



Afyon İli Sokak Köpeklerinde Canine Herpesvirus-1 (CHV-1) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması

Sibel GÜR¹
Abuzer ACAR²

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Viroloji Anabilim Dalı
Afyon -TÜRKİYE

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Afyon -TÜRKİYE

Canine herpesvirus-1 (CHV-1) tüm dünyada köpek populasyonlarında görülen alfa herpesviral bir enfeksiyondür. Bu çalışmada Afyon ilinde sokak köpeklerinde CHV-1 enfeksiyonunun varlığı ve oranı serolojik olarak araştırıldı.

Kan serum örnekleri sokak köpeklerinin son üç ay içerisinde toplandığı bir barınakta bulunan 94 (41 erkek/ 53 dişi) sağlıklı görünümlü yetişkinden (1-8 yaş) elde edildi.

İndirekt ELISA testi sonuçlarına göre, 94 hayvanın 46'sının (%48.8) CHV-1 spesifik antikor varlığı açısından pozitif olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, CHV-1 enfeksiyonunun latent yapısı nedeniyle, çalışmada test edilen köpeklerin yaklaşık yarısının enfekte olduğu belirlendi. Dişi (%47.2) ve erkek (%51.2) köpekler arasındaki enfeksiyon oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldı ve benzer bulundu, ek olarak bu çalışmada CHV-1 ile mücadele stratejisi önerildi.

Anahtar Kelimeler: Herpesvirus, antikor, köpek.

A serologic investigation of Canine Herpesvirus-1 (CHV-1) infection in stray dogs in Afyon Province

Canine Herpesvirus-1 (CHV-1) is an alphaherpesviral infection found throughout the world in dog population. In this study, existence and ratio of CHV-1 infection was investigated in dogs as serologically in Afyon province.

Blood serum samples obtained from 94 (41 male/53 female) healthy seemingly adults (1-8 years old) in a dog kennel which animals collected recent three month. As a result of indirect ELISA test, 46 out of 94 animals (%48.8) was detected as positive for CHV-1 specific antibodies.

As a conclusion; due to latent structure of the CHV-1 infection, nearly half of the tested dogs was founded as infected. The infection rates was compared in male (51.2%) and female (47.1%) dogs as statistically and was founded similar, in addition struggle strategy for CHV-1 was recommended.

Key Words: Herpesvirus, Antibody, Dog.

Giriş

Canine herpesvirus-1 (CHV-1), ilk kez Carmichael ve ark. (1) tarafından yenidoğmuş köpeklerin fatal hemorajik hastalığı olarak tanımlanmıştır. Bir alfa herpesvirus olan CHV-1, Feline herpesvirus-1 (FHV-1) ve Phosid herpesvirus-1 (PhHV-1) ile çok yakın, Bovine herpesvirus-1 (BHV-1), Equin herpesvirus (EHV-1) ve Herpes simpleks 1-2 (HSV 1-2) ile yakın antijenik ilişkilidir (2-4). Hastalık birçok ülkede köpek populasyonlarında enzootik olarak seyretmektedir (5-7). Virus tek tiptir, Reubel ve arkadaşları (8) Avustralya, Amerika, Fransa ve Japonya'da elde edilen izolatları kısmi sekans uygulaması yaparak karşılaştırmış, izolatların identik olduklarını ve sekans varyasyonlarının düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Enfeksiyonun ana bulaşma yolu oronasal ve veneral yoldur ancak gebelik döneminde annenin enfeksiyonu söz konusu olduğunda fötuslar da enfekte olur (1, 9, 10). Yenidoğan yavrular ilk birkaç hafta içinde enfekte olurlarsa prognoz elverişsiz olur ve mortalite oranı oldukça yüksek seyreder.

Hastalık erişkin hayvanlarda genellikle subklinik olarak papuloveziküler genital lezyonlar (11, 12), embriyonik rezorbsiyon, abort ve ölü doğum gibi fertilitate bozukluklarına yol açabilmektedir (10, 13, 14). Ayrıca genç ve yetişkin köpeklerde gözde ve solunum sisteminde bozukluklara sebep olur (15-17).

