

Kangal Irkı Türk Çoban Köpeklerinde Canine Parainflenzavirus Tip5 (CPIV5) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

Sibel GÜR*  Abuzer ACAR*

* Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar - TÜRKİYE
** Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar – TÜRKİYE

Yayın Kodu (Article Code): 2008/20-A

Özet

Canine Parainflenzavirus tip 5 (CPIV5) enfeksiyonu özellikle genç evcil köpeklerde solunum sistemi enfeksiyonu ile ilişkilidir. Tek başına olduğunda prognoz hafif veya orta şiddettedir ancak sıklıkla diğer solunum sistemi patojenleri ile birlikte görülür. Bu çalışmada Ankara ilinde Kangal yetiştiriciliği yapılan 4 farklı çiftlikte bulunan klinik açıdan sağlıklı ve CPIV5 enfeksiyonuna karşı aşılanmamış yetişkin (1 ile 8 yaş arası) 94 köpekten kan örnekleri toplandı. Serum örneklerinin indirekt ELISA kullanılarak değerlendirilmesi sonucunda 44 köpekte (%46.8) CPIV5 spesifik antikorlar tespit edildi. Seropozitiflik oranları örneklenen çiftliklerde %33.3 ile %63.3 arasında değişen değerlerde saptandı. Bu çalışma ile, CPIV5 enfeksiyonunun varlığı ve yaygınlığına ilişkin Türkiye'deki ilk veriler elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Köpek, Kangal, Parainflenzavirus tip 5, Seroloji

An Investigation for Canine Parainflenzavirus Tip 5 (CPIV5) Infection in Kangal Race Turkish Shepherd Dogs as Serologically

Summary

Canine Parainflenzavirus type 5 (CPIV5) infections is associated with respiratory disease especially in young domestic dogs. The prognosis generally slight or mild when it was alone but mostly had been seeing other respiratory system pathogens. In this study, a total of 94 blood serum samples were collected from clinically healthy and adult (1 to 8 years old) Kangal dogs which are unvaccinated for CPIV in four private Kangal breeding kennels at Ankara province. As a result of evaluation of the sera samples using indirect ELISA, CPIV5 specific antibodies were found to be in 44 (46.8%) dogs. Seropositivity proportions were detected among 33.3% and 63.3% in studied dog kennels. First data for presence and proportion for CPIV5 was obtained with this study in Turkey.

Keywords: Dog, Kangal, Parainflenzavirus tip 5, Serology



İletişim (Correspondence)



+90 272 2281312/146



sibelgur@aku.edu.tr

GİRİŞ

Parainflenzavirus, memeliler yanında kuşları da etkileyen bir solunum sistemi patojenidir. Canine Parainflenzavirus (CPIV), *Paramyxoviridae* familyasının *Paramyxovirinae* subfamilyasında yer alır. Antijenik olarak Simian Virus-5 (SV5) ile çok yakın, domuz, sığır, koyun ve kedi parainfluenza virüsleriyle yakın antijenik ilişkilidir ¹⁻². Önceleri SV5 olarak adlandırılan virüsün sekans analiz sonuçlarına göre Domuz parainfluenza virüsleriyle %99.3, SV5 ile %98.5 ve insan parainfluenza virüsüyle %59.5 oranında nükleotid benzerliği belirlenmiştir ³.

Virus negatif tek iplikçikli, 15-16 kb'lık RNA genomundan oluşmuştur. Virionlar pleomorfik olup helikal simetridir, 600-800 nm çapında 18 nm enindedir ve 8-20 nm uzunluğundaki peplomerlerden meydana gelen bir zara sahiptir. Yedi gen bölgesinden oluşan genom 8 protein kodlar; bunlarının üçü integral membrane proteini [hemaglütinin-nöroaminidaz (HN) füzyon (F), küçük hidrofobik (SH)], bir matriks (M) proteini, enkapsidasyonu sağlayan nükleoprotein (NP), virus polimeraz kompleks ile ilgili olan fosfo (P) ve büyük (L) protein ile interferon antagonisti olan V proteindir ⁴.

