

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VİROLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ANTALYA'DAKİ KÖPEKLERDE CANİNE DİSTEMPER
VİRUS ENFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

YUSUF SAYIN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç.Dr. Nural EROL

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-08020 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2019

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Etiyoloji.....	3
2.1.1. Virusun Sınıflandırılması.....	3
2.1.2. Virusun Morfolojik Özellikleri.....	4
2.1.3. Virusun Genomik Özellikleri.....	5
2.1.3.1. Yapısal Proteinler.....	5
2.1.3.1.1. H proteini.....	6
2.1.3.1.2. F proteini.....	8
2.1.3.1.3. L proteini.....	8
2.1.3.1.4. M proteini.....	9
2.1.3.1.5. P proteini.....	10
2.1.3.1.6. N proteini.....	10
2.1.3.2. Yapısal olmayan proteinler.....	10
2.1.4. Virusun Dayanıklılığı.....	11
2.1.5. Virusun Üretilmesi.....	11
2.2. Epitizooloji.....	12
2.2.1. Bulaşma Yolları.....	12
2.2.2. Virusun Tür Duyarlılığı.....	12
2.2.3. CDV Enfeksiyonunun Yaygınlığı.....	13
2.2.4. Türkiye’de CDV Enfeksiyonu.....	14
2.3. Patogenez.....	15

2.3.1. Virusun Vücutta Dağılımı.....	15
2.3.2. Organlara Affinite.....	16
2.4. Klinik Görünüm.....	16
2.5. Patoloji.....	19
2.5.1. Histopatoloji.....	19
2.5.2. Makropatoloji.....	21
2.6. Teşhis.....	22
2.6.1. Hematolojik Teşhis.....	23
2.6.2. Biyokimyasal Teşhis.....	23
2.6.3. Antikor Tespiti.....	23
2.6.3.1. Virus nötralizasyon testi.....	23
2.6.3.2. İndirekt immunfloresan testi.....	24
2.6.3.3. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).....	24
2.6.4. Antijen Tespiti.....	24
2.6.4.1. Direkt immunfloresan testi.....	24
2.6.4.2. İmmunokromatografik test.....	25
2.6.4.3. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).....	26
2.6.4.4. İmmunhistokimyasal metodlar.....	26
2.6.5. Beyin Omurilik Sıvısı Analizi.....	26
2.6.6. Virus İzolasyonu.....	27
2.6.7. Nükleik asit tespiti.....	27
2.6.8. Radyolojik Teşhis.....	27
2.7. Mücadele ve Tedavi.....	28
2.7.1. Aşılama ve Korunma Yöntemleri.....	28
2.7.2. Tedavi.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Gereç.....	30
3.1.1. Örneklerin Toplanması, Hazırlanması ve Saklanması.....	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. İmmunokromatografi Hızlı Test Yöntemi ile Antijen Saptanması.....	30
3.2.1.1. Test için kullanılacak kan serum örneklerin hazırlanması.....	31
3.2.1.2. CDV -antigen rapid test kit içeriği.....	31
3.2.1.3. Testin uygulanışı.....	31

3.2.1.4. Testin değerlendirilmesi.....	31
3.2.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay ile IgG Antikorlarının Saptanması.....	32
3.2.2.1. Test için kullanılacak kan serum örneklerinin hazırlanması.....	32
3.2.2.2. ELISA IgG antikor testi kutu içeriği.....	32
3.2.2.3. Testin uygulanışı.....	33
3.2.2.4. Testin değerlendirilmesi.....	33
3.2.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay ile IgM Antikorlarının Saptanması.....	33
3.2.3.1. Test için kullanılacak kan serum örneklerinin hazırlanması.....	34
3.2.3.2. ELISA IgM antikor testi kutu içeriği.....	34
3.2.3.3. Testin uygulanışı.....	34
3.2.3.4. Testin değerlendirilmesi.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Klinik Bulgular.....	36
4.2. İmmunokromatografik Hızlı Test Yöntemi Bulguları.....	37
4.3. IgG Antikor Varlığı Yönünden ELISA Sonuçları.....	37
4.4. IgM Antikor Varlığı Yönünden ELISA Sonuçları.....	37
4.5. Köpeklerde IgG ve IgM Antikor Varlığı Sonuçlarına Göre Klinik Değerlendirme.....	38
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	66

SİMGELER ve KISALTMALAR

bp	Base Pair (Baz Çifti)
CAV	Canine Adenovirus
CDV	Canine Distemper Virus
CPE	Cytopathogenic Effect (Sitopatojenik etki)
CPV	Canine Parvovirus
FmoPV	Kedi morbillivirusu
F	Füzyon Protein
H	Hemaglutinin Proteini
IF	İmmunfloresan
IC	İmmunokromatografi
i.n.	İntranükleer
i.s.	İntrastoplazmik
kDa	Kilodalton
L	Large Proteini
M	Matriks Protein
MDCK	Madin Darby Canine Kidney
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
ml	Mililitre
MV	Measles Virus (Kızamık Virusu)
N	Nükleokapsit Proteini
nm	Nanometre
P	Fosfoprotein
pH	Power of Hydrogen
PPRV	Peste Des Petits Ruminant Virus (Küçük Ruminantların Vebası Virusu)
RNA	Ribonükleik asit
RPV	Rinder Pest Virusu (Sığır Vebası Virusu)
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
VERO	Afrika Yeşil Maymunu Böbreği hücre kültürü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. CDV virion ve genom organizasyonu.....	6
Şekil 2. Yapısal proteinlerin virus içerisindeki dağılımı.....	9



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Canine distemper virusunun sınıflandırılması.....	3
Tablo 2. Örneklenen köpeklerde görülen klinik bulgular.....	36
Tablo 3. Köpeklerin klinik bulgularına göre IgG ve IgM antikorlarının pozitiflik oranları..	38
Tablo 4. Örneklenen köpeklerde IgGve IgM antikorlarının dağılımı.....	39
Tablo 5. CDV ye karşı oluşan IgG ve IgM antikorlarının varlığına göre enfeksiyon dönemlerindeki hayvan sayıları.....	39
Tablo 6. CDV Enfeksiyonu dönemlerinde klinik bulguların görülme sıklığı.....	40
Tablo 7. Rehabilitasyon merkezine ve özel veteriner kliniğine getirilen köpeklerde CDV enfeksiyon dönemleri.....	41

ÖZET

ANTALYA'DAKİ KÖPEKLERDE CANİNE DİSTEMPER VİRUS ENFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Sayın, Y. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji (Veteriner) Yüksek Lisans Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Bu araştırmada Antalya ilindeki Rehabilitasyon merkezine ve özel veteriner kliniklerine çeşitli dahili sağlık problemleriyle getirilen, 2-12 aylık yaştaki toplam 92 adet köpekten kan örnekleri Canine Distemper Virus (CDV) enfeksiyonu yönünden incelendi. Örnekler CDV-antijenlerinin saptanması için ticari immunokromatografik hızlı test (CDV Ag-Antigen Rapid Test kit® , BioNote. Inc., Kore Cumhuriyeti) ile, CDV spesifik IgG ve IgM antikorların saptanması için Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Distemper IgG Ab ELISA, Biopronix Agrolabo, İtalya) ile test edildi.

Örneklenen 92 köpekte en fazla gözlenen klinik bulgular sırasıyla gözde mukopurulent karakterde akıntı (%45,65), nasal hiperkeratoz (%35,87), nasal mukopurulent akıntı (%25), öksürük (%13,04), ishal (%8,70), halsizlik (%6,52) olarak kaydedildi. İmmunokromatografik hızlı test ile incelenen numunelerden %5,43 (5/92)'ü pozitif bulundu. ELISA ile IgG antikorları yönünden pozitiflik oranı %19,56 (18/92) (%17,7 düşük, %32,3 orta, %28,1 yüksek titre) olarak bulundu. ELISA ile IgM antikorları yönünden pozitiflik oranı ise %94,56 (87/92) (%60,4 düşük-orta, %31,3 yüksek titre) olarak tespit edildi.

IgG ve IgM antikorlarının tespiti için ELISA ile test edilen 92 köpekten 91 tanesi (%98,91) IgG veya IgM antikorlarından biri veya her ikisi yönünden pozitif, 1 (%1,09) tanesi ise her iki antikor yönünden negatif bulundu. Bu köpeklerin 70 tanesinin (%76,09) her iki antikor (IgM ve IgG antikorları) yönünden pozitif olduğu saptandı. Örneklenen köpeklerin %4,35'inin (4/92) sadece IgG antikorları yönünden, %18,48'sinin (17/92) ise sadece IgM yönünden pozitif olduğu görüldü.

Sonuç olarak, CDV enfeksiyonunun Antalya ilindeki Canine distemper virus enfeksiyonunun akut ve yaygın bir şekilde dolaşımında olduğu ve bölgedeki aşısız köpekler için risk oluşturduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: Antijen, Canine distemper virus, ELISA, IgG, IgM

ABSTRACT

INVESTIGATION OF CANINE DISTEMPER VIRUS INFECTION IN DOGS IN THE ANTALYA PROVINCE

Sayin, Y. Aydin Adnan Menderes University Institute of Health Sciences, Veterinary Virology Master's Program, M.Sc. Thesis, Aydin, 2019.

In this study, blood samples from 92 dogs, aged 2 to 12 months, that were brought to the Rehabilitation Center and private veterinary clinics in Antalya with various internal medical problems were examined for Canine Distemper Virus (CDV) infection. Samples were tested using commercial immunochromatographic rapid test (CDV Ag-Antigen Rapid Test kit®, BioNote. Inc., Republic of Korea) for detection of CDV-antigens and Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for detection of CDV-specific IgG and IgM antibodies (Distemper IgG Ab ELISA, Biopronix AGROLABO, Italy).

The most common clinical findings in the 92 dogs sampled were mucopurulent discharge in the eye (45.65%), nasal hyperkeratosis (35.87%), nasal mucopurulent discharge (25%), cough (13.04%), diarrhea (8%). 70, and fatigue (6.52%). 5.43% (5/92) of the samples examined by immunochromatographic rapid test were positive. Positivity rate of IgG antibodies by ELISA was 19.56% (18/92) (17.7% low, 32.3% medium, 28.1% high titer). The positivity rate of IgM antibodies determined by ELISA was 94.56% (87/92) (60.4% low to medium, 31.3% high titer). Of the 92 dogs tested by ELISA for detection of IgG and IgM antibodies, 91 (98.91%) were positive for one or both IgG or IgM antibodies, and 1 (1.09%) was negative for both antibodies.

70 (76.09%) of the dogs were positive for both antibodies (IgM and IgG antibodies). 4.35% (4/92) of the dogs were positive only for IgG antibodies and 18.48% (17/92) were positive only for IgM.

In conclusion, it was determined that CDV infection is actively circulating in the Antalya province and poses a risk for unvaccinated dogs in the region.

Keywords: Antigen, Canine distemper virus, ELISA, IgG, IgM

1. GİRİŞ

Canine Distemper Virusu (CDV; köpek distemper virusu) öncelikli olarak karada yaşayan etçiller olmak üzere, çok sayıda hayvan türünde enfeksiyon oluşturabilen bir virustur. Özellikle köpeklerde multisistemik bir hastalığa neden olan CDV enfeksiyonu yaygın adıyla “köpek gençlik hastalığı” olarak bilinir. Solunum, sindirim ve sinir sistemi bulguları ile birlikte seyreden enfeksiyon, özellikle aşılınmamış yavru köpeklerde ölümcüldür (Sabatino, 2016). Solunum, sindirim ve sinir sistemi bozuklukları yanı sıra şiddetli immunsupresyona da neden olan virus diğer enfeksiyonlara zemin hazırlayabilmekte ve hastalığın tanısını ve tedavisini zorlaştırabilmektedir.

Dünya çapında endemik yayılım gösteren CDV enfeksiyonu ilk kez 1730 yıllarda rapor edilmiştir. Tarihi belgelerde, özellikle avlanma ve savaşta oldukça fazla kullanılan Greyhound ve Mastiff tipi köpeklerde yaygın olduğu rapor edilmiştir. Canine distemper virusunun ilk güvenilir raporu, 1735’de Fransız Jeodezi Komisyonu üyesi olan, ekvatoru ölçme göreviyle Ekvator ve Peru’da bulunan bilim adamı Don Antonio de Ulloa’ya aittir. Hastalığı gözlemleyen Ulloa, hastalığın kasılmalara, kan kusmasına, güçsüzlüğe, halsizlik ve iştahsızlıkla başladığını da bildirmiştir. Avrupa’da distemper salgınları ise ilk kez 1760 yıllarında rapor edilmiştir (Elizabeth, 2018).

Distemper enfeksiyonu, dünyanın birçok bölgesinde endemiktir. Hastalığın insidansı, özellikle gelişmiş ülkelerde çok az düzeydedir (Sabatino, 2016). Canine distemper virusu her yaştaki hayvanlarda enfeksiyon yapabilir, özellikle 0-6 aylık hayvanlar daha duyarlıdır (Çalışkan, 2007).

1990’lardan itibaren pet hayvanlarının evlerde beslenmeye başlanmasından itibaren CDV enfeksiyonu yaygınlaşmaya başlamıştır. Köpek sahipleri hastalığın ciddiyetinin farkında olup, veteriner hekimlere danışarak gereken aşılama programlarını mutlaka yaptırmaktadır.

CDV’ye karşı alınan en temel önlem aşılamadır. Modifiye edilmiş canlı virus aşılarının 1960’lı yılların başından beri rutin olarak kullanılmasıyla virusla mücadele edilmeye çalışılmaktadır. Enfeksiyonun kontrol ve mücadelesinde, insidansını, yaygınlık oranlarını ve risk faktörlerini bilmek önemlidir. Hastalığın yayılmasını ve salgınların oluşmasını engellemek için köpeklerin birbiri ile teması minimum düzeyde tutulmalıdır.

Enfeksiyonun bulaşmasını engellemek ve yeterli düzeyde bağışıklık oluşturulmasını sağlamak amacıyla aşılama programları önem kazanmaktadır (Budaszewski ve ark, 2016).

Pet hayvanlarının sayısı günümüzde sosyo-kültürel değişimler sonucu günden güne artmaktadır. Evde bakılan hayvanlar artık aile fertleri olarak görülmekte ve daha fazla değer verilmektedir. Buna bağlı olarak, hayvan sahipleri tarafından hayvanların sağlıkları ve enfeksiyöz hastalıklardan korunması konusunda gün geçtikçe daha çok titiz davranılmaktadır. Türkiye’de yapılan çalışmalara göre canin distemper virus enfeksiyonu yıllara göre sürekli artış gösteren ve yaygınlaşan bir hastalıktır (Çalışkan ve Burgu, 2007; Esin, 2013; Saltık, 2018). Bu çalışmada, Antalya bölgesinde pet hayvanlarının sayısının günden güne hızlı bir ivmeyle artması nedeniyle evcil köpeklerin sağlığını ciddi şekilde tehdit eden viral nedenli köpek gençlik hastalığının durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada enfeksiyonun klinik seyri izlenmiş, serolojik laboratuvar bulguları ile birlikte değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

2.1.1. Virusun Sınıflandırılması

Canine distemper virusu, *Mononegavirales* takımında bulunan *Paramyxoviridae* ailesinin *Orthoparamyxovirinae* alt ailesinde yer alan *Morbillivirus* cinsi içerisinde, *canine morbillivirus* türü olarak sınıflandırılmaktadır (Wang ve ark, 2007).

Canine distemper virusunun sınıflandırılması ve morbilliviruslar Tablo 1’de listelenmiştir (Claudio ve ark, 2016).

Tablo 1. Canine distemper virusunun sınıflandırılması (ICTV 2018b).

Aile	Alt aile	Cins	Tür	
<i>Paramyxoviridae</i>	<i>Avulavirinae</i>	<i>Metaavulavirus</i>		
		<i>Orthoavulavirus</i>		
		<i>Paraavulavirus</i>		
	<i>Metaparamyxovirinae</i>	<i>Synodonvirus</i>		
	<i>Orthoparamyxovirinae</i>	<i>Aquaparamyxovirus</i>		
		<i>Ferlavirus</i>		
		<i>Henipavirus</i>		
		<i>Jeilongvirus</i>		
		<i>Morbillivirus</i>		<i>Canine morbillivirus (CDV)</i>
				<i>Cetacean morbillivirus</i>
				<i>Feline morbillivirus</i>
	<i>Measles morbillivirus</i>			
	<i>Phocine morbillivirus</i>			
<i>Rinderpest morbillivirus</i>				
<i>Small ruminant morbillivirus</i>				

Paramyxoviridae ailesi 3 alt familya içermektedir; Kanatlıların paramyxoviruslarının sınıflandırıldığı *Avulavirinae* alt ailesi, *Metaavulavirus*, *Orthoavulavirus* ve *Paraavulavirus* cinslerini içermekteyken, *Metaparamyxovirinae* alt ailesi içerisinde tek bir cins ve tür (*Synodonvirus* cinsi, *Synodus Paramyxovirusu* türü) bulunmaktadır. Canine distemper virusunun yer aldığı *Orthoparamyxovirinae* alt ailesi ise *Morbillivirus* cinsi yanında

Aquaparamyxovirus, *Ferlavirus*, *Henipavirus*, *Jeilongvirus* cinslerini içermektedir (Tablo 1) (Wang ve ark, 2007).

Orthoparamyxovirinae alt ailesinin üyeleri, genlerinde 6-8 transkripsiyonel elementlere sahiptir. *Ortoparamiksovirusların* nükleokapsidleri, 18 nm çapa ve 5.5 nm'lik bir alana sahiptir. Genom uzunluğu, verimli genom replikasyonu için (“altı kuralı”) 6 nükleotitten oluşan bir yapı olmalıdır (Calain ve Roux, 1995).

Morbillivirusların hepsi, hayvan ve insan popülasyonlarında ciddi sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açabilen önemli enfeksiyonlara neden olmaktadır (Gençay ve ark, 2012).

Canine distemper virusu, *Morbillivirus* genusu içerisinde yer alan Measles Virus; (MV; Kızamık Virusu), Rinder Pest Virusu (RPV; Sığır Vebası virusu), Peste Des Petits Ruminant Virus (PPR; Küçük Ruminantların Vebası Virusu), Deniz memelilerinde enfeksiyona neden olan Cetacean Morbillivirus (CeMV) ve Phocid Distemper Virus’u (PDV) ile genetik olarak akraba viruslardır (Di Guardo, 2005; Banyard 2006; Goldstein, 2009; Wohlsein, 2007). İlgili virusların genelde her biri sınırlı bir doğal konakçı aralığı vardır. Konakçılara göre; MV insanları enfekte eder, RPV sığırları enfekte eder ve CDV, carnivorları enfekte eder. Ancak, CDV enfeksiyonu, maymun kolonilerine yani primatlara kadar uzanabilir (Sakai, 2013). Ancak şu ana kadar CDV’nin insanda enfeksiyon oluşturduğuna dair kesin bir kanıt yoktur. Laboratuara uyarlanmış CDV’nin insanlara enjekte edilmesi sonucu hastalık semptomları gözlenmemiştir (Hoekenga, 1960).

Tüm morbilliviruslar filogenetik olarak yakından ilişkilidir. Son zamanlarda, yeni tanımlanmış bir kedi virusuna kedi morbillivirusu (FmoPV) adı verildi. FmoPV’nin “gerçek” bir morbillivirus olup olmadığı henüz belirlenmemiştir: Hem moleküler biyoloji hem de çıkarımsal patogenezi, bunun böyle olmadığını göstermektedir. Yine, kısa sekansların tespiti, enfeksiyöz virusun varlığına eşit değildir ve mümkün olduğunda patojenleri izole etmek için çaba gösterilmelidir (Rory ve ark, 2015).

2.1.2. Virusun Morfolojik Özellikleri

CDV etkeni, *Mononegavirales*’in diğer üyelerine benzer şekilde, tek bir molekülden oluşan (segmentsiz) negatif sarmallı RNA (ssRNA) içerir. Virusun genomu yaklaşık 16 kb büyüklüğünde olup, sekiz farklı protein kodlamaktadır. Nükleokapsit yapı prensibi olarak

helikal simetridir. Virion, nükleokapsitin etrafını saran lipid zarf nedeniyle pleomorfik görünüme sahiptir ve 150-350 nm çapındadır (Santiago ve ark, 2019).

