



T.C.

BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEDİLERDE FELİNE CORONAVİRUS ENFEKSİYONUNUN
VİROLOJİK VE SEROLOJİK ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Ahmet TOPÇU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VİROLOJİ ANA BİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Yakup YILDIRIM

BURDUR-2022

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEDİLERDE FELİNE CORONAVİRUS ENFEKSİYONUNUN
VİROLOJİK VE SEROLOJİK ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Ahmet TOPÇU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VİROLOJİ ANA BİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Yakup YILDIRIM

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0682-YL-20 proje numarası ile desteklenmiştir

BURDUR-2022

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sűresince deęerli zamanını, bilgi ve tecrűbelerini esirgemeyen danıőmanım, kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Yakup YILDIRIM'a ve bu sűrete bana destek olan çalıőma arkadaşlarıma;

Bu gűnlere gelebilmem için maddi ve manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, deęerli eőim Pınar 'a ve canım oęlum Tunaya, sevgili ailem'e varlıkları ve destekleri için teőekkűrű borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. ENFEKSİYÖZ HASTALIKLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etiyoloji	3
2.2. Epidemiyoloji	5
2.3. Patogenez	6
2.3.1. Feline Enterik Coronavirus (FeCV) Enfeksiyonu	7
2.3.2. Feline Enfeksiyöz Peritonitis Virus (FIPV) Enfeksiyonu	7
2.4. Klinik Bulgular	11
2.4.1. Efüsiv Form (Yaş Form)	11
2.4.2. Efüsiv Olmayan Form (Kuru Form)	12
2.5. Tanı	17
2.5.1. Viral Tanı	18
2.5.2. Serolojik Tanı	20
2.5.3. Hematolojik Bulgular	21
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Gereç	22
3.1.1. Araştırmada Örneklenen Hayvanlar	22
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Örneklerin Toplanması	22
3.2. Yöntem	23
3.2.1. İndirekt ELISA Yöntemi	23
3.2.2. FCoV Ag Rapid Testi	25
3.2.3. FCoV Ab Rapid Testi	26
3.2.4. Sonuçların Değerlendirilmesi	27
3.2.5. İstatistik Değerlendirme	28
4. BULGULAR	29
4.1. İstatistik Değerlendirme Sonuçları	35
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Coronavirus virion yapısının şematik görüntüsü (Hulo C. ve ark.,2011)	4
Şekil 1.2.	Efüsiv form klinik görüntüsü(Akın ve ark., 2011)	12
Şekil 1.3.	Kuru form FIP’te görülen Horner sendromu(Akın ve ark., 2011)	15
Şekil 1.4.	Şiddetli pleuritisi bulunan bir kediden alınan efüzyon sıvısı (FIP pozitif) (Akın ve ark., 2011)	15
Şekil 1.5.	(A)Yaş form FIP’te görülen effüzyon ve fibrin birikimleri (B)Antijen antikor kompleksine bağlı granüloatoz birikimleri(Akın ve ark., 2011)	16
Şekil 1.6.	(A)Böbrekte kanama (B) Dalakta kanama odakları ve granüloatoz lezyonlar(Akın ve ark., 2011)	16
Şekil 1.7.	Gingivitis(Akın ve ark., 2011)	17
Şekil 3.1.	Elisa yöntemlerinin şematize görüntüsü	24
Şekil 3.2.	FCoV Ag rapid test prosedürünün görseli	26
Şekil 3.3.	Rapid FCoV Ag testinin yorumlanması	26
Şekil 3.4.	FCoV Ab rapid test prosedürünün görseli	27
Şekil 3.5.	FCoV Ab rapid test sonucunun değerlendirilme görseli	27

TABLÖLAR

Tablo 2.1.	Coronaviridae ailesindeki kedilerde enfeksiyonlara neden olan coronavirusların bulunduğu Alphacoronavirusları	3
Tablo 4.1.	Kan ve dışkı örnekleri toplanan kedi numunelerinin bilgileri ve test sonuçları	29
Tablo 4.1.	Kan ve dışkı örnekleri toplanan kedi numunelerinin bilgileri ve test sonuçları	30
Tablo 4.2.	Optik dansite bulguları	31
Tablo 4.2.	Optik dansite bulguları	32
Tablo 4.3.	Kedilerde ELISA yöntemiyle tespit edilen FCoV seropozitifliğin cinsiyete göre dağılım oranları	32
Tablo 4.4.	Kedilerde FCoV antikor rapid test yöntemiyle tespit edilen FCoV seropozitifliğin cinsiyete göre dağılım oranları	33
Tablo 4.5.	Kedilerde FCoV antijen rapid test yöntemiyle tespit edilen FCoV antijen pozitifliğin cinsiyete göre dağılım oranları	33
Tablo 4.6.	ELISA sonucunda tespit edilen FCoV seropozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı	34
Tablo 4.7.	Rapid test (antikor) sonucunda tespit edilen FCoV seropozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı	34
Tablo 4.8.	Rapid test (antijen) sonucunun örnekleme-deki yaş gruplarına göre dağılımı	35

SİMGELER ve KISALTMALAR

A/G	Albumin/globulin
ALP	Alkalen Phosphatase
ALT	Alanine transaminase
APN	Aminopeptidaz N
AST	Aspartate transaminase
CoV	Coronavirus
CrFK	Crandell feline Kidney
DIC	Dissemine İntravasküler Koagulasyon
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FCoV	Feline Corona Virus
Fcwf-4	Felis catus whole fetus-4,
FECV	Feline Enterik Corona Virus
FECV	Feline Enterik Coronaviruslar
FeLV	Feline Leucemia virus
FIP	Feline İnfeksiyöz Peritonitis
FIPV	Feline Infectious Peritonitis Virusu
FIV	Feline Immunodeficiency virus
Ig	İmmunglobulin
M	Matrix
mRNA	Mesajcı RNA
MSS	Merkezi sinir sistemi (MSS)
N	Nükleokapsit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
RNA	Ribonkleik asit
RT-PCR	Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
S	Spike

ÖZET

Kedilerde Feline Coronavirus Enfeksiyonunun Virolojik ve Serolojik Araştırılması

Feline coronavirus enfeksiyonu kedi sağlığını etkileyen önemli viral bir hastalıktır. Bu çalışmada, kedilerde feline coronavirus enfeksiyonu (FCoV) virolojik ve serolojik yöntemler kullanılarak varlığı araştırıldı. Bu amaçla evde pet hayvanı olarak beslenen söz konusu enfeksiyona karşı aşılınmamış farklı ırk, cinsiyet, yaş ve sosyal çevrede bulunan klinik bulgu gösteren veya göstermeyen altı ay yaşdan büyük 60 kediden hem kan ve hem de dışkı örnekleme yapıldı. Toplanan kan numunelerine FCoV antikor (Ab) rapid test ve indirekt Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemleri uygulanarak FCoV antikorları yönünden kontrol edildi. Benzer şekilde aynı kedilerden alınan dışkı numuneleri de FCoV antijen (Ag) rapid test yöntemi kullanılarak FCoV antijen varlığı yönünden kontrol edildi. Analizleri yapılan 60 kedi kan serumu numunesinin rapid test-Ab yöntemi ile 21'i (%35), indirekt ELISA yöntemiyle ise 41'i (%68,33) seropozitif olarak belirlendi. Genel olarak farklı yaş gruplarında ve cinsiyet bazında tespit edilen antikor pozitiflik oranları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz ($P>0.05$) olduğu tespit edildi. Ancak ELISA ile tespit ettiğimiz seropozitifliğin 2 yaş ve altı ile 3 yaş ve üstü olarak istatistik değerlendirilmesinde anlamlı ($P<0,05$) farklılığın olduğu belirlendi. Benzer şekilde indirekt ELISA yöntemi ile rapid test-Ab yöntemi sonucunda belirlenen antikor pozitiflik oranları arasındaki farklılığın da istatistiksel olarak önemli ($P<0.001$) olduğu tespit edildi. Toplanan 60 adet dışkı örneğinde de FCoV varlığı rapid test-Ag yöntemi ile araştırıldı ve 1 numune (%1,67) antijen pozitif bulundu. Bu araştırma sonucunda sahipli kedilerde FCoV enfeksiyonunun varlığı/yaygınlığı hem virolojik hem de serolojik olarak ortaya konulmuştur. Ayrıca FCoV enfeksiyonunun serolojik tanısında indirekt ELISA yönteminin rapid test-Ab yöntemine göre daha duyarlı ve güvenilir olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antijen, Antikor, ELISA, Feline Coronavirus, Kedi, Rapid Test

ABSTRACT

Virological and Serological Investigation of Feline Coronavirus Infection in Cats

Feline coronavirus infection is an important viral disease affecting feline health. In this study, feline coronavirus infection (FCoV) in cats was investigated using virological and serological methods. For this purpose, both blood and stool samples were taken from 60 cats aged six months or older with or without clinical signs in different races, sexes, ages and social environments, which were not vaccinated against the aforementioned infection, which were kept as pets at home. Collected blood samples were checked for FCoV antibodies by applying FCoV rapid test-antibody (Ab) and indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) methods. Similarly, stool samples taken from the same cats were checked for the presence of FCoV antigen using the FCoV rapid test-antigen (Ag) method. Of the 60 cat blood serum samples analyzed, 21 (35%) were determined to be seropositive by rapid test-Ab method and 41 (68.33%) by indirect ELISA method. In general, the difference between the antibody positivity rates detected in different age groups and on the basis of gender was found to be statistically insignificant ($P>0.05$). However, there was a statistically significant ($P<0.05$) difference in the statistical evaluation of seropositivity determined by ELISA as 2 years and younger and 3 years and older. Similarly, the difference between the antibody positivity rates determined as a result of the indirect ELISA method and the rapid test-Ab method was found to be statistically significant ($P<0.001$). The presence of FCoV in 60 stool samples collected was investigated by rapid test-Ag method and 1 sample (1.67%) was found to be antigen positive. As a result of this research, the presence/prevalence of FCoV infection in owned cats was revealed both virologically and serologically. In addition, the indirect ELISA method was found to be more sensitive and reliable than the rapid test-Ab method in the serological diagnosis of FCoV infection.

Keywords: Antigen, Antibody, ELISA, Feline Coronavirus, Feline, Rapid Test

1. GİRİŞ

Feline Coronavirus kediler için çok sık karşılaşılan bir hastalık etkenidir. Virus kediden kediye fekal yolla geçer, yayılma yoluyla genelde dışkıdır. Kedilerin yarısı bu virusla neredeyse hayatlarında bir kez karşılaşmaktadır. Bu oran kedilerin toplu yaşadığı yerlerde (çoklu kedi beslenen evlerde ve sokak hayvanlarında) daha da artmaktadır. Belirtiler genelde ishal, halsizlik ve ateş şeklinde olmaktadır. Mutasyona uğramadan öldürücü olma riski neredeyse bulunmamaktadır. Kedilerin kolayca atlattığı bu hastalık, virusun mutasyon geçirmesiyle ölümcül FIP'e dönüşmektedir. Coronavirus ile enfekte olan kedilerin %92 - %98'i basit belirtilerle hastalığı atlattırken geri kalanlarda hastalık, belirtildiği gibi henüz kesinleşmiş tedavisi olmayan öldürücü FIP'e çevirmektedir. Güncel literatüre görese bu mutasyonun nasıl gerçekleştiğine dair hala kesin bilgi bulunmamaktadır.

Feline infeksiyöz peritonitis (FIP), mutasyona uğramış coronaviruslar tarafından oluşturulan, oldukça öldürücü bir hastalıktır (Addie, 2012; Hartmann, 2005; Hartmann, 2010). Coronavirus, çok sayıda kedilerin barındığı evlerde %90'ın üzerinde, tek başına yaşayan kedilerde ise %50 oranında görülmesine rağmen, FIP'in görülme oranı %5 civarındadır (Hartmann, 2010). FIP'de gözlenen klinik belirtiler, etkenin virülansına, virusun dozuna, enfeksiyonun alım yoluna, konakçının immun sistemine, eşlik eden diğer enfeksiyonlara ve kedinin daha önce koronaviruse maruz kalıp kalmadığına göre değişmektedir (Addie, 2012; Lappin, 2014). Solunum sistemi enfeksiyonları, Feline Leukemia Virus (FeLV) ve Feline Immunodeficiency Virus (FIV) enfeksiyonları, virusun saçılımını ve klinik belirtileri şiddetlendirmektedir. Kedilerin yaklaşık yarısı etkeni 2 yaşından önce almasına rağmen, hastalık herhangi bir yaşta oluşabilmekte ve özellikle 10 yaş sonrasında daha çok görülebilmektedir (Addie, 2010; Hartmann, 2010; Lappin, 2014). Saf ırk kediler ise, mezlere göre daha risk altındadır (Hartmann, K., 2010, Hartmann, K., 2010).

Kedilerde enterik coronavirus enfeksiyonlarında, hareketlerini kısıtlayıcı bir diyare tablosu görülmektedir ancak FIP'li kedilerde klinik belirtiler şiddetli ve çeşitlidir (Pedersen, 2014; Tekes ve Thiel, 2016). FIP, efüsiv (ıslak) ve efüsiv olmayan (kuru) formda farklı belirtiler oluşturmaktadır. Efüsiv FIP, birçok kan

damarını etkileyerek vücut boşluklarında sıvı ve plazma proteinleri birikimine neden olurken, efüsiv olmayan FIP'te organlarda, pyogranülamatöz lezyonlara rastlanmaktadır. Genelde, hastalık ortaya çıkmadan birkaç ay önce yeni bir eve taşınma, sahip değiştirme ya da hastalık gibi stres yaratan durumların olduğu bildirilmiştir (Hartmann, K., 2005, Hartmann, K., 2010, Pedersen, NC., 2014).

Planlanan bu araştırmada farklı ırk, cinsiyet, yaş ve sosyal çevrede bulunan klinik bulgu gösteren veya göstermeyen sahipli kedilerde Feline Coronavirus (FCoV) enfeksiyonunun virolojik ve serolojik varlığının tespit edilmesi ve söz konusu hastalığın yaygınlığı hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

2. ENFEKSİYÖZ HASTALIKLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

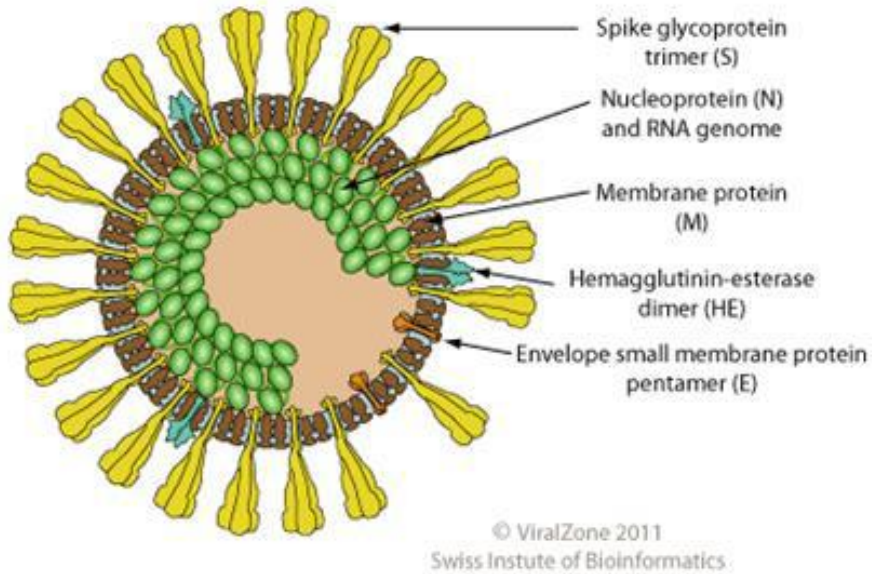
Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (International Committee on Taxonomy of Viruses = ICTV) tarafından hazırlanan güncel rapora göre Nidovirales takımı içinde yer alan Coronaviridae familyası Letovirinae, Pitovirinae ve Orthocoronavirinae olmak üzere 3 alt aileden oluşmaktadır. FCoV Orthocoronavirinae alt familyasında, Alphacoronavirus cinsi içerisinde yer alan Tegacovirus alt cinsinde bulunan Alphacoronavirus I türü içerisinde sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.1) (ICTV, 2020).