Etken ilk kez 1956 yılında maymun hücre kültüründen izole edilmiştir ⁵. Yapılan çalışmalar enfeksiyona maymunların da duyarlı olduklarını göstermiştir ^{6,7}. CPIV enfeksiyonu ilk kez solunum sistemi enfeksiyonu geçiren bir köpekten SV5 (Simian Virus) benzeri bir virüsün izolasyonu ile tanımlanmıştır ⁸. İzleyen yıllarda da üst solunum sistemi enfeksiyonu teşhis edilen köpeklerden bir çok araştırmacı tarafından izole edilmiştir ^{1,9,10}.

Önceleri SV5 olarak bilinen CPIV5 ile ilgili yapılan çalışmalar virüsün konakçı spektrumunun oldukça geniş olduğunu göstermektedir. Kedi, hamster, kobay (gine domuzu) ^{11,12} ve ayı ¹³ gibi türlerde varlığı belirlenmiştir. İnsanlar ve birçok primat türü doğal enfeksiyona duyarlıdır ^{12,14}. CPIV ile human parainflenzavirus tip 2 arasında yakın antijenik ilişki ve kros reaksiyon vardır ¹⁵.

CPIV genellikle aerosol yolla bulaşır, inkubasyon süresi yaklaşık olarak 2-8 gündür. Virus başlıca nasal mukozanın epitelyal hücrelerinde, farinks, trake ve bölgesel lenf nodüllerinde replike olur. Enfeksiyon tek başına subklinik veya orta

şiddette seyreder ancak diğer ajanlarla komplike olduğunda prognoz ağırlaşır ^{8,16,17}. Yeni doğan ve genç köpekler enfeksiyona daha duyarlıdır. Baumgartner ve arkadaşları ¹⁸ gnotobiyotik köpeklerde yaptıkları *in-vitro* bir çalışmada solunum sistemi bozuklukları yanında ensefalit ve hidro-sefalus geliştiğini bildirmişlerdir.

DeneySEL olarak enfekte edilen köpeklerde ateş, solunum frekansında artış, depresyon, purulente varan burun akıntısı ve akciğer loblarında peteşial hemorajiler görülmüştür ⁸. Histopatolojik muayenede kataral rinitis ve trakeitis, bronş ve bronşiol-lerde lökosit birikimi ve hücreSEL yıkımlanma bildirilmiştir ¹⁹.

Parainflenzavirus, insan kökenli primer hücre kültürleri dahil olmak üzere ²⁰, bir çok türden hazırlanan hücre kültürü tiplerinde çok az sitopatoloji oluşturarak ürerler ^{21,22}.

Direkt teşhis solunum sistemi sıvıları, nazofaringeal svap ile trake-akciğer doku örneklerinin duyarlı hücre kültürüne ekilerek üretilmesi ile yapılabilir. Ancak ilk pasajda genellikle sitopatik etki gözlenmeyeceği için hemadsorbsiyon, immün floresan veya RT-PCR ile teşhise gidilir ^{8,10,23}. Enfeksiyonun serolojik teşhisinde ise Hemaglütinasyon ve Virus Nötralizasyon Test gibi yöntemler kullanılabilir. Birlikte ELISA da en hassas yöntemlerden biridir ^{2,15,23}.

Dünyada değişik oranlarda varlığı bildirilen Canine Parainfluenza virus tip 5 enfeksiyonu ile ilgili Türkiye'de herhangi bir bildirim bulunmamaktadır. Bu çalışmada CPIV5 enfeksiyonunun varlığı ve oranı ile ilgili ilk verileri elde etmek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Örneklenen Hayvanlar

Bu çalışmada, Ankara ili ve çevresinde saf ırk Kangal yetiştiriciliği yapılan 4 farklı çiftlikte bulunan klinik açıdan sağlıklı, yaşları 1 ile 8 arasında değişen 94 köpek değerlendirildi. Vena Sefalica'dan silikonlu vakumlu tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırılarak 3000 rpm'de 10 dak. santrifüj edildi. Ayrılan kan serumları steril stok tüplere aktarıldıktan sonra test edilinceye kadar -20°C'de saklandılar.