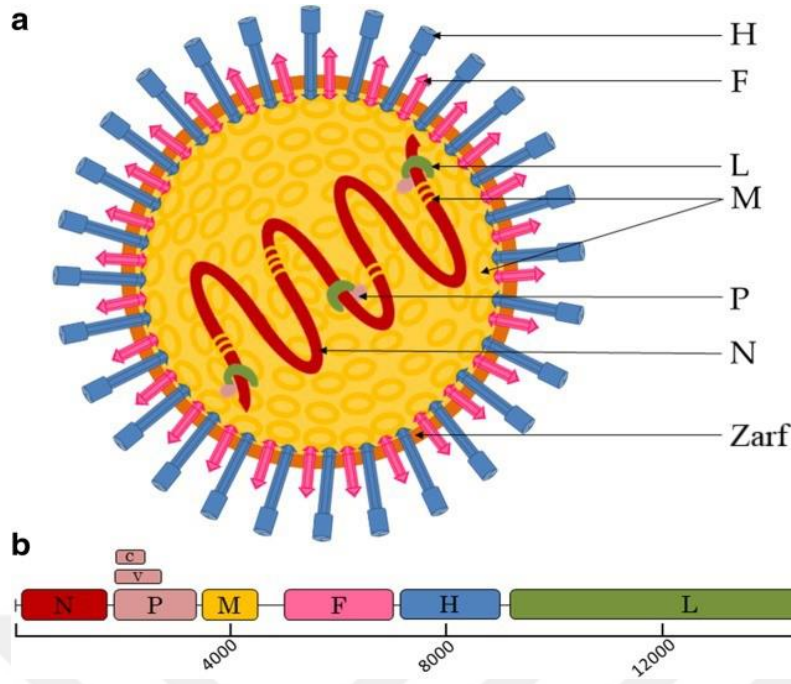
2.1.3. Virusun Genomik Özellikleri

Canine distemper virusunun genomu 15.690 nükleotid içeren, tek iplikli, segmentsiz negatif polariteli RNA'dan oluşur (Gael ve ark, 2018; Santiago ve ark, 2019). Genom 8 farklı yapısal ve yapısal olmayan protein kodlar. Bu proteinler hemagglutinin (H) proteini, füzyon (F) proteini, nükleokapsit (N) proteini, fosfoprotein (P), büyük (L) ve matriks (M) proteindir. Diğer iki protein ise C ve V proteinleri olarak adlandırılan yapısal olmayan proteinlerdir (Baron, 2000; Gael ve ark, 2018).

Nükleokapsit (N) proteini sarmal şekilde virus genomunu kaplar ve helikal simetrik bir ribonükleokapsit oluşturur. Fosfoprotein (P) ve büyük (L) proteinlerden oluşan viral RNA-bağımlı RNA polimerazı, ribonükleokapsite bağlanır ve virus genomunu enfekte olmuş hücrelerde replikasyonu sağlar (Brown, 2005). P proteinine ek olarak, iki yapısal olmayan V ve C proteinleri, P geni tarafından sırasıyla bir RNA düzenleme işlemi ve farklı bir okuma çerçevesindeki alternatif bir çeviri başlatma işlemi ile kodlanır. V ve C proteinleri virus replikasyonu için gerekli olmayan proteinlerdir, ancak konakçının doğuştan gelen immun yanıtını önlemek için kritik bir öneme sahiptir. Virus partikülleri zarfın üzerinde iki tip transmembran glikoproteinine, hemagglütinin (H) ve füzyon (F) proteinlerine sahiptir. H proteini, konakçı hücrelerdeki alıcılara bağlanır ve F proteini ise, viral zarf ve konakçı hücre plazma zarı arasındaki membran füzyonuna aracılık eder (Santiago ve ark, 2019).

2.1.3.1. Yapısal Proteinler

CDV yapısal proteinleri; N: nükleokapsit, P: fosfoprotein, M: matriks proteini, F: füzyon proteini, H: hemagglutinin, L: büyük proteini içindeki CDV partikülünün şematik diyagramları. B CDV'nin genomik RNA'sının (3-5') şeması. Her kutu ayrı olarak kodlanmış bir mRNA'yı temsil eder; tek bir mRNA içindeki çoklu farklı yapısal olmayan proteinler, P üzerindeki örtüşen kutularda belirtilmiştir (Santiago ve ark, 2019).



Şekil 1. CDV virionu (şekil a) ve genom organizasyonu (şekil b); H: Hemaglutinin proteini, F: Füzyon proteini, L: Polimeraz (Large) proteini, M: Matriks proteini, P: Fosfoprotein, N: Nükleokapsit proteini (Santiago ve ark, 2019).

2.1.3.1.1. H proteini

Paramyxoviridae ailesinin diğer üyeleri gibi, H (Hemaglutinin) glikoproteini de virusun konak hücre zarına bağlanmasını sağlar. H proteini, CDV adaptasyonu ve mutasyonunu araştırmak için en uygun kriter haline gelmiştir (Bolt ve ark, 1997). CDV suşları arasında %11'e kadar nükleotid sapmasıyla en değişken gen olarak kabul edilir. Bu gerçek, sırasıyla genetik sınıflandırma ve moleküler epidemiyolojiye dayanan CDV filogenetik ve filodinamik çalışmaların yürütülmesini sağlar. Dünya genelinde çeşitli coğrafik bölgelerde tespit edilen birçok CDV suşundan H geninin tam dizilimine dayanan filogenetik çalışmalar, CDV'nin genetik çeşitliliğini ortaya çıkarmıştır. Genotip sınıflandırması, her genotip içinde nükleotid ayrışmasının %5'ten az olması gerektiğini dikkate almaktadır. Bu kriterlere göre, şu ana kadar 17 ayrı genotip tanımlanmıştır: Amerika-1 (neredeyse tüm aşı suşlarını içerir), Amerika-2 ile 5, Arctic, Rockborn-benzeri, Asya-1 ile 4, Afrika-1 ve 2, Avrupa Yaban Hayatı, Avrupa / Güney Amerika-1, Güney Amerika-2 ve 3 (Kelly ve ark, 2005; Lagedijk ve ark, 2011).

H ve F proteinlerinin asli fonksiyonları, CDV'nin konak hücreye adsorbsiyonu, bağlanma ve penetrasyon işlemlerine aracılık etmektedir. Diğer viruslarda gözlenen nöraminidaz etkisinden yoksun olan bağlanma proteini H, SLAM, nektin-4 ve diğer glial hücrelerde konak hücrelerin plazma zarlarında bulunan reseptörlere bağlanır (Zurbriggen, 1998; Iwatsuki ve ark, 2000; Lagedijk ve ark, 2011).

Konaktaki enfeksiyonun ilk aşamalarında, dentrik ve alveolar makrofajlar, alveolar lümeninde CD150 eksprese eden diğer hücrelerle birlikte enfekte edilir. CDV H proteini CD150 hücre reseptörü vasıtasıyla hücreye kendini bağlar. Enfekte hücrelerde replikasyon ve primer viremi başlatılması ile sonuçlanan T-hücreleri ve B-hücreleri, CD150 reseptörü yoluyla enfekte edilir, sonrasında aktif olan bu hücreler vasıtasıyla virus lenf düğümlerine taşınır (Lagedijk ve ark, 2011).

Morbillivirus enfeksiyonunda, konak hücre ile ilk etkileşim, viral füzyon proteini tarafından desteklenen, hücreye penetrasyonu ve virion replikasyonu başlatan temel bir viral bileşen olan zarf bağlantılı H (hemaglutinin) protein tarafından yönetilir. Konakçının hücre yüzey reseptöründe sialik asite bağlanarak konak hücreye penetrasyonu sağlar. Lenfosit aktivasyon molekülü (CD150 / SLAM), evrensel bir *in vivo* morbillivirus reseptörü olarak tanımlanır. Bazı immun hücrelerde SLAM ekspresyonu, lenfoid dokunun CDV aracılı sitolitik enfeksiyonu ile ilişkili şiddetli immunsupresyon görülür (Lagedijk ve ark, 2011).

Canine distemper virusuna ait H proteini kodlayan gen bölgesinin Türkiye sınırları içerisinde suşun kendi içinde tiplendirilebilecek kadar çeşitlilik gösterdiği ve 3 farklı genotipin aynı anda sirküle olduğu rapor edilmiştir (Çalışkan ve ark, 2007).

Canine distemper viruslarının H proteinini kodlayan gen bölgeleri filogenetik düzeyde birbirleri ile çok yakındırlar. Tüm yerel suşların daha önceki izolatları da içine alacak şekilde ayrı bir grup oluşturduğu, vahşi tip CDV suşları arasında diğer suşlara oranla Kuzey ve Doğu Avrupa grubu suşlara daha yüksek düzeyde benzer genetik yakınlık gösterdiği bildirilmiştir (Çalışkan ve ark, 2007).

H proteini CDV'nin en önemli antijenik birimi olarak kabul edilmektedir. Ancak yüzey proteini olan F ve N proteinleri başta olmak üzere diğer kapsit proteinlerinin de daha ileri moleküler analizlerinin yapılarak, virusun antijenite ve patojenitesinde meydana gelen değişimlerin daha detaylı bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir (Çalışkan ve ark, 2007).

2.1.3.1.2. F proteini

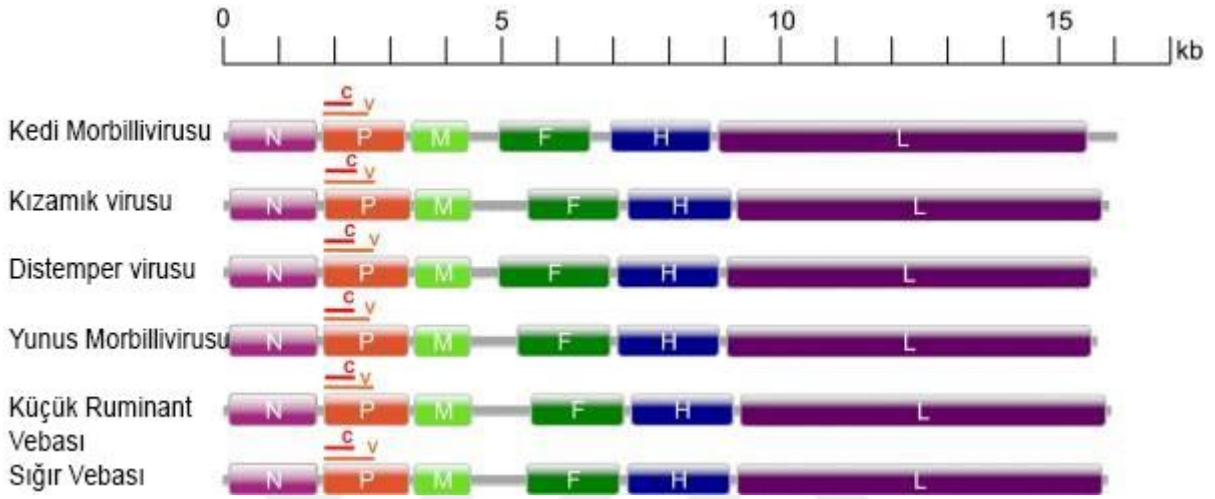
F (Füzyon) proteini ile birlikte H proteini virusun kendi ve konak zarın füzyonunu gerçekleştirerek viral genetik materyalin sitoplazmaya girmesini sağlar (Romanutti, 2016). CDV etkeni F ve H glikoproteinlerinin varlığına bağlı olarak, bir tetramerik H ve bir trimerik F'den oluşan bir hetero-oligomerik kompleks vasıtasıyla, konağın ilk hücre savunma bariyeri olarak kabul edilen plazma membranını başarıyla geçebilir. H glikoprotein spesifik amino asitlerin tanınmasıyla spesifik konak hücre reseptörü ile etkileşime girdikten sonra, H ve F'de çoklu konformasyonel değişikliklerin ardından, son zamanlarda stabiliteyi düzenleyen F'nin hücre membranında bir cep oluşturduğu bildirilmiştir. F trimerin metastaz, füzyon öncesi konformasyon durumu olarak tanımlanır. Bu etkileşime, F globüler kafa bölgesinin Ig benzeri bölgesinde bulunan ve H reseptörünün ve membran proksimal bölgesi arasındaki etkileşime katkıda bulunan iki hidrofobik bağlantı aracılık eder. Ek olarak, H tetramerler tarafından elde edilen F-tetikleyici uyarının yoğunluğunun H proteininin kökeninden ve temas eden alıcının moleküler yapısından etkilendiği bildirilmiştir. Bunun nedeni, kritik artıkların, bu tür füzyon makinelere indüklenmesi aşamasında yer alan ön H ciltleme bölgesinde konumlanmış olmalarıdır. Protein kompleksindeki bu tür yapısal düzenlemeler, virusun hücre zarı yüzeyine bağlanmasını, füzyon gözeneğlerinin oluşmasını ve ardından genetik materyal kompleksinin konak hücre sitoplazmasına geçmesini kolaylaştırır. Membran füzyonu ayrıca virusun hücreden hücreye yayılması için de gereklidir; bu, morbillivirusun dikkat çekici bir sitopatojenik özelliği olan sinisti olarak bilinen çok çekirdekli bir hücre oluşumu ile sonuçlanır (Alldinger ve ark, 1993; Lee ve ark, 2010).

2.1.3.1.3. L proteini

Large proteini transkriptaza bağlı çok işlevli ve RNA'ya bağımlı virion polimerazıdır. 180 – 200 kDa moleküler ağırlığa sahip bir viral polimerazdır. Polimeraz kompleksinde işlevsel rolü vardır. Bu gen virus tarafından en son üretilen proteindir (Woma ve ark, 2008).

Tüm proteinler, viral döngü ve replikasyon ile ilgili, genomik RNA'yı çevreleyen nükleokapsit (N) proteini ile ve CDV gen ekspresyonuna dayanarak, N, viral polimeraz tarafından transkripsiyon ve replikasyon için bir şablon olarak görev yapar. L proteini polimeraz aktivitesini gösterir ve virus partikülü tarafından taşınır (Santiago ve ark, 2019).

Morbillivirusların L proteinlerinin karşılaştırmalı analizi sonucunda üç adet korunmuş bölüm vardır. Bunlardan birincisi RNA'ya bağlanma fonksiyonuna sahiptir. İkinci bölüm ise replikasyon ve transkripsiyon aktivitelerinde görev alan ana bölümdür. Üçüncü bölüm başka bir nükleotide bağlanmada rol oynamaktadır. L proteinlerinin bu bölünmüş yapısı orthomyxoviruslarda benzer şekilde rol aldığı rastlanmıştır (Michael ve ark, 1997).



Şekil 2: Yapısal proteinlerin virus içersindeki dağılımı (Patrick ve ark, 2012).

2.1.3.1.4. M proteini

Zarfla ilişkili matriks proteini (M proteini), nükleokapsiti çevreleyen bir yapı oluşturur. Matriks proteini nükleokapsit ve virus partikülü oluşumu için gereklidir. Matriks proteinin iç katmanı virus zarını stabilize eder. Molekül ağırlığı 34 kDa ve yapısal fonksiyonu penetrasyonu sağlamaktır. Matriks proteini in vitro olarak kolayca elde edilir. 335 aa den oluşur. Lipit zarın altında bulunur. Virus olgunlaşmasında önemli bir rolü vardır, ayrıca nükleokapsit ve yüzey proteinleri yani H ve F arasında bağlantı görevi görür (Woma ve ark, 2008).

M proteini, Ribonükleoprotein (RNP) ve yüzey glikoproteinleri arasında köprü görevi görür. M proteini görevleri arasında olgun virus partiküllerinin oluşumu sırasında düzeni sağlarken, virion komponentlerinin birleştirilmesinde ve tomurcuklanmasında önemli rol almaktadır. RNP ve sentezlenen glikoproteinler, viral ve hücrel faktörler arasında koordineli bir etkileşim yaparak enfekte konakçı hücrenin plazma membranının spesifik bölgelerinde enfeksiyöz CDV partiküllerini oluşturur. Mutasyonların veya kayıp partiküllerin olmaması

için N proteini ile birlikte görev alır. Sonuç olarak M proteini, RNP kompleksinin olgun CDV partikülleri oluşumunda önemli bir görevi vardır. M proteini, stoplazmada sentezlenen RNP kompleksini, H ve P proteinlerini plazma membranında tomurcuklanan virus partiküllerine taşır. M proteininde meydana gelen mutasyon ve protein yapısında bozulmaların olgun virus oluşumunda patogenezi etkilediği bilinmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda M proteinin yapısal düzeninde bir bozulma şekillenmediği sürece, diğer proteinlerin eksikliklerine rağmen olgun CDV partiküllerinin oluşması sağlayarak önemli bir protein olduğunu göstermektedir (Santiago ve ark, 2019).

2.1.3.1.5. P proteini

P proteini, bir fosfoproteindir. Yapısal bir protein olmakla beraber iki temel işlevi vardır. Birincisi RNP'yi polimeraz şablonu olarak tanımak diğeri ise sentezlenen yeni N proteininin stabilizasyonudur. P proteini L ve N ile reaksiyona girerek RNA transkripsiyonunda ve replikasyonunu sağlamaktadır. P proteini molekül ağırlığı 73 kDa, 507 aminoasitten oluşur. L proteinin işleyişinde temel bir kofaktördür (Alldinger ve ark, 1993).

2.1.3.1.6. N proteini

Nükleokapsid Proteini (N), RNP'nin sarmal yapısının temelini sağlamaya kalmaz aynı zamanda replikasyonda etkin rol almaktadır. N proteini genomu bozulmalara karşı korur ve transkripsiyon işlemini kontrol eder. L proteini ile dinamik bir etkileşime girerek RNA'yı kaplayarak korur. Nükleokapsitin helikal simetri olarak oluşturulmasında önemli rolü bulunur. N proteini 523 tane aminoasitten oluşmuştur. Proteinin molekül ağırlığı 58 kDa'dır (Woma ve ark, 2008; Gamiz-Mejia ve ark, 2012).

2.1.3.2. Yapısal olmayan proteinler

Paramyxoviruslarda 2 tane yapısal olmayan protein (C ve V) bulunmaktadır. Bu proteinler konakçı immün yanıtı baskılamak, *in vivo* enfeksiyonun oluşmasında ve viral replikasyonda kritik öneme sahiptir. C ve V proteinleri P geni ile aynı aminoasit dizilimine

sahiptir, ancak farklı karbon bağları vardır. Genetik materyal üzerindeki yapısal proteinlerin aminoasit dizimimleri NPMFHL olarak belirlenmiştir (Alldinger ve ark, 1993).

C ve V proteinleri, virus çoğaltma işleminde gerekli değildir, ancak konakçı immun tepkilerini önlemek için kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, aralarındaki işbirliğine dayalı eylemler, konağın verdiği immun yanıtı etkin bir şekilde absorbe etmek ve in vivo enfeksiyona neden olmak için kritik öneme sahiptir. V proteini, P proteini ile aynı aminoasit dizilimine sahiptir, ancak farklı bir karbon bağı vardır. V proteinine zıt olarak, C mRNA transkripsiyonu alternatif bir başlangıç kodonunda başlatılır (Michael ve ark, 1997).

2.1.4. Virusun Dayanıklılığı

CDV zarflı bir paramiksovirusdur. Lipid zarfa sahip olduğundan dolayı dış ortamda oldukça dayanıksızdır (Imhoff, 2006; Bossart ve Broder, 2009). 25 °C de 1-3 saat arasında canlılığını korur 2 gün boyunca viral enfeksiyon yapabilir. Enfeksiyözitesini oda sıcaklığında 2 gün, 5 °C'de 2 hafta enfeksiyon yapabilme yetisine sahiptir. Virus donma derecesinde 7 yıl canlılığını koruyabilmektedir. Günümüzdeki canlı aşılarda 4-8 °C'de 3 yıl boyunca korunabilir (Lee ve ark, 2010).

2.1.5. Virusun Üretilmesi

CDV izolasyonu ve titrasyonu oldukça zordur. CDV üreyebileceği uygun hücre kültürlerinde çoğalır ve sitopatik etki (CPE) oluştururlar. Virusu üretmek için genellikle Afrika yeşil maymun böbreği (VERO) devamlı hücre kültürü kullanılır. Yine de her suş bu geçerli değildir. Vahşi yaşamda saha suşlarıyla yapılan çalışmalarda CDV üremesinin gerçekleşmediği belirtilmiştir (Nguyen, 2005).

CDV'nin VERO hücrelerinde replikasyonu esnasında daha belirgin CPE oluşturduğu, MDCK hücrelerinde ise daha hızlı replike olduğu bilinmektedir. Son yıllarda VERO ya eklenen Signaling Lymphocyte Activation Molecules (SLAM) sayesinde CDV'nin CPE yeteneği ve üreme hattının arttığı rapor edilmiştir. CDV'nin izolasyonunda hasta hayvandan alınan klinik materyale herhangi bir işlem yapmadan yapılan ekimde primer hücre kültürlerinde CPE yaptığı saptanmıştır (Lan ve ark, 2005b).