Tablo 2.1. Coronaviridae ailesindeki kedilerde enfeksiyonlara neden olan coronavirusların bulunduğu Alphacoronavirusları (ICTV, 2020)

TAKIM: Nidovirales
ALT TAKIM: Coronavirinae
AİLE: Coronaviridae
ALT AİLE: Orthocoronavirinae
CİNS: Alphacoronavirus
ALT CİNS: Tegacovirus
TÜR: Alphacoronavirus 1
ALT TÜR: Canine coronavirus
ALT TÜR: Feline coronavirus
GENOTİP: Feline coronavirus genotip 1 (enteric)
GENOTİP: Feline coronavirus genotip 2 (infectious peritonitis)
ALT TÜR: Swine enteric coronavirus
ALT TÜR: Transmissible gastroenteritis virus

FCoV'lar serotipik olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Bunlardan tip 2 FCoV suşları; S geni analizi yönünden canine suşlarıyla ilişkili, E geninin analizi yönünden ise tip 1 feline suşları ile yakın ilişkili bulunmuştur. Canine ve tip 1 Feline suşları genomlarının 3'UTR bölgelerindeki karşılaştırmalar sayesinde homolog rekombinasyon sonucu tip 2 feline suşlarının ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Vennema ve ark., 1998). Bazı yabancı kedilere ait CoV suşları avian suşlarına yakın bulunmuş olup Grup 3 içerisinde klasifiye edilmiş, bunun türler arası evrimi gösterdiği öne sürülmüştür (Woo ve ark., 2009).

Coronavirüsler zarflı, pleomorfik virüslerdir. Pleomorfik oluşları sebebiyle virion çapları 60 -160 nm arasında değişmektedir. RNA genomu tek sarmalıdır (ssRNA). Peplomerler zarftan oluşturur. Peplomerler uçları geniş ve viriona bir taç görüntüsü verirler (Corona=Taç). Coronavirüslerin çoğu barsak kanalı epitel hücrelerine ve solunum yoluna tropizm göstermektedir. Enfekte hayvanlarda başlıca solunum yolu infeksiyonları ve bağırsak yangılarına neden olurlar. Ayrıca bazı coronavirus infeksiyonlarında serozitis, ensefalitis ve hepatitis de şekillenmektedir. Coronavirüslerin replikasyon siklusu sitoplazmada gerçekleşir. Penetrasyondan sonra virion içerisindeki pozitif polariteli genomik RNA serbest kalır ve RNA polimeraz sentezlendikten sonra negatif polariteli yeni bir RNA transkribe edilir ve bundan da subgenomik mRNA ların serisi, yeni genomik RNA ve rehber RNA sentez edilir. Yapısal olmayan NS2 ve NS4 proteinlerinin yanısıra yapısal (M, E, HE, S ve N) proteinler sentezlenir. Golgi aparatı ve endoplasmik retikulumda olgun viriona dönüştükten sonra hücrelerden serbest kalırlar. (Frank Fenner ve ark, 1999).



Şekil 1.1. Coronavirus virion yapısının şematik görüntüsü (Hulo ve ark., 2011)

Yapılan çalışmalar FCoV'ların birden fazla serotipi (serotip 1 ve 2) ve biyotipi/patotipi (FIPV ve FECV) olduğunu ortaya koymuştur.

Serotip ayrımı; nötralizasyon testi yanı sıra S proteini aminoasit dizin analizlerine göre de yapılmıştır (Motokawa ve ark., 1995; Motokawa ve ark., 1996). Serotip 2'nin; FCoV serotip 1 ile Canine coronavirusların rekombinasyonu sonucunda ortaya çıktığı bildirilmiştir (Herrewegh ve ark., 1998). Serotiplerin hücre kültüründe üreme özellikleri ve canine coronavirusa antijenik yakınlıkları birbirinden farklıdır (Pedersen ve ark., 1984). FCoV serotip 1, canine kökenli antiserumlarla çapraz nötralizasyon vermezken; serotip 2 vermektedir. Serotip 1 saha enfeksiyonlarında dominant tip (Vennema ve ark., 1998) iken, FCoV serotip 2'nin in vitro üreme kabiliyeti oluşu, araştırmaların çoğunda bu serotipin kullanılmasına olanak sağlamıştır. FCoV serotip 2 bağırsak, akciğer ve böbrek epitellerinde bulunan hücre yüzeyi metalloproteazı olan Amino Peptidaz N'ye (APN) affinite duyarken, serotip 1'in reseptörü henüz belirlenememiştir (Hohdatsu ve ark., 1998). Ancak APN üzerine yapılan birçok çalışma (Kolb ve ark., 1998), belirli bölgelerdeki (özellikle C terminal uçta) mutasyonların türler ve hatta serotipler arası tropizmi bile etkileyebileceğini göstermiştir. Serotiplerin affinite duydukları hücre reseptörleri farklı olsa da (Hohdatsu ve ark., 1998; Tresnan ve ark., 1996), her iki serotipte de hastalık patogenezeğine göre 2 biyotip ya da 15 patotip bulunmaktadır (Pedersen ve ark., 1984)

2.2. Epidemiyoloji

Kedilerde Feline Coronavirus (FCoV) enfeksiyonu ilk kez 1940'lı yıllarda Nepal'de Bonaduce (1942) tarafından tespit edilmiş, 1963 yılında Holzworth tarafından 'kedilerin önemli bir hastalığı' olarak tanımlanmıştır. Etken, "virus benzeri partikül" olarak 1971'de Hardy ve ark. (Barnett, 1993) tarafından elektron mikroskopik olarak gösterilmiş; Montali ve Strandberg (1972) ise hastalığın kuru ve yaş formu olarak iki formu olduğunu bildirmiştir.

FCoV'ların dünyadaki evcil ve vahşi kedilerde yaygın olan, sindirim kanalında bulunan apatojen formu olarak tanımlanan Feline Enterik Corona Virus (FECV), organizmayı diğer antijenlere (Feline Calicivirus, Feline Leukemia Virus, Feline Herpes Virus, Feline Immunodeficiency Virus, çeşitli

bakteriyel etkenler vb.) karşı duyarlı hale getirmektedir. Hastalığın 1960'lardan sonra artan insidansı ve yeni tanısal tekniklerin gelişmesine paralel olarak; araştırmacılar tarafından Coronavirusların hızlı adaptasyon ve mutasyon kabiliyetleri doğrultusunda FECV'den mutasyonla (de Groot ve ark., 1987) olduğu ortaya konulan, ölümcül sistemik bir enfeksiyon tablosuna neden olan Feline Infectious Peritonitis Virus (FIPV) tanımlanmışlardır. Bu hastalığın seyrinde birçok faktörün yanı sıra immun sistemin de etkili olduğu bilinmektedir.

Enfeksiyonun semptomaya dayalı isminin verilmesine neden olan FIPV coğrafik olarak da değişiklik gösterip göstermediğine yönelik araştırmalara zemin hazırlayan genomik karakterizasyon çalışmaları, hastalığın patogeneze ışık tutucu bilgilerin kazanılmasına yardımcı olmaktadır (Lin ve ark., 2009). Günümüzde FCoV tam genomuna yönelik sekanslar tanımlanmıştır (Hsieh ve ark., 2010). Yapılan bu çalışmalarda FCoV genomunda mutasyonlardan oldukça az etkilenen korunaklı bölgeler olduğu saptanmıştır. Ancak FCoV'da bu bölgelerde oluşacak mutasyonlar enfeksiyonun seyrinde (patogenetik) veya virusun antijenik karakterinde (filogenetik) değişikliklere sebep olabilmektedir (Lin ve ark., 2009).

2.3. Patogenez

FCoV evcil kedilerin yanı sıra aslan, çita, leopar, jaguar, vaşak gibi vahşi kedilerin de dahil olduğu Felidae ailesinin birçok üyesinde enfeksiyon meydana getirebilmekte, ayrıca gelinciklerde de benzer hastalık tablosu şekillendirebilmektedir (Evermann ve ark., 1989). FCoV'ların patogenezinde en önemli virulans faktörü makrofajları enfekte edebilme yeteneğidir (Rottier ve ark., 2005).

Feline Coronavirusların neden olduğu enfeksiyonlar:

-Feline enfeksiyöz peritonitis virus (FIPV)

-Feline enterik corona virus (FECV)

2.3.1. Feline Enterik Coronavirus (FECV) Enfeksiyonu

Enterik coronavirus fekal-oral bulaşma ile duyarlı bireylere nakledilmektedir. Genç hayvanlarda 3-4 gün süren ishal ile karakterize iken, daha yaşlı hayvanlarda çoğunlukla asemptomatik olarak seyretmektedir. Etken kalın bağırsak, ileum ve rektum epiteline affinite duymaktadır (Herrewegh ve ark., 1997) ve bu bölgelerde 18 aya kadar persiste kalarak saçılabilir (Pedersen ve ark., 1981b). Enterik coronaviruslar zayıf virulense sahip olsalar dahi, intestinal kanaldaki epitel hücrelerinde primer replikasyonlarını gerçekleştirebilmektedirler (Rottier ve ark., 2005). Enterik coronaviruslara kan dolaşımında (Meli ve ark., 2004; Vogel ve ark., 2010) ve lenf nodüllerinde rastlanmasına rağmen enfeksiyonun patogenezi sadece sindirim sistemi semptomları ile sınırlı kalmaktadır. Etkene kan dolaşımında rastlanabilmesinin sebebi etken saçılımının enfekte epitel hücresinin apikal değil basolateral yüzeyinden, yani kan dolaşımına daha yakın bölgeden oluşu şeklinde açıklanmaktadır (Rottier, 1999). Kedilerin etkeni hayatları boyunca sürekli, dönem dönem veya sadece enfeksiyon boyunca saçtığı bildirilmiştir. Bu saçılım karakterinin belirlenmesinde enfekte kedinin immun durumu, oluşan antikörlerin titresini ve hayvanın yaşı gibi faktörler etkili olsa da bu fenomende rol oynayan bütün sebepler henüz tam olarak anlaşılabilir değildir (Pedersen ve ark., 2008). Bununla birlikte FECV ile persiste enfekte kedilerde, virusun S proteininde oluşan mutasyonların, virusun immun sistemden kaçabilmesini sağladığı öne sürülmüştür (Herrewegh ve ark., 1997). Virusun bir suşu ile enfekte olan kedinin, yaşamı süresince başka bir suş ile de enfekte olması mümkündür. Oluşan reenfeksiyonun virus saçılımına etkisi olduğu düşünülmektedir (Addie ve ark., 2003).

2.3.2. Feline Enfeksiyöz Peritonitis Virus (FIPV) Enfeksiyonu

FIP, 1963 yılında Holzworth tarafından 'kedilerin önemli bir hastalığı' olarak tanımlanmıştır. (Holzworth, 1963). Etken ilk kez "virus benzeri partikül" olarak Hardy ve ark. (1971) tarafından elektron mikroskopik olarak tespit edilmiş, Montali ve Strandberg (1972) ise hastalığın kuru ve yaş olmak üzere iki

formu olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan araştırmalara dayanılarak, FIPV'nun FECV'tan mutasyonla oluştuğu teorisi, ki bu teori "internal mutasyon teorisi" olarak anılmaktadır (Vennema ve ark., 1998), bilim çevrelerinde kabul görmektedir. Bu çalışmalarda FECV ile persiste enfekte olan kedilerde, aynı virusun ikincil patotipi olan FIP virusunun mutasyonla oluştuğu, spesifik mutasyonlar bildirilmemekle birlikte bu mutasyonların özellikle viral spike geninde, 3c ve 7b genlerinde oluştuğu tespit edilmiştir (Vennema ve ark., 1998). Bu durum, bir virusun farklı genetik yapıya sahip varyantlarının varlığını açıklayan 'Quasispecies teorisi' ile uyumludur. İkinci bir hipotez ise, hastalığın klinik seyirinde birçok faktörün yanısıra virulansleri farklı iki farklı virusun sirküle olduğu yönündedir (Dye ve Siddell, 2007).

FIP enfeksiyonunda mutant virusun diğer kedilere bulaşması konusunda farklı görüşler bulunmaktadır. Vennema ve ark. (1998) FIP virusuyla enfekte kedilerin hem FIP virusunu hem de FECV saçabildiklerini, FECV'un duyarlı kedilerde enfeksiyona neden olarak FIP enfeksiyonu gelişimi için predispozisyon oluşturabildiğini, FIP virusunun ise sağlıklı kedilerde enfeksiyona neden olmadığını ve dolayısıyla 'FIP virusu, kediden kediye bulaşmaz' görüşünü bildirmelerine karşın; Addie ve ark. (1996) FIP virusunun da duyarlı hayvanlarda enfeksiyona neden olabildiğini tespit etmişlerdir.

FIPV'nun, enterik coronavirusların mutasyona uğrayarak makrofaj tropizmi kazanması sonucu oluştuğu görüşü birçok araştırmacı tarafından desteklenmiştir (Vennema ve ark., 1998; Rottier ve ark., 2005). Bu mutasyonların sebepleri arasında;

- ✓ Hayvanın yaşı,
- ✓ Hayvanın ırkı (bazı kedi ırklarında yatkınlık),
- ✓ Hayvanın FCoV enfeksiyonlarına karşı immün durumu/antikor titresi,
- ✓ Hayvanın FIV, FeLV gibi immünespresif etkenlerle birlikte enfeksiyonu,
- ✓ Hayvanın yaşadığı ortam (çoklu/tekli),
- ✓ Hayvanın bulunduğu ortamdaki enterik corona suşu/ yeni suşun girişi,
- ✓ Cerrahi girişimler, gebelik gibi stres faktörleri ve
- ✓ Mevsim sayılmaktadır.

Etkenin tropizm deęişiminin, lenf yumrularında virus replikasyonu sırasında oluřan mutasyon sonucu olduęu dűőünlmektedir (Thiel, 2007). Mutant coronaviruslar, aktif kan dolařımındaki monositleri ve dokulardaki makrofajları enfekte etme yeteneęi kazanmaktadırlar. Bu durum daha çok antijenik drift mekanizmasıyla oluřan mutant virusun birçok sistemi etkileyen FIP hastalıęını Őekillendirmesi ile sonuçlanmaktadır. Enfeksiyonun, insanların deng humması enfeksiyonuna benzer bir immün aracılı patogenezi izledięi bildirilmiřtir (Halstead, 1979; Halstead ve ark., 1983). Kedinin immün sistemi, enfeksiyonun kuru (non-effűsiv/paranřimatoz) veya yař (effűsiv/non-paranřimatoz) formda seyretmesini belirlemektedir (Murphy, 1999). FIP enfeksiyonunun lűmcűl seyretmesi sebebiyle FCoV hakkında yapılan arařtırmaların çoęu bu mutant virusa yűnelmiřtir.

