



Hamit YILDIZ^{1, a}
Tarık ŞAFKAK^{2, b}
Necati TİMURKAAN^{3, c}
Hasan ABAYLI^{4, d}
Ayдын ÇEVİK^{3, e}

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Kastamonu Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji
Anabilim Dalı,
Kastamonu, TÜRKİYE

³ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

⁴ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Viroloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0003-3655-0197

^b ORCID: 0000-0002-6178-4641

^c ORCID: 0000-0001-5567-991X

^d ORCID: 0000-0003-2116-105X

^e ORCID: 0000-0001-6576-2151

Geliş Tarihi : 18.04.2022

Kabul Tarihi : 28.04.2022

Yazışma Adresi Correspondence

Hamit YILDIZ
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

hamityildiz@firat.edu.tr

Border Disease Virusu ile Enfekte Bir Kuzuda Monosefaliyen Sefalotorakopagus Olgusu

Bu olgu sunumu, küçük ruminant sürülerinde kongenital anomalili yavruların doğumuna sebep olan Border Disease virusu taşıyan bir kuzuda Monosefaliyen Sefalotorakopagus olgusuna yönelik bulguları içermektedir. Sezaryen operasyonu yapılarak alınan yavrunun ölü, bir kafatası 8 bacağı, göğüs bölgesinden yapışık, her ikisi de dişi olan ikiz kuzu olduğu tespit edildi. Yapılan nekropsi muayenesinde; çift olarak şekillenen larinks kör olarak sonlanmış, trakea ve özefagusun şekillenmediği, üst damak yarığının olduğu her bir dişinin bir kornu uterusinin olmadığı görüldü. Koyunlarda anomalili yavru doğumlarına sebep olan Border Disease virusuna karşı koruyucu önlem olarak persiste hayvanların sürüden çıkarılması gerekir. Koyunlarda nadiren görülmesi sebebiyle yayınlanmasının faydalı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Border hastalığı, kuzu, monosefaliyen sefalotorakopagus

A Case of Monocephalien Cephalothoracopagus in a Lamb Infected with Border Disease Virus

This case report includes the findings of a Monocephalien Cephalothoracopagus case in a lamb carrying Border Disease (BD) virus, which causes offspring with congenital anomalies in small ruminant herds. The fetus, which was taken by caesarean section, was found to be dead, a skull with 8 legs, conjoined from the chest area, both female. In the necropsy examination, it was observed that the larynx, which was formed in pairs, ended bluntly, the trachea and esophagus were not formed, and each tooth with a cleft of the upper palate did not have a cornu uterus. Persistent animals need to be removed from the herd as a preventive measure against border disease virus, which causes anomaly lamb births in sheep. Since it is a rare phenomenon, in sheep it was concluded that it would be useful to publish it.

Key Words: Border Disease, lamb, monocephalien cephalothoracopagus

Giriş

Flaviviridae ailesinin Pestivirus genusuna ait Border Disease (Sınır Hastalığı) virusu ilk olarak 1959 yılında Hughes ve ark. (1) tarafından İngiltere ve Galler arasındaki sınırda küçük ruminantlarda tespit edilmiştir. Hastalık, Hairy Shaker Disease veya Fuzzy Lambs Syndrome gibi isimlerle de anılan hastalık, koyun ve keçi sürülerinde kongenital anomalili bulunan yavruların doğmasına sebep olmaktadır (2-4). Hastalığın epidemiyolojisinde vertikal ve horizontal nakil oldukça önemli bir rol oynar. Persiste enfekte hayvanların sekret ve ekskretleri ile etken nakledilir. Gebe hayvanlarda plasenta bariyerini aşan etken fetal enfeksiyona neden olur ve gebeliğin dönemine göre fetusta farklı sonuçlara yol açar. Ülkemizde Pestivirusların neden olduğu ekonomik kayıpları ortaya çıkarmak amacıyla örneklenen küçük ruminantlar sürülerde %0.06-3 arasında değişen oranlarda etken varlığı tespit edilmiştir (3, 5).

Sınır hastalığında küçük ruminantlarda, döl tutmama veya erken embriyonik ölümler, rezorbsiyon, abortlar büyüme ve gelişmede gerileme, yapağı kalitesinde bozukluk gösteren (köpek kılı görünümlü) yavru doğumları görülmektedir (2). Enfekte yavrularda ataksi, inkoordinasyon (sallantılı yürüyüş), körlük, arthrogriposis, sırt kambur görünüşlü (skoliyozis), hidranensefali, serabeller hipoplazisi, porenselali, beyinde beyaz bölgede perivasküler hücre infiltrasyonu, kafası dar, alın geniş, vertebral deformasyonlar olduğu gözlemlenmektedir (3,4).