2.2. Epituzootiyoloji

2.2.1. Bulaşma Yolları

Canine distemper virus enfeksiyonunun köpekler arasında bulaşma oranı açıklanırken insanlar arasında görülen morbillivirus (kızamık) enfeksiyonları kadar bulaşıcı karakter taşıdığı vurgulanmıştır (Gael ve ark, 2018).

Canine distemper virusu çoğunlukla doğrudan temas, damlacık enfeksiyonu veya aerosol yollarla bulaşır. En önemli bulaşma yolu yakın temastır (Esin, 2014).

Virus ortamda stabil değildir. Genç köpekler hastalığa karşı daha yaşlı olanlardan daha hassastırlar. Hastalığa yakalanma oranının dört ve altı aylık köpeklerde en yüksek olduğu vurgulanmıştır. Yavru köpeklerin yeterli miktarda kolostrum alamamaları sonucunda bağışıklığın şekillenmemesi ve antikor olmaması ile enfeksiyon oluşmasına zemin oluşturur (Stephen ve ark, 2014).

2.2.2. Virusun Tür Duyarlılığı

Canine distemper virusunun konakçıları, *Canidae* familyasına ait türler (köpek, dingo, tilki, çakal, kurt), *Procyonidae* (rakun, coatimundi, panda), *Mustelidae* (weasel, dağcı, balıkçılar, vizon, skunk, porsuk, Saman, su samuru), *Felidae* ailesinin büyük üyeleri (Aslan, leopar, çita, kaplanlar) ve boynuzlu peccary (*Tayassu tajacu*) türüdür (Damien, 2002). Distemperin oldukça yaygınlaşan salgınları Serengeti Milli Parkı'ndaki aslanlarda (*Panthera leo*) görülmüştür (Carpenter, 1998). Tanzanya ve Çin leoparındaki (*Panthera pardus*) olgular ve hayvanat bahçelerinde bulunan diğer büyük kedilerde enfeksiyona rastlanmıştır. Yarasa kulaklı tilki (*Otocyon megalotis*), kırmızı pandalar (*Ailurus fulgus*), sırtlan (cins *Hyaena*), Afrika vahşi köpekleri (cins *Lycaon*), rakunlar (cins *Procyon*), palmiye misk kedilerinde (*Paradoxurus hermafroditus*) distemper enfeksiyonu görülmüştür (Roscoe, 1993). Genel olarak gelişmemiş alanlara enfeksiyonun taşınmasında en önemli etkenin insan vektörlüğü olduğu söylenebilir (Kennedy, 2000; Stephen ve ark, 2014).

2.2.3. CDV Enfeksiyonunun Yaygınlığı

CDV enfeksiyonu küresel olarak endemiktir. Afrika'da CDV enfeksiyonları bildirilmiştir. Güney Afrika ve Nijerya'daki yerli köpeklerde olduğu rapor edilmiştir (Leisewitz ve ark, 2001; Blancou, 2004). Botswana, Zimbabve, Güney Afrika'daki yabancı hayvanlarda enfeksiyonun var olduğu bildirilmiştir (Van, 1997). Amerika'da yerli ve vahşi yaşam türleri arasında CDV yaygınlığı bilinmektedir (Pardo ve ark, 2005). Şikago'daki rakunlarda hastalık 1998'de ortaya çıkmıştır (Lednicky ve ark. 2004b). Meksika'daki köpeklerde aşılınmış olmalarına rağmen CDV enfeksiyonu rapor edilmiştir (Martinez ve ark, 2007).

Avrupa'da da CDV enfeksiyonu köpeklerde ve yabancı etçillerde yaygın sağlık sorunlarından. İtalya'da CDV enfeksiyonlarına dair bildirimler yapılmaktadır (Martella ve ark. 2006). Sabatino (2016) İtalya'da yaptığı bir araştırmada CDV'nin birçok yabancı etobur için önemli bir tehdit olduğunu bildirmiştir. Büyük bir distemper salgını, 2013 yılında İtalya'da başta Abruzzi bölgesinde olmak üzere bir CDV suşu tarafından oluşturulan salgın çoban köpekleri, Apennine kurtları (*Canis lupus*) ve diğer yabancı etoburlarda enfeksiyona neden olmuştur. Eylül 2015 sonuna kadar Abruzzi bölgesinin kırsal kesiminde iki porsuk nekropsisinde çeşitli dokulardan alınan örneklerle gerçek zamanlı RT-PCR ve immunohistokimya (IHC) testlerinde CDV pozitif çıkmıştır. Avrupa yaban hayatı soylarına ait bir CDV türü de 2016'da aynı bölgede ölü bulunan bir tilkide tanımlanmıştır.

Almanya (Frisk ve ark, 1999), Macaristan (Demeter ve ark, 2009) ve Northern İrlanda (Harder ve Osterhaus, 1997) aşılınmış köpeklerde salgın meydana geldiği rapor edilmiştir. Finlandiya'da ve Polonya'da hala %71 oranında CDV önemli bir enfeksiyondur. Son zamanlarda, Avustralya'daki köpek yetiştirme çiftliklerinde CDV salgınları bildirilmiştir (Norris ve ark, 2006).

Fischer ve ark (2016)'nın Brezilya'da yaptığı araştırmada klinik yönden şüpheli olan 175 köpekten alınan örneklerden 89 tanesi CDV pozitif bulunmuştur.

Ekvador'da Brian ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada 154 köpekten teşhis amaçlı aldıkları numulardan %66 oranında antikor tespit etmişlerdir.

2.2.4. Türkiye’de CDV Enfeksiyonu

İstanbul, Ankara ve Muğla’da klinik olarak sağlıklı görünen 609 tane köpekten rutin tarama amacıyla toplanan örneklerden CDV’ye karşı oluşan antikor yönünden pozitiflik oranı %9,03 olarak rapor edilmiştir (Gençay, 2004).

Çalışkan (2007) Ankara’da yaptıkları çalışmada klinik ön tanısı ile toplanan 157 adet hayvana ait örneklerin RT-PCR ile yapılan kontrolleri sonucunda 67 adet hayvana ait örnekte viral nükleik asit varlığını bildirmişlerdir.

Yeşilbağ ve ark (2007) Uludağ üniversitesi küçük hayvan kliniğine getirilen 39 CDV yönünden şüpheli hayvanlardan 15 tanesinin pozitif olduğunu rapor etmişlerdir.

Ankara’da yapılan bir çalışmada CDV ve CPV yaygınlığı araştırılmıştır. Hastane ve kliniklere gelen, viral enfeksiyon yönünden şüpheli hayvanlardan 79 köpekten 143 numune (nasal swap, gözdeki purulent akıntıdan swap, dışkı swap, ve kan örnekleri) toplanmıştır. Elde edilen numuneler PCR ile test edilmiştir. 13 köpekte (%16) CDV, 40 (%50) köpekte CPV tespit edilmiştir. 26 köpekte ise CDV ve CPV yönünden negatif bulunmuştur (Karaoğlu, 2013).

Adana ve Konya’da yapılan bir çalışmada CDV şüpheli 116 köpekten toplanan numunelerde CDV yönünden pozitiflik oranları Adana’da %58,3 ve Konya’da %61,2 bildirilmiştir. Oranların yüksek çıkmasının sebebini numunelerin CDV yönünden şüpheli hayvanlardan toplanması olarak yorumlanmıştır (Esin, 2014).

Saltık (2018) yaptığı çalışmada Antalya, Burdur ve Isparta’da toplanan 50 köpekten %78’inden ranında (39/50) distemper virusunu izole etmişlerdir. Bu köpeklerden alınan 250 adet örneğin 105’inde (%42) CDV genomu saptamışlardır. Araştırmacı, en fazla pozitifliğin 0-3 aylık hayvanlarda olduğunu belirlerken, ELISA (IgM-IgG) ve virus izolasyonunda dişilerde, viral genom tespitine yönelik yapılan testte ise erkeklerde daha fazla pozitiflik saptamıştır. Kan serum örneklerinde CDV’ye özgü IgM ve IgG antikor varlığına yönelik yapılan analizlerin virus izolasyon sonuçlarıyla kıyaslanması sonucu hem erken konvalesan dönemde hem de geç konvalesan dönemde etken izolasyonunun yapılabileceğini bildirmiştir. Ayrıca CDV’ye özgü IgM ve IgG antikorlarının her ikisinin birden pozitif olup viral nükleik asidin tespit edilmediği durumlarda, virus izolasyonunun yapılabileceğini bildirmiştir.

2.3. Patogenez

2.3.1. Virusun Vücutta Dağılımı

Canine distemper virusunun karakteristik özelliği olarak, diğer morbilliviruslarda olduğu gibi lenf ve epitel hücrelerine karşı affinitesi bulunmaktadır. Konakta sistemik bir enfeksiyon oluşturmasının sebebi buna dayanmaktadır. Lenf ve epitel hücrelerin olduğunu organlarda virus izolasyonu daha net olmaktadır (Stephen ve ark, 2014).

Solunum yolu ile alınan enfeksiyon sonrasında CDV ilk önce makrofajlar içinde çoğalır. Virus üst solunum yollarını enfekte ettikten sonra ve hızla tonsillalara ve bölgesel lenf düğümlerine ulaşır. Canine distemper virusu da diğer morbilliviruslar gibi immun sistem hücrelerine affinite göstermektedir. Etkenin lenfositler, makrofajlar ve dendritik hücrelere olan affinitesi virusun bağışıklığı baskılamadaki etkisini açıklamaktadır. Bunların yanı sıra enfeksiyonda çeşitli bağışıklık baskılayıcı sitokinlerin salgılandığı bildirilmiştir. Bölgesel lenf düğümlerinde çoğalmadan sonra, virus kan dolaşımına geçerek B ve T hücreleri ile dağılım gösterir (Stephen ve ark, 2014).

Lenfoid organlara affinite sonucu tükenmesi ile ilişkili baskılanmış immun sistem fonksiyonu, erken dönemde lenfoid hücre apoptozisi nedeniyle viremi ile ilişkili lenfositlerin, özellikle CD4 + T hücrelerinin kaybindan oluşur (Vural, 2010). Virusun periferik kandan temizlenmesinden sonra, azalan bir antijen sunumu ve değiştirilmiş lenfosit olgunlaşması, lenfoid organların çoğalmasına rağmen sürekli bir immunsupresyona neden olur (Beineke, 2008).

CDV, havadaki virusun alınmasıyla solunum sistemindeki makrofajları enfekte eder. Virüs 24 saat içerisinde bütün lenf düğümlerine ulaşır. Enfeksiyonu takiben 3-6 günlerde ateşin yükselmesi ve lenfopeni başlar. Enfeksiyonun 2-3 haftalarında hücresel ve humoral yanıtlar oluşur ve iyileşme başlar. İmmun yanıtın zayıf olması durumunda akut hastalık belirtileri görülür. Lenf ve epitel hücrelerine olan affinitesi olan virus, makrofajlarla sindirim, solunum, ürogenital sistemlerin epitel hücrelerine ve merkezi sinir sistemine ulaşır. Enfeksiyonun nörolojik belirtileri 1-3 hafta sonra başlar (Woma ve ark, 2008).

2.3.2. Organlara Affinite

İki evreden oluşan ateş yükselmesinin birinci basamağında virus lenfoid dokulara yayılır. Bağırsak, karaciğer gibi organlara ve Kupffer hücreleri gibi sabit doku makrofajlarına yayılım gösterir. Bu organlarda oluşan virionlar, ikinci ateş yükselmesi sırasında immun sistem hücreleri tarafından taşınarak epitelyal enfeksiyon gerçekleşmektedir. Akciğer, mesane ve epidermis hücrelerinde de enfeksiyon oluşur (Stephen ve ark, 2014).

Lan ve ark (2006) tarafından CDV'nin en yüksek affinite gösterdiği organın dalak olduğu bildirilmiştir. Virusun, dalaktan sonra sırasıyla bağırsaklarda ve serebellumda çoğaldığı vurgulanmıştır.

Enfeksiyonun 2-3. haftasında oluşan hüresel ve humoral yanıtın hayvanda gelişecek olan canine distemper formunun belirlenmesinde çok büyük önemi vardır. Kuvvetli ve erken gelişen immun yanıt erken dönemde virusu lenfoid dokulardan elimine eder ve subklinik bir enfeksiyon meydana gelir. Ancak hayvan zamanında ve yeterli immun yanıt geliştiremez ise "akut" form oluşur. Canine distemper virus enfeksiyonunda görülen üçüncü grup ise, gecikmiş ya da virusu elimine edemeyecek orta düzeyde immün yanıt geliştiren hayvanlardır. Sonuçta CDV enfeksiyonunun "subakut" veya "kronik" formu oluşur (Appel ve Summers, 1999).

2.4. Klinik Görünüm

Canine distemper virus enfeksiyonlarının genelinde, olgularda öne çıkan klinik tablo; şiddetli bir solunum sistemi problemleriyle eş zamanlı veya takip eden dönemlerde gelişen sinir sistemi semptomları ile karakterizedir (Çalışkan, 2007).

CDV enfeksiyonunun birden çok çeşitli klinik semptomları vardır. Hemen hemen her sisteme ulaştığı için CDV multisistemik enfeksiyon yapar. CDV'nin klinik belirtileri esasen solunum, gastrointestinal ve merkezi sinir sisteminde görülür. Klinik semptomlar ve CDV'nin süresi konağın bağışıklık sistemine, sekonder bakteriyel enfeksiyon durumuna ve özellikle de virusun suşuna bağlıdır. Synder hill suşu genellikle merkezi sinir sistemi klinik belirtileri ile ortaya çıkar (Şen, 1998; Ludlow ve ark, 2012).

CDV enfeksiyonlarının inkubasyon süresi 1-3 hafta arasında değişmektedir. 0-2 aylık yaşta olan köpeklerde yüksek ateş ve diğer sistemlerde enfeksiyon görüldüğünde CDV yönünden mutlaka incelenmelidir. Genellikle CDV enfeksiyonlarında en sık rastlanılan klinik

semptomlar başlangıçta oküler-nasal seröz akıntı, ilerleyen dönemlerinde ise mukopurulent karakterde akıntılar görülür (De Almeida, 2009). Buna anoreksi ve iki fazlı ateş eşlik eder. Sekonder bakteriyel enfeksiyonlar ve kennel cough enfeksiyonunda da bulunan *Bordetella bronchiseptica* CDV ile genellikle beraber görülür ve bronkopnömoniye sebep olur. Öksürük, iştahsızlık, kusma, durgunluk ve ishale bağlı dehidrasyonlar görülür (Pardo, 2006).

Nörolojik bulgular bir kasın genellikle yüz ve bacak kaslarında lokalize ve istemsiz olarak seğirmesi CDV yönünden şüpheleri güçlendirir. Aşırı salivasyon ve çiğneme hareketleriyle konvülsiyonlar, yana doğru düşen ve bacaklarını kürek biçiminde çekme hareketleri görülür. İstemsiz olarak idrar kaçırma ve/veya dışkılama CDV enfeksiyonlarının birçok nörolojik bulguları arasındadır (Hoskins, 2010).

CDV enfeksiyonu geçiren köpeklerde optik nöron lezyonlarına bağlı olarak tek veya çift taraflı körlük geliştiği bildirilmiştir. Optik sinirlerde meydana gelen lezyonlar sonucu göz merceğinde veya retinada atrofiler görülür (Tipold, 1992).

Merkezi sinir sistemi bulguları CDV aktif olduğunda yada iyileşmeden birkaç gün veya aylar sonra da ortaya çıkabilmektedir (Pardo, 2006). CDV sinir sistemine bağlı baş eğme, nystagmus, düşme eğilimi, kranial sinirlerde lezyonlar ve bunlara bağlı ataksiler oluşur (Tipold, 1992).

CDV de nörolojik bulguları değerlendirildiğinde en önemli bulgu myoklonustur. Myoklonus CDV enfeksiyonunu atlatan köpeklerin %40'ında geliştiği bildirilmiştir. Nörolojik bulgularda parezis veya paralizisler gelişir. Bununla birlikte bacak kaslarının istemsiz kasılması sonucu köpeklerde koordinasyon bozukluğu şekillenir. Myoklonusa bağlı olarak kasılmalar yüz kaslarında ve arka ayaklarda daha fazla gelişir. Temporal ve yüzün kranial kasların miyoklonus ile birlikte istemsiz kasılmalar sonucunda fokal nöbet olarak "chewing gum" yani sakız çiğneme hareketi görülür (Alba, 2014).

Yaşlı köpeklerde de CDV enfeksiyonu oluşabilir ve nörolojik belirtilerle seyreder. Olgun köpeklerde multifokal distemper ensefalomyeliti, aşılama sonrası oluşan distemper ve yaşlı köpek ensefaliti (Old Dog Encephalitis; ODE) olmak üzere üç farklı nörolojik durum tartışılmaktadır (Carlo, 2016).

Multifokal distemper ensefalomyeliti, nadir görülen kronik ilerleyici hastalık, CDV 4-8 yaşlarında köpekleri enfekte ettiğinde ortaya çıkar. Bu hastalık, klasik canine distemper formundan önce gelmez ve sistemik hastalık belirtileri genellikle yoktur veya geçicidir. Klinik bulgular yavaş ilerleyen bir seyre sahiptir ve pelvik uzuvların zayıflığı, genel koordinasyon bozukluğu görülür. Ancak nöbet şeklinde seyretmez ve bazen baş titremeleri görülür. Lezyonlar CNS ile sınırlıdır ve en çok beyincik ve beyaz maddede görülür. Medulla

spinalisin demiyelinizan lökoensefalomyeliti gibi bulgular gözlenir. Serebral kortekste genellikle bir bulgu görülmez. Bu durum son derece nadir görülen, yaşlı köpek ensefalitinden ayırır. Yaşlı köpek ensefalitinde beyin korteksi sürekli olarak etkilenir. Lezyonlar ender olarak intranükleer astrositik inklüzyon cisimleri ile birlikte görülür. Aşılama sonrası canine distemper ensefaliti, zayıflatılmış canine distemper virusu aşıları ile aşılama 1-3 hafta sonra genç köpeklerde görülür ve akut ila subakut klinik seyirle (1-5 gün) karakterize edilir. Akut seyir öfkeli kuduz şeklini andıran klinik bulgular ile karakterizedir (Carlo, 2016).

Yaşlı köpek ensefaliti oldukça nadirdir. Vakaların çoğu orta yaşta köpeklerde görülür, ancak 1 yaşa kadar küçük köpeklerde gözlenmiştir. Hastalık başlangıcında daire çizerek sallantılı yürüyüş ve denge de duramama sonucu etrafına yaslanma ile karakterizedir. Duvara yaslanarak itme hareketi görülür, ancak felç ya da kasılma yoktur. Hastalık 3-4 ay boyunca komaya veya ölüme kadar ilerler (Carlo, 2016).

Yeni doğan gnotobiyotik yavrularda deneysel CDV oluşturulduğunda kardiyomiyopati görülür. Aynı zamanda dispne ve dental hipoplazi görülür. Gebe hayvanlarda, abortlar, ölü doğumlar, ve zayıf doğan yavrular görülür. Transplasental yolla CDV enfeksiyonu almış yavrularda 4-6 hafta boyunca nörolojik belirtiler gelişebilir. Enfekte doğan yavrularda kalıcı olarak immun sistemin zayıf olduğu bildirilmektedir (Pardo, 2006).

CDV enfeksiyonu olan köpeklerde romatoid arthritisi bulguları görülen köpeklerde serum ve sinoviyal sıvıda yüksek düzeyde CDV antikor görülür (Pardo, 2006).

CDV enfeksiyonu geçiren köpeklerde veziküller ve püstüller dermatit gibi deri lezyonları görülebilir. Hiperkeratoz ve vezikül ve püstül oluşumu ile parakeratoz da olabilir. Bununla birlikte, deri lezyonları nadiren nörolojik olarak ilişkilidir, bu komplikasyonlar genellikle olumlu bir prognoza işaret olur (Woma ve ark, 2008).

CDV enfeksiyonu geçiren köpeklerde planum nasale ve ayak pedinde değişiklikler meydana gelir. Bununla birlikte ayak pedi keratinositlerinde etkenle karşılaşılır. CDV ile gelişen "Hard Pad Disease", viral inklüzyon cisimciklerinin varlığı ve hiperkeratozla tanımlanır (Grone ve ark, 2003; Engelhardt ve ark, 2005).

Canine distemper virus enfeksiyonlarında deri lezyonları da görülür. Akut dönemde özellikle koltuk altları, kasık bölgesinde ve karın altında püstüller dermatit olduğu bildirilmiştir (Appel ve Summers, 1999). Özellikle püstüller dermatit ve impetigo görülür. Bazı vakalarda ülseratif pyotraumatik dermatit de gelişebileceği bildirilmiştir (Börkü ve ark, 2012).