Serolojik Test

Köpeklerde Canine Parainfluenzavirus tip 5 spesifik antikorların tespiti için indirekt ELISA (EVL Hollanda) test kiti kullanıldı. Viral glikoproteinlerle kaplanmış olan pleytin gözlerine, 1:50 oranından sulandırılmış olan kan serum örnekleri kontroller ile birlikte 100 µl konuldu. Bir saat 37°C'de inkubasyonda tutulan ve 4 kez yıkanan pleytlere konjugat (HRPO ile işaretlenmiş anti-tür konjugat) konuldu, aynı şartlarda yapılan inkubasyon ve yıkamanın ardından substrat ilave edildi. Yaklaşık 10 dak. sonra reaksiyon stop solüsyon ile durduruldu. Test spektrofotometrik olarak 450 nm filtre adsorbansları okunmak suretiyle değerlendirildi. Kalitatif ölçüm yapılan testte elde edilen örnek OD değerleri, kontroller kullanılarak prosedürde bildirilen şekilde (≥ 2.5 xnegatif kontrol OD) hesaplandı.

BULGULAR

ELISA tekniği ile kontrol edilen toplam 94 kan serum örneğinin 44'ünün Canine Parainfluenza tip 5 için spesifik antikor taşıdığı tespit edildi. En düşük pozitiflik oranı %33.3 ile 3 numaralı barınakta saptandı. Barınak 2 ve 1'de sırasıyla %38.4 ve %47 oranları belirlendi. Dört numaralı barınakta, test edilen 30 köpeğin 19'unun pozitif olduğu ve bu çalışmadaki en yüksek pozitiflik oranının %63.3 ile bu barınakta olduğu belirlendi.

Tablo 1. Örneklenen barınaklara göre CPIV5 enfeksiyonunun seropozitiflik oranları

Table 1. The seropositivity proportions for CPIV5 infection in sampled kennels

Barınak No	Örnek Sayısı	CPIV5 Ab (+)	CPIV5 (%)
1	17	8	47
2	26	10	38.4
3	21	7	33.3
4	30	19	63.3
Toplam	94	44	46.8

TARTIŞMA ve SONUÇ

Canine Parainfluenzavirus enfeksiyonu köpeklerin oldukça bulaşıcı, üst solunum sistemi ve trakeobronşit semptomları ile seyreden tüm dünyada görülen akut bir hastalıktır. Deneysel çalışmalarda enfeksiyonun tek başına orta şiddette veya subklinik seyrettiği gösterilmiş olmasına rağmen, sahada sıklıkla diğer viral ve bakteriyel etkenlerle birlikte görülmektedir^{17,23,24}.

Bu çalışmada, saf ırk Kangal Köpeği yetiştiren Ankara ili ve çevresinde bulunan 4 farklı çiftlikten 94 yetişkin köpekten kan örnekleri alındı. Serum örnekleri indirekt ELISA ile kontrol edildi ve test sonucuna göre 94 köpeğin 44'ünde Canine Parainfluenzavirus tip 5 için seropozitiflik saptandı ve örneklenen tüm çiftliklerde %33.3 (7/21) ile %63.3 (19/30) arasında değişen oranlarda pozitiflik belirlendi.

Kangal köpekleri özelliklerinin son derece karakteristik olması nedeniyle bir ırk olarak tanımlanmış olup çoban köpeği olarak son derece nitelikli hayvanlardır. Irk saflığının korunması amacıyla gerek kamuya bağlı ve gerekse özel çiftliklerde pedigrili üretimleri yapılmaktadır. Özellikle damızlık anaçların uzun süre kullanılması söz konusu olduğu için klinik olarak sağlıklı olmaları ve latent enfeksiyonları taşımamaları son derece önemlidir. Canin Parainfluenzavirus enfeksiyonuna tüm köpek ırklarının duyarlı oldukları kabul edilmektedir. Belli tür/türlerin daha az veya daha fazla duyarlı olduğu bildirilmemiştir.