Evcil hayvanlarda yapışık ikiz anomaliler en çok inek (6) ve koyunlarda (7-9), daha az sıklıkta keçi (10) köpek (11), kedi (12) ve domuzlarda (13), nadiren deve kuşu (14), ve bufalolarda (15) meydana geldiği bildirilmektedir.

Yapışık ikizler yapışmanın meydana geldiği bölgeye göre sınıflandırılır. Bunlar, kafatası (craniofagus), yüz (cephalofagus), göğüs (thoracopagus), karın (omphalopagus), sakrum (pyopagus), pelvis (ischiopagus) ve bacaklardan (rachipagus) yapışmalar şeklinde sıralanır. Koyunlarda kraniofasial anomaliler diğer hayvanlara göre görülme oranı daha fazladır (16). Hayvanlarda kongenital anomalilere fiziksel sebepler, genetik, hormonal ve çevresel faktörlere (enfeksiyöz viral hastalıklar, ilaçlar, zehirler, bitkiler, mineral tuzları, A, D ve E vitamin yetersizlikleri) bağlı olarak gelişmektedir (17).

Bu vaka sunumunda, beyin ve karaciğerde Border Disease virüsü tespit edilen bir kuzuda meydana gelen Monosefaliyen Sefalotorakopagus bulgularının sunulması amaçlandı.

Olgu Sunumu

Vakayı 4 yaşında daha önce 3 doğum yapmış, her doğumda tek yavru doğuran ve daha önceki yavrularında herhangi bir anomali tespit edilmeyen Akkaraman ırkı bir koyun ve doğan anomali yavrusu oluşturdu. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Kliniği'ne güç doğum şikayeti ile getirilen ve yapılan muayenede serviks uterusun açık olduğu, yavrunun enine kanala girdiği tespit edildi (Protokol No: 3707). Yavru kanaldan alınamadığı için sezaryen operasyonu yapıldı. Yavru ölü, bir kafalı 8 bacaklı göğüs bölgesinden yapışık, her ikisi de dişi olan yapışık ikiz kuzu (Monosefaliyen Sefalotorakopagus) olduğu belirlendi (Şekil 1, 2).

Göğüs bölgesinden yapışık olan ikiz kuzularda Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi patoloji anabilim dalında yapılan nekropsi muayenesinde; tek göbek kordonuna sahip olan yapışık ikizlerin her birinde çift meme başı, çift kulak kanalı ve 4 kulak kepeğine sahip olduğu görüldü. Her bir yavrunun ön ve arka ekstremiteleri tam olarak oluştuğu tespit edildi (Şekil 1 ve 2). Her iki yavru göğüs kafesi bölgesinde yapışık olup, çift sternum ve çift diyaframa sahip olduğu görüldü. Kalp ve akciğerler çift olarak şekillenmiş, perikardiyumlar çift ve doku bütünlüğünün korunduğu, çift olarak şekillenen larinks kör olarak sonlanmış, trakea ve özefagusun şekillenmediği görüldü.

Rumen, retikulum, omazum ve abomazumlar çift şekillenmiş ve retikulumların birbirine açıldığı ve her iki retikulum arasında bağlantı bulunduğu tespit edildi. Duodenum tek olarak bir abomazumdan çıkmış ve ileuma yakın bölgede, jejunum ikiye ayrılarak bir parçası diğer yavrunun jejunumu, ileumu, sekumu ve rektumunu oluşturduğu tespit edildi (Şekil 3). Her iki yavrunun anüsünün olduğu ve üriner sistemlerinin tam olarak şekillendiği görüldü. Her bir olgunun bir kornu uterusinin olmadığı (uterus unikornis) görüldü.

