

## Köpeklerde canine distemper virüs enfeksiyonunun klinik, patolojik ve real-time RT-PCR ile teşhisi

### Clinical, pathological and real-time RT-PCR diagnosis of canine distemper virus infection in dogs

#### ÖZET

Klinik olarak canine distemper virüs (CDV) teşhisi konulan köpeklerde enfeksiyonun hem sürüntü örneklerinde ve hem de postmortem alınan doku örneklerinde hızlı teşhisine yönelik real-time RT-PCR metodu çalışılarak, viral nükleik asit tespitine dayalı real-time RT-PCR metodu ile histopatolojik yöntemin karşılaştırması amaçlanmıştır. Çalışmanın materyalini, ateş, gözyaşı akıntısı ile solunum, sindirim ve sinir sistemi enfeksiyonlarına ait klinik bulgulara sahip, CDV enfeksiyonu klinik tanısı ile tedaviye başlanmış, ancak tedaviye yanıt vermeden ölen köpeklerden histopatolojik bulgulara göre CDV teşhisi konulmuş köpeklere ait beyin, beyincik, karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, taban yastığı ve kan ile tonsil, burun ve gözden alınan sürüntü örnekleri oluşturdu. Histopatolojik incelemelerde CDV enfeksiyonu için karakteristik sayılan intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimciği belirlenen köpeklerden nekropsi sırasında alınmış sürüntü örneklerinde viral nükleik asit varlığı incelendiğinde tonsillerden alınan sürüntülerin tamamında, burun ve konjunktivadan alınan örneklerin iki tanesinde CDV nükleik asit kopyalarının belirlendiği, kan örneklerinde ise viral nükleik asit belirlenmediği görüldü. Köpeklerde görülen klinik bulgular hastalığı düşündürse de kesin teşhis için kullanılan virolojik ve histopatolojik incelemeler uzun zaman almaktadır. Bu durum viral nükleik asitlerin çoğaltılması esasına dayalı PCR yöntemlerini ön plana çıkarmakta, PCR yöntemleri içerisinde de uygulayıcı hatasını minimize eden, hızlı sonuç veren ve virüs sayısının tahmin edilebildiği real-time RT-PCR uygulamalarının önemini artırmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Canine distemper virüs (CDV), histopatoloji, real-time RT-PCR

#### ABSTRACT

It was aimed to compare the real-time RT-PCR based on nucleic acid detection and the histopathological method for viral nucleic acid detection by using the real-time RT-PCR method for rapid diagnosis of the disease in both swab samples and postmortem tissue samples in dogs with canine distemper virus (CDV) infection. The material of study was composed of brain, cerebellum, liver, lung, spleen, kidney, sole pad, blood and swab taken from tonsil, nose and eye samples of dogs with clinical signs of fever, tear discharge and respiratory, digestive and nervous system infections, who started treatment with a clinical diagnosis of CDV infection, but died without responding to treatment, but were diagnosed with CDV according to histopathological findings. When the presence of viral nucleic acid was examined in swab samples taken during necropsy from dogs with intracytoplasmic and intranuclear inclusion bodies that are considered characteristic for CDV infection in histopathological examinations, it was observed that CDV nucleic acid copies were detected in all swabs taken from tonsils, in two of samples taken from the nose and conjunctiva, and viral nucleic acid copies were not detected in blood samples. Although clinical findings in dogs suggest the disease, virological and histopathological examinations used for definitive diagnosis take a long time. This situation brings PCR methods to the fore based on the reproduction of viral nucleic acids and increases the importance of real-time RT-PCR applications that minimize operator error, give fast results and can predict the number of viruses among PCR methods.

**Keywords:** Canine distemper virus (CDV), histopathology, real-time RT-PCR

#### How to cite this article

Tuzcu, N., Tuzcu, M., Akçakavak G., Başbug, O., Kurul M. (2021). Clinical, pathological and real-time RT-PCR diagnosis of canine distemper virus infection in dogs. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 6(2), 57-64 <https://doi.org/10.31797/vetbio.897795>

#### Research Article

Nevin TUZCU<sup>1a</sup>  
 Mehmet TUZCU<sup>2b</sup>  
 Gökhan AKÇAKAVAK<sup>2c</sup>  
 Onur BAŞBUG<sup>3d</sup>  
 Mehmet KURUL<sup>4e</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Selçuk University, Konya, Turkey

<sup>2</sup>Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Selçuk University Konya, Turkey