FIP'te inkubasyon sűresi deneysel enfeksiyonlarda 2-14 gűn arasında olsa da doęal enfeksiyonlarda bu sűre bilinmemektedir. Hastalıęın ilk semptomları; dalgalı ateř, iřtahsızlık, kilo kaybı ve durgunluktur. FIP'e yűnelik semptomlar ise etkenin hangi dokuları etkiledięi ve formu ile iliřkilidir. Sıklıkla bűbrek disfonksiyonu sonrası Őekillenen peritonitis, enfeksiyona ismini veren klinik formu geliřtirmektedir (Pedersen, 2009).

FIP etkeni antikor ilişkili aşırı duyarlılık reaksiyonu ve antikor bağımlı patojenite artışı yapabilen ender virustan biri olarak tanımlanmaktadır (Weiss ve Scott, 1981; Stoddart ve Scott, 1989). Virusun hűcreye girişinden sorumlu APN reseptűri, antijen-antikor kompleksine bağlı patojenite artışından sorumlu olmamaktadır (Takano ve ark., 2008). Antikor ilişkili hipersensitivite reaksiyonunda, hűcresel immunitenin yeterli yanıtı oluşturamadan antikor yanıtı gelişmektedir. Hastalığın yař formunda, enfekte kedilerde bu tip bir yanıt sűz konusu olmaktadır. Enfekte tűm kediler sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı dirençsizdirler. Cerrahi girişimler gibi stres faktűrleri de etken-konak arasındaki dengeyi bozarak, FIP'in semptomlarının ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda FIP ile enfekte kedilerin farklı bir immunosupresif virus ile sűper enfeksiyonunda, virusun aktive olduğu ve klinik semptomların ortaya çıktığı bildirilmiştir (Pedersen ve ark., 2008).

Virus, kediler arasında dışkıyla bulaşmaktadır. Virus ağız yolu ile alınımını takiben 24 saat içinde tonsiller ve ince bağırsaklara ulaşabilmekte ve 14 gün içinde sekum, kolon, mezenterik lenf nodülleri ve karaciğeri enfekte edebilmektedir. Dışkı ile virus yayılımının 2 gün-10 aya kadar değişen sürelerde devam ettiği bildirilmiştir (Addie, DD., 2012, Hartmann, K., 2010, Hartmann, K.,2010). Enterik koronavirusların bulaşmasında ortak mama, su ve kum kaplarının kullanımının önemi büyüktür. Enterik koronavirus enfeksiyonunu geçiren kediler tamamen sağlıklı görünebilirler ancak bu kedilerin bir kısmında koronavirus mutasyona uğrayarak FIP'e neden olan forma dönüşebilmektedir. Bu kedilerde immun yanıt gelişmeyenlerde efüsiv FIP belirtileri ortaya çıkarken, bir kısmında kısmi yanıt gelişerek efüsiv olmayan FIP belirtileri oluşmaktadır. Bazı kedilerde ise yaşlılık, diğer enfeksiyonlar, stres gibi nedenler immun sistemi baskılayana kadar hastalık gözlenmemektedir. Bir kısım kedi ise, enfeksiyon ile geçici enfekte olurken, bir kısmı da sağlıklı gözükmelerine rağmen yaşam boyu taşıyıcı kalmaktadırlar (Addie, DD., 2012, Hartmann, K., 2010, Lappin, MR., 2014).

Kedilerde enfeksiyonun gelişimi aşağıdaki denklemle şeklinde şematize edilebilmektedir;

Alınan FCoV miktarı + alınan FCoV'un virülensi + viral mutasyon + kedinin immun sistemi + genetik faktörler + stres = FIP

2.4. Klinik Bulgular

2.4.1. Efüsiv Form (Yaş Formu)

Enfekte kedilerde iştah normal ya da azalmış olabilmektedir. Göğüs ya da karın boşluğunda biriken sıvı (Resim 1.1), dispne ya da taşipneye yol açarken, skrotal genişleme ve ikterus ile de karşılaşılabilir. Kan damarları etkilenmiştir, vücut boşluklarında sıvı ve plazma proteinleri birikimi görülür, kısaca pyogranulomatöz vaskulitis gözlenmektedir. Abdominal palpasyonda genellikle genişlemiş lenf yumruları fark edilirken, böbrek boyutlarında düzensizlik görülebilmektedir. Akciğerler etkilenmişse dispne ön planda gözlenirken, göğüs radyografisinde desenli görünüm dikkat çekici olabilmektedir (Addie, DD., 2012, Hartmann, K., 2010, Hartmann, K., 2010.)

Yaş form genellikle 2 yaş altı kedilerde peritoneal ve pleural boşluklarda sıvı toplanmasıyla karakterizedir. Antijen-antikor kompleksinin kılcal damarlarda yoğunlaşması ve buna bağlı olarak bu bölgelerde trombositlerin yığılması sonucu şekillenen Dissemine İnvasküler Koagülasyon (DIC) bu sıvı toplanmasının en önemli nedeni olmaktadır (Weiss ve Scott, 1981). Peritoneal sıvı toplanmaları palpasyonda ağrısız ve fluktuandır. Perküsyonda sıvı hareketi net şekilde hissedilebilmektedir. Biriken sıvı altın sarısı renkte, berrak veya müsinöz ve bulanık karakterde olabilmektedir. Pleural sıvı birikimine bağlı nefes almada zorluk, hırıltılı solunum, peritoneal sıvı birikimine bağlı erkek hayvanlarda skrotal büyüme bulguları klinik semptomlar arasında yer almaktadır. Yavru kedilerde pleuritis, hepatitis ve bronşitis sonucu ölüm meydana gelmektedir. Hastalıktan etkilenmiş hayvanlarda antijen-antikor kompleksinin eklemlerde de toplanması sonucu synovitis ve topallık görülebilmektedir (Pedersen, 2009). Son yıllardaki bazı çalışmalarda, araştırmacılar vaskulitis bölgelerinde antijen-antikor kompleksinin varlığını tespit edemeyerek (Kipar ve ark., 2005), hastalığın patogenezinde rol alan antijen-antikor komplekslerinden daha farklı olasılıklar üzerinde durmaya başlamışlardır (Takano ve ark., 2011).



Şekil 1.2: Efüsiv form klinik görüntüsü

2.4.2. Efüsiv Olmayan Form (Kuru Form)

Enfeksiyonu alımdan haftalar, hatta aylar sonra, ateş, halsizlik ve iştahsızlık gözlemlenebilir (Hartmann, K., 2010, Pedersen, NC., 2014).

Oküler belirtiler: En yaygın bulgu, irisin renk değişikliği ile seyreden iritis tablosudur ve gözde dumanlı bir görüntü ile karşılaşmaktadır. Retinal hemoraji ve ayrılma, hipertansiyonun belirtisi olabilmektedir (Addie, DD., 2012, Lappin, MR., 2014, Pedersen, NC., 2014).

Nörolojik belirtiler: Opistotonus, ön bacaklarda ekstensiyon, arka bacaklarda fleksiyon, nistagmusu izleyen ataksi ve nöbet belirtileri ile karşılaşılabilir. İrinli olmayan meningitis, açıklanamayan ateş, davranış değişiklikleri, nöbet, paraliz, inkoordinasyon, tremor ve hiperesteziye yol açabilmektedir (Addie, 2012; Diaz ve ark., 2009; Doenges ve ark., 2016).

Kutanöz lezyonlar: Boyun ve lateral göğüs duvarında, çevresi sınırlı intradermal papüller ve kaşıntılı olmayan kutanöz lezyonlar oluşturabilmektedir (Addie, DD., 2012, Lappin, MR., 2014). Kolonik ya da intestinal lokalizasyon: Konstipasyon, kronik ishal ya da kusmaya neden olmaktadır (Addie, DD., 2012, Hartmann, K., 2010).

Neonatal ölümler: Yavrularda erken ölümün en yaygın ikinci nedenidir (Addie, DD., 2012, Diaz JV., Poma R., 2009, Pedersen, NC., 2014).

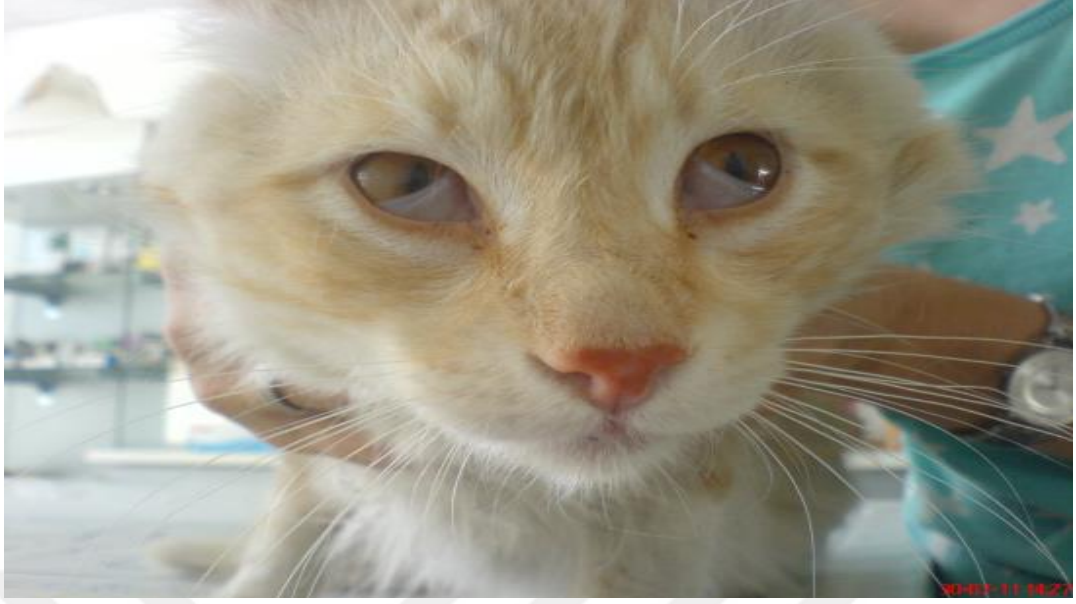
Hastalığın kuru formu, genellikle 10 yaş ve üzeri kedilerde çeşitli organlarda pyogranülatöz lezyonlarla karakterizedir. Bu formun paraneoplastik form olarak da anılmasının sebebi, pleural veya peritoneal dokulardan paraneoplastik doğru ilerleyen lezyonlar gözlenmesidir. Bu formun şekillenmesinde de yine immün sistem etkilidir. Dokulardaki enfekte makrofajlardan salınan kemotaktik faktörler sonucu, enfekte hücreler kedinin hücresel yanıt düzeyine bağlı olarak yangı hücreleri tarafından çevrelenirler (Takano ve ark., 2009). Bu reaksiyon perivasküler bölgelerde yoğunlaşmaktadır. Biriken yangı hücreleri lokal doku nekrozuna ve fonksiyonel yetersizliğe neden olmaktadır. Bu bölgeler zamanla kronik pyogranülatöz lezyonlara dönüşerek lokalize olduğu organın görevini yapamamasına ve organ yetmezliğine sebep olmaktadır. Makroskopik olarak organların paraneoplastik dokularında gri-beyaz nodüller görülmektedir.

Abdominal bölgede önce böbrekler ve mezenterik lenf yumruları, daha az olarak da karaciğer ve diğer lenf yumruları etkilenmektedir. Sekum ve kolonun etkilenmesi ceoco-colic lenfadenopatiye yol açabilmektedir. Buna bağlı olarak ortaya çıkan ülseratif kolitis kuru FIP'in tipik bir bulgusudur. Dışkı kanlı ve mukusla kaplı olarak atılabilmektedir. Pleuranın ve akciğerlerin paraneoplastik lezyonlarının ilerlemesi ile perikardın etkilenmesi sonucu kalp krizi şekillenebilmektedir.

Merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları 2 yaş altı kedilerde seyreden kuru form FIP'te daha sık görülmektedir (Marioni-Henry ve ark., 2004). Omuriliğin etkilenme düzeyine göre ön ayaklarda hissizlik, inkoordinasyon, aşırı duyarlılık,

ataksi ve tremorlar, brachial, trigeminal, fasiyal ve siyatik sinirlerde iletim bozuklukları görülebilmektedir. Beynin choroid ve ependima tabakalarının etkilenmesine bağlı olarak hidrosefalustan, karakter değişikliklerine kadar birçok semptomla rastlanabilmektedir. Cerebellar-vestibular lezyonlar sonucu oluşan nistagmus, kafanın yana yatması, kendi etrafında dönme gibi bulgular şekillenebilmektedir (Holliday, 1971; Marioni-Henry ve ark., 2004; Timmann ve ark.,2008)

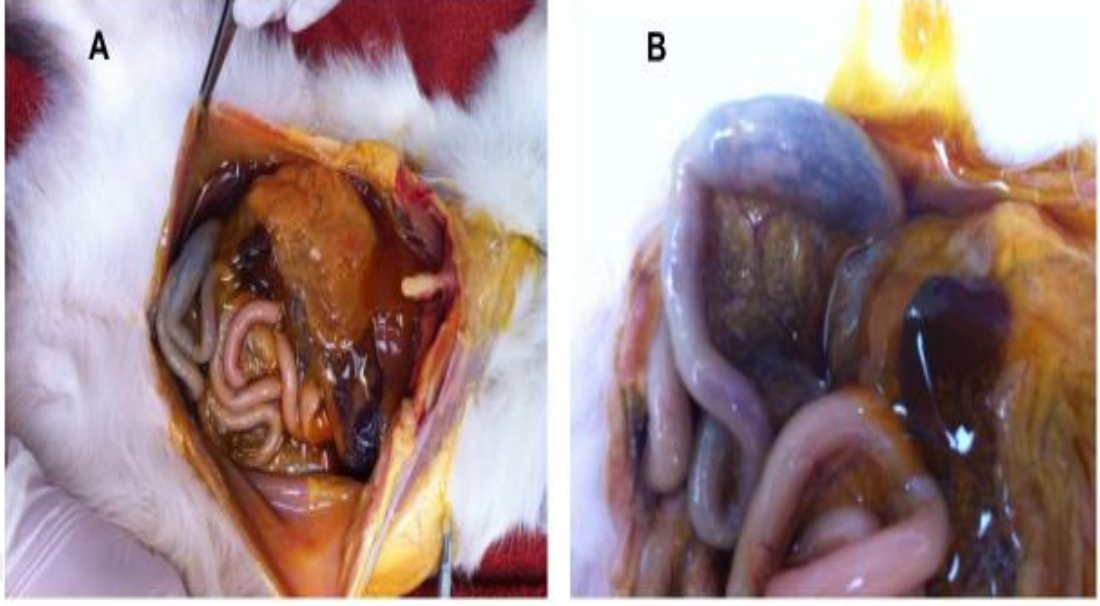
Kuru form FIP'te gözlerde üveitis ve chorioretinitis sonrası irisin renk değiştirmesi enfeksiyonun erken bulguları arasındadır (Slauson ve Finn, 1972). Fibrin, makrofaj ve diğer yangısal hücrelerden kaynaklanan keratik birikimler korneanın arka yüzünde yoğunlaşarak, FIP için karakteristik bir tablo oluşturmaktadır. İristeki granülamatöz lezyonlar ise pupilde şekil değişikliklerine sebep olabilmektedir (Pedersen, 2009). Anhidrozis, enoftalmus, pitozis, miyozis ve heterokromi (gözün iki renginin farklı olması) oluşumuna sebep olan ve üst göz kapağı, pupil, fasiyal ter bezleri ve yüzeysel damarlara giden sempatik liflerde lezyon biçiminde açıklanan "Horner sendromu" (Negrin ve ark., 2010) FIP ile enfekte hayvanlarda görülen önemli bir bulgudur. Bu hastalıkta daha çok tersier göz kapağının kapanması karakteristiktir (Pedersen, 2009). Ayrıca çok yaygın olmamakla birlikte FIP'te papüllü deri lezyonları da rapor edilmiştir (Declercq ve ark., 2008).