Bu çalışmada kullanılan Kangalların yaşları 1 ile 8 arasında değişmektedir. Yaş gruplarına göre enfeksiyon oranları incelendiğinde, önemli bir farklılık olmadığı görüldüğü için yaş gruplarına göre veri dağılımı gösterilmemiştir. Yaşa göre farklılığın görülmemesinin muhtemel sebebi enfeksiyonun morbiditesinin yüksekliğidir. Bulaşmanın aerosol yol yanında kontamine materyaller ve insan faktörü ile olabilmesi nedeniyle, insidens özellikle barınak ortamlarında bireysel yetiştiricilikten çok daha yüksektir²³.

CPIV bir çok türde enfeksiyon oluşturabilmesine karşın sadece köpeklerde "kennel cough" olarak tanımlanan klinik tabloya neden olur^{9,25}. Kennel cough veya köpek öksürüğü, Canine Infectious Tracheobronchitis (ITB) veya Canine Infectious Respiratory Disease (CIRD) olarak tanımlanır. Etiyolojisinde Canine Distemper Virus (CDV), Canine Herpesvirus tip 1 (CHV1), Canine Parainfluenzavirus (CPIV), Canine Respiratory Coronavirus (CRCoV) ve Canine Adenovirus tip 2 (CAV2) gibi viral, *Bordetella bronchiseptica* gibi bakteriyel ve *Mycoplasma cynos* gibi mikoplazmal ajanlar bulunur. Bu etkenler ayrı ayrı veya miks olarak bulunabilirler.

Erles ve ark.²³ bir köpek barınağında yaklaşık 2

yıl süren bir araştırmalarında, CDV, CAV ve CPIV için düzenli aşılama yapılmasına rağmen solunum sistemi bozukluklarının yaygın olduğunu belirlemişler, yaptıkları laboratuvar kontrollerinde hayvanlarda CPIV, CHV ve CCoV varlığını tespit etmişlerdir. Enfeksiyonu ilk olarak CPI ve CCoV virusların başlattığını, daha sonra *Bordetella bronchiseptica*, streptokok ve CHV enfeksiyonlarının geliştiğini bildirmişlerdir.

Damian ve ark.²⁴ akut veya subakut pnömoni geçiren 35 köpekte yaptıkları postmortem incelemede CDV, CAV ve CPIV için sırasıyla %77, %57 ve %51 oranlarında pozitiflik tespit etmişlerdir. En sık miks enfeksiyonun CDV ile CPIV olduğunu belirlemişler (%14) ve 10 vakada ise (%29) çalışılan 3 virüsü de belirlemişlerdir.

Evermann ve arkadaşları²⁶ inkoordinasyon ve posterior paresis semptomları gösteren bir köpeğin serebrospinal sıvısından CPIV izole etmişlerdir. CPIV ile doğal enfekte köpeklerde koklama duyuşu kaybı saptayan Myers ve ark.²⁷ klinik evrenin bitmesinin ardından hayvanların normale döndüklerini belirlediklerini bildirmişlerdir.

Canine Parainfluenza virus için bu güne kadar çok az serolojik araştırma yapılmıştır. Japonya'da yapılan bir çalışmada¹ 89 köpeğin 9'unda (%10) antikör tespit edilmiş, Brezilya'da Hartmann ve ark.²⁸ %51.4 seroprevalans belirlemişlerdir.