Doğumdan sonraki ilk birkaç hafta içinde yavruların enfekte olmaları durumunda mortalite yüzde yüze yakın seyredebilir. Bunun en önemli nedeni yavruların bağışıklık ve vücut ısı düzenleme sistemlerinin yeterince gelişmemiş olmasıdır.

Geliş Tarihi : 04.12.2006
Kabul Tarihi : 12.02.2007

Yazışma Adresi Correspondence

Sibel GÜR
Afyon Kocatepe
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Viroloji Anabilim Dalı
Afyon -TÜRKİYE

sibelgr@yahoo.com

Viremi döneminde ateşin yükselememesi nedeniyle termolabil olan virusun çoğalması engellenemez ve genel durum hızla kötüleşir Depresyon, kanlı burun akıntısı, isal, solunum güçlüğü, inkoordinasyon, abdominal ağrı gibi semptomlar görülür ve 1-3 gün içinde ölüm şekillenir (13, 15, 16, 18, 19). CHV-1 enfeksiyonu diğer herpesviruslarda olduğu gibi latent karakterlidir ve steroid uygulamasıyla reaktifte edilebilir (20, 21).

Virusun organizmada oluşturduğu antikor yanıt zayıftır ve enfeksiyonun gelişimden birkaç ay sonra nötralizan antikorlar kaybolmaktadır (5). Özellikle doğum sezonunda hormonal faktörler ve doğum travması nedeniyle virus reaktivasyonu her zaman söz konusudur.

Bu araştırmada, Afyon ilinde sokak köpeklerinin son üç ay içerisinde toplandığı bir barınakta tutulan, 1 yaşın üstündeki sağlıklı görünümlü yetişkin sokak köpeklerinde indirekt ELISA test kullanılarak CHV-1 enfeksiyonunun varlığı ve oranını belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Örneklenen hayvanlar: Araştırmada, Afyon ilinde sahipsiz sokak köpeklerinin 1 yıl önce toplanmaya başlandığı ancak büyük çoğunluğunun son 3 ay içerisinde toplandığı, örnekleme sırasında 118 köpeğin bulunduğu bir köpek barınağındaki hayvanlar cinsiyet ayrımı yapılmaksızın (53 dişi+41 erkek) örneklendi. Kuduz dışında hiçbir aşı uygulaması yapılmamış olan köpeklerin tamamı 1 yaşın üstünde ve klinik açıdan normal görünümlü idiler. Vena saphena'dan alınan kanlar 3000rpm'de 10dk santrifüj edildikten sonra serumları stok tüplerine ayrılarak test edilinceye kadar -20°C'de saklandılar.

ELISA test: CHV-1 spesifik antikorların tespiti için EVL firmasının (Hollanda) ürettiği "Canine herpesvirus antikor ELISA" ticari kiti kullanıldı (25). Antijen kaplı pleytler yıkandıktan sonra ELISA buffer ile 1:100 sulandırılan kan serumları ve kontroller kuyucuklara konuldu ve bağlanmanın gerçekleşebilmesi için 37oC'de 1 saat inkubasyona bırakıldı, tutunmayan materyalin uzaklaşması için yapılan yıkamadan sonra HRPO (Horseradishperoksidase) ile işaretleme anti-tür konjugat ilave edildi. Bir saatlik inkubasyonu takiben yıkanan pleytlere substrat A ve B eşit miktarda karıştırılarak konuldu ve oda ısısında 15-25 dk beklendi. Süre sonunda her göze stop solusyonu ilave edildi ve ELISA Reader'da 450nm'de okundu.