2.5. Patoloji

2.5.1. Histopatoloji

Akciğerlerin mikroskopik görünümünde bronkointersitisyel, interstiyel bronkopnömoni vardır. Pnömoni ile birlikte hava yolları ve alveol duvarlarının kalınlaşması oluşur. İkincil bakteriel enfeksiyonların sonucunda bronkopnömoni yaygın olarak görülür (Stephen ve ark, 2011). Damian ve ark (2005) pnömoniden ölen 35 köpek üzerinde yaptığı araştırmada incelenen akciğerlerin 27 tanesinde (%77) CDV kaynaklı ölüm gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Canine distemper virus ile enfekte köpeklerin sinir sistemindeki patolojisi değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon, süresine, özelliklerine ve enfekte eden virus suşuna bağlı olarak demiyelinizasyon, nöronal nekroz, gliosis ve nonsuppuratif meningoencephalomyelitis gibi herhangi bir kombinasyonu içerebilir (Amude, 2006). Asidofilik inklüzyonlar enfekte olmuş çekirdeklerde ve sitoplazmada mevcut olabilir. Astrositler oluşan innükleer (i.n.) ve intrasitoplazmik (i.s.) inklüzyon cisimciklerinin yanı sıra akciğer, mide epitel hücrelerinde, böbrek pelvisi ve mesane hücrelerinde görülebilir (Alleman, 1992; Stephen ve ark, 2014).

CDV ile enfekte olmuş hücrelerde viral etken sitoplazmada üretilir. Mikroskopik olarak intranükleer(i.n.) ve intrastoplazmik(i.s.) inklüzyon cisimciklerinin varlığı CDV teşhisi için histopatolojik bir belirleyicidir (Sato, 2006).

Gastrointestinal sistem dokuları mikroskop altında incelendiğinde Mide mukoza ve epitel hücrelerinde nadiren de bağırsak epitel hücrelerinde viral inklüzyon cisimcikleri görülür. Viral inklüzyon cisimcikleri pankreas kanalları, biliyer sistemde de görülebilir. İyileşen köpeklerde nekroz ve kistik dokular görülür ve epitel hücrelerde fokal çöküntülerde hipoplazi şekillenir (Pardo, 2006).

Virus ile enfekte kemiklerde mikroskopik olarak kemik iliği hücrelerinde kayıplar ve osteoklastların nekrozu bulunur. Kemik iliği lezyonları değişken olmakla birlikte enfeksiyonun şiddetine göre hafif veya şiddetli olabilir. Genç hayvanlarda uzun süre metafizial osteoskleroz görülür (Baumgartner, 1995; Pardo, 2006; Woma ve ark, 2008).

CDV ile plasental yolla enfekte yavru köpeklerde kalp yetmezliği ile sonuçlanan ölümlerde myokardiyal kalsifikasyon ve nekrotik alanlar mevcuttur (Higgins, 1981; Wyllie, 2016).

Distemperli köpeklerin hiperkeratozis görülen bölgelerinde yapılan histopatolojik ve immunohistokimyasal çalışmalarda epitel dokunun stratum granulozum ve stratum spinosum tabakalarında i.s. ve i.n. inklüzyon cisimcikleri bildirilmiştir (Koutinas ve ark, 2004).

Kubo (2007) de yaptığı çalışmada CDV yönünden şüpheli 100 köpeği çalışmalarına dahil etmişlerdir. Klinik olarak görülen semptomları nasal akıntı, öksürük, pnömoni, ishal, konjuktivit, ayak pedlerinde hiperkeratoz olarak bildirmiştir. Doku örnekleri akciğerlerden, beyinden, idrar kesesinden, mideden, dalaktan, çeşitli lenf düğümleri ve tonsillerden alınmıştır. 100 köpekten 70'inin beyinde, 73 idrar kesesinde, 78'inin midesinde , 77'sinin dalağında ve 81 adedinin ise lenf düğümlerinde CDV saptanmıştır. İntrastoplazmik ve intranükleer cisimcikler de bu organlarda tespit edilebilmiştir. Tonsiller, dalak ve lenf düğümlerinde dikkat çekici şekilde nekrotik ve atrofik bulunmuştur.

CDV ile enfekte olmuş köpeklerde dermatolojik olarak hiperkeratozis görülen alanlardan alınan örneklerde yapılan histolojik araştırmalarda, epitel dokuya affinitesi olan etkenin epitel dokunun stratum spinosum ve granulozum tabakalarında inklüzyon cisimcikleri görülmüştür. Bu bulguların CDV ile enfekte olmuş köpeklerde bazen bulunmadığı rapor edilmiştir (Grone, 2013).

Lenf hücreleri CDV'nin hedef hücreleri arasında olduğundan lenf düğümlerinde ve dalakta bulunan makrofaj ve lenfosit hücrelerinde nekrotik odaklar mevcuttur (Woma ve ark, 2008).

Old dog ensefalitise (ODE) uzun süreli subklinik, kronik enfeksiyonun bir sonucu olarak görünüşte CDV semptomlarına neden olur. CDV'nin replikasyon aşamasında kaldığı görülmektedir. ODE basitçe canine distemper ensefalomyelitinin bir ilerlemesi gibi değerlendirilmemelidir. Virus, etkilenen hayvanlardan yalnızca etkilenen beyin nekropsisiyle ve güçlükle izole edilebilir, hastalık aşılama ile bulaşmaz. Sinir dokusundaki CDV'nin paramiksovirus nükleokapsitleriyle aynıdır. CDV'ye karşı hazırlanan floresan antikora yanıt veren antijen, gri madde hücrelerinde bol miktarda bulunur ve serum antikor titreleri çok yüksek olabilir (Carlo, 2016).

ODE'de lezyonlar serebral korteks, talamus ve orta beyin boyunca dağılmıştır. Plazma hücreleri az sayıda bulunur. Penetrasyonun şekillendiği hücreler, Virchow-Robin alanında sınırlıdır ve nadiren parankim içine yayılır. Lezyonlar hem gri hem de beyaz maddede meydana gelir, ancak en çok bu 2 bölgenin birleşme noktasında yaygındır. Fokal gliosis bu hastalıkta oluşmaz, ancak bazı astrositlerin çoğalması vardır. Serum beyaz maddesinin homojen ve oldukça yaygın atrofik sklerozu vardır, bu da gliosis izlenimi verir, ancak astrogliosis belirgin değildir. Beyaz maddede tipik nekrotik alanlar üreten bir miktar

demiyelinizasyon ve ağır miyelinli kanallardaki bozulmuş miyelin kılıfları özel olarak boyandığında oldukça geniştir. Lenfositler, beyine yerleştirildikleri koroid pleksuslarında ve parankim içine girdikleri damarlarda bulunabilir (Carlo, 2016).

2.5.2. Makropatoloji

Canine distemper virus enfeksiyonuna ait makroskopik lezyonlar antemortem olarak genellikle tipik değildir. Sistemik bir hastalık olmasından dolayı makroskopik bulgular ölüm sonrası belirlenebilir (Pardo, 2006). CDV'den dolayı ölüm gerçekleşmiş köpeklerin nekropsisi öncesinde kaşektik görünüm, dehidrasyon ve istemsiz hareketlere bağlı olarak bacak kaslarında atrofi gözlenen ilk bulgulardır (Kubo ve ark, 2007).

Enfeksiyonda klinik olarak şüphe edilen ilk bulgu üst solunum yollarındaki mukopurulent karakterdeki oküler ve nasal akıntıdır (Apple, 1987).

Canine distemper virusu ile enfekte köpek yavrularında pnömoni, enterit, konjunktivit, rinit ve trakeit görülür. Akciğerler tipik olarak ödemlidir (Stephen ve ark, 2014). Akciğer loblarında koyu kırmızı renkli sınırları belirgin lezyon odakları görülür (Kubo ve ark, 2007).

Enfeksiyonu geçiren yetişkin köpeklerin dişlerinde odontodistrofi ve uzun kemiklerde metafizeal osteoskleroz oluşur (Stephen ve ark, 2014).

CDV'nin nörolojik sistemde bozuklukları sebebiyet vermesine bağlı olarak organlarda değişiklikler meydana gelebilir. Bunlardan en dikkat çekici olanı megaözofagusdur (Mosallanejad, 2010). Bunun haricinde yapılan çalışma ve nekropsilerde genel semptomlardan farklı yada dikkat çekici bir bulguya rastlanmamıştır. Gastrointestinal sistemde ishale bağlı sıvı ve gaz birikimi görülür (Kubo ve ark, 2007).

CDV, çoğu kez yavruları enfekte ettiği için diş gelişimini de etkiler ve bu da kalıcı dişlerin çoğunda birden fazla kalıcı, düzensiz emaye kusuru ile sonuçlanır. Diş minesinde lezyonlar (Elizabeth, 2018).

Canine distemper virus morvillivirus cinsinin diğer üyeleri gibi hüresel tropizm gösterir. Buna bağlı olarak veziküler ve ülseratif papillomatoz oluşur. CDV ile ilişkili deri lezyonları arasında impetigo ve nasal-digital hiperkeratozlar mevcuttur. Ayak tabanında şekillenen hiperkeratoz "hard pad disease" olarak adlandırılır (Koutinas, 2004).

CDV enfeksiyonunda en belirgin bulgulardan biri de timusun hipertrofisidir. Buna ek olarak lenf düğümlerinde hastalığın evresine bağlı olarak hipertrofi veya atrofi görülür. Lenf düğümleri ve timusta enfeksiyon başladığında atrofi şekillenir (Koutinas, 2004).

Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'ndeki makroskopik bulgular genellikle minimaldir. Meninklerde konjesyon, ventrikular dilatasyon ve beyin ödemeine bağlı olarak Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)'nda artış dikkat çekicidir (Pardo, 2006).

CDV enfeksiyonunun akut fazında sinir sisteminde bulgu neredeyse hiç yoktur. Kronik CDV enfeksiyonunda ise beyin sapında ve medulla spinaliste lökoensefalomyelit lezyonları görülür (Axthelm, 1998).

2.6. Teşhis

CDV enfeksiyonunun teşhisi için klinik yönden şüpheli hayvanlarda alınan numunlerin türü de doğru teşhis için önemi büyüktür. Oküler sıvı, kan, serum veya idrar örneklerinden yapılan testlerde test tipine göre değişiklik göstermektedir. Şüpheli bir CDV vakasında aşırı oküler ve nasal sekresyonu olan hayvanlarda erken ve hızlı bir teşhis için en iyi materyal oküler ve nasal swaplardır. Sistemik belirtileri olan hayvanlarda (ateş, halsizlik vb.) ideal örnek seçimi kan ve idrardır (Frisk, 1999). Bazı çalışmalar CDV'de RNA saptanması için en iyi biyolojik örneğin idrar olduğunu vurgulamıştır (Feliu-Pascual, 2009; Vivaldo, 2019).

Vivaldo ve ark (2019) yaptığı çalışmada, CDV enfeksiyonu seviyelerinin tespiti ve hastalık teşhisi, laboratuvarında analiz edilen biyolojik teşhis materyali türüne göre belirlenmesi ile ilgili olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, oküler sıvılardan (%54,%95 CI: 37–72), idrardan (%51,%95 CI: 40–62) ve kandan (%46,%95 CI: 36) daha fazla pozitiflik gözlerken, diğer biyolojik örnek tipleri için kan lenfositlerinde (%38,%95 CI: 29-48), kanda (%37,%95 CI: 24–50 (moleküler tahliller)) ve nazal sıvılarda düşük pozitiflik (%33,%95 CI: 0-81) oranları bulunduğunu kaydetmiştir. Dışkı örneklerinde (%18,%95 CI: 5–35) ve mukoza sıvısında (%11,%95 CI: 4–21) ise daha düşük viral enfeksiyon gözlemiştir.

İmmunohistokimyasal veya floresan antikor boyama yöntemleri viral antijen varlığının tespitinde uygulanan testlerdir. Konjunktiva smearları ve deri biyopsileri veya nekropside akciğer, bağırsak, mide, böbrek, beyin ve idrar kesesinde etken bulunur. RT-PCR testi için örnek olarak konjunktival svaplar, kan mononükleer hücreleri, epitel içeren herhangi bir doku örneği ve idrar kullanılır. Köpeklerde serolojik teşhis için virus nötralizasyon testi, ELISA veya indirekt floresan antikor testleri yapılır (Stephen ve ark, 2014).

2.6.1. Hematolojik Teşhis

CDV enfeksiyonu geçiren bir köpeğin hemogram profilinde anemi, trombositopeni, lenfopeni, nötropeni ve monositopeni görülür. Eritrositler genellikle oval veya düzensizdir (Woma ve ark, 2008). Kan hücrelerindeki inklüzyon cisimcikleri Wright boyası ile boyamada gri ve Schorr boyası ile boyamada ise kırmızı leke görülmektedir (Gosset, 1982; Cello, 1959).

2.6.2 Biyokimyasal Teşhis

CDV ile akut sistemik enfeksiyondaki biyokimyasal değişiklikler genellikle spesifik değildir. Albümin, alfa ve gama globulin konsantrasyonları tipik olarak CDV ile sürekli enfekte olan yenidoğanlarda hipoglobulinemi belirgin olarak görülür (Greene, 1998). Kan serumunda hipoalbuminemi, hiperglobulinemi ve hipokalemi zaman zaman görüldüğü bildirilmiştir (Appel, 1969). CDV ile enfekte 6-10 günlük gnotobiyotik yavruların serumdaki kalsiyum miktarının dikkat çekici biçimde düştüğü rapor edilmiştir (Weisbrode ve Krakowka, 1979).

2.6.3. Antikor Tespiti

Kan serumundan yapılan titreler CDV tanısını desteklemeye yardımcı olabilir. Serumda tespit edilen spesifik CDV-IgM antikoları geçirilen enfeksiyonu veya yapılan aşılamaı gösterir. Akut enfeksiyonlu köpeklerde antikor oluşmadan ölüm gerçekleşebilir. Kan serumunda bulunan antikor subklinik veya kronik hastalığın belirtisi olmakla beraber aşılannmış bir köpeğin titresi ile karıştırabilir (Appel ve Summers, 1999).

2.6.3.1. Virus nötralizasyon testi

Nötralizasyon testi yeterli bağışıklığın ölçülmesinde altın standart olarak kabul edilir. Serum titreleri ile bağışıklığın yeterliliği doğru orantılıdır. Viral etkenin membran proteinlerinden olan H ve F proteinlerine karşı yönlendirilen nötrleştirici antikolar

iyişlemeden itibaren 10 ile 20 gün arasında şekillenir (Appel ve Robson, 1973). Nötralizasyon testi ile CDV teşhisi için en uygun teşhis materyali kan serumudur (Gençay ve ark, 2004).

2.6.3.2. İndirekt immunfloresan testi

İndirekt immunfloresan testi serum veya beyin omurilik sıvısındaki (BOS) anti-CDV IgG'yi veya serumdaki anti-CDV IgM'yi tespit eder. Bununla birlikte, IgG'nin varlığı subakut, kronik enfeksiyon veya aşılama nedeniyle olabilir. IgM'nin varlığı, 3 hafta içerisinde aşılama yapılmadığı durumlarda akut enfeksiyonun göstergesidir (Maes ve ark, 2003).

2.6.3.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

CDV'ye karşı üretilen spesifik IgG ve IgM antikorlarını saptamak için kullanılan bir test yöntemidir (Bernard, 1982). Son zamanlarda köpeklerde CDV'nin serolojik teşhisi için rekombinant protein olan N proteini kullanılan ELISA testi önerilmektedir (Latha ve ark, 2007a). ELISA testlerinde duyarlılık %93 - 100 ve özgüllük %83 - 100 arasında değişmektedir (Vivaldo, 2019).

2.6.4. Antijen Tespiti

2.6.4.1. Direkt immunfloresan testi

Direkt immunfloresan testi için CDV teşhisinden kullanılabilen en iyi örnekler kan, BOS, idrar sedimenti, kemik iliği, konjunktival, genital ve solunum epitelindeki hücrelerdir. Direkt immunfloresan antikor testi CDV antijenlerinin tespiti için kullanılan bir testtir. Test numunelerinden elde edilen hücreler froti yapılarak tespit edilir. CDV antikoru ile konjüge edilmiş floresan boya ile boyanır. Testin negatif sonuç vermesi CDV enfeksiyonunun olmadığını kanıtlamamaktadır. Enfeksiyonun geç safhalarında alınan örneklerde direk immunfloresan testinin yanlış negatif vermesine sebep, köpek tarafından üretilen antikorların, viral antijeni kaplayarak sonucun negatif görünmesi olabilir (Guy, 1986).

2.6.4.2. İmmunokromatografik test

Canine Distemper virus enfeksiyonunun tespiti için kullanılan İmmunokromatografik testler özel araç, gereç ve laboratuvar gerektirmeyen, uygulanması son derece basit ve kolay, hızlı, pratik, kısa zamanda sonuç veren teşhis yöntemleridir. CDV'nin erken teşhisi, uygun tedavi ve karantinanın hızlı uygulanması açısından bu testlerin, CDV ile ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltarak diğer hayvanlara yayılma ve bulaşması bakımından yardımcı olduğu bilinmektedir (Kim ve ark, 2006; Kang, 2007; An ve ark, 2008).

CDV teşhisi için kullanılan immunokromatografik (IC) testlerin çalışma prensipleri, gözlem penceresindeki test ve kontrol çizgileri çıplak gözle görülebilen genellikle kırmızı renkte olan çizgilerin bulunup bulunmamasına göre sonuç yorumlanır. Test kasedi üzerinde test yapılmadan önce herhangi bir iz veya belirti bulunmaz. Testlerin çalışma prensibi antijen-antikor kompleksinin oluşmasına bağlı olarak gerçekleşir. Antikor veya antijenler testin zemininde bulunan nitroselüloz membranla kimyasal bağ oluşturur. Buradan test kasedindeki anti-CDV monoklonal antikorları (Gold Conjugated CDV-MAb) ile örnekteki serbest antijenler bir kompleks oluşturur. Bu kompleks kaset üzerinde renkli çizginin oluşmasına sağlayarak sonucu pozitif gösterir (Kaya, 2014).

CDV için geliştirilen bu testler hızlı ve ekonomik bir tanı için ideal testlerdir. IC testi için örneklerin nasal-konjuktival sürüntü veya kan serumu ile yapılabilir. Nasal-konjuktival svapların kullanılması klinik açıdan oldukça kolay ve hızlı bir yöntemdir. Test için gerek numune miktarı 100 µl kadar ve uygulama süresi aşağı yukarı 5 dakikadır (An, 2008).

CDV tanısı için yapılan, örnek olarak kan ve nazal sürüntü kullanılan PCR ve IC testlerinin duyarlılıkları PCR'de %89,7, IC'de 85,7 olarak belirlenmiştir. Spesifitesi ise PCR'de %94,6, IC'de %100 olarak rapor edilmiştir (An, 2008).

Canine distemper virus enfeksiyonu klinik olarak birçok hastalıkla karışabilir. Modifiye edilmiş canlı aşılarda kullanımı ile kısa süre sonra köpek yavrularında distemper vakaları ortaya çıkabilir. Bunun sebebinin aşı virusunun veya yeni bir suşun neden olabileceği mutlaka düşünülmelidir. Bu problem, standart serolojik yöntemler, virus izolasyonu veya antijen algılaması ile tatminkar bir şekilde çözülememiştir. Son zamanlarda reverse transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) standart bir yöntem haline gelmiştir. Ancak doğal veya aşı viruslarının ayrımı rutin olmayan çok özel RT-PCR testleri gerektirir. Mevcut diğer hastalıkları elemek için laboratuvar tanısı gereklidir. Klinik bulgular diğer

enfeksiyonlarla benzer semptomlar gösterdiği için ayırımı doğru yapılmalıdır (Stephen ve ark, 2014).

2.6.4.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

ELISA testi doğal veya deneysel olarak oluşturulan köpeklerde enfeksiyonun tam kanda veya BOS'da bulunan viral antijeni tespit etmek için kullanılır. Antijenik çapraz reaksiyonu ölçmede çok kullanışlı bir testtir. Örnekte aranan antijene özgü antikolar solid faza bağlanmıştır. Enzimle işaretli olan antijen ve örnekteki antijen solid fazdaki antikora aynı anda eklenir ve her iki antijende antikordaki bağlanma bölgelerinde yarışması için inkube edilir. İnkubasyondan sonra yıkama işlemi uygulanarak reaksiyona girmeyen antijenler uzaklaştırılır. Bağlanan antijenler enzim substrat eklenerek renk oluşturması sağlanır. Spektrofotometre ile optik dansite okunur. Sonuç olarak renk değişikliği olmazsa örnekte antijen varlığını gösterir (Çırak, 1999).

Soma ve ark. (2003) yaptığı çalışmada rekombinant CDV aşısı sonrasında ELISA ile viral antijen aranmasında yanlış pozitif sonuç vermiştir.

