



## Burdur Yöresindeki Gastroenteritisli Köpeklerde Canine Parvovirus Enfeksiyonunun Virolojik Araştırılması

Mehmet KALE<sup>1</sup>, Yakup YILDIRIM<sup>1</sup>✉, Oğuzhan AVCI<sup>2</sup>, Şima ŞAHİNDURAN<sup>3</sup>, Sibel HASIRCIOĞLU<sup>1</sup>, Hasbi Sait SALTIK<sup>1</sup>, Necmettin Sarp SEVGİSUNAR<sup>3</sup>

1. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE.
2. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
3. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.12.2016	03.07.2017	20.12.2017

**Öz:** Bu çalışmada Burdur yöresinde yavru köpeklerde dehidrasyon, şiddetli hemorajik ishal, kusma, myokarditis ve yüksek ateşle seyreden canine parvovirus (CPV) enfeksiyonu virolojik olarak araştırıldı. Bu amaçla sahipli veya Burdur Belediyesi hayvan barınağında bulunan yaşları 1-11 ay arasında değişen farklı ırk ve cinsiyette, söz konusu enfeksiyona karşı daha önce aşılanmamış ishal, ateş ve halsizlik gibi farklı klinik semptomlar gösteren 117 adet köpek yavrusundan dışkı örneği toplandı. Örneklerin double antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi sonucunda, %3.42'sinde (4/117) canine parvovirus antijeni tespit edildi. Antijen pozitiflik oranlarının cinsiyete göre dağılımı ise erkekler ve dişilerde sırası ile %8.82 (3/34), %1.20 (1/83) bulundu. Bu araştırma, Burdur yöresinde CPV enfeksiyonunun prevalansını düşük düzeyde de olsa ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Canine parvovirus, DAS-ELISA, Köpek.

## Virological Investigation of Canine Parvovirus Infection in Dogs with Gastroenteritis in Burdur District

**Abstract:** In this study, a virological investigation was performed Burdur district on canine parvovirus (CPV) infection progressing with dehydration, severe hemorrhagic enteritis, vomiting and high fever. For this purpose, feces samples were collected from 117 puppies that are owned or kept in Burdur animal shelter, having different race and gender aged between 1-11 months old and not vaccinated against the so-called infection. As a result of the evaluation of the samples using double antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) method, canine parvovirus antigen was detected in 3.42 % (4/117). Distribution of antigen positivity rates according to gender were found as 8.82 % (3/34), 1.20 % (1/83) respectively for males and females. This study proved the prevalence of CPV infection in the least around Burdur district.

**Keywords:** Canine parvovirus, DAS-ELISA, Dog.

## GİRİŞ

Dünyada köpeklerin en önemli enfeksiyöz etkenlerinden birisi olarak kabul edilen canine parvovirus (CPV), ilk olarak 1978 yılında tanımlanmıştır. Daha sonraki yıllarda birçok ülkede (1-4) ve Türkiye’de de hastalığın görüldüğü bildirilmiştir (5-7). Zarsız ve tek iplikcikli DNA taşıyan etken *Parvoviridae* familyasının *Parvovirus* genusu içinde yer alır ve feline panleukopenia virus ile antijenik yakınlığı vardır (8-10).

Yavru köpeklerde ve bir yaşından küçük genç köpeklerde, yetişkinler ile kıyaslandığında çok daha şiddetli seyreden enfeksiyonda ateş, ishal, kusma, şiddetli dehidrasyon ve non-suppuratif myokarditis başlıca görülen klinik belirtilerdir. Özellikle yavrualarda ilk 24 saat içerisinde şekillenen kusma ve enteritis nedeniyle oluşan sıvı kayıpları sonucu hastalığın prognozu olumsuz yönde ilerler (8-11). CPV enfeksiyonunun teşhisi klinik bulgulara dayanılarak konulabilse de, kesin teşhisin özellikle köpek yavrualarında kanlı ishalle seyreden diğer enfeksiyonlardan ayırt edilmesi açısından laboratuvar bulguları ile doğrulanması gerekir.