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

<sup>4</sup>Kurul Laboratuvar, Konya, Türkiye

#### ORCID-

<sup>a</sup>[0000-0002-1017-718X](https://orcid.org/0000-0002-1017-718X)

<sup>b</sup>[0000-0003-3118-1054](https://orcid.org/0000-0003-3118-1054)

<sup>c</sup>[0000-0001-5949-4752](https://orcid.org/0000-0001-5949-4752)

<sup>d</sup>[0000-0003-3136-0589](https://orcid.org/0000-0003-3136-0589)

<sup>e</sup>[0000-0003-3075-0446](https://orcid.org/0000-0003-3075-0446)

#### Correspondence

Nevin TUZCU

[ntuzcu@hotmail.com](mailto:ntuzcu@hotmail.com)

#### Article info

Submission: 16-03-2021

Accepted: 18-05-2021

Online First: 24-05-2021

e-ISSN: 2548-1150

doi prefix: 10.31797/vetbio

• <http://dergipark.org.tr/vetbio>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0

International License



# GİRİŞ

Canine distemper virüs (CDV) enfeksiyonu köpek, kurt, tilki, çakal gibi canidea ailesi, vizon, gelincik, kokarca, samur, sansar, porsuk gibi mustelidae ailesi ve ayı, panda, rakun gibi procyonidae ailesinin üyelerinde görülmektedir (Beineke vd., 2009; Hoskins, 2010; Maclachlan ve Dubovi, 2011). CDV deniz memelilerinde de enfeksiyon oluşturduğu bilinmektedir (Goldstein vd., 2009).

Köpeklerde görülen CDV enfeksiyonunun kuduz hastalığından sonra en yüksek mortalite oranına sahip hastalık olduğu görülmektedir (Deem vd., 2000). Araştırmacılar maternal antikor alamamış yavruların CDV hastalığına karşı en duyarlı grubu oluşturduğunu rapor etmektedirler (Murphy vd., 1999). Virüs vücuda girdikten 1-2 gün sonra lenf yolu ile farengial, tonsillar ve bronşial lenf nodüllerine taşınır. Virüsün primer replikasyonu, solunum yolu lenf dokusu hücrelerinde gerçekleşir (Maclachlan ve Dubovi, 2011). Virüs enfeksiyonu takiben 3. ve 4. günlerde kan yolu ile kemik iliği, timus, servikal ve mezenteriyal lenf nodüllerine, mide ve barsak lamina propriyasındaki makrofajlara taşınır (Murphy vd., 1999; Maclachlan ve Dubovi, 2011). Epiteliotropik karakterdeki virüs, enfekte lenfositler ve makrofajlar aracılığı ile solunum sistemi, gastro-intestinal sistem, genital sistem, ürogenital sistem ve MSS epitellerine taşınarak generalize enfeksiyon oluşturur (Hoskins, 2010).

CDV enfeksiyonunda karakteristik klinik belirti ateş ve kilo kaybı ile birlikte merkezi sinir sisteminin beyaz maddesinde görülen demiyelinizasyondan kaynaklanan myoklonustur (Amude vd., 2007). Bazı hayvanlarda nadiren idrar kaçırma görülebilir. İyileşen hayvanlarda lakrimal bezlerin keratinizasyonuna bağlı olarak keratokonjunktivitis sicca görülebilir (De Almeida vd., 2009; Hoskins, 2010). CDV enfeksiyonlarında deriye ilişkin en önemli

bulgu ayak tabanlarında görülen hiperkeratotik alanlardır (Carvalho vd., 2012; Engelhardt vd., 2005). Karın altında şekillenen püstüler dermatit de dikkat çeken bulgular arasındadır (Jones vd., 1997).

CDV enfeksiyonundan kaynaklı ölen köpeklerde, ilk görülen makroskopik bulgu kaşeksi ve dehidrasyondur (Beineke vd., 2009). CDV enfeksiyonunda, sekonder bakteriyel enfeksiyonların eşlik ettiği durumlarda mukopurulent karakterdeki göz ve burun akıntısı görülmektedir (Demeter vd., 2009). İntersitisyel pnömoni şekillendiği durumlarda, akciğer loblarının kırmızıdan kahverengiye alacalı görüldüğü, akciğer dokusunun kıvamının sertleştiği gözlenmektedir (Jones vd., 1997; Kubo vd., 2007).