2.6.4.4. İmmunhistokimyasal metodlar

Monoklonal antikolar ticari olarak temin edilebilir ve CDV'yi immunohistokimyasal yöntemlerle tespit etmek için kullanılır. CDV antijeni nasal mukozada ve ayak epitellerinde CDV'nin immunohistokimya ile antemortem tanısı için tutarlı bir şekilde kullanılmıştır (Haines ve ark, 1999).

2.6.5. Beyin Omurilik Sıvısı Analizi

Akut veya kronik CDV enfeksiyonlarında BOS'da (Beyin Omurilik Sıvısı) interferon seviyesi artar. CDV enfeksiyonu olan köpeklerde BOS hücrelerinde intrastoplazmik inkluzyon cisimcikleri görülür. BOS'da anti-CDV IgG antikorunun varlığı, antikor lokal olarak üretildiği için distemper ensefalit kesinleştirir. BOS antikor testi hassas ve spesifik olsa da, örnek toplama işlemi deneyimli personel gerektirmektedir (Green ve Appel, 2006).

2.6.6. Virus İzolasyonu

CDV'nin izolasyonu için çeşitli hücre kültür sistemleri kullanılmıştır. Alveoler makrofaj kültürleri, köpek lenfosit kültürleri kullanılabilir (Appel, 1992). CDV izolasyonu olarak en sık kullanılan ekim yerleri MDCK (köpek epitel böbrek hücreleri), MV 1 LU (vizon akciğer) ve Vero (Afrika yeşil maymun böbrek hücreleri)'dir (Seki ve ark, 2003; Guo, 2013).

2.6.7. Nükleik asit tespiti

Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), son zamanlarda CDV tanısı için kullanılan duyarlılığı ve özgüllüğü çok yüksek bir yöntemdir (Elia, 2006; Calderon, 2007). Antemortem veya postmortem olarak CDV şüpheli köpeklerden alınan numulardan test yapılarak virus tespit edilebilir. RT-PCR testini hastalığın akut, subklinik veya kronik olması etkilemez. RT-PCR, tam kan, kan serumu, gaita, idrar sedimenti, organ dokularından yapılabilir (Esin, 2014; Saltık, 2018).

2.6.8. Radyolojik Teşhis

CDV ile enfekte köpeklerin radyografisinde sekonder enfeksiyonlara bağlı olarak sınırları tam olmayan bulanıklıklar ve nodüller görülür. Enfeksiyonunun ilerleyen safhalarında bronkopnömoni belirginleşir (Appel ve ark, 1990).

2.7. Mücadele ve Tedavi

2.7.1. Aşılama ve Korunma Yöntemleri

Canine distemper virusu (CDV), *Morbillivirus* genusu üyesi, köpeklerde ve diğer karnivorlarda oldukça bulaşıcı, ölümcül bir hastalığa neden olur. Enfeksiyona karşı korunmanın en güvenilir yolu aşılama (Appel 1987, Chappuis 1995, Vandeveld 2004, Latha ve ark 2007a, Feliu-Pascual 2009). Zayıflatılmış virustan oluşan canine distemper virusuna karşı güncel aşılar uzun yıllardır kullanılmaktadır ve köpek popülasyonunda enfeksiyonun insidansını önemli ölçüde azaltmıştır (Cherpillod, 2000).

Yeni doğan yavrunun kanındaki antikör miktarı anne köpek ile doğru orantılıdır. Alınan bu maternal antikör fetusa uterus (%3) ve kolostrum (%97) yoluyla yavruya aktarılır. 6-8 haftalık oluncaya kadar korumaya devam eder (Pardo, 2007). CDV enfeksiyonu için yapılan aşılanmanın başarılı olabilmesi için bu antikörlerin olmaması gereklidir. Maternal antikör bazı yavrularda 14 haftalık oluncaya kadar korumaya devam eder. Doğal olarak kazanılan CDV bağışıklığı ömür boyu sürer (Woma ve ark, 2008, Bresalier ve ark, 2014).

CDV'ye karşı immunitiyi sağlamak amacıyla zayıflatılmış suşların her yıl tekrar edilmesiyle yeterli bağışıklık kazanılır. İnaktif CDV aşıları yeterli immunitiyi sağlayamadığı için 70 yıl önce kullanılması bırakılmıştır. Rekombinant CDV aşıları günümüzde kullanılan aşılarıdır (Woma ve ark, 2008). Virusun mutasyona uğraması ve saha viruslarının antijenik varyasyon göstermesi dolayısıyla aşı virusunun yeterli koruma sağlamadığı zaman zaman bildirilmektedir (Çalışkan, 2007).

2.7.2. Tedavi

CDV için etkin viral bir tedavinin olmaması, destekleyici bakım ve semptomatik tedavi yapılır (Greene ve Appel, 1998). Solunum ve sindirim sisteminde meydana gelen sekonder enfeksiyonlar için antibiyotik kullanımı endikedir. Dehidrasyonu olan köpeklerde sıvı sağaltımı yapılmalıdır (Woma ve ark, 2008). Üst solunum yollarında enfeksiyonun oluşmaması veya ilerlememesi için temiz bir ortam sağlanmalıdır. *Bordetella bronchiseptica* bu vakalarda en son bulunan sekonder enfeksiyondur. Gastrointestinal sistemde meydana gelen kusmalar için antiemetikler kullanılır, ishal önleyici ilaçlar kullanılabilir (Appel, 1998). Hastalığın nörolojik belirtileri ortaya çıkmışsa antiepileptik ve steroidler kullanılabilir. Multi

vitamin takviyesi ile birlikte iştahın açılması amacıyla kas içi veya intravenöz sıvı sağaltımı ile birlikte verilebilir. A vitamini kızamık virusuna karşı mortalite ve morbidite de azalma meydana getirdiği belgelenmesine rağmen CDV için etkinliği hakkında herhangi bi bilgi bulunmamaktadır (Yarım, 2006; Woma ve ark, 2008).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kan Serumu Örnekleri

Çalışma için, 2019 yılı Mayıs ayı içerisinde Antalya Muratpaşa Belediyesi Sokak Hayvanları Rehabilitasyon Merkezi'ne ve Antalya Muratpaşa ilçesinde bulunan Özel Veteriner kliniklerine çeşitli sağlık problemleri dolayısıyla getirilen ve aşısız olduğu bilinen toplam 92 köpekten teşhis amaçlı alınan kan serumu örnekleri kullanıldı.

Çalışmada, Rehabilitasyon Merkezine hayvanseverler tarafından getirilen sokakta serbest gezen 64 köpek ve özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli 28 köpek örneklendi. Örneklenen köpekler hakkındaki bilgiler (yaşları, cinsiyetleri, sağlık durumları, klinik bulguları) kaydedildi. Hayvanlardan 3 tanesi 2-6 aylık, 89 tanesi ise 6-12 ay arasında değişmekteydi. Köpeklerin 30 tanesinin erkek, 62 tanesinin ise dişi olduğu kaydedildi.

Klinik ortamında uygun şartlarda veteriner hekim tarafından kaolinli tüplere alınmış olan kan örneklerinden CDV-antijeni ve CD virusuna karşı oluşan IgG ve IgM antikorları yönünden test edilebilmesi için serumları ayrıldı ve -20 °C'de saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. İmmunokromatografi Hızlı Test Yöntemi ile Antijen Saptanması

Çalışmada, klinik şüpheli köpeklerde CDV antijenlerinin tespiti için immunokromatografi prensipli ticari hızlı test kiti (CDV Ag-Antigen Rapid Test kit[®], BioNote. Inc., Kore Cumhuriyeti) kullanıldı.

CDV Ag-Antigen Rapid Test Kiti[®]'nin prensibi, köpek göz ve burun akıntısındaki veya serumundaki CDV antijenlerinin kalitatif tespiti için kullanılan immunokromatografi bir yöntemine dayanmaktadır. Kartın yüzeyinde test çizgisi olarak "T" ve kontrol çizgisi olarak "C" harfleri bulunmaktadır. Sonuç penceresindeki test ve kontrol çizgileri herhangi bir

numune çalışması yapılmadan önce görünmezler. Kontrol çizgisi prosedürel kontroller için kullanılmaktadır. Test prosedürünün doğru olarak uygulanması ve kontrol çizgisinin test reaktiflerinin çalışması durumunda kontrol çizgisi her durumda ortaya çıkmalıdır. Eğer örnek içerisinde yeterli miktarda CDV antijeni varsa, sonuç penceresinde mor bir test çizgisi görülmektedir. Test bantlarında, hem yakalayıcı hem tespit edici madde olarak, özel olarak seçilen CDV antikoru kullanılmıştır. Bu özellik cihazın köpeğin serum, göz ve burun akıntısındaki CDV antijenlerini yüksek doğruluk oranıyla tespit etmesini sağlamaktadır.

3.2.1.1. Test için kullanılacak kan serumu örneklerin hazırlanması

Yöntemine uygun olarak alınmış olan serum örnekleri, Rapid test kitinden çıkan sulandırma solüsyonu ile prosedüre uygun olarak sulandırıldı.

3.2.1.2. CDV-Antigen Rapid Test Kiti İçeriği

Her test kiti 1 adet test kaseti içeren alüminyum folyo, 1 adet swap, 1 adet içerisinde seyreltici solüsyon bulunan tüp ve 1 adet steril pipet içermektedir.

3.2.1.3. Testin uygulanışı

Rapid test prosedürüne göre sulandırılmış olarak hazırlanan serum örnekleri kasetin üzerinde "S" yazan göze damlalık ile 3-4 damla damlatıldı. 20 dk beklenerek sonuçlar yorumlandı.

3.2.1.4. Testin değerlendirilmesi

Test kasetinin gözünde sadece kontrol bandı (C) oluşmuş ise negatif, kontrol bandının yanında test (T) bandı da oluşmuş ise pozitif olarak değerlendirildi. Eğer kontrol bandı gözünde çizgi görülmemiş ise test geçersiz sayıldı.

3.2.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay ile IgG Antikorlarının Saptanması

Çalışmada 92 köpekte CDV virusuna karşı oluşan IgG tipi antikorların tespiti için ticari ELISA IgG test kiti (Distemper IgG Ab ELISA, Biopronix Agrolabo, Italy) kullanıldı. Test üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı.

Testin prensibi; Polistiren plakalar üzerindeki kuyucuklara sabitlenmiş haldeki CDV antijenine, serum örneklerinin içerisinde bulunan spesifik CDV antikorları bağlanır. Serumda bulunan diğer maddelerden arındırmak için yıkama işlemi uygulanır. CDV spesifik IgG antikorlarının tespiti için peroksidaz ile işaretlenmiş anti köpek-IgG antikorlarından oluşan spesifik peroksidaz konjugat eklenir. Bağlanmayan konjugatın ortamdaki uzaklaştırılması için yıkama işlemi uygulanır. Substratın eklenmesinden sonra spektrofotometre ile ölçülebilen bir kolorimetrik reaksiyon ortaya çıkar. Asit eklendiğinde farklı yoğunluklarda sarı rengin oluşması spesifik CDV antikorlarının varlığını gösterir. Eğer renk yok ve şeffaf olarak kalırsa antikorun olmadığı belirlenir.

3.2.2.1. Test için kullanılacak kan serum örneklerinin hazırlanması

Test için serumlar, oda sıcaklığına getirildikten sonra 1/100 oranında sulandırma solüsyonu ile sulandırıldı.

3.2.2.2. ELISA IgG antikor testi kutu içeriği

CDV rekombinant proteini ile kaplanmış bölünebilir polistiren mikrotitrasyon plakası (96 bölmeli),

Pozitif kontrol (kullanıma hazır),

negatif kontrol (kullanıma hazır),

Spesifik peroksidaz konjugat (kullanıma hazır),

10X konsantre yıkama çözeltisi,

Substrat (kullanıma hazır),

Stop solüsyonu (kullanıma hazır) ,

Sulandırma solüsyonu (kullanıma hazır).

3.2.2.3. Testin uygulanışı

Mikroplak üzerindeki her bir kuyucuğa 1/100 oranında sulandırılan örneklerden 100'er µl, kontrollere ayrılan ikişer kuyucuğa da 100'er µl pozitif kontrol ve negatif kontrol eklendi. Plaka oda sıcaklığında 10 dakika inkube edildi. 4 defa prosedüre göre yıkama işlemi yapıldı. Her bölmeye 100 µl peroksidaz konjugat eklendi. Plaka kapatıldı ve oda sıcaklığında 10 dakika inkube edildi. 4 defa yıkama işlemi uygulandı. Her bölmeye 100 µl substrat eklendi. Oda sıcaklığında 5 dakika inkube edildi. Her bölmeye 100 µl stop solüsyonu eklendi. Spektrofotometrede 450 nm'de her bölmenin optik değerleri (absorbanları) okutuldu.

3.2.2.4. Testin değerlendirilmesi

Testin geçerli sayılabilmesi için spektrofotometrede pozitif kontrolün ortalama optik değeri 1'den büyük, negatif kontrolün ortalama optik değeri ise 0,2'den küçük olması gerekmektedir.

Pozitif kontrolün ortalama optik değeri kullanılarak Cut off değeri aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Cut off değeri} = \text{OD pozitif kontrol} \times 0,2$$

Eğer örneklerin absorbans değerleri cut off değerinden fazla ise pozitif, düşük ise negatif olarak değerlendirildi.

Örneklerin serum titrasyonları değerlendirilmesinde;

Düşük titreler: 0,2 x OD pozitif kontrol ve 0,4 x OD pozitif kontrol arasındakiler,

Orta titreler: 0,4 x OD pozitif kontrol ve 0,8 x OD pozitif kontrol arasındakiler,

Yüksek titreler: 0,8 x OD pozitif kontrolden daha yüksek değerlerdir.

3.2.3. Enzyme Linked Immunosorbent Assay ile IgM Antikorlarının Saptanması

Çalışmada 92 köpekte CDV virusuna karşı oluşan IgM tipi antikorların tespiti için ticari ELISA IgM test kiti (Distemper IgM Ab ELISA, Biopronix Agrolabo, Italy) kullanıldı. Test üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı.

Çalışma prensibi CDV IgM'ye özgü monoklonal antikor polistiren plaka üzerindeki kuyucuklara sabitlenmiştir. Örnek olarak köpek serumu eklendiğinde içinde bulunan IgM'ler kuyucuklara sabitlenmiş monoklonal antikor tarafından tutulur. Serum numunesinden sabit

olmayan tüm materyali elimine etmek için yıkama yapılır. Viral antijen yani rekombinant nükleokapsit eklenir. Spesifik CDV IgM içeren seruma antijen bağlanır. Yıkamadan sonra peroksidaz konjugat monoklonal protein eklenir. Yıkamadan sonra kolometrik reaksiyon gelişir. Sarı rengin varlığı virusa karşı oluşan IgM varlığını gösterir. Spektrofotometre ile ölçülebilir bir dansite oluşturur.

3.2.3.1. Test için kullanılacak kan serum örneklerinin hazırlanması

Test için serumlar oda ısısına getirildikten sonra diluent solüsyonu ile 1/100 oranında sulandırıldı.

3.2.3.2. ELISA IgM antikor testi kutu içeriği

Kitin içeriği;

CDV rekombinant proteini ile kaplanmış bölünebilir polistiren mikrotitrasyon plakası (96 bölmeli),

Pozitif kontrol (kullanıma hazır),

Negatif kontrol (kullanıma hazır),

100X konsantre peroksidaz konjugat,

10X konsantre rekombinant viral antijen çözeltisi,

10X konsantre yıkama çözeltisi,

Substrat (kullanıma hazır),

Stop solüsyonu (kullanıma hazır),

Diluent solüsyonu (kullanıma hazır).

3.2.3.3. Testin uygulanışı

Pozitif kontrol, negatif kontrol ve örneklerden her bölmeye 100 µl eklendi. Plaka 37 C sıcaklığında 15 dakika inkube edildi. 4 defa prosedüre göre yıkama işlemi yapıldı. Her bölmeye 100 µl rekombinant antijen eklendi. 15 dakika 37C de inkube edildi. 4 defa yıkama işlemi uygulandı. Her bölmeye 100 µl peroksidaz konjugat eklendi. Plaka kapatıldı ve 37 C sıcaklığında 15 dakika inkube edildi. 4 defa yıkama işlemi uygulandı. Her bölmeye 100 µl substrat eklendi. 37C sıcaklığında 5 dakika inkube edildi. Her bölmeye 100 µl stop solüsyonu eklendi. Spektrofotometrede 450 nm'de her bölmenin absorbanları okutuldu.

3.2.3.4. Testin değerlendirilmesi

Testin geçerli sayılabilmesi için spektrofotmetrede pozitif kontrolün 0,8 değerinden buyk, negatif kontrolün ise 0,15 değerinden küçük olması gerekmektedir.

Örneklerin serum titrasyonları değerlendirilmesinde;

Cutoff değeri: Pozitif Kontrol OD x 0,2 formülüyle hesaplandı

Dk ve orta titreli olarak: 0,2 x OD pozitif kontrol ve 0,7 x OD pozitif kontrol arasındakiler,0,7 x OD pozitif kontrolden daha yüksek olanlar ise Yüksek titreli olarak değerlendirildi.



4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmada örneklenen köpekler CDV enfeksiyonu yönünden şüpheli veya belirgin distemper klinik bulgularına sahipti. Köpeklerde özellikle ağırlıklı olarak solunum, sindirim sistemi, sinir sistemi problemleri ve hiperkeratoz görüldü. Köpeklerde kaydedilen klinik bulgular Tablo 2’de listelenmiştir.

Çalışmada örnek alınan köpeklerin %45,65’inde (42/92) gözde mukopurulent akıntı, %53,87’sinde (33/92) nasal hiperkeratoz, %25’inde (23/92) nasal mukopurulent akıntı, %13,04’sinde (12/92) öksürük, %8,70’inde (8/92) ishal, %6,52 (6/92) halsizlik, %1,09’unda (1/92) ise deride pullanma, göz çevresinde dermatit, iştahsızlık, kusma, miyoklonus ve tüylerde dökülme bulguları görüldü.

Tablo 2. Örneklenen 92 köpekte görülen klinik bulgular.

Klinik bulgu	Pozitif/n	%
Gözde Mukopurulent Akıntı	42/92	45,65
Nasal Hiperkeratoz	33/92	53,87
Nasal Mukopurulent Akıntı	23/92	25
Öksürük	12/92	13,04
İshal	8/92	8,70
Halsizlik	6/92	6,52
Kaşeksi	5/92	5,43
Deride Pullanma	1/92	1,09
Miyoklonus	1/92	1,09
Tüylerde Dökülme	1/92	1,09
Göz Çevresinde Dermatit	1/92	1,09
İştahsızlık	1/92	1,09
Kusma	1/92	1,09

Köpeklerin 57 tanesinde yukarıda belirtilen klinik bulgulardan sadece 1 tanesi görülürken, 26 köpekte iki klinik bulgu, 9’unda ise yukarıda belirtilen klinik bulgulardan üç tanesi bulunmaktaydı.

4.2. İmmunokromatografik Hızlı Test Yöntemi Bulguları

Çalışmada, hızlı test ile 5/92 (%5,43) köpekte antijen pozitiflik tespit edildi. Antijen pozitif köpeklerden bir tanesi 2-6 aylık diğerleri ise 6-12 aylık yaşlarda, yine bir tanesinin dişi diğerlerinin ise erkek olduğu tespit edildi. Hayvanların klinik bulgularında 3/5(%60) nasal hiperkeratoz, 2/5(%40) ise nasal mukopurulent karakterde akıntı tespit edildi.

4.3. IgG Antikor Varlığı Yönünden ELISA Sonuçları

Çalışmada, Örnekler, CDV spesifik IgG antikorları yönünden test edilmek amacıyla ELISA prosedürü tamamlandıktan sonra mikroyeli spektrofotometre ile okutuldu. Pozitif kontrolün ortalama OD değeri 2,3665, negatif kontrolün ortalama OD değeri ise 0,1072 olarak bulundu. Cut off değeri 0,4733 olarak hesaplandı. Bu değer altında kalan örnekler negatif olarak değerlendirildi. Düşük, orta ve yüksek titreli örneklerin ayırımı üretici firmanın vermiş olduğu formülasyona göre hesaplandı.

ELISA ile CDV-IgG antikorları yönünden test edilen toplam 92 hayvandan 74 örnekte seropozitiflik (%80,43), 18 örnekte (%19,56) ise negatif bulundu.

ELISA ile IgG antikor pozitif köpeklerden, 17 (%18,48) örneğin düşük titreli, 31(%33,70) örneğin orta titreli ve 26 (%28,26) örneğin ise yüksek titreli olduğu belirlendi.