Bu çalışmada, Burdur yöresindeki köpeklerde CPV’nin varlığının belirlenmesi ve bir yaşın altındaki hayvanlarda özellikle yaşamlarının hangi döneminde enfeksiyon etkenine daha çok maruz kaldıkları konusunda bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Örneklenen Hayvanlar

Burdur yöresinde, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Kliniklerine getirilen sahipli (n=20) ve Burdur Belediyesi hayvan barınağında bulunan (n=97) yaşları 1-11 ay arasında değişen farklı ırk ve cinsiyette, söz konusu enfeksiyona karşı aşılanmamış (bu bilgi hayvan sahibi ve barınaktaki sorumlu veteriner hekiminden alındı) 117 adet köpek yavrusundan dışkı örneği toplandı. Örneklemeler 2016 yılının ilkbahar ve yaz mevsiminde yapıldı. Örnekler 6 tanesi Kangal, 110 tanesi melez ve 1 tanesi de Rottweiler ırkı hayvanlardan toplandı (Tablo 1). Numunelerin

alındığı hayvanlarda hafiften şiddetliye kadar varan farklı derecelerde ishal tablosu, ateş, isteksizlik ve halsizlik gibi klinik semptomlar vardı. Klinik muayenelerini takiben alınan dışkı örnekleri test aşamasına kadar -20°C’lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

**Tablo 1.** Örneklenen köpek yavrularının ırk ve cinsiyet dağılımı.

**Table 1.** The distribution of sampled puppies according to breed and gender.

İrk	Dişi	Erkek	Toplam
Kangal	1	5	6
Rottweiler	1	-	1
Melez	81	29	110
Toplam	83	34	117

### Double Antibody Sandwich ELISA (DAS-ELISA)

Dışkı örneklerinde canine parvovirus antijenlerinin tespiti amacıyla ticari DAS-ELISA kiti (Agrolabo, İtalya, Kat. No: 27224032) kullanıldı. Test, üretici firmanın bildirdiği prosedüre göre yapıldı ve sonucu spektrofotometrik olarak 405 nm absorbansta okunmak suretiyle değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS Windows 21.0 programı (12) kullanılarak analiz edildi. Sahipli ve barınak köpeklerinde tespit edilen CPV antijen pozitif değerlerindeki farklılıklar ile dişi ve erkek yavru köpeklerde belirlenen antijen pozitiflik oranları arasında ilişkinin anlamlılığını belirlemek için ki-kare ( $\chi^2$ ) testi uygulandı ve  $P<0.05$  çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Benzer şekilde 6 aydan küçük köpekler 1-2 ay yaş, 3-4 ay yaş ve 5-6 ay yaş gruplarına ayrılarak CPV antijen pozitif değerlerindeki farklılıklar ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile değerlendirildi.

### BULGULAR

DAS-ELISA testi sonucunda 117 adet köpek yavrusuna ait dışkı örneğinin 4 adedinde (%3.42) CPV antijeni tespit edildi. Bu çalışmada CPV prevalansı

erkeklerde %8.82 (3/34), dişilerde ise %1.20 (1/83) düzeylerinde saptanmıştır. CPV antijen varlığı tespit edilen 4 adet köpeğin; 2 adedinin (1 melez-erkek, 1 Kangal-dişi) 2.5 aylık, 1 adedinin (Kangal-erkek) 3.5 aylık, diğer 1 adedinin de (Kangal-erkek) 4 aylık

oldukları belirlendi (Tablo 2). Sahipli ve barınak köpeklerindeki pozitif oranların dağılımının ise sırasıyla %5 (1/20) ve %3.09 (3/97) olduğu tespit edildi.