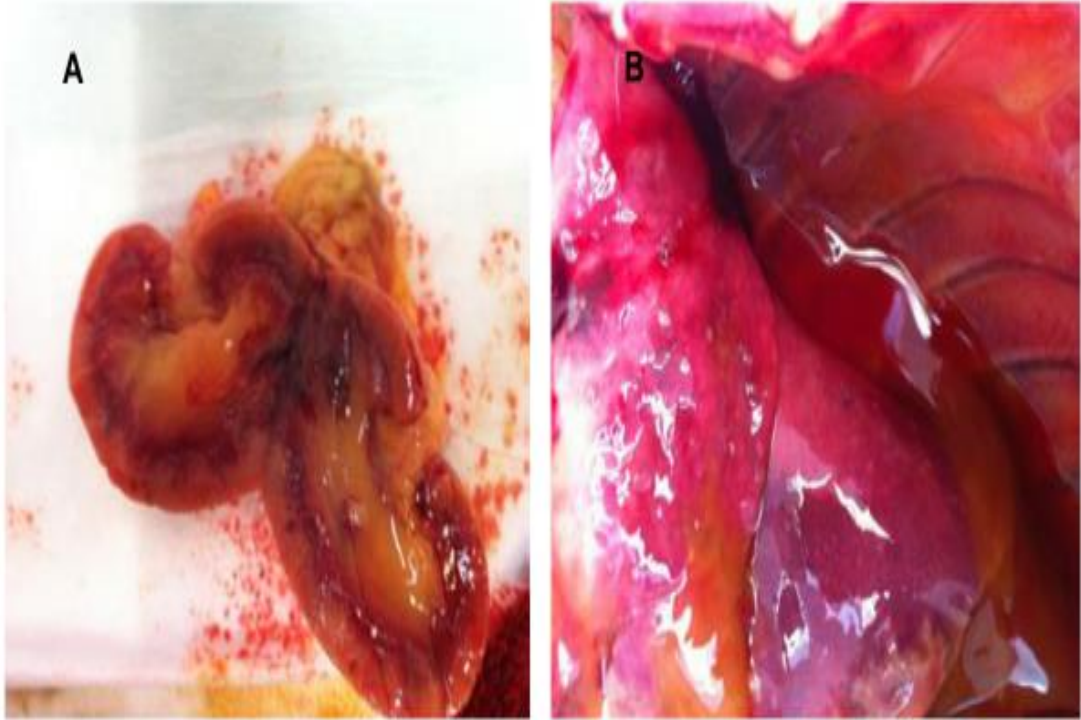
Şekil 1.3. Kuru form FIP'te görülen Horner sendromu (Akın ve ark., 2011)



Şekil 1.4. Şiddetli pleuritis bulunan bir kediden alınan effüzyon sıvısı (FIP pozitif) (Akın ve ark., 2011)



Şekil 1.5. Yaş form FIP'te görülen effüzyon ve fibrin birikimleri (A) , Antijen antikor kompleksine bağlı granülomatöz birikimler (B) (Akın ve ark., 2011)



Şekil 1.6. Böbrekte kanama (A), Dalakta kanama odakları ve granülomatöz lezyonlar (B) (Akın ve ark., 2011)



Şekil 1.7. Gingivitis (Akın ve ark., 2011)

2.5. Tanı

FCoV tanısı için 1960'lerden günümüze birçok test geliştirilmiştir. FIP hastalığının teşhisi için hiçbir yöntem tek başına yeterli olmadığından, tüm testler ve klinik semptomlar birlikte değerlendirilmelidir. Bu sebeple hastalığın patogenezinin anlaşılmasında laboratuvar bulgularının yanısıra klinik bulgularının da değerlendirilmesi önemlidir.

FIP'in 5-10 yaş arası kedilerde insidansı düşüktür. Bunun sebebi bu yaş aralığındaki kedilerde hücresel immün yanıtın iyi düzeyde olmasıdır. FIP'li kedilerde bir immün supresyon bulgusu olan lenfopeni karakteristiktir.

Efüsiv FIP tanısı, klinik muayene temelinde, efüsiv olmayana göre daha kolay konulabilir. Her iki formda da lenfopeni dikkat çekicidir. Kronik inflamasyonla ilişkili non-regeneratif anemi ve trombositopeniye sıklıkla rastlanmaktadır. Serum gamma glubulin seviyesi artmıştır. Efüsiv formda kaviterlerde biriken sıvı temiz, berrak ancak yüksek protein içeren bir sıvı olup sitolojik muayene ve Rivalta testi yapılmalıdır. Rivalta testi için %8'lik asetik

asit 5 ml su ile karıştırılmalı ve içine 1 damla efüzyon sıvısı eklenmelidir. Damla solüsyonda görünmezse test negatiftir, aksine damla kaybolmaz ve tüp içinde yüzmeye devam ederse sonuç pozitif olarak kabul edilmelidir. Serebrospinal sıvı (CSF) muayenesinde, sıvıda artmış protein ve yangı hücresi birikimi yüksek vizkoziteye neden olabilir. Koronavirüsü tespit etmeye yarayan hızlı testlerden antikor seviyesi ölçümü yapanlar, bağırsaktaki koronavirüsün de tespitini yapacağından mutasyona uğramış olanı saptayamaz, bu nedenle tüm dünyada çok sayıda kedi gereksiz yere ötenazi edilmektedir. (Addie, DD., 2012, Hartmann, K., 2010 Lappin, MR., 2014,).

Nekropsi, özellikle FIP enfeksiyonu tanısı için ‘altın standart’ kabul edilmektedir. Diğer tüm testlerde olduğu gibi klinik bulgularla eşleştirilerek kullanılmalıdır. Peritoneal ve pleural boşluklardaki organlarda serozadan paranzime doğru ilerleyen yangısal lezyonlar, pyogranulomatöz değişiklikler, effüzyon ve fibrin birikimi FIP’i çağrıştırmaktadır.

2.5.1. Viral Tanı

Kronik FECV enfeksiyonlarında virus intestinal kanalın yanı sıra diğer organ ve dokularda da immunohistokimyasal ve hatta moleküler yöntemlerle tespit edilebilmektedir (Herrewegh ve ark., 1997; Meli ve ark., 2004). Ancak replikasyonu gösteren mRNA’lar sadece virusun persiste kaldığı yerde bulunmaktadır. Aynen FIPV gibi FECV da kanda monosit ve makrofajlarda bulunabilmektedir.

Virus izolasyonu amacıyla kedi kökenli hücre kültürleri kullanılmaktadır. Bu amaçla felis catus whole fetus-4 (Fcwf-4), Crandell feline kidney (CrFK) gibi hücre hatları kullanıldığı gibi, FCOV ile enfekte hayvanların makrofaj hücre kültürlerinde de virus izolasyonu yapılmaktadır. FCOV serotipleri arasında in vitro üreme kabiliyetleri gibi, enterik ve mutant tipteki virusların üretilme kabiliyetleri de farklılık göstermektedir. Özellikle saha suşlarının üretilmesinde bazı güçlükler ile karşılaşıldığı bildirilmiş olup enterik kökenli olan suşların hücre kültürlerinde üretilmediği, mutant tipteki saha suşlarının ise zorlukla

ürediği ifade edilmiştir (Pedersen, 2009). Hem zaman gerektirmesi hem de yaşanan güçlükler nedeniyle tanı amaçlı virus izolasyonu tercih edilmemektedir.

Direkt tanı amacıyla özellikle effüzyon sıvılarından yapılan yayma preparatlarda direkt immunfloresans ve doku örneklerinde immun peroksidaz testleri tercih edilmektedir. Bu teknikler serotipler arasındaki antijenik yakınlık nedeniyle oluşan çapraz nötralizasyona bağlı olarak, serotiplerin ayırımında sorunlu olmakla birlikte, bu sorun amaca yönelik antikor/konjugatlarının kullanımıyla giderilebilmektedir. Ancak bu yöntemler biyotiplerin birbirinden ayırımına olanak vermemektedir (Hartmann, 2005).

Teknolojinin gelişmesiyle çok çeşitli PCR teknikleri FCoV tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Moleküler olarak FECV ve FIPV birbirinden henüz ayrılmaya da bu mutasyonları bulmayı hedefleyen pek çok sayıda PCR, araştırmacılar tarafından ortaya konulmaya devam etmektedir. Bu amaçla; korunaklı ve korunaklı olmayan bölgelere spesifik primerlerin kullanıldığı çok sayıda PCR türü bulunmaktadır. En çok kullanılan nested PCR olup, sensitivitesi ve spesifitesi diğerlerine göre daha yüksek olduğu için yaygın kullanım alanı bulmuştur. 3' UTR bölgesi (Herrewegh ve ark, 1995), ORF1ab, 3abc, 7b (Brown ve ark., 2009), M (Brown ve ark., 2009) ve S (Simons ve ark., 2005) bölgelerine yönelik PCR'lar geliştirilmiş olup, hepsinin birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur.

FECV ve FIPV'lerinin her ikisinin de kan hücrelerinde tespit edilebilmesi sebebiyle araştırmacılar sayısal, matematiksel, orantısal, kantitatif bir replikasyonun üzerinde durmaya başlamışlardır. 7b (Gut ve ark., 1999, Hornyak ve ark., 2012, Dye ve ark., 2008) genleri kullanılarak real-time PCR teknikleri geliştirilmiştir.

Ayrıca günümüzde virusun arzu edilen gen bölgelerinin sekans analizlerinin yapılabilirliği, filogenetik analiz imkanını sunmaktadır. Bunun sonucunda FCoV'larda serotip ayırımı yapılabilen, diğer hayvan türlerini

etkileyen coronaviruslar ile evrimsel benzerlik ve farklılıkları moleküler düzeyde ortaya konabilmektedir.

2.5.2. Serolojik Tanı

FCoV'ların serolojik tanısında kullanılmakta olan birçok ELISA tekniği bulunmaktadır. Bunlardan bazıları 7b geni proteinini hedeflerken, bazıları viral glikoproteinleri hedeflemektedir. 7b'nin önceleri sadece FEC virusunda bulunduğu düşünülmüş (Vennema ve ark., 1998) ancak ilerleyen teknikler ile tüm virus suşlarında varlığı tespit edilmiştir. Son yıllarda geliştirilen yeni ELISA kitleri tüm viral glikoproteinleri hedefler şekilde dizayn edilmiş olmakla birlikte, her iki biyotipi birbirinden ayırmada yetersiz kalmaktadırlar. Araştırmacılar bu noktada antikor varlığından ziyade, antikor titrelerini önemsemişlerdir. Düşük titrede antikora sahip kedilerde Enterik Coronavirus ile enfeksiyon olasılığından bahsedilmekteyken, daha yüksek titredeki antikor varlığında asemptomatik/septomatik FIP enfeksiyonundan söz etmek mümkün olabilmektedir (Pedersen, 2009).

Serolojik yöntemlerden virus nötralizasyon testi, indirekt immun floresans testi (indirekt IFA) ve ELISA'nın enfeksiyonun teşhisinde karşılaştırmasını yapan araştırmacılar; ELISA'nın FCoV'ların hepsini serotip ayrımı (serotip 1 ve 2) yapmaksızın pozitif bulması sebebiyle hassasiyetinin daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir (Pratelli, 2008).

FCoV enfeksiyonunun serolojik tanısında kullanılan virus nötralizasyon testi "altın standart" olup, bu testlerle hem enfeksiyon varlığının belirlenmesi ve hem de serotip ayrımı yapılmaktadır. Ancak her iki serotipte de hem FECV hem de FIP virusu ile enfeksiyon mümkün olduğundan, bu test ile de biyotip tayini yapılamamaktadır (Shiba ve ark., 2007). Özellikle S proteininin nötralizan antikor yapımını uyarması sebebiyle test edilen antikorların çoğu S glikoproteinini epitoplara özgüdür. Ayrıca hücre kültürüne adapte virus üretimi gerektirdiğinden virus nötralizasyon testlerinin uygulanabilmesi için uygun ve deneyimli bir laboratuvar ortamı gereksinimi bulunmaktadır.

2.5.3. Hematolojik Bulgular

FCoV enfeksiyonlarında hematolojik ve klinik biyokimya bulguları oldukça değişkendir. Kandaki ilk bulgular lökositoz şeklindedir, sonraları nötrofil sayısında düşüş görülmektedir. Orta düzeyde lökopeni de gözlemlenebilmektedir. Kan serumunda özellikle alanine transaminase (ALT), glutamat-dehydrogenase (GLDH), sıklıkla aspartate transaminase (AST), alkalen phosphatase (ALP) ve bilirubin değerleri yükselir (McReynolds ve Macy, 1997). Böbrek bozukluklarında üre ve kreatinin kan plazma konsantrasyonları oldukça yüksektir.

Albumin/globulin (A/G) oranlarının değerinin ≥ 0.8 olması, yaş form FIP için karakteristik bulgudur. Effüzyon sıvısındaki A/G ≤ 0.4 ise FIP olma ihtimalinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Shelly ve ark. 1988).

Planlanan bu araştırmada farklı ırk, cinsiyet, yaş ve sosyal çevrede bulunan klinik bulgu gösteren veya göstermeyen, altı ay yaşdan büyük, söz konusu enfeksiyona karşı aşılanmamış kedilerde (sahipli/sahipsiz) Feline Coronavirus (FCoV) enfeksiyonunun virolojik ve serolojik varlığının tespit edilmesi ve söz konusu hastalığın yaygınlığı hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu hastalıkla ilgili elde edeceğimiz verilerin ölkemiz ve dünya literatür bilgilerine de katkı sağlanacağı düşünölmektedir.

Elde edilecek veriler ışığında, kedilerde FCoV enfeksiyonunun varlığı/yaygınlığı belirlenmesi ile enfeksiyon ile mücadele konusunda bilimsel yaklaşımda bulunulacak ve hayvan sağlığının korunması sağlanacaktır. Bu sayede hayvanların tedavi giderleri azaltılarak sahiplerine ekonomik katkı da sağlanmış olacaktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırmada Örneklenen Hayvanlar

Planlanan bu araştırmada, Antalya ve Burdur illerindeki kliniklere gelen farklı ırk, cinsiyet, yaş ve sosyal çevrede bulunan, klinik bulgu gösteren veya göstermeyen kedilerde Feline Coronavirus (FCoV) enfeksiyonu virolojik ve serolojik olarak çalışılmıştır. Bu amaçla klinik semptom gösteren veya göstermeyen, söz konusu enfeksiyona karşı aşılanmamış sahipli 60 kediden steril kaplara/tüplere dışkı ve kan numuneleri toplandı.