4.4. IgM Antikor Varlığı Yönünden ELISA Sonuçları

Örnekler, IgM antikorları yönünden test edilmek amacıyla ELISA prosedürü tamamlandıktan sonra mikroyeli spektrofotometre ile okutuldu. Pozitif kontrolün ortalama OD değeri 1,19385, negatif kontrolün ortalama OD değeri ise 0,0489 olarak bulundu. Cut off değeri 0,23877 olarak hesaplandı. Bu değer altında kalanlar negatif olarak değerlendirildi. Düşük-orta ve yüksek titreli örneklerin ayırımı üretici firmanın öngördüğü formülasyona göre hesaplandı.

ELISA ile IgM antikorları yönünden test edilen örneklerden 87/92'i (%94,56) pozitif, 5/92'si (%5,43) ise negatif bulundu.

IgM antikorları yönünden pozitif olan hayvanların 57/87'sinin (%61,96) düşük ve orta titreli, 30/87'sinin (%32,61) ise yüksek titreli antikora sahip olduğu saptandı.

4.5. Köpeklerde IgG ve IgM Antikor Varlığı Sonuçlarına göre Klinik Değerlendirme

Tablo 3'de Köpeklerin klinik bulgularına göre IgG ve IgM antikorlarının pozitiflik oranları verilmiştir.

Tablo 3. Köpeklerin klinik bulgularına göre IgG ve IgM antikorlarının pozitiflik oranları.

Klinik Bulgu	n	IgG		IgM	
		Pozitif hayvan sayısı	%	Pozitif hayvan sayısı	%
Gözde Mukopurulent Akıntı	42	31	73,81	39	92,86
Nasal Hiperkeratoz	33	30	90,91	32	96,97
Nasal Mukopurulent Akıntı	23	17	73,91	22	95,65
Öksürük	12	11	91,67	12	100
İshal	8	7	87,5	7	87,5
Halsizlik	6	5	83,33	6	100
Kaşeksi	5	4	80	4	80
Deride pullanma	1	0	0	1	100
Miyoklonus	1	1	100	1	100
Tüylerde Dökülme	1	1	100	1	100
Göz Çevresinde Dermatit	1	1	100	1	100
İştahsızlık	1	1	100	1	100
Kusma	1	1	100	1	100

IgG ve IgM antikorlarının tespiti için ELISA ile test edilen örneklerden 91/92'si (%98,91) IgG veya IgM antikorlarından biri veya her ikisi yönünden pozitif, 1/92'si (%1,09) ise her iki antikor yönünden negatif bulundu. Bu köpeklerin 70/92'sinin (%76,09) her iki antikor (IgM ve IgG antikorları) yönünden pozitif olduğu saptandı (Tablo 4).

Örneklenen köpeklerin %18,48'i (17/92) sadece IgM antikorları yönünden pozitif (IgG antikorları yönünden negatif) olarak bulunurken, %4,35'inin (4/92) sadece IgG antikorları yönünden pozitif (IgM antikorları yönünden negatif) olduğu görüldü (Tablo 4).

Tablo 4. Örneklenen köpeklerde IgG ve IgM antikorlarının dağılımı.

		IgG		Toplam
		Negatif (%)	Pozitif (%)	
IgM	Negatif	1 (%1,87)	4 (%43,35)	5 (%5,43)
	Pozitif	17 (18,48)	70 (%76,09)	87(%94,56)
Toplam		18 (%19,56)	74(%80,43)	92

Richmann ve ark. (2009)'nın bildirdiği ve Saltık (2018) tarafından CDV enfeksiyonu için kullanılan yöntemle göre IgG ve IgM antikorlarının varlığına dayanarak enfeksiyonun klinik dönemlerindeki (Akut, erken konvalesan, geç konvalesan ve enfeksiyon yok) hayvan sayıları Tablo 5’de bildirilmiştir.

Tablo 5. CDV ye karşı oluşan IgG ve IgM antikorlarının varlığına göre enfeksiyon dönemlerindeki hayvan sayıları.

Enfeksiyon dönemleri	IgG	IgM	Hayvan sayısı (n)	%
Akut	-	+	17	%18,74
Erken Konvalesan	+	+	70	%76,09
Geç Konvalesan	+	-	4	%4,35
Enfeksiyon Yok	-	-	1	%1,08

Klinik bulgular sıklıkla erken konvalesan dönemde gözlemlendi. Tablo 6’da hastalık dönemlerine göre klinik bulguların görülme sıklıkları gösterilmiştir.

Tablo 6. CDV enfeksiyonu dönemlerinde klinik bulguların görülme sıklığı.

Enfeksiyon Dönemi	N	Akut		Erken konvalesan		Geç konvalesan		Enfeksiyon yok	
		IgG-/IgM+	%	IgG+/IgM+	%	IgG+/IgM-	%	IgG-/IgM-	%
Klinik Bulgu		n	%	n	%	n	%	n	%
Gözde Mukopurulent Akıntı	42	10	23,81	29	69,05	2	4,76	1	2,38
Nasal Hiperkeratoz	33	3	9,09	29	87,88	1	3,03	0	0
Nasal Mukopurulent Akıntı	23	6	26,09	16	69,56	1	4,35	0	0
Öksürük	12	1	8,33	11	91,67	0	0	0	0
İshal	8	1	12,50	6	75,00	1	12,50	0	0
Halsizlik	6	1	1,67	5	83,33	0	0	0	0
Kaşeksi	5	1	20,00	3	60,00	1	20,00	0	0
Deride Pullanma	1	1	100,00	0	0	0	0	0	0
Myoklonus	1	0	0	1	100	0	0	0	0
Tüylerde Dökülme	1	0	0	1	100	0	0	0	0
Göz Çevresinde Dermatit	1	0	0	1	100	0	0	0	0
İştahsızlık	1	0	0	1	100	0	0	0	0
Kusma	1	1	100	0	0	0	0	0	0

Rehabilitasyon merkezindeki ve özel veteriner kliniğine getirilen köpeklerde CDV enfeksiyon dönemlerine göre hayvan sayıları Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Rehabilitasyon merkezine ve özel veteriner kliniğine getirilen köpeklerde CDV enfeksiyon dönemleri.

Enfeksiyon dönemi	Rehabilitasyon Merkezi		Veteriner Kliniği	
	Pozitif/n	%	Pozitif/n	%
Akut (IgG- / IgM+)	11/64	17,19	6/28	21,43
Erken konvalesan (IgG+ / IgM+)	51/64	79,69	19/28	67,86
Geç konvalesan (IgG+ / IgM-)	2/64	3,12	2/28	7,14
Enfeksiyon yok (IgG - ve IgM-)	0/64	0	1/28	3,57

5. TARTIŞMA

Köpeklerin en önemli enfeksiyonlarından biri olan Canine Distemper Virus enfeksiyonu özellikle solunum, sindirim ve sinir sistemi bozukluklarına ve genç köpeklerde ölümlere neden olmaktadır. Multisistemik bir enfeksiyon olmasının yanında şiddetli immunsupresyona neden olarak diğer hastalıklara zemin hazırlaması dolayısıyla hastalığın tanısı ve tedavisi zor olabilmektedir (Elia ve ark, 2015).

Distemperin kesin tanısı için çok sayıda klinik parametre ve laboratuvar analizi önerilmektedir. Bununla birlikte, viremi süresi, klinik bulgular, eksik veya gecikmiş humoral veya hücrel immun yanıt gibi öngörülemez ve değişken olan hastalık seyri, distemperin doğru tanısını engeller ve laboratuvar onayı için uygun numunelerin toplanmasını çok önemli kılar. Bu arada, enfeksiyonun çok bulaşıcı olması göz önüne alındığında, CDV'nin farklı biyolojik numunelerden tespiti, doğru tedavi ve gerekli önlemleri belirlemek için esastır (Elia ve ark, 2015). Özellikle aşılanmamış yavru köpeklerde yüksek mortalite ve morbiditeye neden olduğu ve son yıllarda yapılan çalışmalarda, enfeksiyonun özellikle aşısız ev köpekleri ve sokağın sokak köpekleri için ciddi tehdit oluşturduğu bildirilmektedir (Elia ve ark, 2015).

Pet hayvanlarının sayısı günümüzde sosyo-kültürel değişimler sonucu günden güne artmaktadır. Evde bakılan hayvanlar artık aile fertleri olarak görülmekte ve daha fazla değer verilmektedir. Buna bağlı olarak, hayvan sahipleri tarafından hayvanların sağlıkları ve enfeksiyöz hastalıklardan korunması konusunda gün geçtikçe daha fazla titiz davranılmaktadır. Türkiye'nin birçok ilinde olduğu gibi Antalya ilinde de pet hayvanlarının sayısı günden güne hızlı bir ivmeyle artmaktadır.

Bu çalışmada, köpeklerin sağlığını ciddi şekilde tehdit eden viral nedenli köpek gençlik hastalığının, Antalya ilindeki rehabilitasyon merkezinde bulunan ve özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli köpeklerde güncel durumunun tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada köpeklerde klinik bulguların izlenmesi ve laboratuvar (Antijen, IgG ve IgM varlığı yönünden yapılan test) sonuçları ile değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma için, 2019 yılı Mayıs ayı içerisinde Antalya ilinde bulunan aşısız, bir yaşından küçük çeşitli dahili sağlık problemleri olan toplam 92 tane köpeğin teşhis amaçlı alınan kan serumu örnekleri kullanıldı. Köpeklerin muayeneleri yapılarak klinik belirtileri not edildi. Bu hayvanlardan 28 tanesi özel veteriner kliniklerine getirilmiş sahipli, 64 tanesi ise sağlık sorunları sebebiyle sokak hayvanları rehabilitasyon merkezine getirilen veya orada barındırılan köpeklerdi.

Örneklenen hayvanların hepsinin sokakla bağlantısının olduğu ve serbest halde dolaştığı bilinmekteydi.

Örneklenen 92 köpekte en fazla gözlenen klinik bulgular sırasıyla gözde mukopurulent karakterde akıntı (%45,65), nasal hiperkeratoz (%35,87), nasal mukopurulent akıntı (%25), öksürük (%13,04), ishal (%8,70), halsizlik (%6,52) olarak kaydedildi.

Köpeklerden alınan 92 kan serumunda CDV antijeni ticari immunokromatografik hızlı test kiti ile, CDV spesifik IgG ve IgM antikorları ise ticari ELISA kitleri ile araştırıldı. Hızlı test ile antijenpozitiflik oranı %5,43 (5/92) bulunurken, IgG antikorları yönünden seropozitiflik oranı ise %80,43 (74/92) (%17,7 düşük, %32,3 orta, %28,1 yüksek titreli) ve IgM antikorları yönünden seropozitiflik oranı %94,56 (87/92) (%60,4 düşük-orta, %31,3 yüksek titreli) olarak belirlendi.

IgM antikorunu tespiti, mevcut veya son zamanlarda CDV enfeksiyonlarını teşhis etmek için değerli bir yöntemdir (Latha ve ark, 2007). Spesifik IgM'nin tespiti ile akut distemper enfeksiyonlarının serolojik teşhisi için en ideal yöntem olarak görünmektedir (Messling ve ark. 1999). Saltık (2018) yapmış olduğu çalışmada IgG ve IgM antikorlarının aynı anda test edilmesiyle teşhisin yüksek oranda güvenilir sonuç verdiğini ileri sürmektedir. Latha ve ark (2007) aşılansın 70 köpeğin kan serumlarında ELISA ile IgM antikorlarının varlığı yönünden- 34 tanesinde seropozitiflik tespit etmişlerdir. Blixenkron-Møller (1993) klinik yönden şüpheli olarak görülen 66 köpekten kan serumu alınmış ve bu serumlara ELISA-IgM antikor testi uygulandığında %74 (49/66) oranında pozitiflik bulunurken, konjunktivalardan topladıkları örnekleri IF (indirekt immunflorasan) ile test ettiklerinde ise %42 (27/65) oranında pozitif sonuç elde etmişlerdir. Bu çalışmadan toplanan kan serumları ile yapılan ELISA IgM antikor varlığı yönünden %94,6 (87/92) oranında pozitiflik bulundu.

Çalışkan ve Burgu (2007) yaptığı çalışmada IgG %41 olarak tespit etmişlerdir. Esin (2013) 116 köpekte yaptığı ELISA IgG testinde 70 tane (%60,34) pozitif olduğunu bildirmiştir. Saltık (2018) 50 köpekte yaptığı çalışmada %94 (47/50) IgG antikor pozitif bulmuştur. Bu çalışmada 92 köpekten alınan kan serumundan yapılan ELISA IgG Antikor testinde %80,4 (74/92) oranında IgG yönünden pozitif olduğu tespit edildi.

Virusa özgü IgM'lerin enfeksiyonun şiddetine ve viral suşa bağlı olarak enfeksiyonu izleyen 6-8. günden 3 aya kadar serumda saptanabildiği bildirilmiştir (Appel ve Summers, 1999; Barrett, 1999). Literatür bilgisine dayanarak sunulan veriler Antalya ilinde enfeksiyonun kısa zamanlı olmayıp 3 aydan daha fazla süredir yaygın ve etkin olduğunu ve hatta endemik olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada, CDV'ye özgü IgG ve IgM antikorlarının tespiti için ELISA ile test edilen 92 örnekten 91 tanesinde (%98,91) IgG veya IgM antikorlarından biri veya her ikisi yönünden pozitif, 1 (%1,09) örnekte ise her iki antikor yönünden negatif bulundu. Bu durum köpeklerin %98,91'inin CDV enfeksiyonunu önceden geçirmiş veya geçirmekte olduğunu göstermektedir. Sunulan çalışmada %99 oranına varan yükseklikte olmasının sebebi olarak örneklemlerin sadece klinik bulguya sahip köpeklerde yapılmış olması gösterilebilir. Ancak önceki yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında 1 ay içerisinde kliniğe ve rehabilitasyon merkezine getirilen hayvanların %99'unun distemper yönünden antikor pozitif olması enfeksiyonun yaygınlığının ciddi boyutlara ulaştığı konusunda bilgi vermektedir.

Richmann ve ark (2009) Hepatit A virus enfeksiyonu için IgG ve IgM antikorlarının bulgularına dayanarak hastalık sürecini akut, erken rekonvalesan ve geç rekonvalesan dönem olarak bildirmişlerdir. Saltık (2018) yapmış olduğu çalışmada aynı yöntemi kullanarak antikor bulguları doğrultusunda CDV enfeksiyonunun dönemlerini belirlemiştir. Bu çalışmada örneklenen 17/92 (%18,48) köpekte sadece IgM yönünden pozitif, 70/92 örnekte (%76,09) her iki antikor (IgG ve IgM antikorları) yönünden pozitif, 4/92 örnekte (%4,35) ise sadece IgG antikorları yönünden pozitif olduğu belirlendi. Bu verilere dayanarak Saltık (2018) ve Richmann ve ark (2009)'larının bildirdiği yöntem ışığında hayvanların %18,48'inin (17/92) akut fazda olduğu, %76,09'unun (70/92) erken konvalesan dönemde ve %4,35'inin ise (4/92) geç rekonvalesan dönemde yani hastalığın son döneminde veya hastalığı geçirmiş olduğu belirlendi. Ancak, IgM-negatif, IgG- pozitif olan sonuçlar kronik enfeksiyona da işaret edebilir (Esin, 2013; Saltık, 2018).

IgG ve IgM varlığı sonuçlarına göre sadece tek bir hayvanın CDV enfeksiyonunu geçirmediğinin saptanması, CDV enfeksiyonunun akut bir şekilde yoğun olarak bölgede seyrettiğini ve bölgedeki köpekler için ciddi bir distemper riski altında olduğunu göstermektedir. Çalışmada epizootiyolojik yönden yeterli çalışma yapılamamasına ve epizootiyolojik verilerin eksik kalmasına rağmen örneklerin alındığı 1 ay içerisinde kliniklere ve rehabilitasyon merkezlerine gelen CDV enfeksiyonuna yakalanmış hayvan sayısının yüksek olması, Antalya'da virusun yükünün fazla olduğunu ve muhtemel insidansın da yüksek olduğunu düşündürmektedir.

Meksika'da yapılan bir araştırmada, akut veya subakut pnömoniden ölen 35 köpeğin nekropsisi sonuçlarında, akciğerlerden alınan örnekler incelendiğinde CDV, köpek adenovirus (CAV) ve parainflanza virusu (CpiV) yönünden bakılmıştır. CDV 27 (%77) olguda, 20 (%57) olguda CAV ve 18 (%51) olguda CpiV saptanmıştır. 5 köpekte aynı anda 3 virus tespit edilmiştir (Damian ve ark, 2005). Daha önce Türkiye'de yapılan bazı araştırmalarda solunum

ve sindirim sistemi kökenli semptomların birlikte gözleendiği köpeklerde pozitiflik oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Saltık, 2018; Çalışkan, 2007). Blixenkron-Møller (1993) konjonktivit, solunum ve gastro-intestinal sistemde bulunan semptomlar bakımından en fazla (31/46) CDV yönünden pozitiflik bulduklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada örnek alınan köpeklerin %45,65'inde (42/92) gözde mukopurulent akıntı, %53,87'sinde (33/92) nasal hiperkeratoz, %25'inde (23/92) nasal mukopurulent akıntı, %13,04'sinde (12/92) öksürük, %8,70'inde (8/92) ishal, %6,52 (6/92) halsizlik, %1,09'unda (1/92) ise deride pullanma, göz çevresinde dermatit, iştahsızlık, kusma, miyoklonus ve tüylerde dökülme bulguları gözleendi. Klinik belirtilerin en fazla olduğu dönemin erken konvalesan dönem olduğu gözleendi (bkz. Tablo 7). Geç konvalesan döneminde görülen klinik bulguların çoğunun muhtemel nedeninin enfeksiyona bağlı immunsupresyon ve sekonder enfeksiyonlar olduğu söylenebilir (Saltık, 2018).

Blixenkron-Møller ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada toplanan 66 örnekten klinik yönden şüpheli hayvanın 50/66 örnekte pozitif sonuç bulmuşlar ve bunlardan 48 örneğin iki yaşın altında olduğunu bildirmişlerdir. 2 yaşının altında olan 31/48 köpekte en fazla pozitifliğin olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada rehabilitasyon merkezine ve kliniğe getirilen tüm hayvanların 2-12 aylık yaşlarda olduğu görüldü. Toplanan 92 örnekten antikor yönünden pozitif olan %3,30'ü (3/92) 2-6 aylık arasındaki yaşta, %96,70 (88/92) 6-12 aylık yaşta idi. Köpeklerin %32,97'si erkek (30/92), %67,03'ünün (61/92) ise dişi olduğu belirlendi. Önceki araştırmalara dayanarak (Esin, 2013; Wang ve ark, 2018) hastalıkta cinsiyete göre duyarlılık farkı bildirilmemesine rağmen, bu çalışmada enfeksiyon saptanan dişi köpeklerin sayısının erkeklerin iki katı olduğu görüldü.

Özel kliniğe getirilen sahipli köpeklerden alınan örneklerde hızlı test kiti ile yapılan testte %3,6 (1/28) oranında antijen pozitiflik bulundu. Bu hayvanlarda IgM antikorları yönünden %89,3 (25/28), IgG antikor yönünden ise %75 (21/28) oranında pozitiflik saptandı. Rehabilitasyon merkezindeki 64 köpekte hızlı test kiti ile yapılan incelemede %6,25 (4/64) oranında antijenpozitiflik tespit edildi. IgM Antikorları yönünden %96,88 (62/64) pozitiflik bulundu. IgG Antikorları yönünden ise %82,81 (53/64) oranında pozitif olduğu tespit edildi.