Morbillivirüs enfeksiyonları için intrasitoplazmik ve intranükleer yerleşimli inklüzyon cisimcikleri karakteristiktir (Sato vd., 2006). Sindirim sistemindeki inklüzyon cisimciklerine mide mukozasının epitelium hücrelerinde, nadiren de bağırsak epitel hücrelerinde rastlanır. İdrar yolunun transisyonel epitelinde, böbreklerin renal epitelinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülebilir (Pardo vd., 2005). Merkezi sinir sisteminde demiyelinizasyon alanları belirgindir (Guo ve Lu, 2000; Moro vd., 2003; Vural ve Alçigir, 2010). Merkezi sinir sisteminde inklüzyon cisimciklerine ağırlıklı olarak astrositlerde, mikroglialarda ve nöronlarda rastlanır (Pardo vd., 2005).

Bu çalışmanın amacı, real -time RT-PCR tekniği ile CDV enfeksiyonundan ölmüş köpeklerde, virüsün organlara göre dağılımını belirlemek ve hastalığının teşhisinde kullanılacak viral nükleik asit tespitine dayalı real-time RT-PCR metodu ile histopatolojik yöntemin karşılaştırmasını yapmaktır.

## MATERYAL VE METHOD

### Hayvan materyali

Çalışmanın materyalini, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıkları kliniklerine yüksek ateş, göz yaşı akıntısı, solunum, sindirim ve sinir sistemine ait klinik bulgular ile müracaat eden, CDV enfeksiyonu klinik tanısı ile tedaviye başlanan ancak tedavi edilemeyip ölen köpeklerden histopatolojik bulgulara göre CDV enfeksiyonu teşhisi konulmuş 5 erkek 2 dişi, 7 adet 4-8 aylık köpeğe ait beyin, beyincik, karaciğer, akciğer (kranial loblar), dalak, böbrek, taban yastığı ve kan ile tonsil, burun ve gözden alınan sürüntü örnekleri oluşturdu.

### Histopatolojik inceleme

Histopatolojik inceleme için organlardan alınan doku örnekleri bir gün boyunca %10 formol içinde tespit edildikten sonra rutin doku takip prosedürleri uygulandı. Elde edilen parafin bloklarından 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) altında incelendi.

### Real-time RT-PCR analizi

Real-time RT-PCR analizleri için alınan doku örnekleri nekropsi sırasında K3EDTA'lı tüplere ayrı ayrı alınarak standart yöntemlerle virüs RNA izolasyonu işlemi gerçekleştirilerek çalışmanın yapılacağı güne kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı.

RNA izolasyonu robotik olarak RNA izolasyon kiti MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I (Roche Kat No: 03730964001) kullanılarak yapıldı.

cDNA Sentezi Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche Kat No: 05081955001) kullanılarak yapıldı.

Real-time RT-PCR ile virüs tespiti için NP gene spesifik primer çiftleri olan

qCDVF4 (5'TCGGTAATCGAGGATTCGAGAG-3') ve ctctcgaatcctcgattaccga

qCDVR3 (5'GCCGAAAGAATATCCCCAGT TAG-3') ve TaqMan probe

3CDV (5'-6-FAMATCTTCGCCAGAATCCT CAGTGCT-MGB-3') dizayn edilerek gerçekleştirildi (Scagliarini vd., 2003).

Oligo tool olarak PCR Mgrade ddH<sub>2</sub>O 3,0 µl, master olarak Light Cycler 480 Probe Master Kit (Roche Kat No: 04707494001) 10,0 µl, forward primer 0,5 µl, reverse primer 0,5 µl, probe 1,0 µl olarak 15,0 µL total reaksiyon karışımına ulaşıldı ve izole edilen virüs DNA ve kontrol olarak daha önceden CDV enfeksiyonu doğrulanmış pozitif kontrolden 5 µl eklenerek toplam 20 µl materyal hazırlandı. Negatif kontrol template DNA yerine 5 µl su eklenerek hazırlandı.

Reaksiyon karışımı (20µl) plate içine hazırlanarak Light Cycler 480 (Roche Diagnostic, GmBh, Germany) cihazı kullanılarak virüs tespiti gerçekleştirildi.