Bu araştırmanın yapılabilmesi için gerekli izin, Burdur İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'nden alındı (Tarih: 03.09.2019, Sayı: 71037622-325.04.02-E.2656969).

Araştırmada Kullanılan Örneklerin Toplanması

Araştırmada kullanılan kan numuneleri *vena cephalica antebrachii*'den steril koagulanlı tüplere, dışkı örnekleri ise rektumdan usulüne uygun şekilde dışkı numune kaplarına alınarak soğuk zincir şartlarında laboratuvara getirildi. Kan numuneleri 3000- 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan serum kısmı steril ependorflara aktarılarak test aşamasına kadar -80°C'de, dışkı numuneleri ise yine aynı şartlarda test aşamasına kadar -80°C'de saklandı.

Antalya ve Burdur illerindeki kliniklerden alınan, farklı ırk ve cinsiyetteki kedi kan numunelerinin 24'ü erkek, 36'sı dişi toplam 60 kediden örnekleme yapıldı (Tablo 3.1.). Numune alınan kedilerin yaşları 6 ay ile 15,5 yaş aralığındaydı. Örnekleme sırasında klinik semptom gösteren hayvanların hangi bulgular gösterdikleri ayrıntılı bir şekilde kaydedildi ve sahipli hayvanların sahiplerinden alınan anamnez bilgileri doğrultusunda kayıtlar tutuldu.

3.2. Yöntem

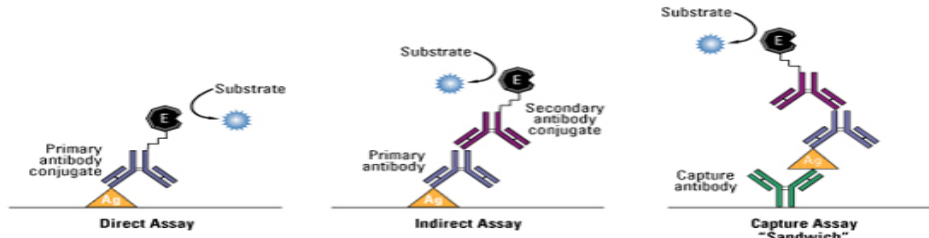
3.2.1. İndirekt ELISA Yöntemi

Kedilerden alınan kan numunelerinden elde edilen serumlarda, ELISA yöntemi kullanılarak FCoV'a karşı oluşan spesifik antikorların varlığı araştırıldı. Bu amaçla AGROLABO ticari firmasının ürettiği FCoV Ab ELISA 96 test kiti kullanıldı. Üretici firmanın bildirdiği prosedüre uygun olarak test yapıldı ve sonuçlar spektrofotometrik olarak absorbans değerleri okunmak suretiyle değerlendirildi.

Test, dolaylı bir enzim bağlantılı immünosorbent tahlili (indirek ELISA) olarak gerçekleştirildi. Kan serum numuneleri FCoV antijeni ile kaplı mikrotitrasyon pleytlerinin gözlerine konulmaktadır. Kan serumu örneği, viruse karşı spesifik antikorlar içerdiğinde, mikro kuyucuklarda adsorbe edilen FCoV antijeni ile bağlanır. Sonraki aşamada bağlanmamış, spesifik olmayan reaktanların uzaklaştırılması için yıkama işlemi gerçekleştirilir. Bunu takiben FCoV antikorları ile kompleks oluşturabilen HRP (Horseradish Peroxidase) konjugatı ortama ilave edilir. Substrat (TMB 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine) solüsyonu eklenmeden önce yıkama işlemi yapılarak ortamdaki bağlanmamış antikorlar uzaklaştırılır. Test serumlarında spesifik FCoV immüno globulinleri mevcutsa, konjugat, viral antijeni içeren kuyucuklara bağlanır ve enzim katalize uğrar, renksiz kromojen pigmentli bileşiğe dönüşür. Daha sonra reaksiyon stop solüsyonu eklenerek durdurulmakta ve sonuçlar fotometrik olarak (fotometrede 450 nm) pleytin her bir kuyucuğunun optik dansitesi (OD) ölçülerek kantitatif değerler elde edilir.

İndirekt ELISA yönteminin temel olarak çalışma prensibini incelediğimizde, direkt ELISA'dan farklı olarak burada iki farklı antikor kullanılır. Birincisi primer antikor olarak adlandırılır ve katı faza sabitlenen antijenlere spesifiktir. İkincisi sekonder antikordur ve enzim işaretli olup primer antikora bağlanır (konjugat). Bu yöntemde saptanmak istenen molekül serum veya herhangi bir çözelti içerisindeki antikorlardır. Doksan altı kuyucuklu sabit

faz antijen ile kaplanır. Blok tampon çözelti ile bağlanmamış bölgeler doyurularak bloke edilir. Daha sonra ortama test edilmek istenen örnek eklenir ve bu örnek içerisinde bulunan primer antikörlerin yüzeyde bulunan antijenler ile bağlanması sağlanır. Belirli bir süreden sonra bağlanmayan primer antikörlerin ortamdan uzaklaştırılması için yıkama yapılır. Primer antikora spesifik, enzim ile işaretlenmiş sekonder antikör kuyucuklara eklenir. Belirli bir süreden sonra bağlanmayan sekonder antikörlerin ortamdan uzaklaştırılması için yıkama işlemi tekrarlanır. Kullanılan enzimin substratı ortama eklenerek renk oluşumu gözlenir ve spektrofotometrik olarak tayin edilir. Bu yöntemde sekonder antikora bağlı bulunan enzim genellikle HRP'dir ve enzim-substrat etkileşimi ortama kemiluminesan substrat (ECL) eklenerek gözlemlenir. Diğer bir seçenekte ise primer antikora bağlanan biotin ve sekonder antikora bağlanan streptavidin molekülleri kullanılır. Streptavidin molekülü biotine güçlü bir şekilde bağlanır. Her iki durumda da substratlar, kuyucukların içinde bulunan antikör miktarına doğrudan karşılık gelen ölçülebilir bir renk değişimi oluştururlar (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. ELISA yöntemlerinin şematize görüntüsü (Anonim, 2022a)

Kullandığımız ELISA kitinin içeriği; FCoV antijen ile kaplanmış pleyt, peroksidaz konjugat (100X), pozitif kontrol serum, negatif kontrol serumu, sera diluent, yıkama solüsyonu (10X), stop solüsyonu ve substrat solüsyonundan oluşmaktadır.

Test, üretici şirketin (AGROLABO) bildirdiği kit prosedürüne uygun şekilde yapıldı. Buna göre kan serumu numuneleri ve test kiti reaktifleri

uygulama öncesi oda ısısına çıkarılarak 30-45 dakika tutulduktan sonra kısa bir vorteks yapıldılar.

Test sırasında pleyt kuyucuklarının yıkanmasında kullanılacak olan konsantre yıkama solüsyonu 1/10 oranında olacak şekilde distile su ile sulandırılarak yeteri miktarda hazırlandı.

Kullanılacak pleytler usulüne uygun olarak ambalajlarından çıkarılarak numaralandırıldı. Mikropleytin A1 kuyucuğuna 100 µl pozitif kontrol, A2 kuyucuğuna 100 µl negatif kontrol ve çalışılacak diğer kuyucuklara 1/200 oranında sera diluentle sulandırılmış kan serumu numunelerinden 100 µl eklendi. Mikropleyt, üzeri yapışkan bir filmle kapatılarak oda ısısında 30 dak. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda pleytin tüm kuyucukları 1/10 distile ile sulandırılmış yıkama solüsyonu (300 µl) ile 4 kez tekrarlanarak yıkama yapıldı. Daha sonra 1/100 oranında prosedüre uygun olarak diluent solüsyonu ile sulandırılmış konjugatdan pleytin bütün kuyucuklarına 100 µl olacak şekilde eklendi ve üzeri yapışkan bir film tabaka ile kaplanarak oda ısısında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi bittikten sonra yıkama işlemi tekrarlandı ve daha sonra kuyucuğun herbirine 100 µl substrat solüsyonu eklenerek oda ısısında 5 dakika inkübe edildi. Süre sonunda, her göze 100 µl stop solüsyonu ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve ELISA pleytleri, 450 nm dalga boyunda filtrenin kullanıldığı ELISA okuyucusunda (Mindray MR-96A, Hamburg-Almanya) değerlendirildi. Elde edilen absorbans değerleri kitin protokolünde belirtildiği şekilde hesaplandı.

3.2.2. FCoV Ag Rapid testi

Toplanan dışkı örneklerinde FCoV'a spesifik antijenlerin tespiti amacıyla ticari Rapid FCoV Ag test kiti kullanıldı. Test, üretici firmanın bildirdiği prosedüre göre yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi. Testin Ticari ismi ASAN EASY Test FCoV Ag Feline Coronavirus Antijen Test'dir. Aşağıda testin yapılışını ve yorumlanması gösteren tablolar bulunmaktadır (Şekil 3.2) (Şekil 3.3).



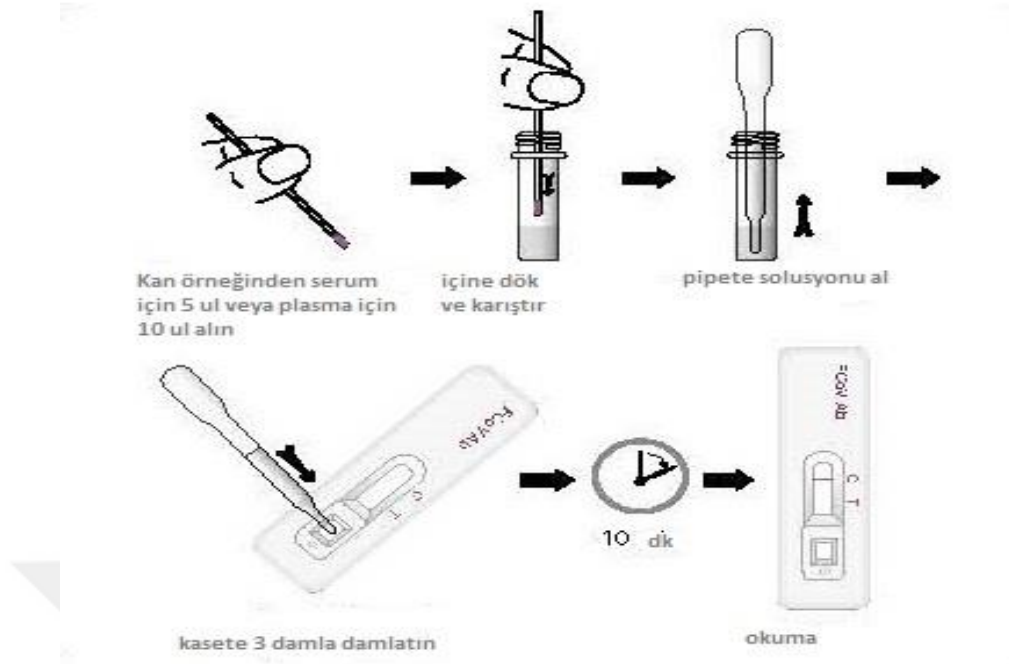
Şekil 3.2. FCoV Ag rapid test prosedürünün görseli (Anonim, 2022b).



Şekil 3.3. Rapid FCoV Ag testinin yorumlanması (Anonim, 2022b).

3.2.3. FCoV Ab rapid testi

Toplanan kan serumu örneklerinde FCoV'a spesifik antikorların tespiti amacıyla ticari Rapid FCoV Ab test kiti kullanıldı. Test, üretici firmanın bildirdiği prosedüre göre yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi. Testin Ticari ismi ASAN EASY Test FCoV Ab Feline Coronavirus Antikor Test'dir. Asan Easy Test® FCoV Ab, kedilerin serum, plazma veya tam kanında Feline Corona virus'a karşı gelişmiş antikorun hızlı ve kantitatif olarak tespiti için immunokromatografik bir test kitidir (Şekil 3.4) (Şekil 3.5).



Şekil 3.4. FCoV Ab rapid test prosedürünün görseli (Anonim, 2022c).



Şekil 3.5. FCoV Ab rapid test sonucunun değerlendirilme görseli (Anonim, 2022a)

3.2.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

ELISA yönteminin geçerliliği; negatif kontrol optik dansite (OD_{NC}) değerinin 0.600'den büyük (>0.600) ve pozitif kontrol optik dansite (OD_{PC}) değerinin negatif kontrol optik dansite (OD_{NC}) değerine oranının 0.500'den küçük (<0.500) olmasına bağlıdır.

$$(OD_{PC}) \div (OD_{NC})$$

Örneklerin değerlendirilmesinde; örneğin konduğu kuyucuğun optik dansite (OD_{Sample}) değeri negatif kontrol optik dansite (OD_{NC}) bölünerek 100 ile çarpıldı ve test prosedürüne göre sonuçlar değerlendirildi. Bu işlem her örnek için ayrı ayrı hesaplandı ve kit protokolünde belirtilen değerlere göre her bir örneğin durumu tespit edildi (pozitif/negatif).

$$S/N \% = (OD_{\text{Sample}} \div OD_{\text{NC}}) \times 100$$

Sonuçların yorumlanması; numunenin doğrulanmış OD değeri negatif kontrol OD değerinin 4 katı şeklinde hesaplanan cut-off değerinin altında bir sonuç veriyorsa negatif, cut-off değerinin üzerindeki değerler ise pozitif olarak kabul edildi.

Rapid FCoV Ag test prosedüründe, kedi dışkı numunelerinden yapılan testteki değerlendirmede test kontrol çizgisinin yanında testin pozitif çıktığını gösteren antijen varlığı çizgisi ile dışkıda antijen varlığı belirlendi ve numuneler FCoV spesifik antikor pozitif olarak kabul edildi.

Rapid FCoV Ab test prosedüründe, kedi serum numunelerinden yapılan testteki değerlendirmede kontrol testi çizgisinin yanında testin pozitif çıktığını gösteren antikor varlığı çizgisi ile kanda antikor varlığı belirlendi ve numuneler FCoV açısından pozitif olarak kabul edildi.