**Tablo 2.** Antijen (Ag) pozitifliğin yaş gruplarına göre dağılımı.

**Table 2.** The distribution of antigen (Ag) positivity according to age groups.

Yaş	1 ay	1.5 ay	2 ay	2.5 ay	3 ay	3.5 ay	4 ay	4.5 ay	5 ay	5.5 ay	6 ay	6.5 ay	7 ay	8 ay	10 ay	11 ay
Hayvan sayısı	4	2	15	5	18	1	23	1	20	1	12	1	7	5	1	1
CPV Ag pozitif sayısı	-	-	-	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sahipli ve barınak köpeklerinde tespit edilen CPV antijen pozitiflik değerlerindeki farklılık ile 6 aydan küçük köpeklerin 1-2 ay yaş, 3-4 ay yaş ve 5-6 ay yaş gruplarında belirlenen CPV antijen pozitif değerlerindeki farklılıklar yapılan istatistiksel analizler sonucunda anlamlı bulunmazken ( $P>0.05$ ), dişi ve erkek yavru köpeklerde belirlenen antijen pozitiflik oranlarındaki farklılıkların anlamlı ( $P<0.05$ ) olduğu saptandı.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

CPV hızlı mutasyon yeteneğinden dolayı köpek popülasyonları içerisinde hızlı bir yayılım gösterir (13). Virusun ilk tespitinden günümüze kadar gelen süreçte orijinal yapısının tamamen değiştiği ve hala değişmeye devam ettiği yapılan moleküler çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu durum enfeksiyonun epidemiyolojisi bakımından oldukça önemli bir özelliktir (4,13).

Dünyada birçok farklı ülkede CPV enfeksiyonu ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur. Hindistan'da Behera ve ark., (14) tarafından polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemini kullanarak yapılan çalışmada köpeklerde CPV oranını %40.85 (29/71) olarak tespit edilmiştir. Bu pozitifliğin yaş gruplarına göre dağılımı ise 1-3 aylık yavrularda %27.59, 3-6 aylık yavrularda %41.37, 6-12 aylıklarda %27.59 ve 12 ay yaştan büyüklerde de %3.45 olarak bildirilmiştir.

Aynı çalışmada pozitif örneklerin cinsiyete göre dağılımı ise erkeklerde %86.21, dişilerde 13.79 olarak belirlenmiştir. Tayland'da yapılan bir araştırmada (1) gastroenteritis klinik semptomu gösteren köpeklerde CPV2 varlığı %62.8 (44/70) oranında bulunmuştur. Bu çalışmada pozitif tespit edilen hayvanların 23'ünün erkek, 18'inin dişi ve 3'ünde cinsiyet bilgi kayıtlarının olmadığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada enfeksiyonun 3-6 aylık köpek yavrularında daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Portekiz'de Miranda ve ark., (4) tarafından evcil köpeklerden toplanan dışkı örneklerinde %76.15 (198/260) CPV pozitifliğini belirlenmiştir. Aynı çalışmada CPV varyantlarının dağılımı ise %51.5 CPV2c, %47.5 CPV2b ve %1 CPV2a olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma, Portekiz CPV izolatlarının diğer Avrupa izolatlarına benzerliğini ortaya koymuştur. Decaro ve ark., (15) Avrupa ülkelerinde CPV2c varyantının yaygın olduğunu rapor etmişlerdir. Filipov ve ark., (2) tarafından, Bulgaristan'da parvovirus enfeksiyonu klinik bulguları gösteren 42 adet köpekten toplanan dışkı örneklerinden 40 tanesinde CPV varlığı belirlenmiştir. Castro ve ark., da (16) Brezilya'da yaptıkları araştırmada, yedi aylıktan küçük 341 adet gastroenteritisli köpek yavrularından topladıkları dışkı numunelerinde %46 (157/341) oranında CPV pozitifliği belirlemişler ancak araştırmacılar, pozitif hayvanların cinsiyet ve yaşları arasında bir korelasyon

tespit edememişlerdir. Kanada'da ise CPV enfeksiyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada (3) CPV2b biyotipinin oldukça yaygın olarak bulunduğu ifade edilmiştir.