Pozitif örnekler ve pozitif kontroller için LC640 ve IPC için LC705 kanallarından elde edilen gerçek zamanlı PZR grafikleri ve Crossing Point (CP geçiş noktası) değerleri incelenerek sonuçlar değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışmanın materyalini oluşturan köpeklerde klinik olarak göz yaşı akıntısı ile birlikte solunum, sinir ve gastrointestinal sisteme ait bulgulardan bir veya birkaçının bulunduğu belirlendi. En sık görülen klinik bulgunun, göz yaşı akıntısı, ateş, iştahsızlık ve ishal olduğu görüldü. Taban yastıklarında hiperkeratoz (hard pad) iki köpekte belirlendi. Çalışmada belirlenen klinik bulgular tablo 1'de verildi. Nekropsi yapılan köpeklerin tamamında karaciğerin büyümüş olduğu, renginin soluklaştığı tespit edildi. İki köpekte böbreklerin soluk renkli olduğu görüldü. Üç köpekte akciğerin kranial loblarında belirgin koyu kırmızı renkli pnömoni alanları ile amfizemli alanlar dikkati çekti. İki köpekte

endokartta peteşiyel alanlar görüldü. Bütün köpeklerin beyin ve beyinciklerinin ödemli

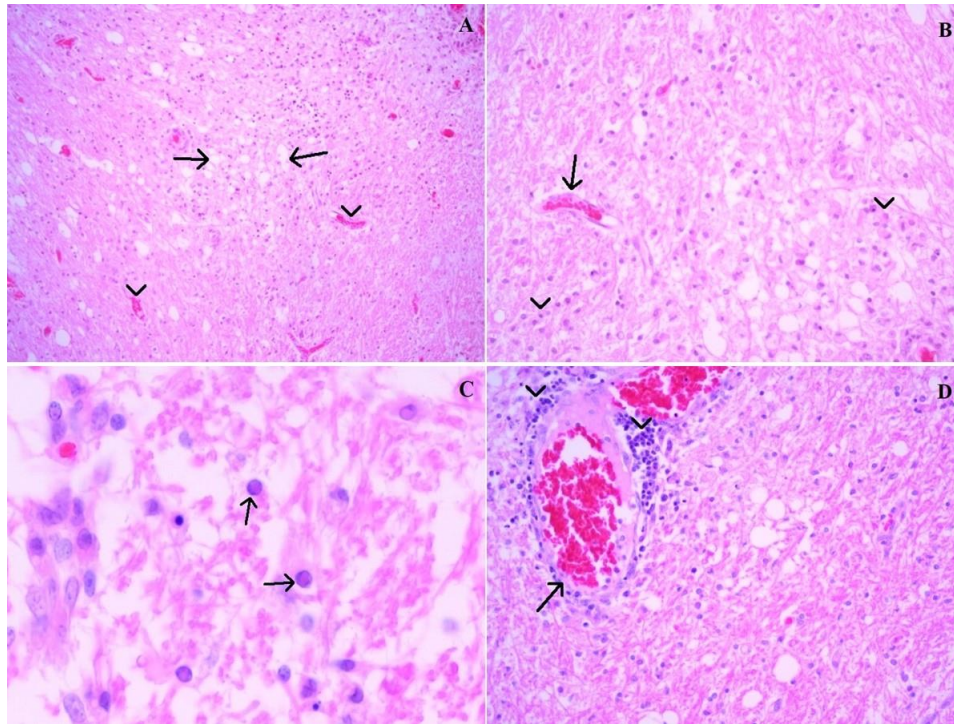
olduğu ve meninklerinin hiperemik olduğu görüldü.

**Tablo 1.** Çalışmada belirlenen klinik bulgular

Köpek No	Cinsiyet	İştahsızlık	Kaşeksi	Kilo kaybı*	Ateş**	Gözde akıntı	Hiperkeratoz(Hard pad)	Öksürük	Myoklonus	İshal
1	Erkek	+***	-****	-	+	+	-	-	+	-
2	Erkek	+	-	-	+	+	-	+	-	+
3	Dişi	+	+	+	+	+	-	+	-	+
4	Erkek	+	+	+	+	+	+	-	-	+
5	Erkek	+	+	-	+	+	-	+	+	+
6	Erkek	+	-	-	+	+	-	-	-	+
7	Dişi	+	-	-	+	+	+	+	+	+

Mikroskopik olarak CDV ile enfekte köpeklerin serebellumlarında güve yeniği şeklinde görülen yoğun demiyelinizasyon alanlarına rastlandı (Şekil 1.A-B). Marjinal hiperkromazi ve intranükleer inklüzyon cisimciği sıklıkla gözlemlendi (Şekil 1.C). Demiyelinizasyon alanlarında astrositozis, astrogliazis ve mikroglial hücre proliferasyonları

yanında ve gitter hücrelerine de rastlandı (Şekil 1.B). Bütün olgularda perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü. Beynin mikroskopik incelemesinde bütün köpeklerde, hiperemi, nöronal dejenerasyon ve substantia albada demiyelinizasyon belirlendi (Şekil 1.A-B-D).