Bulgular

ELISA Test: Afyon ilindeki sokak köpeklerinin toplandığı bir barınakta bulunan 94 köpeğin kan serum örnekleri CHV-1 antikorları yönünden indirekt ELISA ile test edildi ve 46'sının (%48.8) seropozitif olduğu belirlendi. Dişi köpeklerin seropozitiflik oranı %47.2 (25/53), erkek köpeklerin ise %51.2 (21/41) olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel Analiz: Dişi ve erkek köpeklerde tespit edilen enfeksiyon oranları arasında istatistiksel açıdan farklılık olup olmadığı Kikare test ile araştırılmış, analiz sonucunda cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Tartışma

Canine Herpesvirus-1 tüm dünyada evcil ve vahşi her yaştaki köpeklerde görülen alfaherpesviral bir enfeksiyondur. Erişkin hayvanlarda genellikle sublinik seyretmesine karşın gebe erişkinlerin ve 3 haftalıktan küçük yavruların enfeksiyonu durumunda ağır prognozla seyreder, kolay bulaşması nedeniyle köpek barınaklarında çok yüksek insidensle seyredilmektedir (7, 18, 22, 23).

Diğer herpesviral enfeksiyonlarda olduğu gibi Canine Herpesvirus-1 enfeksiyonu da latent karakterlidir ve kortikosteroid uygulamasıyla reaktifte edilebilir (20, 21). CHV-1 antikorları kanda uzun süre yüksek titrede seyretmez, bu yüzden serum nötralizasyonla yapılan çalışmalarda düşük seropozitiflik tespit edilir (18). Mikronötralizasyonla yapılan antikor tespiti araştırmalarında İsviçre'de 1980'de %6 (24), Hollanda'da 1977'de (25) %2.8 seropozitiflik bildirilmiştir. Daha sonra Takumi ve arkadaşları (26) 1990'da CHV-1 antikor varlığını tespit etmek amacıyla virus nötralizasyondan daha duyarlı olan indirekt ELISA testi geliştirmişler, sahadan elde edilen 557 köpek serumunda ELISA ile %26.2, virus nötralizasyon ile sadece %5 seropozitiflik tespit etmişlerdir. Daha sonra ELISA ile yapılan seroprevalans çalışmalarında daha yüksek oranlar elde edilmiştir. Bu nedenle, araştırmada CHV-1 spesifik antikorların tespiti için en duyarlı test olan indirekt ELISA test kullanılmıştır.

Dünyada ELISA test kullanılarak yapılan serolojik çalışmalarda enfeksiyonun yaygın olduğu, özellikle köpek çiftliklerinde bulaşmanın kolayca şekillenmesine bağlı olarak çok yüksek seroprevalans değerleri belirlenmiştir. Rijsewijk ve arkadaşları (6) Hollanda'da 1997-1998'de toplanan 224 köpek kan serumunda %39.3, Ronsse ve arkadaşları (19) Belçika'da %45.75, Takumi ve arkadaşları (26) Japonya'da %26.2 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir.

Bu araştırmada, Afyon ilinde, başıboş sokak köpeklerinin yoğunlukla son üç ay içinde toplandığı bir barınakta bulunan sağlıklı görünümlü ve CHV-1 için aşı yapılmamış 94 erişkin köpekten elde edilen kan serum örneklerinde, %48.8 (46/94) oranında CHV-1 spesifik antikor varlığı belirlenmiştir, dişi (%47.2) ve erkek (%51.2) köpeklerin seropozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Türkiye'de enfeksiyonla ilgili yapılmış olan tek çalışmada Acar ve arkadaşları (1) Ankara ili ve çevresinde Kangal köpeği yetiştiriciliği yapılan dört farklı çiftlikteki yetişkin Kangal köpeğinde %71.8 (79/110) oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada belirlenen oran (%48.8) ise daha düşük olup, daha çok Avrupa ülkelerinde tespit edilen oranlara yakın bulunmuştur. Söz konusu enfeksiyonun insidensinin barınak ortamlarında daha yüksek olduğu bilinmektedir, Acar ve ark.'nın (1) tespit ettikleri oranın yüksekliği de intensif yetiştirme koşulları ve aynı damızlıkların uzun süre kullanılması ile açıklanmaktadır.