Ülkemizde CPV'nin ilk bildirimini Berkin ve ark., (5) yapmıştır. Daha sonraki yıllarda, Özkul ve ark., (6) tarafından polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve RFLP teknikleri ile yapılan moleküler çalışmada ilk kez ülkemizdeki virus suşlarının farklılığı ortaya konulmuştur. Yılmaz ve ark., (7) 60 enteritisli köpek dışkısından izole edilen 21 (%35) adet CPV2 izolatının antijenik karakterizasyonunu yapmış ve bunların 9 tanesinin CPV2a, 7 tanesinin de CPV2b olduğunu rapor etmişlerdir. Timurkan ve Oğuzoğlu (17) ise parvovirus enfeksiyonu klinik bulguları gösteren 65 adet köpekten topladıkları numunelerin 25 (%38.4) tanesinde CPV varlığını belirlemişler ve bu pozitif örnekler yaptıkları sekans analizleri sonucunda da %68 (17/25) CPV2a, %32 (8/25) CPV2b suşunun yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Yeşilbağ ve ark., (18) ishali köpek yavrularında CPV-2 varlığını %35.5 olarak tespit etmişler ve yaptıkları karakterizasyon çalışmasında CPV2a oranını %62.9, CPV2b oranını ise %37.1 olarak belirlemişlerdir. Tunca ve Toplu (19) da klinik olarak parvovirus enfeksiyon tanısı konan ve tedaviye yanıt vermeyerek ölen 5 ay yaşta küçük 10 adet köpek yavrusundan aldıkları doku örneklerinde immunohistokimyasal olarak parvovirus antijeninin varlığını tespit etmişlerdir. Enfeksiyonun serolojik durumu ile ilgili olarak da gastrointestinal ve solunum sistemi klinik bulguları gösteren köpeklerde yapılan çalışmada Torun ve ark., (20) tarafından CPV-1'e spesifik antikor varlığı %18 oranında bulunmuştur.

Bu çalışmada CPV prevalansı sadece 6 aylıktan küçük köpek yavrularında %3.42 (4/117) oranında tespit edildi. Araştırmada 6 aydan küçük köpeklerin kendi içlerinde yapılan gruplandırılmalarında (1-2 ay, 3-4 ay, 5-6 ay) CPV antijen pozitiflik değerleri arasındaki farklılığın istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlendi. Benzer şekilde sahipli ve barınak köpeklerinde tespit edilen CPV antijen pozitiflik değerleri arasında da bir korelasyon bulunmadı.

Fakat dişi ve erkek yavru köpeklerde belirlenen pozitiflik oranları arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu tespit edildi. Bu sonuç daha önce yapılmış çalışma (1,14) verileri ile paraleldir. Erkeklerde daha yüksek antijen pozitifliğinin nedeninin, aralarındaki üstünlük mücadelesi ve rekabete bağlı birbirleri arasındaki temas sıklığının fazla olmasından dolayı CPV'nin buluşma olasılığının artmış olmasına bağlandı. Irklar arasındaki CPV enfeksiyon durumu değerlendirildiğinde, her ne kadar kangal ırkında enfeksiyon oranı yüksek (%50) olarak bulunsa da çalışmadaki örnek sayılarının sınırlı olması nedeni ile diğer ırklarla kıyaslamaya yeterli istatistiki veri elde edilememiştir. Çalışma sonuçları, düşük prevalansa sahip olsa da Burdur yöresinde bulunun 1 yaşından küçük köpeklerde CPV enfeksiyonunun varlığını göstermektedir. Bu veriler söz konusu enfeksiyonla ilgili yapılmış diğer çalışmalarla kıyaslandığında düşük değerlerde olduğu görülmektedir. Bunun nedeni, örnekleme yapılan sahipli ve barınak köpeklerinin besleme ve barınma şartlarının iyi olması ve sağlık kontrollerinin düzenli yapılmasından kaynaklanabileceği kanaatine varıldı.