**Şekil 1.** A. Beyincik, demiyelinizasyon alanları (oklar) ve hiperemi (ok başı), H.E, x100. B. Hiperemi (ok) ve gliozis (ok başı), H.E, x200. C. Demiyelinizasyon alanlarının çevresindeki glia hücrelerinde marjinal hiperkromazi ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri (oklar), H.E, x1000. D. Hiperemi (ok) ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonları (ok başı), H.E, x400.



Karaciğerlerin mikroskopik incelenmesinde sentrilobüler bölgedeki hepatositlerde hidropik dejenerasyonun bulunduğu bir olguda dejenerasyona birkaç hepatositin oluşturduğu fokal nekroz alanlarının eşlik ettiği belirlendi. Tüm olgularda kupffer hücrelerinin belirginleştiği üç köpekte ise kupffer hücrelerinde intrasitoplazmik inklüzyonların bulunduğu görüldü.

Böbreklerin mikroskopik muayenesinde tubulus epitellerinde hafiften orta dereceye kadar değişen vakuoler dejenerasyonlar ile üç olguda tubulus epitellerinde intrasitoplazmik inklüzyonlara rastlandı.

Akciğerlerin mikroskopik muayenesinde beş olguda mononükleer hücre artışına bağlı olarak interalveoler septumun kalınlaştığı, üç olguda alveol lümenlerinde ödemle birlikte amfizemli alveoller dikkati çekti. Alveollerde epitelizasyon ile birlikte lümenlerde tek tük

makrofajların bulunduğu belirlendi. Bu olgularda bronşial epitellerde intrasitoplazmik inklüzyonların bulunduğu ve bazı bronş lümenlerini dökülmüş epitel hücreleri, nötrofil lökositler ve mukustan oluşan bir kitlenin doldurduğu görüldü.

Dalağın mikroskopik muayenesinde periarterioller lenfoid dokunun azaldığı, retikulum hücrelerinin sayısının arttığı belirlendi. Taban yastıklarının mikroskopik muayenesinde iki köpekte belirgin hiperkeratoz ile akantozis belirlendi. Perivasküler yerleşimli mononükleer hücre infiltrasyonları dikkat çekti.

Histopatolojik incelemelerde CDV enfeksiyonu için karakteristik sayılan intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimciği belirlenen köpeklerden nekropsi sırasında alınan sürüntü örneklerinde real-time RT-PCR ile belirlenen viral nükleik asit pozitiflikleri tablo 2’de verilmiştir.

**Tablo 2.** Sürüntü örneklerinde real-time RT-PCR ile belirlenen viral nükleik asit pozitiflikleri

Köpek No	Sürüntü (tonsil)	Sürüntü (burun)	Sürüntü (konjunktiva)	Kan (Aorta)	İnklüzyon Cisimciği
1E	+	-	-	-	+
2E	+	-	-	-	+
3D	+	-	-	-	+
4E	+	+	+	-	+
5E	+	-	-	-	+
6E	+	-	-	-	+
7D	+	+	+	-	+

CDV enfeksiyonlu köpeklerden alınan dokularda real-time RT-PCR ile crossing point değerlerinin akciğer, serebellum ve böbrekte