Her ne kadar bu çalışmada kullanılan kan örnekleri bir köpek barınağından sağlanmış ise de, hayvanların büyük çoğunluğunun son 3 ay içerisinde sokaktan toplanmış olması ve hayvanların çiftleşmelerine izin verilmeyecek şekilde ayrı kafeslerde tutulmaları nedeniyle, örnekleme sırasında insidensin yetiştirmeye bağlı olarak çok az artış göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Ek olarak örnekleme yapıldığı yer ve populasyon farklılığı da göz önüne alındığında, bu çalışmada tespit edilen seropozitiflik oranının daha düşük bulunması normal karşılanabilir. CHV-1 enfeksiyonu latent karakterli olduğundan organizmada virus ve antikor her zaman birlikte bulunur, bu çalışmada elde edilen verilere göre Afyon ilindeki sokak köpeklerinin yaklaşık yarısının doğal enfeksiyonu taşıdığı belirlenmiştir.

CHV-1 enfeksiyonu gebeliğin erken safhalarında embriyonik rezorbsiyon ve fertilitite bozuklukları gibi reproduktif komplikasyonlar ile 3 haftalığa kadar olan yavrularda yüksek neonatal mortaliteye neden olmaktadır (10, 13, 14). Enfeksiyon erişkin hayvanlarda genellikle

subklinik seyrettiğinden belirgin bir sağlık sorunu yaratmamaktadır ancak miks enfeksiyonlar, yanlış beslenme, metabolik hastalıklar, gebelik ve diğer stres faktörleri söz konusu olduğunda latent olarak organizmada var olan virusun reaktivasyonu her zaman mümkündür (20, 21) dolayısıyla insidensin yüksek olduğu barınaklarında doğan yavrular büyük risk altında olacaktır. Bunun engellenebilmesi için en uygun yöntem olarak aşılama kullanılmalıdır. Bu amaçla birincisi coitustan yaklaşık 10 gün sonra, ikincisi ise gebeliğin 6. haftasında olmak üzere iki doz aşı uygulaması yapıldığında hem gebelik oranında artış meydana gelmekte, hem de yavruya yeterli titrede maternal antikor geçişi sağlanarak yavru ölümlerinde çarpıcı bir azalma sağlanabilmektedir (27). Aşılamanın her gebelik döneminde tekrarı gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile Afyon ilinde ilk kez enfeksiyonun varlığı ve oranına ilişkin veri elde edildi ve enfeksiyona yakalanma açısından cinsiyetler arasında farklılık olmadığı saptandı.