3.2.5. İstatistik Değerlendirme

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 21 paket programı kullanılarak yapıldı (IBM SPSS Software, USA). ELISA ve Rapid Test Ab/Ag kullanılarak kan serumu ve dışkı örneklerinde yapılan analizler sonucunda dişi ve erkeklerde farklı yaş gruplarında belirlenen pozitiflik oranlarındaki farklılıkların istatistiksel önemini belirlemek için Ki-Kare (chi-square $-\chi^2$) testi kullanıldı. Yine rapid test-antikor ve ELISA ile belirlenen pozitif oranlarındaki farklılığında istatistiksel önemi Ki-Kare testi ile araştırıldı. Sonuçta $P < 0,05$ değeri ile elde edilen veriler anlamlı (önemli) olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırmada indirekt ELISA teşhis yöntemiyle analiz edilen 60 kedi kan serumunda FCoV enfeksiyonunun seroprevalans oranı %68,33 (41/60), FCoV antikor rapid test yöntemiyle ise seroprevalans oranı %35 (21/60) olarak tespit edildi. Aynı kedilerden alınan dışkı örneklerine uygulanan FCoV antijen rapid test ile de FCoV antijen oranı %1,67 (1/60) olarak belirlendi. Numunelere ait optik dansite değerleri aşağıdaki tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Kan ve dışkı örnekleri toplanan kedi numunelerinin bilgileri ve test sonuçları

No	Hayvanın Adı	Cinsiyet	Yaş	Irk	Rapid Rapid ELISA			Klinik	
					Test Ag	Test Ab	Ab	Görünüm (Islak FIP)	Semptomlar
1	Tonik	E	6 Ay	Scottish	-	+	+	+	asites
2	Lego	E	6 Ay	Tekir	-	-	-	-	diare
3	Boncuk	D	2 Yaş	Tekir	-	+	+	-	sinirsel sem.
4	Mia	D	5 Yaş	Tekir	-	+	+	-	sinirsel sem.
5	Hera	D	1 Yaş	Sarman	-	+	+	+	asites
6	Kızım	D	7 Ay	Sarman	+	+	+	+	diare
7	Harley	D	3 Yaş	Tekir	-	-	-	-	diare
8	Gece	D	1 Yaş	British	-	-	-	-	diare
9	Maske	D	5 Yaş	Tekir	-	-	-	-	diare
10	Ampüte	E	4 Yaş	Birman	-	-	-	-	sinirsel sem.
11	Yavru Ali Bey	D	6 Ay	Tekir	-	+	+	-	diare
12	Kızım	D	12 Yaş	3 Renk	-	-	-	-	diare
13	Behlül	E	1 Yaş	British	-	+	-	+	asites
14	Talya	D	2 Yaş	Chincila	-	-	-	-	diare
15	Vita	D	3 Yaş	Tekir	-	+	-	-	diare
16	Merkür	E	3 Yaş	Tekir	-	+	-	-	sinirsel sem.
17	Jr İnek	E	1 Yaş	Smokin	-	-	-	-	diare
18	Minik	D	2 Yaş	Scottish	-	-	+	-	irititis
19	Oscar	E	3 Yaş	Tekir	-	+	-	+	asites
20	Kızım	D	7 Ay	Tekir	-	-	+	-	diare
21	Lupin	D	7 Ay	Sarman	-	+	+	-	sinirsel sem.
22	Bal	E	2 Yaş	British	-	+	+	-	diare
23	Çorap	E	3 Yaş	Chincila	-	+	+	-	sinirsel sem.
24	Ptır	D	3 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
25	Arap	E	1 Yaş	Tekir	-	+	+	-	diare
26	Patron	E	2 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
27	Tontik	D	1 Yaş	Tekir	-	-	+	-	kusma
28	Melek	D	6 Ay	Tekir	-	-	+	-	diare
29	Benek	E	2 Yaş	Tekir	-	-	+	-	halsizlik
30	Maya	D	3 Yaş	British	-	+	+	+	asites
31	Mercimek	E	9 Ay	Tekir	-	-	+	-	diare

Tablo 4.1. (Devam) Kan ve dışkı örnekleri toplanan kedi numunelerinin bilgileri ve test sonuçları

32	Doha	E	15 Ay	Siyam	-	-	+	-	kusma
33	Kaju	D	2 Yaş	Scottish	-	-	+	-	diare
34	Minnak	D	4 Yaş	British	-	-	+	-	diare
35	Mia	D	6 Ay	Tekir	-	-	+	-	şiddetli ateş
36	Tarçın	E	8 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
37	Patiş	E	3 Yaş	Sarman	-	-	+	-	diare
38	Çolak	E	14 Ay	Chincila	-	-	+	-	sinirsel sem.
39	Pinky	D	7 Ay	Tekir	-	-	+	-	diare
40	Aşk	D	2 Yaş	Scottish	-	-	+	-	kusma
41	Toffie	D	2 Yaş	Chincila	-	-	-	-	diare
42	Sakura	D	1.5 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
43	Misaka	D	1.5 Yaş	Tekir	-	-	+	-	sinirsel sem.
44	Jovi	D	2 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
42	Sakura	D	1.5 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
43	Misaka	D	1.5 Yaş	Tekir	-	-	+	-	sinirsel sem.
44	Jovi	D	2 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
45	Kabak	D	5 Yaş	Tekir	-	-	-	-	kusma
46	Dadan	D	3 Yaş	Tekir	-	+	+	+	asites
47	Susuz	E	5.5 Ay	Tekir	-	+	+	+	asites
48	Çakmak	D	7 Ay	Tekir	-	-	+	-	diare
49	Dadan	D	1 Yaş	Tekir	-	+	-	-	diare
50	Aytop	E	5 Yaş	Tekir	-	+	+	-	sinirsel sem.
51	Mercimek	D	1 Yaş	Tekir	-	-	+	-	diare
52	Turşu	D	1 Yaş	Tekir	-	-	-	-	halsizlik
53	Bilgin	E	1.5 Yaş	Tekir	-	-	-	-	kusma
54	Max	E	9 Yaş	Tekir	-	-	-	-	şiddetli ateş
55	Batu	E	1.5 Yaş	Tekir	-	+	+	-	diare
56	Aytop 2	D	1 Yaş	Tekir	-	+	+	-	diare
57	Aytop 3	E	7 Ay	Tekir	-	-	+	-	diare
58	Feyza	E	15.5 Yaş	Tekir	-	-	-	-	diare
59	Değerli	E	3 Yaş	Tekir	-	-	+	+	asites
60	Şahine	D	1.5yaş	Scottish	-	-	+	-	sinirsel sem.

D: Dişi, E: Erkek

Tablo 4.2. Optik dansite bulguları

Pozitif Kontrol OD	1.933	-
Negatif Kontrol OD	-	0.147
Cut Off Değeri	0.588	
Numune No	Pozitif	Negatif
1	1.133	
2		0.189
3		0.216
4	0.637	
5	0.894	
6		0.072
7	1.032	
8		0.224
9		0.191
10		0.397
11		0.507
12		0.435
13		0.550
14	1.807	
15		0.239
16		0.450
17		0.106
18	1.119	
19	1.454	
20	1.066	
21	1.495	
22	0.797	
23	1.394	
24	1.802	
25	1.591	
26	1.047	
27	1.929	
28	2.126	
29	1.830	
30	1.014	
31	1.462	
32	1.418	
33	1.220	
34	1.831	
35	1.966	
36	1.177	
37	1.231	
38	2.217	
39	1.788	

Tablo 4.2. (Devam) Optik dansite bulguları

40	2.035	
41		0.146
42	1.867	
43	1.664	
44	0.645	
45		0.258
46	1.545	
47	1.770	
48	0.835	
49		0.141
50	1.080	
51	1.272	
52		0.106
53		0.057
54		0.398
55	0.758	
56	2.007	
57	1.352	
58		0.376
59	1.164	
60	1.295	

Çalışmada ELISA yöntemiyle tespit edilen FCoV antikor pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımına baktığımızda, erkek kedilerde %64 (16/25), dişi kedilerde ise %71,42 (25/35) oranında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.3. Kedilerde ELISA yöntemiyle tespit edilen FCoV seropozitifliğin cinsiyete göre dağılım oranları

Cinsiyet	Örnek Sayısı (n)	FCoV Ab			
		n (+)	%	n (-)	%
Erkek	25	16	%64	9	%36
Dişi	35	25	%71,43	10	%28,57
Toplam	60	41	%68,33	19	%31,67

Ab: Antikor

Tez çalışmamızda FCoV antikor rapid test yöntemiyle kedilerde belirlenen antikor pozitifliğinin erkek kedilerde %40 (10/25), dişi kedilerde ise %31,43 (11/35) oranında olduğu belirlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.4. Kedilerde FCoV antikor rapid test yöntemiyle tespit edilen FCoV seropozitifliğin cinsiyete göre dağılım oranları

Cinsiyet	Örnek Sayısı (n)	FCoV Ab			
		n (+)	%	n (-)	%
Erkek	25	10	%40	15	%60
Dişi	35	11	%31,43	24	%68,57
Toplam	60	21	%35	39	%65

Ab: Antikor

Araştırmamızda FCoV antijen rapid test tekniğiyle analizlerini yaptığımız 60 dışkı örneğinden sadece 7 ay yaşındaki dişi bir kediye ait numunede antijen pozitifliği (%1,67) tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.5. Kedilerde FCoV antijen rapid test yöntemiyle tespit edilen FCoV antijen pozitifliğin cinsiyete göre dağılım oranları

Cinsiyet	Örnek Sayısı (n)	FCoV Ag			
		n (+)	%	n (-)	%
Erkek	25	0	0	25	100
Dişi	35	1	2,86	34	97,14
Toplam	60	1	1,67	59	98,33

Ag: Antijen

Araştırmada indirekt ELISA kullanılarak kedilerde tespit edilen FCoV seropozitifliği 6 ay-1 yaş arası kedilerde %73,91 (17/23), 2 yaşındaki kedilerde %82,35 (14/17), 3 yaşındaki kedilerde %60 (6/10), 4 yaşındaki kedilerde %50 (1/2), 5 yaşındaki kedilerde %50 (2/4), 6 ve üzeri yaşlı kedilerde ise %25 (1/4) oranlarında bulunduğu belirlendi (Tablo 4.4).

Tablo 4.6. ELISA sonucunda tespit edilen FCoV seropozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Örnek sayısı (n)	FCoV Ab			
		n (+)	%	n (-)	%
6 ay-1 yaş	23	17	73,91	6	26,1
2	17	14	82,35	3	17,65
3	10	6	60	4	40
4	2	1	50	1	50
5	4	2	50	2	50
≥ 6	4	1	25	3	75
Toplam	60	41	68,33	19	31,67

Ab: Antikor

Tez çalışmasında rapid test yöntemi ile FCoV antikor pozitif oranının kedilerde yaşlara göre dağılımına baktığımızda, 6 ay-1 yaş arası kedilerde %43,48 (10/23), 2 yaşındaki kedilerde %17,65 (3/17), 3 yaşındaki kedilerde %60 (6/10), 4 yaşındaki kedilerde %0 (0/2), 5 yaşındaki kedilerde %50 (2/4) ve 6 ve üzeri yaşlı kedilerde ise %0 (0/4) oranında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.7. Rapid test (antikor) sonucunda tespit edilen FCoV seropozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Örnek sayısı (n)	FCoV Ab			
		n (+)	%	n (-)	%
6 ay-1 yaş	23	10	43,48	13	56,52
1-2	17	3	17,65	14	82,35
3	10	6	60	4	40
4	2	0	0	2	100
5	4	2	50	2	50
≥ 6	4	0	0	4	50
Toplam	60	21	35	39	65

Araştırmamızda rapid test (antijen) yöntemiyle sadece 7 ay yaşda bulunan dişi bir kedide FCoV antijen varlığı tespit edilmiştir. Antijen pozitif bulunan bu hayvan klinik görünüm olarak FIP ıslak formunu göstermekteydi ve

indirekt ELISA ile rapid test (antikor) yöntemleriyle de seropozitif olduğu belirlendi (Tablo 4.6).

Tablo 4.8. Rapid test (antijen) sonucunun örneklemdaki yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Örnek Sayısı (n)	FCoV Ag			
		n (+)	%	n (-)	%
6 ay-1yaş	23	1	4,35	22	95,65
1-2	17	0	0	17	100
3	10	0	0	10	100
4	2	0	0	2	100
5	4	0	0	4	100
≥ 6	4	0	0	4	100
Toplam	60	1	1,67	59	98,33

Ag: Antijen

4.5. İstatistik Değerlendirme Sonuçları

Çalışmamızda hayvanlardan alınan kan örneklerinden ELISA ile yapılan analizler sonucunda seropozitif-seronegatif değişimde dişi ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2= 0,372$; $P=0.542$). Kan örneklerinde Rapid antikor testi ile yapılan analizde ($\chi^2= 0,471$; $P>0.05$) ve dışkıda yapılan Rapid antijen testinde dişi ve erkeklerde belirlenen seropozitif değerler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($\chi^2= 0,726$; $P>0.05$). Yine hem antikor hem de antijen pozitif oranlarının genel yaş gruplarındaki dağılımlarının istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($P>0,05$) tespit edildi. Ancak ELISA ile tespit ettiğimiz seropozitifliğin 2 yaş ve altı ile 3 yaş ve üstü olarak istatistik değerlendirilmesinde anlamlı ($P<0,05$) farklılığın olduğu belirlendi ($\chi^2= 4,660$; $P=0.031$). Araştırmamızın temelini oluşturan Rapid antikor test ile ELISA sonuçlarındaki seropozitif değerlerin istatistiksel analizinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı $P<0,001$ fark bulunmuştur ($\chi^2= 13,348$).

5. TARTIŞMA

Coronavirüsler hem insanlarda hem de hayvanlarda hafiften başlayıp son derece şiddetli ve öldürücü enfeksiyonlara kadar değişen bir hastalık tablosu şekillendirebilmektedir. Bu etkenin mutasyon kabiliyeti ve türler arasında bulaşma yeteneğinin olması nedeniyle bu virusa karşı koruma/korunma ve kontrol yöntemlerinin uygulanması oldukça güçtür. Son zamanlarda insanlarda coronavirus kaynaklı olarak ortaya çıkan Middle East Respiratory Sendrome (MERS), Severe Acute Respiratory Sendrome (SARS) ve Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-COV-2 / COVID-19) enfeksiyonları ile bu virus familyası dikkatleri üzerine çekmiş ve halk sağlığı yönünden ciddi bir risk oluşturduğunun farkına varılmıştır.

Feline Coronavirus (FCoV) enfeksiyonları dünya genelinde yabani ve evcil kedilerde şekillenen oldukça bulaşıcı bir viral hastalıktır. Kedilerin, özellikle toplu olarak barındığı bölgelerde (kırsal bölgeler, sokaklar, barınaklar vb.) oldukça yaygındır. Enfeksiyon, genç ya da erişkin ayırt etmeksizin, her yaş grubundaki kedilerde görülür. Etken kedilerde enterit ve kilo kaybı başta olmak üzere çeşitli klinik semptomlar oluşturmaktadır. Bazı durumlarda FCoV ile enfekte kediler hafif bir enfeksiyon tablosu ile hastalığı geçirip yıllarca yaşayabilmektedir. Ancak hastalık feline infeksiyöz peritonitise (FIP) dönüşerek klinik belirtiler ortaya çıktığında, mortalite oranı belirgin şekilde yükselir (Pedersen, 2014). Virüsün henüz tam olarak bilinmeyen bir nedenle mutasyon geçirmesiyle FIP hastalığı meydana gelir. FIP enfeksiyonu temelde kuru form ve yaş form olmak üzere iki çeşit klinik seyir gösterir. FIP hastalığının tanısı anamnez, klinik semptomlar, fiziksel muayene, laboratuvar test sonuçları ve görüntüleme teknikleri ile konulmaktadır. Hastalığın teşhisini ve klinik seyrini destekleyecek klinik bulgular arasında karın boşluğunda aşırı vizköz sıvı birikimi ile karakterize eksudatif asites, plevral efüzyonlu dispne, ikterus, hiperalbumemi, hiperbilirubinüri, böbreklerde ve/veya mezenterik lenf düğümlerinde fark edilebilir kitleler, bazı nörolojik belirtilerin görülmesi sayılabilir (Tasker, 2018). Bununla birlikte mortalite oranının yüksekliği göz

önüne alındığında hem veteriner hekimler hem de hasta sahipleri için kesin laboratuvar tanı yöntemlerinin varlığı önem arz etmektedir.