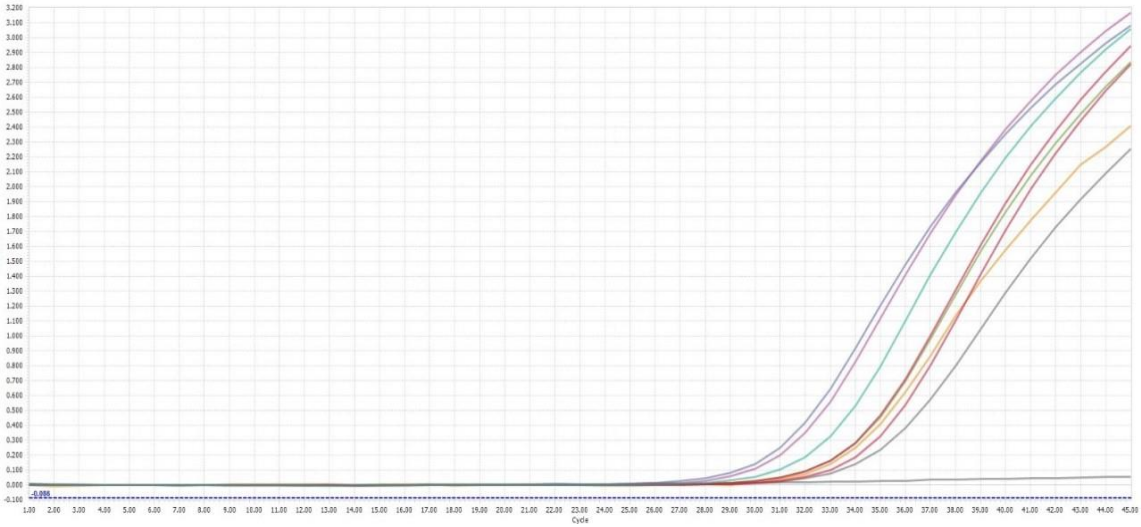
yüksek olduğu belirlendi. Dokularda real-time RT-PCR ile crossing point değerleri ve tablo 3 de verildi.

**Tablo 3.** Köpeklerden alınan doku örneklerinde CDV’ a özgü crossing point değerleri

No	Beyin (kopya/µl)	Dalak (kopya/µl)	Karaciğer (kopya/µl)	Akciğer (kopya/µl)	Serebellum (kopya/µl)	Taban Yastığı (kopya/µl)	Böbrek (kopya/µl)
1E	.*	28	29	22	22	28	26
2E	-	-	29	22	22	28	26
3D	25	28	29	22	-	28	26
4E	22	26	29	22	22	28	26
5E	25	26	29	22	22	29	26
6E	-	26	29	22	22	29	-
7D	23	25	29	22	21	28	26

Çalışmada incelenen köpeklerden bir tanesinde elde edilen crossing point değerleri şekil 2’de

görülmektedir.



Şekil 2. Çalışmada incelenen köpeklerden 3 No’lu köpeğe ait örneklerden elde edilen crossing point değerleri.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Köpeklerin önemli viral hastalıklarından biri olan CDV enfeksiyonu, aşılamalara rağmen hala ülkemizde ve dünyanın birçok bölgesinde gözlenmekte ve köpeklerin toplu barındırıldığı barınaklarda oldukça fazla sayıda köpek ölümlerine neden olmaktadır (Myers vd., 1997; Leisewitz vd., 2001). Köpeklerde görülen iştahsızlık, kilo kaybı, yüksek ateş, öksürük, göz yaşı akıntısı ve myoklonus gibi klinik bulgular hastalığı düşündürse de kesin teşhis için kullanılan virolojik ve histopatolojik incelemeler uzun zaman almaktadır. Bu durum viral nükleik asitlerin çoğaltılması esasına dayalı PCR yöntemlerini ön plana çıkarmakla birlikte uygulayıcı hatasını minimize eden, hızlı sonuç veren ve virüs sayısının belirlenebildiği real-time RT-PCR uygulamalarının önemini daha da artırmaktadır.

Köpek distemper hastalığı virüsü merkezi sinir sisteminin beyaz ve gri maddesinde multifokal lezyonlara neden olmaktadır (Sumummers ve Appel, 1987). Beyaz maddedeki lezyonlar demiyelinizasyonla karakterizedir (Mutinelli vd., 1989). CDV

tarafından şekillendirilen demiyelinizasyon oluşumunda akut ve kronik yangısal safha olmak üzere iki evre belirlenmiştir. Kronik yangısal evredeki demiyelinizasyonun mikroglialarla anti-viral antikörlerin etkileşimi sonrasında şekillenebileceği, akut demiyelinizasyon evresinin ise direkt virüs etkisiyle oluştuğu ileri sürülmüştür (Higgins vd., 1982). Yapılan bu çalışmada olguların tamamında demiyelinizasyonun görülmüş olması literatüre benzerdir. Ayrıca beyin ve beyincik dokularından real-time RT-PCR ile yapılan hesaplamalarda sırası ile 23-25 ve 21-22 crossing point değerlerinin belirlenmiş olması ve beyincikte belirlenen değerlerin, beyine kıyasla yüksek olması demiyelinizasyonun beyincikte daha şiddetli olmasını açıklamakla birlikte, demiyelinizasyonun virüs etkisiyle oluşmuş olabileceği görüşünü de desteklemektedir.