Kaynaklar

1. Carmichael LE, Squire RA, Krook L. Clinical and pathologic features of a fatal viral Disease of newborn puppies. Am J Vet Res 1965; 26: 803-814.
2. Lundgren DL, Clapper WE. Neutralisation of canine herpesvirus by dog and human serums: a survey. Am J Vet Res 1969; 30: 479-482.
3. Manning A, Buchan A, Skinner GRB, et al. The immunological relationship between canine herpesvirus and four other herpesviruses. J Gen Virol 1988; 69: 1601-1608.
4. Tyack SG, Studdert MJ, Johnson MA. Nucleotide sequence of canine herpesvirus homologues of herpes simplex virus type 1 US2, US3, glycoproteins I and E.US8 and US9 genes. DNA seq 1997; 7(6): 365-368.
5. Lacheretz A, Cognard S. Epidemiologie et diagnostic serologique de l'herpesvirose canine. Rev Med Vet 1998; 149: 853-856.
6. Rijsewijk FAM, Luiten EJ, Daus FJ, et al. Prevalance of antibodies against canine herpesvirus 1 in dogs in The Netherlands in 1997-1998. Vet Microbiol 1999; 65: 1-7.
7. Ronsse V, Verstegen J, Onclin K, et al. Seroprevalance of Canine Herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. Reprod Dom Anim 2002; 37: 299-304.
8. Reubel GH, Pekin J, Webb-Wagg K, et al. Nucleotide sequence of glycoprotein genes B, C, D, G, H and I, the thymidine kinase and protein kinase genes and gene homologue UL24 of an Australian isolate of canine herpesvirus. Virus Genes 2002; 25: 195-200.
9. Cornwell HJC, Wright NG. Neonatal canine herpesvirus infection: a review of present knowledge. Vet Rec 1969; 84: 2-6.
10. Hashimoto A, Hirai K, Yamaguchi T, et al. Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. Am J Vet Res 1982; 43: 844-850.
11. Hashimoto A, Hirai K, Fukushi H, et al. The vaginal lesions of a bitch with a hystory of canine herpesvirus infection. Jpn J Vet Sci 1983; 45: 123-126.
12. Hill H, Mare CJ. Genital Disease in dogs caused by canine Herpesvirus. Am J Vet Res 1974; 35: 669-673.
13. Anvik JO. Clinical considerations of canine herpesvirus infection. Vet Med 1991; 4: 394-403.
14. Poste G, King N. Isolation of a herpesvirus from the canine genital tract: association with infertility. Vet Rec 1971; 88: 229-233.
15. Karpas A, Garcia FG, Calvo F, et al. Experimental production of canine tracheobronchitis (kennel cough) with canine herpesvirus isolated from naturally infected dogs. Am J Vet Res 1968; 29:1251-1257.
16. Kraft S, Evermann AJ, Mckeirman AJ, et al. The role of neonatal canine herpesvirus infection in mixed infections in older dogs. Compend Contin Educ Pract Vet 1986; 8:688-696.
17. Wright NG, Cornwell HJC. The susceptibility of six-week old puppies to canine herpesvirus. J Small Anim Prac 1970; 10:669-674.
18. Carmichael LE, Greene CE. Canine Herpesvirus infection. In: Greene CE. (Editors). Infectious diseases of the dog and cat. 2nd Edition, Philadelphia: Saunders, 1998:28-32.
19. Ronsse V, Verstegen J, Thiry E, et al. Canine Herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. Theriogenology 2005; 64: 61-74.
20. Burr PD, Campbell MEM, Nicholson L, Onions DE. Detection of canine herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction. Vet Microbiol 1996; 53:227-237.
21. Okuda Y, Hashimoto A, Yamaguchi T, et al. Repeated canine herpesvirus (CHV) reactivation in dogs by an immunosuppressive drug. Cornell Vet 1993; 83:291-302.
22. Acar A, Gür S, Doğan İ, AKÇA, Y. Kangal (türk çoban) köpeklerinde canine herpesvirus-1 (CHV-1) enfeksiyonunun araştırılması. VII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 26-28 Eylül 2006, Side Antalya.

23. Ronsse V, Verstegen J, Onclin K et al. Risk factors and reproductive disorders associated with Canine Herpesvirus-1 (CHV-1). *Theriogenology* 2004; 1: 619-636.
24. Engels M, Mayr-Bibrack B, Ruckstuhl B, et al. Die seroepizootologie der caninen Herpesvirus infektion in der Schweiz und praliminare Versuche mit einer Vakzine. *Zbl Vet Med B* 1980; 27:257-267.
25. Osterhaus A, Berghuis-De Vries J, Steur K. Antiviral antibodies in dogs in the Netherland. *Abl Vet Med B* 1977; 24:123-133.
26. Takumi A, Kusanagi K, Tuchiya K, et al. Serodiagnosis of canine herpesvirus infection-development of an enzyme linked immunosorbent assay and its comparision with two improved methods of serum neutralisation test. *Jpn J Vet Sci* 1990; 52:241-250.
27. Poulet H, Guigal PM, Soulier M, et al. Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Vet Rec* 2001; 148: 691-695.