Bu amaçla teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi, araştırılması ve güvenilirliği üzerine yoğun olarak çalışılmaktadır. Enfeksiyonda doğru bir teşhis koyulabilmesine yönelik süreçte klinik semptomların değerlendirilmesinin yanında; virolojik, serolojik ve moleküler teknikler ile histopatolojik değerlendirmeler yer almaktadır (Tasker, 2018; Zhao ve ark., 2019). Bu yöntemlerin yanı sıra günümüzde FCoV antikörlerini ve antijenlerini tespit etmek için hızlı immun test kitleride geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur. Ancak yapılan güncel çalışmalarla birlikte bu testlerin varlığıyla beraber güvenilirlikleri ile ilgili soru işaretleri artmaya başlamıştır.

Dünya genelinde yapılmış olan FCoV seroprevalans araştırmalarında ülkeler arasında oransal değişiklikler tespit edilmiştir. Bell ve ark. (2006)'nın Avusturalya'da 306 kedi numunesi üzerine indirekt ELISA yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada genel seropozitiflik oranını %34 (104/306) olarak bildirilmiştir. İtalya'nın Puglia bölgesindeki 120 kediden örnekleme yapan Pratelli (2008), elde edilen numuneleri önce virüs nötralizasyon yöntemi kullanarak test etmiş ve 120 örnekten 96 tanesini pozitif olarak tespit etmiştir. Daha sonra negatif sonuç veren örnekleri ELISA yöntemi ile de test ederek iki negatif örneğin pozitif olduğu sonucuna ulaşmıştır. Böylelikle elde ettiği genel seropozitiflik oranını %82 olarak raporlamıştır. Tharaguchi ve ark. (2012) Japonya'da 2001-2010 yılları arasında 17.392 kedi kan serum örneğini test etmiş ve 6.433 serum numunesinde pozitif sonuç elde ederek seropozitiflik oranını %37 olarak bildirmişlerdir. Mürniece ve ark. (2021)'nin Letonya'da yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise 40 kedi numunesinden 33 tanesinin pozitif olduğu belirlenmiş ve seropozitiflik oranı %82,5 olarak belirlenmiştir. Cave ve ark. (2004)'da immunfloresan yöntemi kullanarak Birleşik Krallık'ta 2214 kedi numunesini incelemiş ve seropozitifliği %25,6 (566/2214) olarak tespit etmişlerdir. FCoV seroprevalansı yönünden evcil kediler ile birlikte vahşi kedilerin de test edildiği ortak bir çalışma Suba ve ark. (2016) tarafından Filipinler'de gerçekleştirilmiştir. Kırk iki kedi ve 9 kaplan numunesinin ELISA

yöntemi kullanılarak değerlendirildiği bu çalışmada, kediler için seropozitiflik oranı %86 (36/42), kaplanlar için ise seropozitiflik oranı %100 (9/9) olarak bildirilmiştir.

FCoV enfeksiyonu üzerine ülkemizde de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Oğuzoğlu ve ark. (2016)'nın 53 kedi numunesini antikor ELISA yöntemi ile değerlendirdiği bir çalışmada 37 numunenin pozitif olduğu sonucu elde edilmiş ve genel seropozitiflik oranı %69,8 olarak bildirilmiştir. 2013 yılında İleri'nin yapmış olduğu diğer bir çalışmada 142 kedi numunesinde FCoV seroprevalans oranı %41,5 (59/142) olarak belirlenmiştir. Bursa'da FCoV seroprevalansına yönelik ELISA testi kullanılarak yapılan başka bir çalışmada 100 kedi numunesindeki genel seropozitiflik oranı %26 (26/100) olarak bildirilmiştir (Pratelli ve ark., 2009). FCoV'a yönelik yapılan bir prevalans çalışmasında ise Can-Şahna ve ark. (2007) RT-PCR yöntemi kullanarak 25'i sağlıklı 1'i hastalık semptomları gösteren 26 kedi numunesini incelemiş, 14 tanesinin pozitif sonuç verdiğini belirlemiş ve antijen pozitiflik oranını %54 olarak bildirmiştir.

Araştırmamızda indirekt ELISA yöntemiyle analiz ettiğimiz sahipli 60 kediye ait kan serumu numunesinin FCoV enfeksiyonu seroprevalans oranı %68,33, rapid test yöntemiyle FCoV enfeksiyonu antikor oranı %35 ve rapid test yöntemiyle FCoV antijen oranı ise %1,67 olarak belirlendi. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler Pratelli (2008), Mürniece ve ark. (2021), Suba ve ark. (2016) ve Oğuzoğlu ve ark. (2016)'nın yapmış olduğu çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Fakat Bell ve ark. (2006), Tharaguchi ve ark. (2012), İleri (2003) ve Cave ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmalara nazaran yüksek bir oran elde edilmiştir. Bunun sebebinin çalışmamızdaki kedilerin yaş aralığının yoğun olarak enfeksiyon için riskli kabul edilen yaş aralığında bulunmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Ayrıca çalışmamızda ELISA yöntemiyle tespit edilen FCoV seropozitifliğinin cinsiyete göre dağılımına baktığımızda, erkek kedilerde %64 (16/25), dişi kedilerde ise %71,42 (25/35) oranında olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyete göre seropozitiflik değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde

çalışmamızda anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Bu sonucumuz literatürdeki diğer çalışmalar ile de paralellik göstermektedir. Barlough ve ark. (1986) tarafından yapılan bir araştırmada kinetik temelli-ELISA ile cinsiyetler arasındaki antikor verileri incelenmiş ve anlamlı bir fark bulundurmadıkları tespit edilmiştir (Barlough vd., 1986). Yine Bell ve ark. (2006), Tharaguchi ve ark. (2012) ve Mürniece ve ark. (2021)'nin yapmış olduğu çalışmalar cinsiyet bazında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak seropozitiflik oranlarının önemsiz olduğu bildirilmiştir. Viral prevalans üzerine yapılan farklı çalışma metodlarında da cinsiyetler arasında FCoV açısından anlamlı farklılık bulunmadığı ortaya koyulmuştur (Loock vd., 2021). Ülkemizdeki çalışmalar referans alındığında Oğuzoğlu ve ark. (2016)'nın yapmış olduğu çalışmada seroprevalansın cinsiyet bazında değerlendirilmesinde istatistiksel analizin anlamsız olduğu tespit edilmiş ve bizim çalışmamızın sonucuna paralellik gösterdiği görülmüştür.

Bir diğer parametremiz olan hızlı antikor test kiti sonuçları incelendiğinde yukarıdaki bulgularımıza paralel olarak cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). 2009-2014 yılları arasında İstanbul'daki bir cerrahi kliniğine getirilen 169 kedide hızlı antikor test kiti kullanılarak FCoV'a yönelik bir seroprevalans çalışması yapılmış ve %37 (60/169) oranında seropozitiflik belirlenmiştir. Aynı çalışmanın istatistiksel değerlendirmelerinde yaş ve cinsiyet bazında yapılan değerlendirmenin önemsiz olduğu bildirilmiştir (Tekelioğlu ve ark., 2014). Seropozitiflik oranının ve cinsiyet farklılıklarının hızlı antikor test kiti kullanılarak değerlendirildiği çalışmaların az sayıda olması, araştırma verilerimizi daha da anlamlı kılmaktadır. Çalışmaya katılan hasta sayısının yüksek olduğu ve deney gruplarındaki hayvan sayılarının eşit olduğu daha geniş kapsamlı ileri zamanlarda yapılacak çalışmalar, konu hakkında daha anlamlı veriler elde edilmesine olanak sağlayacaktır.

Cinsiyet bazında belirlediğimiz seroprevalans oranının yanı sıra dışkı numunesiyle yapılan hızlı antijen test kiti ile tespit ettiğimiz FCoV antijen pozitifliğini cinsiyete göre değerlendirdiğimizde, antikor sonuçlarımız ile tutarlı

olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bu alanda da yapılan çalışmaların kısıtlı olması bulgularımızı önemli hale getirmektedir. Sınırlı sayıdaki dışkı örneğinin çalışıldığı literatür bilgileri incelendiğinde Vojtkovska ve ark. (2022) da RT-PCR ile cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Kullanılan laboratuvar analiz yönteminin ve çalışmaya katılan hasta sayısının farklı olması çalışmaları birbirinden ayırmasına rağmen araştırma sonuçlarımızın diğer çalışmalarla paralellik göstermesi ileri araştırmalara ışık tutmaktadır.

Çalışmamızın başka bir perspektifi olan ELISA ve hızlı antikor testine ait seropozitiflik oranları karşılaştırıldığında ise daha önce yapılmış araştırmaları destekleyecek şekilde anlamlı farklılık olduğu görülmektedir. Addie ve ark. (2015) tarafından yapılan ve FCoV tanısının hangi yöntemle daha efektif olduğunun araştırıldığı bir çalışmada IFA, ELISA ve hızlı test kitleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen pozitif sonuçlara göre testin hassasiyet oranı IFA testinde %100, ELISA testinde %100 ve hızlı test kitlerinde ise %64,1- %84,6 oranında olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda pozitiflik ya da negatiflik durumu önceden bilinmeyen ve rastgele çalışmaya alınan örnekler üzerine yapılan değerlendirmede hassasiyet oranları Rapid Ab'de %35 ve indirekt ELISA yönteminde ise %68,33 oranında pozitiflik elde edilmiştir ve pozitif sonuç oranları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya konulmuştur. Bir başka ifade FCoV Ab rapid test ile negatif bulunan 20 kan serumu numunesi ELISA yöntemi ile pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler sonucunda ELISA yönteminin laboratuvar teşhisinde rapid antikor testlerine nazaran daha etkili ve yüksek güvenilirlikte sonuçlar verdiği kanısına varılmıştır.

Örnek alınan kedilerin yaşları incelendiğinde, farklı yaş gruplarındaki hayvanlar çalışmaya dahil edilse de 6 ay- 2 yaş aralığındaki kedilerde belirlenen antikor pozitiflik oranlarının diğer yaş gruplarında ($3 \geq$) belirlenen pozitif oranları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ve sonuç dünyadaki diğer çalışmalarla tutarlılık göstermektedir (Cave ve ark., 2004). Bu durum genç kedilerde immun sistemin tam olarak gelişmemiş veya hastalıklara duyarlı olmasıyla açıklanabilir ve bu yaş grubundaki kedilerde

FCoV taramasının yapılması hastalığın erken teşhisinde faydalı olabilir (Hartmann, 2005). Bu araştırmalara benzer şekilde İleri (2013)'nin yapmış olduğu çalışmada da örneklenen numunelerin genel seropozitiflik incelemelerinin yanı sıra yaş bazlı incelenmesinde elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirme sonucunda anlamlı olduğu tespit edilmiş ve bir yaş üzerindeki kedilerin, bir yaştan altındakilere nazaran daha az pozitiflik verdiği bildirilmiştir.

FCoV'un bireyler arasında fekal-oral yolla hızlı bir şekilde bulaşması kedilerin ortak barınma alanları kullanmasından dolayı hastalığın seroprevalansını önemli ölçüde arttırmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız numune örneklemeleri tek kedili ya da birden çok kediyeye sahip evlerden saülanmıştır. Literatür bilgileri bu açıdan incelendiğinde karşılaştırıldığında, Bell ve ark. (2006)'nın örneklemelerini tek kedili evlerden ve çok kedili evlerden yaparak değerlendirmişler ve sonuç olarak tek kedili evlerde %24 (33/140), çok kedili evlerde ise %44 (59/135) oranlarında seropozitiflik rapor etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçların istatistiki değerlendirmesini yaptıklarında ise aralarında farkın önemli olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Yine Pratelli ve ark. (2009) tarafından yapılan bir araştırmada sokakta barınan ve evde barınan kedilerin pozitiflik oranları karşılaştırılmış ve elde edilen %21'lik total pozitifliğin %62'sinin sokak kedilerine, %4'ünün de ev kedilerine ait olduğu bildirilmiştir. Bizim araştırmamızdaki örneklenen hayvanların sahipli olmasına rağmen çevreyle ve diğer kediler ile sürekli irtibat halinde olmaları, sahiplerinin mevcut kedilerine ek olarak bilinmeyen kaynaklardan yeni kedi sahiplenmeleri gibi hususlar göz önüne alındığında elde ettiğimiz seroprevalans değeri çok kedili evlerde ve sokak kedilerini kapsayan çalışmalarda elde edilen oranlar ile paralellik göstermiştir.

FCoV enfeksiyonunun kedi sağlığını ve refahını önemli ölçüde etkilediği çalışmamızla da desteklenmektedir. Haliyle veteriner hekim kliniklerine ve hayvan hastanelerine gelen hastalarda doğru ve hızlı bir teşhis koyulabilmesi, tedavi sürecinin doğru bir şekilde yürütülebilmesi açısından önem taşımaktadır. Bu bakımdan değerlendirdiğimizde çalışmamızın sonucunda ELISA testinin,

hızlı tanı yöntemlerine göre oldukça güvenilir sonuçlar verdiğini ortaya koyarak, hastalığın doğru teşhis edilmesine önemli katkı sağlayacağını göstermektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

FIP hastalığının kesin teşhisi; hastalığın karmaşık patogenezi, var olan virusun mutasyon sonucu hastalığa neden olması, semptomlarının spesifik olmaması gibi nedenlerden dolayı, klinik uygulamalarda zorlu bir sürece dönüşmektedir. Birçok farklı bulgunun bir araya getirilerek değerlendirilmesinin yanı sıra hastalığın kesin teşhisinde laboratuvar test sonuçları ana kriter olmaktadır.

Çalışmamız pozitif vakaları tespit etmede ELISA testinin hızlı testlerden (Ab) daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Şüpheli vakalarda ELISA yönteminin tercihi hekime doğru tedavi protokolünü zamanında başlatma imkânı verirken, hastayı da sonucu net olmayan birçok farklı işlemde kurtararak fazla strese girmesinin önüne geçecektir. FCoV mutasyonu sonucu meydana gelen FIP hastalığının tedavisi maddi ve manevi zorlu bir süreci içermektedir ve bu nedenle teşhis sürecine katkı sağlayan tüm diagnostik testler büyük önem arz etmektedir. Hızlı testler her ne kadar klinik pratiğinde daha kolay uygulanırsa da sensitivitelerinin düşük olması ve ELISA gibi daha güvenilir yöntemlerin varlığı hastalığın teşhisindeki etkinliklerini tartışmalı hale getirmektedir.

Araştırmamız sonucunda FCoV enfeksiyonunun ev kedilerinde yaygın oranda bulunduğu ve kedi sağlığı açısından risk teşkil ettiği belirlendi. Bu açıdan koruma ve kontrol tedbirlerine önem verilmesinin yararlı olacağı kanaatine varılmıştır. Bu bağlamda söz konusu enfeksiyona karşı aşı uygulamalarının yapılması fayda sağlayacaktır.

Türkiye’de mevcut durumda FCoV enfeksiyonu üzerine yapılmış olan seroprevalans çalışmalarının oldukça az olması ve hızlı test kitlerinin etkinliğinin olası diğer teşhis yöntemleri ile karşılaştırılarak elde edilen verilerin kısıtlı olmasından dolayı çalışmamızın sonucunun bu alanda literatüre katkı sağlayacağı kanısına varılmıştır. Aynı zamanda çalışmamız sonucunda edindiğimiz bilgiler gelecekteki FCoV’a yönelik çalışmaların temeline de ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

Addie DD (2012). *Feline coronavirus disease.* in. Greene ce (ed.), *Infectious Diseases of the Dogand Cat*, 4th Edn, USA: Elsevier, p: 92-108.