CDV enfeksiyonlu köpeklerde sıklıkla rapor edilen patolojik akciğer lezyonu intersitisyel pnömonidir (Appel, 1987; Guo ve Lu, 2000; Moro vd., 2003; Pardo vd., 2005; Vural ve Alcigir, 2010). Bu çalışmada da incelenen köpeklerin beşinde intersitisyel pnömoniye

ilgili bulguların görülmüş olması literatür ile örtüşmektedir. Ayrıca akciğerden real-time RT-PCR ile yapılan hesaplamalarda 22 crossing point değerinin belirlenmiş olması CDV enfeksiyonunun patogeneğinde akciğerlerin önemli bir yeri olduğunu göstermektedir.

Köpeklerin CDV hastalığının önemli bulgularından bir tanesinin de taban yastıklarının “hard pad” olarak isimlendirilen hiperkeratotik lezyonları olduğu Carvalho vd. (2012) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada da patolojik olarak iki köpekte hiperkeratoza eşlik eden yangısal değişikliklerin görülmüş olması ve bütün köpeklerden alınan taban yastığı doku örneklerinde 28-29 aralığında crossig point değeri belirlenmiş olması literatürü desteklemektedir.

Intrasitoplazmik ve intranükleer yerleşimli inklüzyon cisimcikleri morbillivirüs enfeksiyonları için karakteristiktir (Sato vd., 2006). Kubo vd. (2007) yaptıkları çalışmada 70 köpeğin akciğer dokusunda, 73 köpeğin idrar kesesi epitelinde, 77 köpeğin dalağında ve 81 köpeğin de lenf nodüllerinde inklüzyon cisimcikleri belirlediklerini rapor etmişlerdir. Appel (1987) intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimciklerinin hasta köpeklerin beyin ve omuriliğin glia hücrelerinde ve nöronlarında görüldüğünü bildirmiştir. Benzer şekilde CDV enfeksiyonun tanısında oldukça önemli olan intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimciklerinin lezyonlu dokularda yüksek oranda görüldüğünü belirten çok sayıda kaynak vardır (Beineke vd., 2009; Maxie, 2015). Literatüre benzer şekilde lezyonlu dokularda intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri bu çalışmada da köpeklerin tamamında farklı organlarda belirlenmiştir.

Histopatolojik incelemelerde CDV enfeksiyonu için karakteristik sayılan intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimciği belirlenen köpeklerden nekropsi sırasında alınmış sürüntü örneklerinde viral

nükleik asit varlığı incelendiğinde, tonsillerden alınan sürüntülerin tamamında, burun ve konjunktivadan alınan örneklerde aynı olgular olmak üzere iki tanesinde CDV nükleik asit kopyalarının belirlenebildiği, kanda ise belirlenemediği görülmektedir. Bu sonuçlar hastalığın real-time RT-PCR ile hızlı tanısında tonsillerden alınacak sürüntü örneklerinin daha yararlı olacağı şeklinde yorumlanabilir. Ancak bu sonuçların hasta hayvanların antemortem klinik bulgularla desteklenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile CDV enfeksiyonlu köpeklerde hastalığın hem sürüntü örneklerinde ve hem de postmortem alınan doku örneklerinde hızlı teşhisine yönelik real-time RT-PCR metodu çalışılarak, viral nükleik asit tespitine dayalı real-time RT-PCR metodu ile histopatolojik yöntemin karşılaştırması yapıldı.

## TEŞEKKÜR / AÇIKLAMALAR

**Etik beyan:** Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretimi ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu tarafından 16.02.2021 tarih ve 21 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar, bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedirler.

## KAYNAKLAR

- Amude, A.M., Carvalho, G.A., & Alfieri, A.A. (2007).** Virus isolation and molecular characterization of canine distemper virus by RT-PCR from a mature dog with multifocal encephalomyelitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 1-6.
- Appel, M.J.G. (1987).** *Canine distemper virus*. In: Horzineck MC, ed. *Virus infections of carnivores*. *Virus Infection of Vertebrates*, Amsterdam, Elsevier, 1, 133-59.
- Beineke, A., Puff, C., Seehusen, F., & Baumgärtner, W. (2009).** Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary immunology and immunopathology*, 127(1-2), 1-18.

