir (Balboni ve ark., 2014; Chaturvedi ve ark., 2008). Bu çalışmada da CAV antijen tespiti yapabilmek için 36 adet idrar örneği toplanmış ancak hiçbir örnekte pozitiflik bulunamamıştır. Balboni ve ark. (2014), İtalya'daki köpeklerde CAV prevalansını dişilerde %61.5 erkeklerde ise %72.0 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada CAV prevalansı dişilerde %5.9, erkeklerde %10.5 olarak daha düşük düzeyde saptanmıştır. Dişi ve erkek köpeklerde CAV oranlarının belirlendiği diğer çalışmalara (Balboni ve ark., 2014; Bulut ve ark., 2013; Taguchi ve ark., 2011) paralel olarak bu çalışmada da cinsiyetler arasında enfeksiyon pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark

bulunmamıştır. CAV enfeksiyonunun 1 yaş altındaki genç köpeklerde yaşlılardan daha yüksek oranda olduğunu bildirilmesine rağmen (Greene, 2012) CAV enfeksiyonu ile yaş arasında bir ilişki olamadığını ve enfeksiyonun her yaş grubunda yüksek oranda görüldüğünü bildiren çalışmalar da vardır (Balboni ve ark., 2014; Bulut ve ark., 2013; Taguchi ve ark., 2011). Bu çalışmada 1 yaş altındaki köpeklerde CAV antijeni tespit edilememiş 1-3 yaş arası köpeklerde pozitiflik belirlenmesine rağmen yaş ile antijen varlığı arasında istatistiksel fark bulunamamıştır. Ülkemizde CAV enfeksiyonunun farklı köpek ırklarında değişen seroprevalansta olduğunu belirlediği çalışmalarda (Bulut ve ark., 2013; Can-Şahna ve Aslan, 2015; Gür ve Acar, 2009) enfeksiyonun seropozitifliği ile ırk duyarlılığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bildirilmemiştir. Bu verilere paralel olarak bu çalışmada da örneklenen ırklar arasında CAV prevalansı yönünden istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Enfeksiyonun teşhisinde virus izolasyonu, immunfloresan, PCR ve ELISA teknikleri kullanılmaktadır (Decaro ve ark., 2007; Chaturvedi ve ark., 2008). ELISA antijen tespiti için hızlı ve duyarlı bir tekniktir. Ancak bu çalışmada kullanılan kit ile CAV-1 ve CAV-2 ayırımı yapılamamıştır. Sonuç olarak, bu çalışma ile Türkiye’de CAV antijen varlığı ilk kez saptanmış olup CAV enfeksiyonlarının tip ayırımının yapıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Almes KM, Janardhan KS, Anderson J, Hesse RA, Patton KM, 2010: Fatal canine adenoviral pneumonia in two litters of Bulldogs. *J Vet Diag Invest*, 22(5), 780-784.
- Balboni A, Mollace C, Giunti M, Dondi F, Prosperi S, Battilani M, 2014: Investigation of presence of canine adenovirus (CAV) in owned dogs in Northern Italy. *Res Vet Sci*, 97, 631-636.
- Böhm M, Thompson H, Weir A, Hasted AM, Maxwell NS, Herrtage ME, 2004: Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in UK which had not been vaccinated for at least 3 years. *Vet Rec*, 154, 457-463.
- Bulut O, Yapıcı O, Şimşek A, Atlı K, 2013: The serological and virological investigation of canine adenovirus infection on the dogs. *The Sci World J*, 8, 1-6.
- Can-Şahna K., Aslan Ö, 2015: Kayseri’deki Köpeklerde Canine Adenovirus Seroprevalansı. *Firat Üniv Sağlık Bil Vet Derg*, 29 (3), (Basımda).
- Chaturvedi U, Tiwari AK, Ratta B, Ravindra PV, Rajawat YS, Palia KS, Rai A, 2008: Detection of canine adenoviral infections in urine and faeces by polymerase chain reaction. *J Virol Methods*, 149, 260-263.
- Damian M, Morales E, Salas G, Trigo FJ, 2005. Immunohistochemical detection of antigens of distemper, adenovirus and parainfluenza viruses in domestic dogs with pneumonia. *J Comp Path*, 133, 289-293.
- Decaro N, Campolo M, Elia G, Buonavoglia D, Colaianni ML, Lorusso A, 2007: Infectious canine hepatitis: an “old” disease reemerging in Italy. *Res Vet Sci*, 83 (2), 269-273.
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, 2005: Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on taxonomy of Viruses. Elsevier academic Press, London, 213-220.
- Ford RB, 2012: Canine infectious respiratory disease. In: Greene CE (Ed), *Infectious Diseases of Dog and Cat*, fourth ed. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 55-65.
- Green CE, 2006: Infectious diseases of the Dog and Cat, third ed, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, pp. 54-61.
- Greene CE, 2012: Infectious canine hepatitis and canine acidophil cell hepatitis. In: Greene CE (Ed), *Infectious Diseases of Dog and Cat*, fourth ed. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri 42-48.
- Gür S, Acar A, 2009: A retrospective investigation of canine adenovirus (CAV) infection in adult dogs in Turkey. *J Sou Afr Vet Ass*, 80(2), 84-86.
- Kim SH, Huh JH, Bae SY, Kim JS, Yoon SY, Lim CS, Cho Y, Kim YK, Lee KN, Lee CK, 2006. Epidemiology of respiratory viral infection in 2004-2006. *Korean J Lab Med*, 26, 351-357.
- Mochizuki M, Yachi A, Ohshima T, Ohuchi A, Ishida T, 2008. Etiologic study of upper respiratory infection of household dogs. *J Vet Med Sci*, 70(6), 563-569.
- Noon KF, Rogul M, Binn LN, 1979: An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of canine antibodies to canine adenovirus. *Lab Ani Sci*, 29(5), 603-609.
- Özdamar K, 1999: SPSS ile Biyoistatistik. 3. Baskı, Kaan Kitapevi, Eskişehir
- Pratelli A, Martella V, Elia G, 2001: Severe enteric disease in an animal shelter associated with dual infections by canine adenovirus type 1 and canine coronavirus. *J Vet Med, Series B*, 48(5), 385-392.
- Taguchi M, Namikawa K, Maruo T, Orito K, Lynch J, Sahara H, 2011: Antibody titers for canine parvovirus type-2, canine distemper virus, and canine adenovirus type-1 in adult household dogs. *Can Vet J*, 52, 983-986.

***Yazışma Adresi:** Kezban CAN-ŞAHNA
Firat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.
e-mail: kezban@hotmail.com