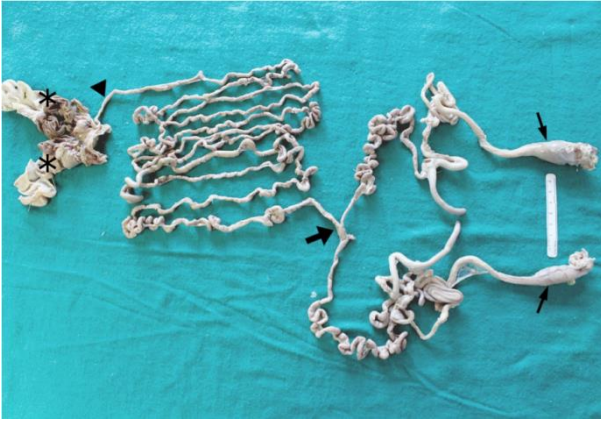
Yapışık ikiz olan kuzularda başın tek olarak şekillendiği, üst damak yarığının (palatoşizis) bulunduğu görüldü. Serebrum tek, ancak serebellum, medulla oblongata ve medulla spinalis çift olarak şekillenmiştir. Serebrum ile serebellumların dorsal bölgesinde içi sıvı dolu kist nedeniyle birbirlerinden uzaklaştığı görüldü (Şekil 4, 5 ve 6). Hemisferler birbirlerinden uzaklaşmış ve lateral ventriküllerde genişleme (hidrosefalus eksternus) olduğu görüldü.



Şekil 1. Sefalotorakopagus, kuzu. Tek başlı olan iki yavru göğüs kafesi bölgesinde birbirine yapışık, ön ve arka ekstremiteleri tam olarak şekillenmiş



Şekil 2. Sefalotorakopagus, kuzu. Anomalili kuzunun radyografik görünümü. Tek baş, iki yavru göğüs kafesi bölgesinde birbirine yapışık, ön ve arka ekstremiteleri tam olarak şekillenmiş



Şekil 3. Sefalotorakopagus, Kuzu. Ön mideler (yıldızlar) ve abomazumlar çift şekillenmiş ve retikulumlar birbirine açılıyordu. Duodenum (ok başı) tek olarak bir abomazumdan çıkmış ve ileuma yakın bölgede, jejunum ikiye ayrılarak (Kalin ok) bir parçası diğer yavrunun jejunum, ileum, sekum, kolon ve rektumunu (İnce oklar) oluşturmuştu

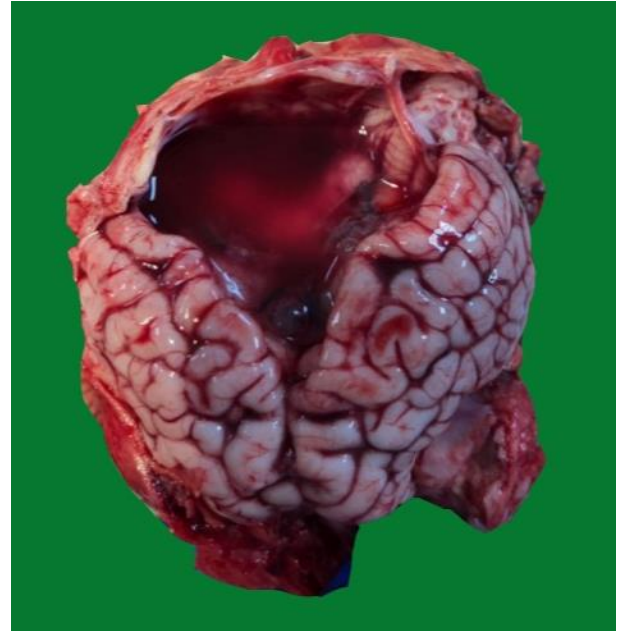
Klinik örneklerden Pestivirus teşhisine yönelik RT-PCR'da tercih edilen primerler Tablo 1'de verildi. Klinik örneklerden RNA izolasyonu GENEzol™ (Geneaid Biotech., Tayvan) ticari ürünü kullanım talimatına birebir uyularak gerçekleştirildi. Ekstraksiyon sonunda elde edilen RNA'lara ilave olarak, pozitif kontrol (BVDV NADL suş) ve negatif kontrol RNA'sı RT-PCR adımında templat olarak kullanıldı. RT-PCR adımı, One-step RT-PCR kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak tek adımda gerçekleştirildi (18). Amplifikasyon koşulları; 50°C'de 30 dk ile cDNA sentezi, 94°C'de 15 dk ön ısıtma ve 35 siklus gerçekleşen 94°C'de 30 sn denatürasyon, 56°C'de 1 dk bağlanma, 72°C'de 1 dk uzama adımından oluşmaktadır. Son olarak, ampliconların %1.5 agaroz jelde elektroforezi gerçekleştirilerek görüntüldü. Pestivirusa ait yaklaşık 290 bp uzunluğunda gen bölgesi RT-PCR ile başarılı bir şekilde çoğaltılarak yavruya ait beyin ve karaciğer doku örneklerde Pestivirus varlığı tespit edildi (Şekil 7). RT-PCR ampliconun sekanslanması işlemi ilgili pestivirus ajanının Border disease virus olduğunu yüksek genetik yakınlık ile (>%99) kesin biçimde ortaya koydu.