Sahada enfeksiyonun kontrolünde aşılama yaygın olarak kullanıldığı için serolojik taramalar çoğunlukla doğal enfeksiyon oranlarını göstermeyecektir. Bu çalışmada CPIV5 için daha önce hiç aşı uygulanmamış köpekler kullanıldığı için, elde edilen verilerin doğal enfeksiyon ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Belirlenen %46.8'lik ortalama değeri enfeksiyonun yaygın olduğunu göstermektedir. Çalışmanın yürütüldüğü çiftliklerde bakım besleme şartlarının çok iyi olması ve diğer bir çok önemli viral enfeksiyonlar için rutin aşılamaların uygulanması, CPIV enfeksiyonunun klinik olarak problem yaratmasını büyük ölçüde engellemektedir. Barınak kayıtlarında bazı hayvanlarda prognozu iyi olan solunum sistemi enfeksiyonu bildirilmiş ancak etiyojisi konusunda kesin bilgi bulunmadığından bu konuda değerlendirme yapılmamıştır. Ancak yine de çiftlik ve barınak ortamlarında insidensin daha yüksek olabileceği unutulmamalıdır.

Enfeksiyon ile ilgili Türkiye'de herhangi bir bildirim bulunmadığından, elde edilen oranları karşılaştırmak mümkün olmamıştır. Evlerde beslenenler ile sokak köpeklerinde yapılacak araştırmalar, virusun sirkülasyon oranı konusunda daha geniş bilgi edinilmesini sağlayacaktır. Sonuç olarak bu araştırma ile CPIV5 enfeksiyonunun Türkiye'deki varlığı ve oranı ile ilgili ilk veriler ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

1. **Ajiki M, Takamura K, Hiramatsu K, Nakai M, Sasaki N, Konishi S:** Isolation and characterisation of parainfluenza 5 virus from a dog. *Jpn J Vet Sci*, 44 (4): 607-618, 1982.
2. **Randall RE, Young DF, Goswami KK, Russell WC:** Isolation and characterisation of monoclonal antibodies to simian virus 5 and their use in revealing antigenic differences between human, canine and simian isolates. *J Gen Virol*, 68, 2769-2780, 1987.
3. **Meng Q, Qiao J, Guo X:** Cloning and sequence analysis of fusion protein gene of canine parainfluenza virus wildtype strain. **In**, Gene bank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 2003.
4. **Lamb RA, Kolakofsky D:** Paramyxoviridae: The viruses and their replication. **In**, Knipe DM, Howley PM (Ed): *Fields Virology*, 4th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 1305-1340, 2001.
5. **Hull RN, Minner JR, Smith JW:** New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells: 1. Origin and properties of cytopathic agents SV1, SV2, SV4, SV5, SV6, SV11, SV12 and SV15. *Am J Hygn*, 63, 204-215, 1956.
6. **Atoynatan T, Hsiung GD:** Epidemiologic studies of latent virus infections in captive monkeys and boboons: II. Serologic evidence of myxovirus infections with special reference to SV5. *Am J Epidem*, 89, 472-479, 1969.
7. **Tribe GW:** An investigation of the incidence, epidemiology and control of Simian Virus 5. *Br J Exp Pathol*, 47, 472-479, 1966.
8. **Appel M, Percy DH:** SV5-like parainfluenza virus in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 156, 1778-1781, 1970.
9. **Cornwell HIC, McCandlish IAP, Thompson H, Laird HM, Wright NG:** Isolation of parainfluenza virus SV5 from dogs with respiratory disease. *Vet Rec*, 98, 301-303, 1976.
10. **Crandell RA, Brumlow WB, Davison VE:** Isolation of parainfluenza virus from sentry dogs with upper respiratory disease. *Am J Vet Res*, 29, 2141-2147, 1968.
11. **Saona-Black L, Lee KM:** Infection of dogs and cats with canine parainfluenza virus and the application of a conglutinating-complement-absorption test on cat serum. *Cornell Vet*, 60, 120-134, 1970.
12. **Hsiung GD:** Parainfluenza-5 virus. Infection of man and animal. *Prog Med Virol*, 14, 241-274, 1972.
13. **Philippa JDW, Leighton PJ, Nielsen O, Pagliarulo M, Schwantje H, Shury T, Van Herwijnen R, Martina B, Kuiken T, Van de Bildt MWG, Osterhaus ADME:** Antibodies to selected pathogens in free-ranging terrestrial carnivores and marine mammals in Canada. *Vet Rec*, 155, 135-140, 2004.