Canine distemper virus yayılması öncelikli olarak inhalasyon yoluyla şekillenmektedir (Benieke ve ark, 2009). Hastalığın şiddeti, mortalite ve morbidite oranları vücudun bağışıklık sistemine ve sekonder enfeksiyonlara bağlı olarak değişmektedir. Özellikle toplu halde yaşam koşulları olan hayvan barınaklarında hastalığın yayılımı için daha uygun ortam oluşmaktadır (Şahna, 2007). Çalışmada barınak ve sokak koşullarında bulunan hayvanlarda enfeksiyonun oldukça yoğun bir şekilde bulunduğu görülmektedir. Rehabilitasyon merkezinde ve hayvan

barınaklarında tutulan hayvanlar enfeksiyona daha sık maruz kaldıkları için doğal ortamlarına salınmaları sonrasında gerek sokak hayvanları için gerekse ev köpekleri için virus kaynağı olarak epizootiyolojik tehlike oluşturmaktadırlar. Bu merkezler enfeksiyöz hastalıkların hayvanlar arasında bulaşmasında yayılmalarında önemli rol oynamaktadır. Akut enfeksiyon geçiren hayvanların salya, dışkı veya aerosol yolla virusu bulaştırma riski çok yüksektir. Çalışmada sokak hayvanları ve sahipli hayvanların aynı oranda risk altında bulunduğu söylenebilir. Sokakta gezme ve tuvalet ihtiyacını gidermek amacıyla ev hayvanları her zaman sokakla bağlantı halindedir ve sokak hayvanlarıyla temas ihtimali bulunmaktadır. Dolayısıyla virusu alma riskleri daima bulunmaktadır. Sokak hayvanlarının aşısız olması ve bu hayvanlarda virusun devamlı sirküle olması dolayısıyla rezervuar konumundadır ve ev hayvanları için potansiyel risk oluşturmaktadır. Bu nedenle CDV'ye karşı mücadele programlarının oluşturulmasının ve özellikle şehir merkezlerinde yaşayan sahipli ve sahipsiz tüm köpeklerin düzenli şekilde aşılanmasının distemper kaynaklı kayıpları en aza indirebileceği düşünülmektedir. Ancak özellikle ilk aşamada sahipli, evde bakılan ve serbest tutulan köpeklerin CDV'ye karşı aşılanma yapılmadan dış ortama çıkarılmaması önerilebilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda virusun mutasyona uğrayarak antijenik farklılıklarının arttığı görülmektedir (Zarnke, 2004; Nguyen, 2005; Pardo, 2007; Sugai, 2009; Panzera, 2015). Buna bağlı olarak Avrupa'da ve çeşitli ülkelerde aşıli hayvanlarda da CDV enfeksiyonunun görülmeye başlaması mevcut ticari aşuların enfeksiyona karşı korumada yetersiz kaldığını göstermektedir (Koutinas ve ark, 2002; Rikula, 2008; Terio, 2013). Örnek olarak; Koutinas ve ark (2002) yaptıkları çalışmada klinik nörolojik semptomları olan 19 köpekten iki tanesinin aşıli olduğu belirtilmiştir. CDV yönünden antijen testi yapılmış, serolojik olarak da doğrulanmıştır. Bundan sonraki CDV ile ilgili yapılacak çalışmalarda ülkemizde bulunan saha suşlarının moleküler düzeyde incelenmesi genetik ve antijenik farklılıklarının belirlenmesi, gelecek dönemlerde aşılama için kullanılacak olan bölgesel suşların belirlenmesi ve coğrafik olarak uygun yeni aşuların geliştirilmesi gerekmektedir.

Rapid testlerin diğer adı immunokromotografik görüntüleme sistemleri, veteriner hekimlikte uygulaması ve hızlı sonuç alınmasından dolayı çok tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Basit ve hızlı sonuçların alınması ve teşhisin konulması ardından tedavi protokolünün hızlıca şekillendirilmesinden dolayı oldukça pratik ve kullanışlıdır. Test ile beraber gelen sulandırma solüsyonu ile birlikte 20 dakika da sonuç alınabilmektedir. RT-PCR'nin duyarlılığı, özgüllüğü ve pratikliği karşılaştırıldığında elektron mikroskobu dahil geleneksel yöntemlerle, virus izolasyonu, immünofloresans ve ELISA testlerini yapmadan

önce hızlı olarak bu test yapılabilir. Bununla birlikte, RT-PCR teknik olarak zordur ve tam bir teşhis için 4-8 saat gerektirir (Elia ve ark, 2006).

Wang ve ark. (2018) yaptığı çalışmada klinik yönden şüpheli köpeklerden alınan 32 nasal svap ile aldıkları örneklerde rapid hızlı test kiti ile test yapmışlar ve %62 pozitiflik bulmuşlardır. Aynı zamanda RT-PCR ile karşılaştırmalarında aynı sonuçları elde etmişlerdir. Esin (2013) yaptığı çalışmada klinik yönden şüpheli toplam 116 hayvandan toplanan göz swaplarından 45 adedinin pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada kan serumundan yapılan hızlı antijen testinde 5/92'sinde (%5,4) pozitif sonuç elde edildi. Rapid Antijen testinde oranların düşük çıkmasının sebebi olarak, konjonktival svap örneği yerine serum örneği kullanılmış olması ve şekillenen antikolar dolayısıyla dolaşımda bulunan olduğu antijen miktarının düşük olması gösterilebilir. Vivaldo (2019), yaptığı çalışmada 141 köpekten alınan oküler sıvılarda %54, idrarda %51 ve kanda %46 oranında pozitiflik gözlendiğini bildirmiştir. ELISA ile %62, Immunokromatografik yöntem ile %46, RT-PCR ile pozitifliğin %95 olduğunu rapor etmiştir. Araştırmacıların verileri bu çalışmada immunkromatografik hızlı test yöntemiyle elde edilen verilerden daha yüksektir. Bu çalışmada hızlı test ile antijen pozitiflik oranının düşük (%5,4 oranında antijen pozitiflik) tespit edilmesinin sebebi olarak, virus antijenlerine karşı antikoların şekillenmesi ve serbest antijenlerin kanda azalması görülebilir. Bu oranın gözyaşı akıntısı örnekleriyle yapılması durumunda daha yüksek olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar dolayısıyla, immunokromatografik hızlı test yöntemlerinin farklı teşhis materyalleri (kan, serum, gözyaşı akıntısı, salya, vb.) ile test edilebilirliği ve ayrıca diğer laboratuvar teşhis yöntemleriyle (virus izolasyonu, immunfloresan testi, RT-PCR vb.) karşılaştırılarak spesifite ve sensitivitesinin ve virusun antijenik değişkenliği, zaman ve coğrafik konum göz önünde tutularak teşhiste kullanılabilirliği periyodik aralıklarla kontrol edilmesi önerilebilir.

Bu çalışma sonucunda örneklemenin yapıldığı 2019 yılı Mayıs ayı içerisinde Antalya'daki köpeklerde akut bir Canin Distemper virus enfeksiyonunun yaygın olarak görüldüğü ve yoğun bir virus yükünün bölgede sirküle olduğu gözlenmiştir. Enfeksiyonun gerek sahipli gerekse sahipsiz sokakta serbest gezen köpeklerde aynı oranda risk oluşturduğu kanısına varılmıştır. Enfeksiyona yakalanan dişi hayvanların erkeklerin iki katı oranda olduğu ve bir yaş altı hayvanlarda sıklıkla karşılaşıldığı görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak epidemiyolojik olarak verilerin az olmasına rağmen insidensin ve prevalansın yüksek olabileceği tahmin edilmektedir.

Çalışma sonucunda CDV virusunun epizootiyolojisine (yaygınlık, prevalans, konakçı spektrumu) ve virolojisine (virusun genetik değişkenliği, aşı virusuna karşı oluşan

antikorların bölgede var olan suşlara karşı korumadaki başarısı, patogenez ve saha izolatları arasındaki ilişki vb.) yönelik çalışmaların artırılması gerektiği görülmektedir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, Antalya ilindeki rehabilitasyon merkezinde bulunan ve özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli köpeklerde CDV enfeksiyonunun durumunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada enfeksiyonun klinik seyri izlenmiş ve laboratuvar bulguları ile birlikte değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada Antalya ilinde bulunan 92 köpekten teşhis amaçlı alınan kan serumu örnekleri kullanılmıştır. Köpeklerin 28/92'si özel kliniğe, 64/92'si rehabilitasyon merkezine CDV şüpheli sağlık problemleri ile getirildi. Bu hayvanlar sokakla bağlantısı olan, bir yaşından küçük ve CDV'ye karşı aşılammamış köpeklerdi.

Örneklenen 92 köpekte en fazla gözlenen klinik bulgular sırasıyla gözde mukopurulent karakterde akıntı (%45,65), nasal hiperkeratoz (%35,87), nasal mukopurulent akıntı (%25), öksürük (%13,04), ishal (%8,70), halsizlik (%6,52) olarak kaydedildi. Klinik bulguların en fazla görüldüğü dönemin erken konvalesan dönem olduğu gözlemlendi.

Çalışmada köpeklerden teşhis amacıyla alınan örneklerden 92 kan serumunda CDV antijeni ticari immunokromatografik hızlı test kiti ile, CDV spesifik IgG ve IgM antikorları ise ticari ELISA kitleri ile araştırıldı. Hızlı test ile antijenpozitiflik oranı %5,43 (5/92) bulunurken, IgG antikorları yönünden seropozitiflik oranı %80,43 (74/92) (%18,48 düşük, %33,70 orta, %28,26 yüksek titreli) ve IgM antikorları yönünden seropozitiflik oranı ise %94,56 (87/92) (%61,96 düşük-orta, %32,61 yüksek titreli) olarak belirlendi.

Özel kliniklerde sahipli olan 28 köpekten, Rehabilitasyon merkezinde ise 64 köpekten örnek alındı. Özel kliniklere getirilen sahipli köpeklerden alınan örneklerde hızlı test kiti ile yapılan testte %3,57 (1/28) oranında antijen pozitiflik bulundu. Bu hayvanlarda IgM antikorları yönünden %89,28 (25/28), IgG antikor yönünden ise %75 (21/28) oranında pozitiflik esaptandı. Rehabilitasyon merkezine gelen klinik bulgular yönünden şüpheli olan 64 köpekte hızlı test kiti ile yapılan incelemede %6,25 (4/64) oranında antijenpozitiflik tespit edildi. IgM Antikorları yönünden %96,87 (62/64) pozitiflik bulundu. IgG Antikorları yönünden ise %82,81 (53/64) oranında pozitif olduğu tespit edildi.

IgG ve IgM antikorlarının tespiti için ELISA ile test edilen 92 köpekten 91'i (%98,91) IgG veya IgM antikorlarından biri veya her ikisi yönünden pozitif, 1 (%1,09) örnek ise her iki antikor yönünden negatif bulundu. Bu köpeklerin 70/92 örnekte (%76,09) her iki antikor (IgM ve IgG antikorları) yönünden pozitif olduğu saptandı. Örneklenen köpeklerin

%4,35'inin (4/92) sadece IgG antikorları yönünden, %18,48'inin (17/92) ise sadece IgM yönünden pozitif olduğu görüldü. IgG veya IgM verilerine dayanarak 17 hayvanın (%18,48) akut fazda olduğu, 70 hayvanın (%76,09) erken konvalesan dönemde olduğu ve 4 hayvanın ise (%4,35) geç rekonvalesan dönemde olduğu belirlendi. Sadece tek bir hayvanın CDV enfeksiyonunu geçirmediği saptandı. Bu veriler CDV enfeksiyonunun akut bir şekilde yoğun olarak bölgede seyrettiğini ve bölgedeki köpeklerin ciddi bir CDV enfeksiyonu riski altında olduğunu göstermektedir. Çalışma sonuçlarına göre, Özellikle şehir merkezlerinde yaşayan hayvanların mutlaka CDV'ye karşı aşılama yapılmadan dış ortama çıkarılmaması önerilebilir.

Bu çalışma sonucunda örneklemin yapıldığı 2019 yılı Mayıs ayı içerisinde Antalya'daki köpeklerde akut bir Canin Distemper virus enfeksiyonunun yaygın olarak görüldüğü ve yoğun bir virus yükünün bölgede sirküle olduğu gözlenmiştir. Enfeksiyonun gerek sahipli gerekse sahipsiz sokakta serbest gezen köpeklerde aynı oranda risk oluşturduğu kanısına varılmıştır. Enfeksiyona yakalanan dişi hayvanların erkeklerin iki katı oranda olduğu ve bir yaş altı hayvanlarda sıklıkla karşılaşıldığı görüldü. Bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak epidemiyolojik olarak verilerin az olmasına rağmen insidensin ve prevalansın yüksek olabileceği tahmin edilmektedir.

Hızlı testte antijen pozitifliğin, köpeklerdeki klinik semptomlar, IgG ve IgM antikor varlığı oranları göz önüne alınarak daha düşük oranda pozitiflik (%5,43) bulunması dolayısıyla, immunokromatografik hızlı test yöntemlerinin farklı teşhis materyalleri kullanılarak diğer laboratuvar teşhis yöntemleriyle (virus izolasyonu, immunfloresan testi, RT-PCR vb.) karşılaştırılarak spesifite ve sensitivitesinin araştırılması ve ayrıca hızlı testlerde çeşitli teşhis materyallerininin (kan, serum, gözyaşı akıntısı, salya, vb.) test edilebilirliği, teşhiste kullanılabilirliği virusun antijenik değişkenliği, zaman ve coğrafik konum göz önünde tutularak periyodik aralıklarla kontrol edilmesi önerilebilir.

Çalışma sonucunda, CDV virusunun epizootiyolojisine (yaygınlık, prevalans, konakçı spektrumu) ve virolojisine (virusun genetik değişkenliği, aşı virusuna karşı oluşan antikorların bölgede var olan suşlara karşı korumadaki başarısı, patogenez ve saha izolatları arasındaki ilişki vb.) yönelik çalışmaların artırılması gerektiği görülmektedir. CDV ile ilgili yapılacak daha sonraki çalışmalarda, daha geniş çaplı suşların incelenmesi ve gen bankası ile karşılaştırılması, ülkemizde bulunan suşların belirlenmesi gelecek dönemlerde aşılama kullanılacak olan suşların seçimi için önemlidir. Aşı geliştirme çalışmalarında yerel saha suşlarının antijenik özelliklerinin belirlenerek coğrafik konuma göre aşılama yapılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

Aldinger S, Baumgärtner W, van Moll P, Orvell C. In vivo and in vitro expression of canine distemper viral proteins in dogs and non-domestic carnivores, *Archives of Virology* 1993, 132, 421-428.

Alleman AR, Christopher MM, Steiner DA, Homer BL. Identification of intracytoplasmic inclusion bodies in mononuclear cells from the cerebrospinal fluid of a dog with canine distemper, *Veterinary Pathology* 1992, 29, 84-85.

Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF. Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation, *Veterinary Research Communications* 2006a, 30, 679-687.

Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF. Clinical courses and neurological signs of canine distemper infection in dogs. In, *Mendez-Vilas A, ed. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* 2010, 723-728.

Amude AM, Alfieri AA, Alfieri AF. The nervous form of canine distemper, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 2006, 125-136.

Amude AM, Carvalho GA, Alfieri AA, Virus isolation and molecular characterization of canine distemper virus by RT-PCR from a mature dog with multifocal encephalomyelitis. *Brazilian Journal of Microbiology* 2007, 38, 1-6.

An DJ, Kim TY, Song DS, Kang BK, Park BK. An immunochromatography assay for rapid antemortem diagnosis of dogs suspected to have canine distemper, *Journal of Virological Methods* 2007, 244-249.

Appel MJG. Canine distemper virus, In, *Horzineck MC, ed. Virus infections of carnivores, Virus Infection of Vertebrates* 1987, 133-159.

Appel MJG. Pathogenesis of Canine Distemper, *American Journal of Veterinary Research* 30, 7, 1167-1182.

Axthelm MK1, Krakowka S. , Experimental old dog encephalitis (ODE) in a gnotobiotic dog, *Veterinary Pathology* 1998, 35(6), 527-534.

Banyard AC, Rima BK, Barrett T. The morbilliviruses, In, Barrett T, Pastoret PP, Taylor W, ed. Rinderpest and Peste des petits ruminants, Academic Press Books, 2006, s13-30.

Baron MD, Barrett T. Rinderpest viruses lacking the C and V proteins show specific defects in growth and transcription of viral RNAs. *Journal of Virology* 2000, 74, 2603-2611.

Barrett T, Banyard AC, Diallo A. Molecular biology of the morbilliviruses. In, Barrett T, Pastoret PP, Taylor W. ed. Rinderpest and Peste des petits ruminants. 1st Edition, USA, Academic Press Books, 2006, s31-67.

Barrett T. Morbillivirus infections, with special emphasis on morbilliviruses of carnivores. *Veterinary Microbiology* 1999, 69, 3-13.

Baumgartner W, Boyce RW, Weisbrode SE, Aldinger S, Axthelm MK, Krakowka S. Histologic and immunocytochemical characterization of canine distemper-associated metaphyseal bone lesions in young dogs following experimental infection, *Veterinary Pathology* 1995, 32, 702-709.

Beineke A, Puff C, Seehusen F, Baumgärtner W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper, *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2009, 127, 1-18.

Bernard SL, Shen DT, Gorham JR. Antigen requirements and specificity of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of canine IgG against canine distemper viral antigens. *American Journal of Veterinary Research* 1982, 43, 2266-2269.

Blancou J. Dog distemper, imported into Europe from South America. *Historia Medicinæ Veterinariae* 2004, 29,35-41.

Blixenkrone-Møller M, Bolt G, Gottschalck E, Kenter M. Comparative analysis of the gene encoding the nucleocapsid protein of dolphin morbillivirus reveals its distant evolutionary relationship to measles virus and ruminant morbilliviruses. *Journal of General Virology* 1994, 75, 28-34.

Blixenkrone-Møller M, Pedersen IR, Appel MJ, Griot C. Detection of IgM antibodies against canine distemper virus in dog and mink sera employing enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1991, 3, 3-9.

Blixenkrone-Møller, M., Svansson, V., Have, P., Örvell, C., Appel, M., Rode Pedersen, I., Henriksen, P. Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. *Veterinary Microbiology* 1993, 37(1-2), 163–173.

Bolt G, Jensen TD, Gottschalck E, Arctander P, Appel MJ, Buckland R, Blixenkrone-Møller M. Genetic diversity of the attachment (H) protein gene of current field isolates of canine distemper virus. *Journal of General Virology* 1997, 78, 367-372.

Bossart KN, Broder CC. Paramyxovirus Entry. In, Pöhlmann S, Simmons G, editors. *Viral Entry into Host Cells. Austin, TX Landes Bioscience.* 2009.

Bresalier, M., Worboys, M. ‘Saving the lives of our dogs’: the development of 463 canine distemper vaccine in interwar Britain. *The British Journal for the History of Science* 2014, 47, 305-334.

Brown DD, Rima BK, Allen IV, Baron MD, Banyard AC, Barrett T, Duprex WP. Rational attenuation of a morbillivirus by modulating the activity of the RNA-dependent RNA polymerase. *Journal of General Virology* 2005, 79, 14330-14338.

Budaszewski R. Influence of vaccine strains on the evolution of canine distemper, *Infection, Genetics and Evolution* 2016, 41, 262-269.

Calain P, Roux L. The rule of six, a basic feature for efficient replication of Sendai virus defective interfering RNA. *Journal of General Virology* 1993, 67, 4822-4830.

Calderon MG, Remorini P, Periolo O, Iglesias M, Mattion N, La Torre J. Detection by RT-PCR and genetic characterization of canine distemper virus from vaccinated and non-vaccinated dogs in Argentina. *Veterinary Microbiology* 2007, 125, 341-349.

Campbell JJ, Cosby SL, Scott JK, Rima BK, Martin SJ, Appel M. A comparison of measles and canine distemper virus polypeptides. *Journal of General Virology* 1980, 48, 149-159.

Carina Romanutti, Marina Gallo, Calderón Leticia Keller RT-PCR and sequence analysis of the full-length fusion protein of Canine Distemper Virus from domestic dogs, *Journal of Virological Methods* 2016, 228, 79-83.

Carlo Cantile , Sameh Youssef , Jubb, Kennedy ve Palmer'in *Evcil Hayvanlar Patolojisi:* Cilt 1 (Altıncı Baskı) 2016.

Carpenter MA, Appel MJ, Roelke-Parker ME, Munson L, Hofer H, East M, O'Brien SJ. Genetic characterization of canine distemper virus in Serengeti carnivores. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1998, 65, 259-266.

Chappuis G. Control of canine distemper. *Veterinary Microbiology* 1995, 44, 351-358.

Cláudio W. Phylogenetic analysis of canine distemper virus in South America clade 1 reveals unique molecular signatures of the local epidemic, *Original Research Article, Infection, Genetics and Evolution* 2016, 135-141.

Çalışkan E, Burgu I. Köpek gençlik hastalığı virusunun prevalansı ve seroepidemiolojisi. *Veterinary Microbiology* 2007, 18, 5-10.

Çalışkan E. Köpek Gençlik Hastalığı Virus İzolasyonu, H Proteini kodlayan gen bölgesinin karakterizasyonu ve seroepidemiolojisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2007, 116.

Çırak M. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Sistemleri, Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 1999;19(4):242-248.

Damien BC, Martina BE, Losch S, Mossong J, Osterhaus AD, Muller CP. Prevalence of antibodies against canine distemper virus among red foxes in Luxembourg. *Journal of wildlife diseases RG Impact & Description* 2002, 38, 856-859.

Damián, M., Morales, E., Salas, G., & Trigo, F. J. (2005). Immunohistochemical Detection of Antigens of Distemper, Adenovirus and Parainfluenza Viruses in Domestic Dogs with Pneumonia. *Journal of Comparative Pathology* 133(4), 289–293.