Addie DD, le Poder S, Burr P, Decaro N, Graham E, Hofmann-Lehmann R, Jarrett O, McDonald M, Meli ML (2015). Utility of feline coronavirus antibody tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery* **17(2)**, 152–162.

Addie DD, Schaap IA, Nicholson L, Jarrett O (2003). Persistence and transmission of natural type 1 feline coronavirus infection. *J Gen Virol* **84**, 2735-2744.

Addie DD, Toth S, Herrewegh AA, Jarrett O (1996). Feline coronavirus in the intestinal contents of cats with feline infectious peritonitis. *The Veterinary Record* **139**, 522-523.

Akın H, Akça Y, Oğuzoglu TC (2011). Türkiye’de evcil kedilerde feline coronavirus enfeksiyonlarının moleküler karakterizasyonu, Fecava, 7-10 Eylül, İstanbul, Türkiye.

Anonim, 2022a. <http://tarbiyotek.blogspot.com/2015/08/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa.html> (Erişim Tarihi: 25.05.2022)

Anonim, 2022b. <https://www.vet-zon.com/blog/asan-pharm-feline-coronavirus-fcov-ag-10-test/> (Erişim Tarihi: 25.05.2022)

Anonim, 2022c. https://www.asanpharm.com/data/file/product_01/1935617638_KqmOHUxn_3578a6ab6fb1644fcb0d9ac62ce67e83504e73be.pdf (Erişim Tarihi: 25.05.2022)

Barnett OW (1993). Modern technology improves plant-virus taxonomy or melding the molecular and classical. *Phytopathology*, **83**, 33-34.

Bell ET, Toribio JALML, White JD, Malik R, Norris JM (2006). Seroprevalence study of feline coronavirus in owned and feral cats in Sydney, Australia. *Australian veterinary journal*, **84(3)**, 74-81.

Brown MA, Troyer JL, Pecon-Slattey J, Roelke ME, O'brien SJ (2009). Genetics and pathogenesis of feline infectious peritonitis virus. *Emerg Infect Dis*, **15**, 1445-1452.

Can-Sahna K, Soydal Ataseven V, Pinar D., Oğuzoğlu TC (2007). The detection of feline coronaviruses in blood samples from cats by mRNA RT-PCR. *Journal of feline medicine and surgery*, **9(5)**, 369–372.

Cave TA, Golder MC, Simpson J (2004). Risk factors for feline coronavirus seropositivity in cats relinquished to a UK rescue charity. *J. Feline Med. Surg.* **6**, 53–58.

De Groot RJ, Ter Haar RJ, Horzinek MC, Van Der Zeijst BA (1987). Intracellular rnas of the feline infectious peritonitis coronavirus strain 79-1146. *J Horzinekgen Virol*68 (Pt 4), 995-1002

Declercq J, De Bosschere H, Schwarzkopf I, Declercq L (2008). Papular cutaneous lesions in a cat associated with feline infectious peritonitis. *Vet Dermatol* **19**, 255-258.

Diaz Jva, Poma R (2009). Diagnosis and clinical signs of feline infectious peritonitis in the central nervous system, *Can Vet J*, **50(10)**: 1091–1093.

Doenges Sj, Weber K, Dorsch R, Fux R, Fischer A, Matiasek La Hartmann K (2016). Detection of feline coronavirus in cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats with and without neurological signs. *Jfeline Med. Surg.*, **18(2)**, 104-109.

Dye C, Helps CR, Siddell SG (2008). Evaluation of real-time rt-pcr for the quantification of fcov shedding in the faeces of domestic cats. *J Feline Med Surg* **10**, 167-174.

Dye C and Siddell SG (2007). Genomic rna sequence of feline coronavirus strain fcov c1je. *J Feline Med Surg* **9**, 202-213.

Evermann JF, Heeney JL, Mckeirnan AJ, O'brien SJ (1989). Comparative features of a coronavirus isolated from a cheetah with feline infectious peritonitis. *Virus Res* **13(1)**, 15-27.

Halstead S B (1979). In vivo enhancement of dengue virus infection in rhesus monkeys by passively transferred antibody. *J Infect Dis* **140(4)**, 527-33.

Halstead SB, Larsen K, Kliks S, Peiris JS, Cardoso J, Porterfield JS (1983). Comparison of p388d1 mouse macrophage cell line and human monocytes for assay of dengue-2 infection-enhancing antibodies. *Am J Trop Med Hyg* **32(1)**, 157-63.

Hartmann K (2005). Feline infectious peritonitis. *The Veterinary Clinics Of North America. Small Animal Practice* **35**, 39-79,

Hartmann K (2010). *Diagnosis and treatment of feline infectious peritonitis.* In August Jr. (Ed.), *Consultations In Feline Internal Medicine*, Vol 6, Saunders Elsevier, 2010 China, p: 62-76.

Herrewegh AA, De Groot RJ, Cepica A, Egberink HF, Horzinek MC, Rottier PJ (1995). Detection of feline coronavirus rna in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase Pcr. *J Clin Microbiol* **33(3)**, 684-9.

Herrewegh AA, Smeenk I, Horzinek MC, Rottier PJ, De Groot RJ (1998). Feline coronavirus type 11 strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double

recombination between feline coronavirus type 1 and canine coronavirus. *J Virol* **72**(5), 4508-14.

Herrewegh AA, Mahler M, Hedrich HJ, Haagmans BL, Egberink HF, Horzinek MC, Rottier PJ, De Groot RJ (1997). Persistence and evolution of feline coronavirus in a closed cat-breeding colony. *Virology* **234**, 349-363.

Hohdatsu T, Izumiya Y, Yokoyama Y, Kida K, Koyama H (1998). Differences in virus receptor for type I and type U feline infectious peritonitis virus. *Arch Virol* **143**(5), 839-50.

Holliday TA (1971). Clinical aspects of some encephalopathies of domestic cats. *Vet Clin North Am* **1**, 367-378.

Holzworth J (1963). Some important disorders of cats. *Cornell Vet* **53**, 157-60.

Hornyak A, Balint A, Farsang A, Balka G, Hakhverdyan M, Rasmussen TB, Blomberg J, Belak S (2012). Detection of subgenomic mRNA of feline coronavirus by real-time polymerase chain reaction based on primer-probe energy transfer (P-Sg-Qpcr). *J Virol Methods* **181**(2), 155-163.

ICTV (2020). <https://ictv.global/taxonomy> (Erişim Tarihi: 20.05.2022)

Kıpar A, May H, Menger S, Weber M, Leukert W, Reinacher M (2005). Morphologic features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis. *Vet Pathol* **42**(3), 321-30.

Kolb AF, Hegyi A, Maile J, Heister A, Hagemann M, Siddell SG (1998). Molecular analysis of the coronavirus-receptor function of Aminopeptidase N. *Adv Exp Med Biol* **440**, 61-7.

Lappin Mr (2014). *Polysystemic viral diseases*. In: Nelson, R.W. & Couto, C.G. (Eds.), *Small Animal Internal Medicine*, 5th Edn, Canada: Elsevier, p: 1343-1347.

Lin CN, Su BL, Wang CH, Hsieh MW, Chueh TJ, Chueh LL (2009). Genetic diversity and correlation with feline infectious peritonitis of feline coronavirus type I and II: a 5-year study in Taiwan. *Vet Microbiol* **136**(3-4), 233-9.

Loock DJE, Rendon-Franco E, Williams ST, van Niekerk J, Swanepoel LH (2021). Viral prevalence in wild serval population is driven by season and sex. *EcoHealth* **18**, 113-122.

Marioni Henry K, Vite CH, Newton AL, Van Winkle TJ (2004). Prevalence of diseases of the spinal cord of cats. *J Vet Intern Med* **18**, 851-858.

Meh M, Kıpar A, Müller C, Jenal K, Gonczi E, Borel N, Gunn-Moore D, Chalmers S, Lin F, Reinacher M, Lutz H (2004). High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with

feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally fcov-infected cats. *J Feline Med Surg* **6(2)**, 69-81.

Montali RJ, Strandberg JD (1972). Extraperitoneal lesions in feline infectious peritonitis. *Vet Pathol* **9(2)**, 109-21.

Motokawa K, Hohdatsu T, Aizawa C, Koyama H, Hashimoto H (1995). Molecular cloning and sequence determination of the peplomer protein gene of feline infectious peritonitis virus type I. *Arch Virol* **140(3)**, 469-80.

Motokawa K, Hohdatsu T, Hashimoto H, Koyama H (1996). Comparison of the amino acid sequence and phylogenetic analysis of the peplomer, integral membrane and nucleocapsid proteins of feline, canine and porcine coronaviruses. *Microbiol Immunol* **40(6)**, 425-33.

Mūrniece G, Šteingolde Ž, Cvetkova S, Valciņa O, Bērziņš A, Kovaļčuka L, Kovaļenko K (2021). Prevalence of feline coronavirus in cats of an animal shelter in latvia. *Research for rural development*, **36**.

Murphy FA (1999). "Veterinary Virology." 3rd Ed. Academic Press, San Diego/USA.

Negrin A, Cherubini GB, Lamb C, Benigni L, Adams V, Platt S (2010). Clinical signs, magnetic resonance imaging findings and outcome in 77 cats with vestibular disease: a retrospective study. *J Feline Med Surg* **12**, 291-299.

Pedersen NC (2009). A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *J Feline Med Surg*, **11(4)**, 225-58.

Pedersen NC, Black JW, Boyle JF, Evermann JF, Mckeirnan AJ, Ott RL (1984). Pathogenic differences between various feline coronavirus isolates. *Adv Exp Med Biol*, **173**, 365-80.

Pedersen NC, Ward J, Mengeling WL (1978). Antigenic relationship of the feline infectious peritonitis virus to coronaviruses of other species. *Arch Virol*, **58(1)**, 45-53.

Pedersen NC (1987). Virologic and immunologic aspects of feline infectious peritonitis virus infection. *Adv Exp Med Biol*, **218**, 529-550.

Pedersen NC, Allen CE, Lyons LA (2008). Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J Feline Med Surg*, **10**, 529-541.

Pedersen NC, Black JW (1983). Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis, using avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus. *Am J Vet Res*, **44**, 229-234.

Pedersen NC, Boyle JF, Floyd K, Fudge A, Barker J (1981b). An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis. *Am J Vet Res*, **42**, 368-377.

Pedersen NC, Theilen G, Keane MA, Fairbanks L, Mason T, Orser B, Che CH, Allison C (1977). Studies of naturally transmitted feline leukemia virus infection. *Am J Vet Res*, **38**, 1523-1531.

Pedersen NC (2014). An update on feline infectious peritonitis: diagnostics and therapeutics. *Vetj*, **201(2)**, 133-141.

Pratelli A (2008). Comparison of serologic techniques for the detection of antibodies against feline coronaviruses. *J Vet Diagn Invest*, **20**, 45-50.

Pratelli A, Yesilbag K, Siniscalchi M, Yalcin E, Yilmaz Z (2009). Prevalence of feline corona-virus antibodies in cats in Bursa province, Türkiye, by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Feline Med Surg*, **11**, 881-884.

Rottier PJ (1999). The molecular dynamics of feline coronaviruses. *Vet Microbiol*, **69(1-2)**, 117-25.

Rottier PJ, Nakamura K, Schellen P, Volders H, Hajjema BJ (2005). Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein. *J Virol*, **79**, 14122-30.

Shiba N, Maeda K, Kato H, Mochizuki M, Iwata H (2007). Differentiation of feline coronavirus type I and II infections by virus neutralization test. *Veterinary Microbiology*, **124**, 348-352.

Simons FA, Vennema H, Rofina JE, Pol JM, Horzinek MC, Rottier PJ, Egberink HF (2005). A MRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Virol Methods*, **124(1-2)**, 111-6.

Slauson DO, Finn JP (1972). Meningoencephalitis and panophthalmitis in feline infectious peritonitis. *J Am Vet Med Assoc*, **160**, 729-734.

Stoddart CA, Scott FW (1989). Intrinsic resistance of feline peritoneal macrophages to coronavirus infection correlates with in vivo virulence. *J Virol*, **63(1)**, 436-40.

Suba SSR, Ubaldo FPJR, Reyes MF, Flores MLS (2016). Detection of antibodies to feline coronavirus in stray domestic short-haired cats (*Felis catus*) and tigers (*Panthera tigris*). *Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **41(2)**.

Taharaguchi S, Soma T, Hara M (2012). Prevalence of feline coronavirus antibodies in Japanese domestic cats during the past decade. *Journal of Veterinary Medical Science*, **74(10)**, 1355-1358.

Takano T, Azuma N, Satoh M, Toda A, Hashida Y, Satoh R, Hohdatsu T (2009). Neutrophil survival factors (tnf-alpha, gm-csf, and g-csf) produced by macrophages in cats infected with feline infectious peritonitis virus contribute to the pathogenesis of granulomatous lesions. *Arch Virol*, **154(5)**, 775-81.

Takano T, Katada Y, Moritoh S, Ogasawara M, Satoh K, Satoh R, Tanabe M, Hohdatsu T (2008). Analysis of the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection: aminopeptidase N is not important and a process of acidification of the endosome is necessary. *J Gen Virol* **89**(Pt 4), 1025-9.

Takano T, Ohyama T, Kokumoto A, Satoh R, Hohdatsu T (2011). Vascular endothelial growth factor (vegf), produced by feline infectious peritonitis (FIP) virus-infected monocytes and macrophages, induces vascular permeability and effusion in cats with FIP. *Virus Res*, **158**(1-2), 161-8.

Tasker S (2018). Diagnosis of feline infectious peritonitis: update on evidence supporting available tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery* **20**, 228–243.

Teklioglu BK, Berriatua E, Turan N, Helps CR, Koçak M, Yilmaz H (2015). A retrospective clinical and epidemiological study on feline coronavirus (FCoV) in cats in Istanbul, Turkey. *Preventive veterinary medicine*, **119**(1-2), 41-47.

Tekes G, Thiel HJ (2016). Feline coronavirus: pathogenesis of feline infectious peritonitis. *Adv. Virus Res.*, **96**, 193-218.

Thiel V (2007). "Coronaviruses: Molecular And Cellular Biology." Caister Academic Press, Norfolk, UK.

Timmann D, Cizinauskas S, Tomek A, Doherr M, Vandeveld M, Jaggy A (2008). Retrospective analysis of seizures associated with feline infectious peritonitis in cats. *J Feline Med Surg*, **10**, 9-15.

Tresnan DB, Levis R and Holmes KV (1996). Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I. *J Virol*, **70**(12), 8669-74.

Vennema H, Poland A, Foley J, Pedersen NC (1998). Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*, **243**(1), 150-7.

Vogel L, van der Lubben M, Te Lintelo EG, Bekker CP, Geerts T, Schuijff LS, Grinwis GC, Egberink HF, Rottier PJ (2010). Pathogenic characteristics of persistent feline enteric coronavirus infection in cats. *Vet Res*, **41**(5), 71.

Vojtkovská V, Lukešová G, Voslárová E, Konvalinová J, Vecerek V, Lobová D (2022). Direct detection of feline coronavirus by three rapid antigen immunochromatographic tests and by real-time PCR in cat shelters. *Vet Sci*, **9**, 35.

Weiss RC and Scott FW (1981). Antibody-mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: comparisons with dengue hemorrhagic fever. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, **4**(2), 175-89.

Zhao S, Li W, Schuurman N, van Kuppeveld F, Bosch BJ, Egberink H (2019). Serological screening for coronavirus infections in cats. *Viruses*, **11**, 743.