Tablo 1. RT-PCR adımında kullanılan primerler, dizilimleri ve ürün büyüklükleri

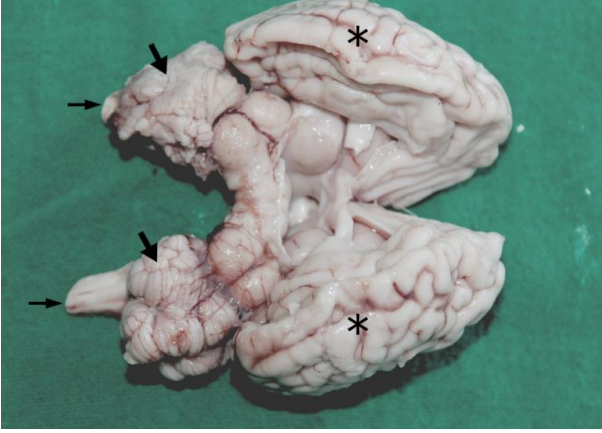
Virus	Primer adı	Nükleotit Dizisi (5'→3')	RT-PCR ürünü (Bp)	Kaynak
Pan-Pestivirus	P324	ATGCCWTAGTAGGACTAGCA	290	23
	P326	TCAACTCCATGTGCCATGTAC		



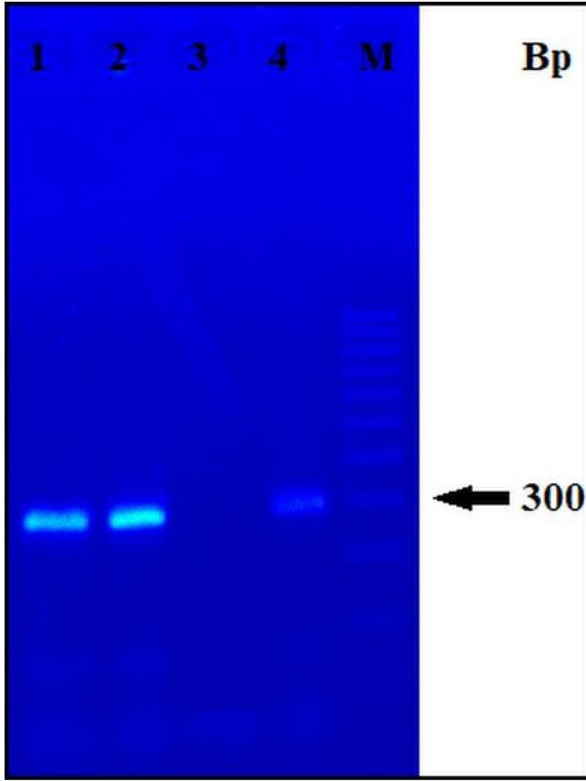
Şekil 4. Sefalotorakopagus, kuzu. Palatoşizis. Baş tek olarak şekillenmiş, üst damak yarık (Yıldız)



Şekil 5. Sefalotorakopagus, kuzu. Hidrosefalus eksternus nedeniyle serebrum ile serebellum birbirlerinden ayrılmış görünümde



Şekil 6. Sefalotorakopagus, Kuzu. Serebrum (Yıldızlar) tek, ancak serebellum (Kalın oklar), pons, medulla oblongata ve medulla spinalis (İnce oklar) çift olarak şekillenmiş



Şekil 7. Klinik örneklerden Pestivirus geni belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen RT-PCR adımı, %1.5 agaroz jel elektroforez incelemesi. Beyin (Hat 1) ve karaciğer (Hat 2) klinik örnekleri, negatif kontrol (Hat 3), pozitif kontrol (Hat 4) ve 100 bp DNA merdiveni (M) (Sigma Aldrich, Almanya)