De Almeida DE, Roveratti C, Brito FL, Godoy GS, Duque JC, Bechara GH, Laus JL. Conjunctival effects of canine distemper virus-induced keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary Ophthalmology* 2009, 12, 211-215.

Demeter Z, Palade EA, Rusvai M. Canine distemper, still a major concern in Central Europe. *Medicina Veterinara* 2009, 42, 136-150.

Di Guardo G, Marruchella G, Agrimi U, Kennedy S. Morbillivirus infections in aquatic mammals, a brief overview, *Journal of Veterinary Medicine* 2005, 52, 88-93.

Di Guardo G, Marruchella G, Agrimi U, Kennedy S. Morbillivirus infections in aquatic mammals, a brief overview. *Journal of Veterinary Medicine* 2005, 52, 88-93.

Elia G, Decaro N, Martella V, Cirone F, Lucent e MS, Lorusso E, Di Trani L, Buonavoglia C. Detection of canine distemper virus in dogs by real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 2006, 171-176.

Elia G, Belloli C, Cirone F, et al. In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antiviral Research Journal* 2008, 77(2), 108–113.

Elizabeth W. Uhla Charles Kelderhouseb Jane Buikstrac Jeffrey P. Blickd1 Brad Bolond Robert J. Hogane, New world origin of canine distemper: Interdisciplinary insights, *International Journal of Paleopathology* 2019, 24, 266-278.

Engelhardt P, Wyder M, Zurbriggen A, Gröne A. Canine distemper virus associated proliferation of canine footpad keratinocytes in vitro. *Veterinary Microbiology*. 2005, 107-112.

Esin E. Köpeklerde Canine Distemper Virus Enfeksiyonun Araştırılması, *Doktora Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 2013.

Feliu-Pascual AL. Canine distemper encephalitis, The many faces of a diagnostic challenge. *The North American Veterinary Community Conference*. 2009, 813-814.

Frisk AL, König M, Moritz A, Baumgärtner W. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37, 3634-3643.

Gael D. Magangaab Ingrid Laboubaa Barthélémy Ngoubangoyea Andriniaina A. Nkili-Meyonga Danie IObame Ondoc Eric M. Leroyad Nicolas Berthetaef Molecular characterization of complete genome of a canine distemper virus associated with fatal infection in dogs in Gabon, *Central Africa, Virus Research. Volume 247*, 2018, 21-25.

Gamiz-Mejia CE, Simon-Martinez J, Fajardo-Munoz RC. Identification of new genovariants of canine distemper virus in dogs from the State of Mexico by analyzing the nucleocapsid gene. *Archivos de Medicina Veterinaria* 2012, 44, 53-58.

Gençay A, Oncel T, Karaoğlu T, Sancak AA, Demir AB, Ozkul A. Antibody prevalence to canine distemper virus (CDV) in stray dogs in Turkey. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2004, 155, 432-434.

Gençay A. Antibody Prevalence to Canine Distemper Virus (CDV) in Stray Dogs in Turkey, 2004, *Revue de Médecine Vétérinaire* 2004, 432-434.

Gençay A. Deniz memelilerinde morbillivirus enfeksiyonları. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 33-41.

Goldstein T, Mazet JA, Gill VA, Doroff AM, Burek KA, Hammond JA. Phocine distemper virus in northern sea otters in the Pacific Ocean, Alaska, USA. *Emerging Infectious Diseases Journal* 2009, 15, 925-927.

Gröne A, Engelhardt P, Zurbriggen A. Canine distemper virus infection, proliferation of canine footpad keratinocytes. *Veterinary Pathology*. 2003, 40, 574-578.

Guo A, Lu C. Canine distemper virus causes apoptosis of Vero cells. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*. 2000, 47, 183-190.

Guo L, Yang SL, Wang CD, Hou R, Chen SJ, Yang XN, Liu J, Pan HB, Hao ZX, Zhang ML, Cao SJ, Yan QG. Phylogenetic analysis of the haemagglutinin gene of canine distemper virus strains detected from giant panda and raccoon dogs in China. *Virology Journal* 2013, 10, 109.

Higgins RJ, Krakowka S, Metzler AE, Koestner A. Canine distemper virus-associated cardiac necrosis in the dog. *Veterinary Pathology*. 1981, 18, 472-486.

Hoskins JD. Canine Viral Disease. In, Ettinger SJ, Feldman EC, editors. Textbook of Veterinary Internal Medicine, *Disease of the Dog and Cat. 7th ed. Canada, Elsevier*. 2010, 961-962.

Imhoff H. The role of lipid rafts in canine distemper virus infection. Ins of Virology, Universtiy of Veterinary Medicine Hannover. *Doctor of Natural Sciences*. 2006.

Iwatsuki K, Tokiyoshi S, Hirayama N, Nakamura K, Ohashi K, Wakasa C, Mikami T, Kai C. Antigenic differences in the H proteins of canine distemper viruses. *Veterinary Microbiology*. 2000, 71, 281-286.

ICTV 2018b, https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/199/paramyxoviridae, 2019.

Johannes P. M. Langedijk,² Jozef Janda,¹ Francesco C. Origgi,³ Claes Örvell,⁴ Marc Vandeveld,⁵ Andreas Zurbriggen,¹ and Philippe Plattet^{1,*} Canine Distemper Virus

Infects Canine Keratinocytes and Immune Cells by Using Overlapping and Distinct Regions Located on One Side of the Attachment Protein, *Journal of Virology* 2011, 85(21), 11242–11254.

Kang B, Oh J, Lee C, Park BK, Park Y, Hong K, Lee K, Cho B, Song D. Evaluation of a rapid immunodiagnostic test kit for rabies virus. *Journal of Virological Methods* 2007, 145, 30-36.

Kaya Ertuğrul, İmmünokromatografik kart testlerinin çalışma prensibi ve üretim teknikleri, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2014, 16(3), 46-54

Kelly PJ, Musuka G, Eoghin GN, Tebje-Kelly JB, Carter S. Serosurvey for canine distemper virus exposure in dogs in communal lands in Zimbabwe. *Journal of the South African Veterinary Association* 2005, 76, 104-106.

Kennedy S, Kuiken T, Jepson PD, Deaville R, Forsyth M, Barrett T, Van de Bildt MW, Osterhaus AD, Eybatov T, Duck C, Kydyrmanov A, Mitrofanov I, Wilson S. Mass die-Off of Caspian seals caused by canine distemper virus. *Emerging Infectious Diseases*. 2000, 6, 637-639.

Kennedy S. Morbillivirus infections in aquatic mammals. *Journal of Comparative Pathology* 1998, 119, 201-225.

Kim D, Jeoung SY, Ahn SJ, Lee JH, Pak SI, Kwon HM. Comparison of tissue and fluid samples for the early detection of canine distemper virus in experimentally infected dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 2006, 68, 877-879.

Kim YH, Cho KW, Youn HY, Yoo HS, Han HR. Detection of canine distemper virus (CDV) through one step RT-PCR combined with nested PCR. *Journal of Veterinary Science* 2001, 2, 59-63.

Koutinas AF, Baumgärtner W, Tontis D, Polizopoulou Z, Saridomichelakis MN, Lekkas S. Histopathology and immunohistochemistry of canine distemper virus-induced footpad

hyperkeratosis (hard Pad disease) in dogs with natural canine distemper. *Veterinary Pathology*. 2004, 41, 2-9.

Kubo T, Kagawa Y, Taniyama H, Hasegawa A. Distribution of inclusion bodies in tissues from 100 dogs infected with canine distemper virus. *Journal of Veterinary Medical Science* 2007, 69, 527-529.

Lan NT, Yamaguchi R, Furuya Y, Inomata A, Ngamkala S, Naganobu K, Kai K, Mochizuki M, Kobayashi Y, Uchida K, Tateyama S. Pathogenesis and phylogenetic analyses of canine distemper virus strain 007Lm, a new isolate in dogs. *Veterinary Microbiology*. 2005, 110, 197-207.

Lan NT, Yamaguchi R, Nam NH, Kien TT. A canine distemper virus isolated from an autopsied dog in Hanoi, Vietnam. *Journal of Science and Development* 2008, 70-74.

Lan NT, Yamaguchi R, Uchida K, Sugano S, Tateyama S. Growth profiles of recent canine distemper isolates on Vero cells expressing canine signalling lymphocyte activation molecule (SLAM). *Journal of Comparative Pathology* 2005, 133, 77-81.

Latha D, Geetha M, Ramadass P, Narayanan RB. Development of recombinant nucleocapsid protein based IgM-ELISA for the early detection of distemper infection in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2007, 119, 278-286.

Latha D, Srinivasan SR, Thirunavukkarasu PS, Gunaselan L, Ramadass P, Narayanan RB. Assessment of canine distemper virus infection in vaccinated and unvaccinated dogs. *Indian Journal of Biotechnology* 2007, 6, 35-40.

Lednický JA, Meehan TP, Kinsel MJ, Dubach J, Hungerford LL, Sarich NA, Witecki KE, Braid MD, Pedrak C, Houde CM. Effective primary isolation of wild-type canine distemper virus in MDCK, MV1 Lu and Vero cells without nucleotide sequence changes within the entire haemagglutinin protein gene and in subgenomic sections of the fusion and phospho protein genes. *Journal of Virological Methods* 2004, 118, 147-157.

Lee MS, Tsai KJ, Chen LH, Chen CY, Liu YP, Chang CC, Lee SH, Hsu WL. The identification of frequent variations in the fusion protein of canine distemper virus. *The Veterinary Journal* 2010, 183, 184-190.

Leisewitz AL, Carter A, van Vuuren M, van Blerk L. Canine distemper infections, with special reference to South Africa, with a review of the literature. *Journal of the South African Veterinary Association* 2001, 72, 127-136.

Ludlow M 1 , Nguyen DT , Silinmiş D , Lyubomska O , Vries RD , Messling V , McQuaid S , De Swart RL , Duprex WP, Recombinant canine distemper virus strain Snyder Hill expressing green or red fluorescent proteins causes meningoencephalitis in the ferret. *Journal of Virology* 2012, 86(14), 7508-7519.

Maclachlan NJ, Dubovi EJ. *Fenner's Veterinary Virology*, 4th Edition, USA, Academic Press. 2011, 299-320.

Maes RK, Wise AG, Fitzgerald SD, Ramudo A, Kline J, Vilnis A, Benson C. A canine distemper outbreak in Alaska, diagnosis and strain characterization using sequence analysis *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2003, 15, 213-220.

Martella V, Cirone F, Elia G, Lorusso E, Decaro N, Campolo M, Desario C, Lucente MS, Bellacicco AL, Blixenkrone-Moller M, Carmichael LE, Buonavoglia C. Heterogeneity within the hemagglutinin genes of canine distemper virus (CDV) strains detected in Italy. *Veterinary Microbiology*. 2006, 116, 301-309.

Martella V, Elia G, Lucente MS, Decaro N, Lorusso E, Banyai K, Blixenkrone-Moller M, Lan NT . Genotyping canine distemper virus (CDV) by a hemi-nested multiplex PCR provides a rapid approach for investigation of CDV outbreaks. *Veterinary Microbiology*. 2007, 122, 32-42.

Martella, V., Elia, G., & Buonavoglia, C. (2008). Canine Distemper Virus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 38(4), 787–797.

McIlhatton MA, Curran MD, Rima BK. Nucleotide sequence analysis of the large (L) genes of phocine distemper virus and canine distemper virus (corrected sequence). *Journal of General Virology* 1997, 78, 571-576.

Veronika von Messling , 1 Timm C. Daha Zor , 2, * Volker Moennig , 1 Peter Rautenberg , 2 Ingo Nolte , 3 ve Ludwig Haas 1 Rapid and Sensitive Detection of Immunoglobulin M (IgM) and IgG Antibodies against Canine Distemper Virus by a New Recombinant Nucleocapsid Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 1049–1056.

Mosallanejad, B. Ghadiri, A. Avizeh, R. The possible relationship of megaesophagus and canine distemper in two German shepherd dogs. *Iranian Journal of Veterinary Research.* 2010, 379-82.

Nahiid Stephens, corresponding author Pádraig J. Duignan, Jianning Wang, John Bingham, Hugh Finn, Lars Bejder, I, Anthony P. Patterson, and Carly Holyoake Cetacean Morbillivirus in Coastal Indo-Pacific Bottlenose Dolphins, Western Australia, *Emerging Infectious Diseases.* 2014.

Nguyen Thi, The Growth Profiles of Three Types of Canine Distemper Virus on Vero Cells, *The Journal of Veterinary Medical Science* 2005,67(5):491-495.

Panzer, Y., Sarute, N., Iraola, G., Hernández, M., & Pérez, R. (2015). *Molecular phylogeography of canine distemper virus: Geographic origin and global spreading.* *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 2015, 6-15.

Pardo ID, Johnson GC, Kleiboeker SB. Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected dogs in North America. *Journal of Clinical Microbiology* 2005, 43, 5009-5017.

Pardo ID. Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected North American dogs. University of Missouri-Columbia, *Master of Science Thesis* 2006.

Pardo MC, Tanner P, Bauman J, Silver K, Fischer L. Immunization of puppies in the presence of maternally derived antibodies against canine distemper virus. *Journal of Comparative Pathology* 2007, 137, 72-75.

Patrick C. Y. Woo,a,b,c,d,1 Susanna K. P. Lau,a,b,c,d,1 Beatrice H. L. Wong,b Rachel Y. Y. Fan,b Annette Y. P. Wong,b Anna J. X. Zhang,b Ying Wu,b Garnet K. Y. Choi,b Kenneth S. M. Li,b Janet Hui,e Ming Wang,f Bo-Jian Zheng,a,b,c,d K. H. Chan,b and Kwok-Yung Yuena,b,c,d,2, Feline morbillivirus, a previously undescribed paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012, 109(14): 5435–5440.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG (2009): *Clinical virology*, 4th edition, American Society for Microbiology. Washington, 1489.

Rikula UK. Canine distemper in Finland-vaccination and epidemiology, *Academic Dissertation*, University of Helsinki, Finland, 2008.

Rockborn, G., 1959. An attenuated strain of canine distemper virus in tissue culture. 584 *Nature* 184, 822.

Rory D. de Vries, W. Paul Duprex, and Rik L. de Swart, *Viruses*. 2015 ; 7(2): 699–706.

Roscoe DE. Epizootiology of canine distemper in New Jersey raccoons. *Journal of Wildlife Diseases* 1993, 29, 390-395.

Sabatino D. Lethal distemper in badgers (*Meles meles*) following epidemic in dogs and wolves, *Infection, Genetics and Evolution* 2016, 46, 130-137.

Şahna KC, Gençay A, Atalay O. Viral etiology of diarrhoea in puppies from a same shelter in turkey, presence of mixed infections. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2008, 159, 345-347.

Şahna Can ve ASLAN Ö. Kayseri’deki Köpeklerde Canine Adenovirus Seroprevalansı *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 2015, 29(3),163-165.

Saito TB, Alfieri AA, Wosiacki SR, Negrão FJ, Morais HS, Alfieri AF. Detection of canine distemper virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. *Research in Veterinary Science* 2006, 80, 116-119.

Santiago Rendon-Marin , 1 Renata da Fontoura Budaszewski , 2 Cádio Wageck Kanali, 2 ve Julian Ruiz-Saenz , Tropism and molecular pathogenesis of canine distemper virüs, *Virology of Journal* 2019; 16: 30.

Sato H, Masuda M, Miura R, Yoneda M, Kai C. Morbillivirus nucleoprotein possesses a novel nuclear localization signal and a CRM1-independent nuclear export signal. *Virology of Journal* 2006, 121-130.

Sato H, Yoneda M, Honda T, Kai C. Morbillivirus receptors and tropism, multiple pathways for infection. *Frontiers in Microbiology* 2012, 3, 75.

Simon-Martinez J, Ulloa-Arvizu R, Soriano VE, Fajardo R. Identification of a genetic variant of canine distemper virus from clinical cases in two vaccinated dogs in Mexico. *The Veterinary Journal* 2008,423-426.

Stephen Wilsona Joanna Illambasa Elisabeth Siedeka AnneThomasa Vickie Kingb Catrina Stirlingc Edita Plevová d Jeremy Salta Gordon Stureb, The administration of a single dose of a multivalent (DHPPiL4R) vaccine prevents clinical signs and mortality following virulent challenge with canine distemper virus, canine adenovirus or canine parvovirus, *Trials in Vaccinology. Volume 3,* 2014, 102-106.

Sugai A, Kooriyama T, Sato H, Yoneda M, Kai C. Epitope mapping of Canine distemper virus phosphoprotein by monoclonal antibodies. *Microbiology and Immunology.* 2009, 53, 667-674.

Terio KA, Craft ME. Canine distemper virus (CDV) in another big cat, should CDV be renamed carnivore distemper virus? *Microbiology.* 2013, 4, 702-713.

Vandeveld M, Zurbriggen A. Demyelination in canine distemper virus infection, a review. *Acta Neuropathologica*. 2005, 109, 56-68.

Virus Taksonomi, ICTV Master Species List 2018b. v2,
<https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/8266>, Erişim tarihi : 24.06.2019

Vivaldo G., Molecular and serological surveys of canine distemper virus: A meta-analysis of cross-sectional studies, *PLoS One*. 2019; 14.

Von Messling V, Cattaneo R. Amino-terminal precursor sequence modulates canine distemper virus fusion protein function. *Journal of Virology* 2002, 76-80.

Von Messling V, Harder TC, Moennig V, Rautenberg P, Nolte I, Haas L. Rapid and sensitive detection of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against canine distemper virus by a new recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37, 1049-1056.

Von Messling V, Milosevic D, Devaux P, Cattaneo R. Canine distemper virus and measles virus fusion glycoprotein trimers, partial membrane-proximal ectodomain cleavage enhances function. *Journal of Virology* 2004, 78, 7894-7903.

Von Messling V, Springfield C, Devaux P, Cattaneo R. A ferret model of canine distemper virus virulence and immunosuppression. *Journal of Virology* 2003, 77, 12579-12591.

Von Messling V, Zimmer G, Herrler G, Haas L, Cattaneo R The hemagglutinin of canine distemper virus determines tropism and cytopathogenicity. *Journal of Virology* 2001, 75, 6418-6427.

Vural SA, Alcigir ME. Distemper virus-induced apoptotic changes in cerebellum. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 57, 83-86.

Wang et al., 2003 L.-F. Wang, K.B. Chua, M. Yu, B.T. Eaton, Genome diversity of emerging paramyxoviruses. *Current Genomics*. 2003, 263–273.

Wang, J., Wang, J., Li, R., Shi, R., Liu, L., & Yuan, W. Evaluation of an incubation instrument-free reverse transcription recombinase polymerase amplification assay for rapid and point-of-need detection of canine distemper virus. *Journal of Virological Methods* 2018 260, 56–61.

Williams ES., Barker IK. Infectious Diseases of wild Mammals. 3rd edition. USA, *Iowa State University Press*. 2001, 50-58.

Wohlsein P, Puff C, Kreutzer M, Siebert U, Baumgärtner W. Distemper in a dolphin. *Emerging Infectious Diseases Journal* 2007, 13, 1959-1961.

Woma TY. The isolation and genetic characterization of canine distemper viruses from domestic dogs (*Canis familiaris*) in South Africa. University of Pretoria South Africa, *Faculty of Veterinary Science Thesis for the degree of Magister Scientiae* 2008.

Wyllie, S., Kelman, M., & Ward, M. (2016). Epidemiology and clinical presentation of canine distemper disease in dogs and ferrets in Australia, 2006-2014. *Australian Veterinary Journal* 94(7), 215–222.

Yarım GF, Yağcı BB, Köpek gençlik hastalığı sinirsel formundaki köpeklerin plazmasında vitamin A ve beta-karoten düzeylerindeki değişiklikler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2006, 53, 85-90.

Zarnke RL, Ver Hoef JM, DeLong RA. Serologic survey for selected disease agents in wolves (*Canis lupus*) from Alaska and the Yukon Territory 1984-2000. *The Journal of Wildlife Diseases* 2004, 40, 632-638.

Zurbriggen A, Graber HU, Wagner A, Vandeveld M. Canine distemper virus persistence in the nervous system is associated with noncytolytic selective virus spread. *Journal of Virology* 1995, 69, 1678-1686.

Zurbriggen A, Schmid I, Graber HU, Vandeveld M. Oligodendroglial pathology in canine distemper. *Acta Neuropathologica*. 1998, 95, 71-77.

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Yusuf
Soyadı : SAYIN
Uyruk : TC
Doğum yeri ve tarihi : Bucak, 14.05.1986
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2013
Lise	Hacı Dudu-Mehmet Gebizli Lisesi	2004

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2014 - Halen	Muratpaşa Belediyesi	Veteriner Hekim
2013-2014	Işıklar Veteriner Kliniği	Veteriner Hekim