14. **Goswami KKA, Lange LS, Mitchell DN, Cameron KR, Russell WC:** Does simian virus 5 infect humans? *J Gen Virol*, 65, 1295-1303, 1984.
15. **Randall RE, Young DF:** Comparison between parainfluenzavirus type 2 and simian virus 5: Monoclonal antibodies reveal major antigenic differences. *J Gen Virol*, 69, 2051-2060, 1988.
16. **Binn LN, Alford JP, Marchwicki RH, Keefe TJ, Beattie RJ, Wall HG:** Studies of respiratory disease in random-source laboratory dogs: Viral infections in unconditioned dogs. *Lab Anim Sci*, 29, 48-52, 1979.
17. **Apel M, Binn LN:** Canine Infectious tracheobronchitis. Short Review: Kennel cough. In, **Apel MJ** (Ed): Virus infections of Carnivores. Elsevier Science Publisher, Amsterdam, 201-211, 1987.
18. **Baumgartner WK, Metzler AE, Krakowka S, Koestner A:** In vitro identification and characterisation of a virus isolated from a dog with neurological dysfunction. *Infect Immun*, 31, 1177-1183, 1981.
19. **Rosenberg FJ, Lief FS, Todd JD, Reif JS:** Studies of canine respiratory viruses. I. Experimental infection of dogs with an SV5-like canine parainfluenza agent. *Am J Epidem*, 94, 147-165, 1971.
20. **Arimilli S, Alexander-Miller MA, Parks GD:** A simian virus 5 (SV5) P/V mutant is less cytopathic than wild-type SV5 in human dendritic cells and is more effective activator of dendritic cell maturation and function. *J Virol*, 80, 3416-3427, 2006.
21. **Chopin PW:** Multiplication of a myxovirus (SV5) with minimal cytopathic effects and without interference. *Virology*, 23, 224-233, 1964.
22. **Zakstelskaya LY, Zhdanov VM, Yakhno MA, Gushchin BV, Klimenko SM, Demidova SA, Konovalova NG, Gushchina EA:** Persistent SV5 virus infection in continuous cell cultures. *Acta Virol*, 20, 506-511, 1976.
23. **Erles K, Dubovi EJ, Brooks HW, Brownlie J:** Longitudinal study of viruses with canine infectious respiratory disease. *J Clin Microbiol*, 42, 4524-4529, 2004.
24. **Damian M, Morales E, Salas G, Trigo FJ:** Immunohistochemical detection of antigens of Distemper, Adenovirus and Parainfluenza Viruses in domestic dogs with pneumonia. *J Comp Path*, 133, 289-293, 2005.
25. **McCandlish IA, Thompson H, Cornwell HJ, Wright NG:** A study of dogs with kennel cough. *Vet Rec*, 102, 293-301, 1978.
26. **Evermann JF, Lincoln JD, McKiernan AJ:** Isolation of a paramyxovirus from the cerebrospinal fluid of a dog with posterior paresis. *J Am Vet Med Assoc*, 177 (11):1132-1134, 1980.
27. **Myers LJ, Nusbaum KE, Swango LJ, Hanrahan LN, Sartin E:** Dysfunction of sense of smell caused by canine parainfluenza virus infection in dogs. *Am J Vet Res*, 49, 188-190, 1988.
28. **Hartmann TLS, Batista HBCR, Dezen D, Spilki FR, Franco AC, Roehle PM:** Anticorpos neutralizantes contra os virus da cinomose e da parainfluenza em caes de canis dos municipios de Novo Hamburgo e Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciencia Rural*, 37, 1178-1181, 2007.