Tartışma

Hayvanlardaki konjenital anormalliklerin genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklandığı bilinmektedir (17). İkili acaibatlar iki yavrunun farklı noktalarda birbirine yapışık olarak bulunduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır. Küçük ruminant fetüslerinde sefalofagus ve Sefalotorakopagus veya organların ortak kullanıldığı olgulara pestivirusların da neden olduğu, kanaldan alınan iki kuzuda beyin, karaciğer, akciğer ve

böbreklerde alınan dokularda Border hastalığı'na sebep olan Pestivirus antijenlerini belirlediklerini ve yavrularda makroskopik olarak skoliosiz, arthrogriposiz, hidranensefali, serebellar hipopazi tespit ettiklerini bildirmektedirler (4, 19). Sunulan olguda karaciğer ve beyin dokusunda pestivirus antijenlerinin bulunduğu tespit edildi. Bir baş ve iki gövdeden oluşan yavruda palatoşizis, serebrum tek, serebellum, medulla oblongata ve medulla spinalis çift olarak, hidrosefalus, çift olarak şekillenen larinks kör olarak sonlandığı, trakea ve özefagusun şekillenmediği tespit edildi. Ayrıca, dışı olan her bir yavruda uterus unicornisin şekillendiği belirlendi. Bildirilen vakada makroskopik olarak tespit edilen bazı bulguların Kul ve ark. (4) tespit ettiği bulgularla aynı olmamasına rağmen, anomali yavruların beyin ve karaciğer dokusunda pestivirus antijenlerinin tespit edilmesinden dolayı benzer olduğunu söylebiliriz.

Sefalotorakopagus tespit edilen bir kuzuda ise, akciğer ve trakea tek olmasına rağmen iki adet abdominal kavite tam anlamıyla şekillendiği, fakat testis dokuları atrofik ve dejeneratif olmakla birlikte, karaciğer dokusunda hiperemik, nekrosiz ve dejeneratif odakların bulunduğu bildirilmiştir (9). Sunulan başka bir vakada da tek bir kafaya sahip torakopagus anomali teşhisi yapıldığı, normal kulakların dışında os frontale ve os perietale arasında üçüncü bir kulak olduğu, ancak bu kulağın işitme yoluna sahip olmadığı belirtilmektedir (20). Baş boyun kısmı ayrı olan torako-omfalopagus tribrachius tetrapus anomalisine ait vakalarda ise, unicornis, tek idrar kesesi ve umbilikal ven bulunurken, umbilikal arter çift olarak tespit edilmiştir. Dahası, iki adet özefagal hiatus ve caval foramina bulunurken, tek bir aortic hiatus tespit edilmiştir (21). Sunulan vakada yavruların her ikisinin dışı olduğunun aksine, İşler ve ark. (22) ise, tespit ettikleri Sefalotorakopagus olgusunda iki yavrunun da erkek olduğunu bildirmektedirler.

Monosefaliyen torakopagus olgusunun rapor edildiği bir olguda (8); sekiz bacaklı, iki sternumu ve tek kalbi bulunan, ayrıca abdomende tek bir mide bulunurken, dalak, kolon, böbrek ve testisin çift olduğu nekropsisi sonucu ile ortaya konmuştur. Monosefalus omfalopagus bulunan başka bir vakada (23) ise karın boşluğunda, böbreklerin kaudalinde dört testis gözlemlendiği, her kuzu için ureterler, idrar kesesi, epididimis ve vasa deferensin normal olarak şekillendiği bildirilmektedir.

Sonuç olarak fetal anomali yavrular ya doğmadan önce ya da doğumdan sonraki kısa süre içinde ölürlür. Bu tür anomali yavru doğuran koyunlarda güç doğum görülme oranları oldukça yüksektir. Dolayısıyla annenin de hayatı risk altındadır. Koyun işletmeleri için sürünün devamlılığı ve karlılığı önem arz etmektedir. Bu sebeplerdir ki; doğacak yavruların sağlıklı olması istenir. Bu olgu sunumunda belirtildiği gibi anomali yavru doğumlarının neden olan Border Disease virusuna karşı koruyucu önlemler arasında yer alan persiste hayvanları sürüden çıkarılması gerekir. Border Disease'a karşı geliştirilmiş bir aşı henüz bulunmamaktadır. Ancak, ineklerde kullanılan Bovine Viral Diarrhea virus aşısı koyunlarda da tam koruma sağlamasa da uygulanmaktadır. Bu tür tedbirlerin alınması sürü sağlığı

için faydalı olabileceği kanaatine varıldı. Ayrıca, Monosefaliyen Sefalotorakopagus olgusuna Border Disease virusunun neden olduğu, yazarların bilgisine

göre nadir görülen bir olgu olma özelliği bakımından da bu olgunun önemini artırdığı kanaatine varıldı.