Sonuç olarak CPV enfeksiyonunun Burdur yöresinde varlığını ortaya koyan bu araştırmanın, ileride yapılacak bölgede/ülkede yayılım gösteren CPV suşlarını içeren aşuların üretilmesi ve CPV'nin antijenik varyantlarının belirlenmesine dönük moleküler karakterizasyon çalışmalarına kaynak olacağı düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Sakulwira K., Vanapongtipagorn P., Theamboonlers A., Oraveerakul K., Poovorawan Y., 2003. Prevalence of canine coronavirus and parvovirus infections in dogs with gastroenteritis in Thailand. *Vet Med*, 48, 163-167.
2. Filipov C., Decaro N., Desario C., Amorisco F., Sciarretta R., Buonavoglia C., 2011. Canine parvovirus epidemiology in Bulgaria. *J Vet Diagn Invest*, 23, 152-154.
3. Gagnon CA., Allard V., Cloutier G., 2016. Canine parvovirus type 2b is the most prevalent genomic

- variant strain found in parvovirus antigen positive diarrheic dog feces samples across Canada. *Can Vet J*, 57, 29-31.
4. Miranda C., Parrish RC., Thompson G., 2016. Epidemiological evolution of canine parvovirus in the Portuguese domestic dog population. *Vet Microbiol*, 183, 37-42.
  5. Berkin Ş., Milli Ü., Urman HK., 1981. Türkiye'de köpeklerde parvoviral enteritisler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 28, 36-49.
  6. Özkul A., Keleş İ., Karaoğlu T., Çabalar M., Burgu İ., 2002. Detection and RFLP analysis of canine parvovirus (CPV) DNA by polymerase chain reaction (PCR) in a Dog. *Turk J Vet Anim Sci*, 26, 1201-1203.
  7. Yılmaz Z., Pratelli A., Torun S., 2005. Distribution of Antigen Types of Canine Parvovirus Type 2 in Dogs with Hemorrhagic Enteritis in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 1073-1076.
  8. Murphy FA., Gibbs EPJ., Horzinek MC., Studdert MJ., 1999. Parvoviridae. In "Veterinary Virology", 3th ed., 343-354, Academic pres, California.
  9. Decaro N., Buonavoglia C., 2012. Canine parvovirus-A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol*, 155, 1-12.
  10. Geetha M., 2015. Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvovirus infection—a mini review. *Inter J Sci Eng App Sci*, 1, 21-27.
  11. Nandi S., Kumar M., 2010. Canine parvovirus: Current perspective. *Indian J Virol*, 21, 31-44.
  12. IBM SPSS Statistics, 2012. SPSS for Windows Release 21.0, SPSS Inc. Chicago, USA.
  13. Shackelton LA., Parrish CR., Truyen U., Holmes EC., 2005. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proc Natl Acad Sci*, 102, 379-384.
  14. Behera M., Pand SK., Sahoo PK., Acharya AP., Patra RC., Das S., Pati S., 2015. Epidemiological study of canine parvovirus infection in and around Bhubaneswar, Odisha, India. *Vet World*, 8, 33-37.
  15. Decaro N., Desario C., Addie DD., Martella V., Vieira MJ., Elia G., Zicola A., Davis C., Thompson G., Thiry E., Truyen U., Buonavoglia C., 2007. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerg Infect Dis*, 13, 1222-1224.
  16. Castro TX., Miranda SC., Labarthe NV., Silva LE., Cubel Garcia RCN., 2007. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 59, 333-339.
  17. Timurkan MÖ., Oğuzoğlu TÇ., 2015. Molecular characterization of canine parvovirus (CPV) infection in dogs in Turkey. *Vet Ital*, 51, 39-44.
  18. Yesilbag K., Yılmaz Z., Özkul A., Pratelli A., 2007. Aetiological role of viruses in puppies with diarrhoea. *Vet Rec*, 161, 169-170.
  19. Tunca R., Toplu R., 2007. Doğal enfekte köpek parvovirus enfeksiyonunda patolojik bulgular ve viral antijenin floresan antikor tekniği ile demonstrasyonu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 54, 55-59.
  20. Torun S., Yılmaz Z., Pratelli A., 2005. A serological evidence of minute virus of canines (MVC; Canine Parvovirus Type-1) in Dogs in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 923-925.