- Carvalho, O.V., Botelho, C.V., Ferreira, C.G.T., Scherer, P.O., Soares-Martins, J.A., Almeida, M.R., & Silva Junior, A.S. (2012).** Immunopathogenic and neurological mechanisms of canine distemper virus. *Advances in virology*, 4, 1-10.
- De Almeida, D.E., Roveratti, C., Brito, F.L., Godoy, G.S., Duque, J.C., Bechara, G.H., & Laus, J.L. (2009).** Conjunctival effects of canine distemper virus-induced keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary ophthalmology*, 12, 211-5.
- Deem, S.L., Spelman, L.H., Yates, R.A., & Montali, R.J. (2000).** Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *Journal of Zoo and Wildlife medicine*, 31(4), 441-51.
- Demeter, Z., Palade, E.A., & Rusvai, M. (2009).** Canine distemper: still a major concern in Central Europe. *Lucrari Stiintifice Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, 42(1), 136-50.
- Engelhardt, P., Wyder, M., Zurbriggen, A., & Gröne, A. (2005).** Canine distemper virus associated proliferation of canine footpad keratinocytes in vitro. *Veterinary microbiology*, 107(1-2), 1-12.
- Goldstein, T., Mazet, J.A., Gill, V.A., Doroff, A.M., Burek, K.A., & Hammond, J.A. (2009).** Phocine distemper virus in northern sea otters in the Pacific Ocean, Alaska, USA. *Emerging infectious diseases*, 15(6), 925.
- Guo, A., & Lu, C. (2000).** Canine distemper virus causes apoptosis of Vero cells. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 47(3), 183-90.
- Higgins, R., Krakowka, S., Metzler, A., & Koestner, A. (1982).** Primary demyelination in experimental canine distemper virus induced encephalomyelitis in gnotobiotic dogs. *Acta neuropathologica*, 58(1), 1-8.
- Hoskins, J.D. (2010).** Canine Viral Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Disease of the Dog and Cat. 7th ed.* Canada, Elsevier; 961-2.
- Jones, T.C., Hunt, R.D., & King, N.W. (1997).** *Veterinary Pathology. 6th ed.* United States, Williams & Wilkins; 257-61.
- Kubo, T., Kagawa, Y., Taniyama, H., & Hasegawa, A. (2007).** Distribution of inclusion bodies in tissues from 100 dogs infected with canine distemper virus. *Journal of veterinary medical science*, 69(5), 527-9.
- Leisewitz, A., Carter, A., Van Vuuren, M., & Van Blerk, L. (2001).** Canine distemper infections, with special reference to South Africa, with a review of the literature. *Journal of the South African Veterinary Association*, 72(3), 127-36.
- Maclachlan, N.J., & Dubovi, E.J. (2011).** *Fenner's Veterinary Virology, 4th Ed.* USA, Academic Pres; 299-320.
- Maxie, G. (2015).** *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals, Volume: 3* volume set No.Ed.6 pp.2456 pp.
- Moro, L., Martins, A., Alves, C., Santos, F., Del Puerto, H.L., & Vasconcelos, A.C. (2003).** Apoptosis in the cerebellum of dogs with distemper. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(5), 221-5.
- Mutinelli, F., Vandevelde, M., Griot, C., & Richard, A. (1989).** Astrocytic infection in canine distemper virus-induced demyelination. *Acta neuropathologica*, 77(3), 333-5.
- Murphy, F.A., Gibbs, E.P.J., Horzinek, M.C., & Studdert, M.J. (1999).** *Veterinary Virology, 3rd Edition, USA*, Acedemic Pres; 411-25.
- Myers, D.L., Zurbriggen, A., Lutz, H., & Pospischil, A. (1997).** Distemper: not a new disease in lions and tigers. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 4(2), 180-4.
- Pardo, I.D., Johnson, G.C., & Kleiboeker, S.B. (2005).** Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected dogs in North America. *Journal of clinical microbiology*, 43(10), 5009-17.
- Sato, H., Masuda, M., Miura, R., Yoneda, M., & Kai, C. (2006).** Morbillivirus nucleoprotein possesses a novel nuclear localization signal and a CRM1-independent nuclear export signal. *Virology*, 352(1), 121-30.
- Scagliarini, A., Battilani, M., Ciulli, S., Prospero, S., & Morganti, L. (2003).** Molecular analysis of the NP gene of Italian CDV isolates. *Veterinary research communications*, 27, 355-357.
- Sumummers, B.A., & Appel, M.J. (1987).** Demyelination in canine distemper encephalomyelitis: an ultrastructural analysis. *Journal of neurocytology*, 16(6), 871-81.
- Vural, S.A., & Alçigir, M.E. (2010).** Distemper virus-induced apoptotic changes in cerebellum. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 57(2), 83-6.