Kaynaklar

- Hughes LE, Kershaw GF, Shaw IG. Border disease. An undescribed disease of sheep. *Vet Rec* 1959; 71: 313-317.
- Monies RJ, Paton DJ, Vilcek S. Mucosal disease-like lesions in sheep infected with Border disease virus. *Vet Rec* 2004; 155: 765-769.
- Oğuzoğlu TÇ. Sınır hastalığı (Border Disease). *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2008; 55: 69-74.
- Kul O, Kabakçı N, Ozkul A, Kalender H, Atmaca HT. Concurrent peste des petits ruminants virus and pestivirus infection in stillborn twin lambs. *Vet Pathol* 2008; 45: 191-196.
- Burgu I, Oztürk F, Akca Y, et al. Investigations on the occurrence and impact of bovine viral diarrhoea (BVD) virus infections in sheep in Turkey. *Dtsch Tierärztl Wschr* 1987; 94: 292-294.
- Shojaei B, Kheirandish R, Hasanzade M. Monocephalus tetrapus dibrachius in a calf. *Comp Clin Pathol* 2010; 19: 511-513.
- Cazabon EPI, Adogwa AO. A case of cephalothoracopagus in sheep in trinidad and tobago. *Can Vet J* 2003; 44: 56-58.
- Spiers ZB, Biddle AJ, Gabor MJ, Lee E, Gabor LJ. Monocephalic thoracopagus tetrabrachius in twin lambs. *Can Vet J* 2010; 51: 1037-1039.
- Monfared AL. Deradelphous cephalothoracopagus in lambs. *Global Veterinaria* 2013; 10: 250-252.
- Shojaei B, Nadimi N, Esmaeilzade S. Monocephalus thoracopagus conjoined twins in a goat. *IVJST* 2015; 7: 56-62.
- Pino A, Pérez A, Seavers A, Herno G. A case of monocephalus rachipagus tribrachius tetrapus in a puppy. *Vet Res Forum* 2016; 7: 267-270.
- Seavers AM. Monocephalus dipygus parapagus: A suspected case of complete caudal duplication in a British Blue kitten. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 330-331.
- Kulawik M, Pluta K, Wojnowska M, et al. Cephalothoracopagus (monocephalic dithoracic) conjoined twins in a pig (*Sus scrofa f. domestica*): A case report. *Veterinari Medicina* 2017; 62: 470-477.
- Mazzullo G, Montalbano G, Augello A, Germana A, Macri B. A case of conjoined cephalopagus twinning in an ostrich (*Struthio camelus*). *Anat Histol Embryol* 2007; 36: 263-265.
- Dholpuria S, Saraswat CS, Thanvi P, Sharma S. Per-vaginal successful management of a rare case of dystocia in murrah buffalo due to dicephalus thoracopagus tetrabrachius tetrapus and dicaudatus monster: A case report. *Theriogenology Insight* 2016; 6: 35-40.
- Kingston CA, McHugh K, Jeevan Kumaradevan J, Kiely EM, Spitz L. Imaging in the preoperative assessment of conjoined twins. *Radio Graphics* 2001; 21: 1187-1208.
- Leipold HW, Dennis SM. Congenital defects of cattle and sheep. In: Morrow DA. (Editor). *Current Veterinary Therapy*. Philadelphia: WB Saunders, 1993: 89-97.
- Vilcek S, Herring AJ, Herring JA, et al. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch Virol* 1994; 136: 309-323.
- Kalender H, Erdoğan G. Gebelik Patolojisi. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A. (Editörler). *Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji*. Malatya Medipress 2016; 585-614.
- Aydın M, Özdemir D. Kuzuda rastlanan monocephalien olgusu. *FÜ Sağlık Bil Dergisi* 2004; 18: 123-126.
- Mazaheri Y, Nourinezhad J, Ranjbar R, et al. A case of conjoined twins (thoraco-omphalopygopagus tribrachius tetrapus) in lamb. *Vet Res Forum* 2014; 5: 73-76.
- İşler CT, Altuğ ME, Gönenci R, Aytekin İ. Bir koyun işletmesinde görülen anomali vakalarının değerlendirilmesi. *Harran Üni Vet Fak Derg* 2016; 5: 74-76.
- Shojaei B, Nazem MN, Sajjadian SM, Hasanzadeh M, Jafari H. Monocephalus omphalopagus (tetrabrachius tetrapus) in a lamb. *Iran J Vet Med* 2016; 10: 151-156.