

Molecular and Immunological Investigation of Canine Distemper Virus (CDV) and Its Co- infection with Canine Parainfluenza Virus Type 2

Afsaneh Tavakoli Zaniani¹, Azam Mokhtari^{1,2*} , Atefeh Esmailnejad³

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
2. Research Institute of Zoonotic Diseases, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
3. Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

 [10.30699/ijmm.15.2.212](https://doi.org/10.30699/ijmm.15.2.212)



ABSTRACT

Background and Aim: Canine distemper (CD) is a highly transmissible serious disease of carnivores. Distemper virus has immunosuppression effects, which, in turn, could lead to opportunistic infections. The present study was performed to detect CDV by the genomic and immunological methods and investigate its co- infection with canine parainfluenza virus type 2 (CpIV-2).

Materials and Methods: In this study, which was conducted from Spring 2018 to Winter 2019, samples of blood, eye, respiratory, and digestive system were collected from 50 dogs suspected to CDV (group 1: symptomatic dogs) as well as 50 seemingly healthy dogs (group 2: asymptomatic dogs). Rapid distemper immunochromatography kit was applied for the primary detection of CDV. RT-PCR test was also performed using special primers for molecular investigation.

Results: Results of immunochromatography showed twenty nine and one positive cases among dogs suspected to CDV and seemingly healthy dogs, respectively. After RT-PCR assay, in the first group, 37 samples were reported as CDV positive and 11, CpIV-2 positive. Furthermore, three CDV- and one CpIV-2-positive cases were found in the second group. Besides, the frequency of CDV and CpIV-2 co-infection was 4%.

Conclusion: In the present study, using statistical tests, we observed no association between distemper and CpIV-2..

Keywords: distemper parainfluenza virus genome search, immunological diagnosis dogs

Received: 2020/11/17; Accepted: 2021/02/13; Published Online: 2021/04/09

Corresponding Information: Azam Mokhtari, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
Email: a.mokhtari@alumni.ut.ac.ir



Copyright © 2021, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.

Use your device to scan and read the article online



Tavakoli Zaniani A, Mokhtari A, Esmailnejad A. Molecular and Immunological Investigation of Canine Distemper Virus (CDV) and Its Co- Infection with Canine Parainfluenza Virus Type 2. Iran J Med Microbiol. 2021; 15 (2) :212-226

Download citation: [BibTeX](#) | [RIS](#) | [EndNote](#) | [Medlars](#) | [ProCite](#) | [Reference Manager](#) | [RefWorks](#)

Send citation to:  [Mendeley](#)  [Zotero](#)  [RefWorks](#)

Introduction

Canine distemper virus (CDV) is a member of the family Paramyxoviridae, which can infect certain epithelial cell lines of the respiratory, gastrointestinal, or nervous systems (1). The virus is endemic in many areas, such as India, Denmark, Finland, Brazil, and North America (2). A high prevalence (55.6%) of CDV has been reported among the rural dogs in the north of Iran (3). Avizeh *et al.* (2007) in another study revealed a prevalence of 17.52% for CDV (4).

In sensitive species, CDV inhibits immunity and its receptor is the signaling lymphocyte activation molecule 4 (SLAMF4) (5). Such condition often gives other microorganisms a chance of occurrence and infection. Although the distemper vaccine has significantly reduced the disease, it is still endemic in many parts of the world (6-12).

There are studies on the co-infection of CDV and some other viruses, including canine parvovirus type 2 (CPV-2), canine alphaherpesvirus 1 (CHV-1), and canine adenovirus types 1 and 2 (CAV-1 and -2). Recently, new reports have shown that CDV infection can facilitate the development of diseases caused by emerging viruses (13-17).

Morbilliviruses, such as CDV are transmitted by aerosols and cause clinical signs, including respiratory and gastrointestinal symptoms, which are often complicated by other pathogens. Another feature of Morbillivirus infection is the temporary severe suppression of the host immune system (7).

During the first 24 h after CDV infection, the virus accumulates in macrophages, as well as B and T cells. Afterwards, the virions go towards the lymphoid tissues and multiply in the reticuloendothelial organs within 4-6 days after the infection (18, 19). The initial virus proliferation in the lymphoid tissues leads to severe suppression of the immune system (20, 21, 22).

Following viraemia, CDV spreads to a number of epithelial tissues and the central nervous system (19). Infectious lymphocytes penetrate the epithelial tissue and may locally increase the number of viruses in the epithelial cells, followed by respiratory, intestinal, and urinary tract infections. Penetration of T lymphocytes and dendritic cells can, in turn, cause cutaneous disease manifestations (23). Moreover, lymphopenia could occur due to a reduction in the population of CD4⁺ and CD8⁺ T cells, in addition to CD21⁺ B cells (21, 22). Unlike CD8⁺ cells, which are resistant, CD4⁺ lymphocytes, as apoptotic cells, are likely to die (23, 24, 25).

The decline in circulating immune system cells may result from the diminished number of cells in the lymphatic organs and the apoptosis of white blood cells. Furthermore, programmed cell death can happen in non-infected cells indicating an additional non-viral mechanism of apoptosis. Therefore, the overactivation and death of lymphocytes because of the Fas protein should be considered in the CDV infection (26, 27). On the other hand, canine parainfluenza virus type 2 (CPiV-2) is an ssRNA virus belonging to the Paramyxoviridae family. This virus is quite similar to the simian virus 5, which was first reported as Simian-5 virus by Binn *et al.* in 1967 in dogs with respiratory disease symptoms.

The CPiV-2 is a highly contagious virus, an important symptom of which is a dry cough. Mild fever, lack of energy, and loss of appetite are other symptoms of the disease. Collecting and keeping dogs in shelters and breeding centers or contact with sick dogs can cause further spread of the disease.

Vaccine administration in puppies can protect dogs from the virus. Puppies are more vulnerable to pneumonia than adult dogs. Infection usually leads to short-term coughs along with a number of general symptoms. Despite vaccination, the virus is still one of the most common respiratory pathogens of dogs (28). With this background in mind, the present study aimed to perform the molecular and immunological investigation of CDV and coinfection of this virus with CPiV-2.

Materials and Methods

Sampling

Samples were taken from dogs in the clinics of Isfahan (2018-2019). The age of the dogs was determined based on the statements of their owners and the examination of the animal's teeth. For sampling, the animals were first physically restrained and examined for clinical signs. Following physical restraint and sometimes using ketamine (Alfasan, Netherlands) and acepromazine (Hoogstraten, Belgium), respiratory and gastrointestinal tract swabs were taken from 50 symptomatic and 50 asymptomatic dogs. The specimens were examined by a rapid immunochromatography detection kit of distemper and were placed in sterile phosphate buffer saline.

Rapid Distemper Immunochromatography

A rapid immunochromatography kit of distemper (VetALL SensPERT Canine Distemper Virus Test Kit, CDV Ag) was applied for the detection of CDV in the eye and respiratory swabs. The samples were first diluted in the kit buffer. Next, 100 µL of the reagent was poured into the sample well and time was recorded. Next, the sample was dripped on a pad and after the adsorption of dripped samples by the pad, two red bands showing the positive result appeared on the C (control) and T (test) positions.

Acid Nucleic Extraction and Reverse Transcriptase Reaction

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany, Cat No: 52904) was used for RNA extraction from buffy coat. To determine the quality of the extracted RNA samples, the optical density of the specimens was measured at 260/280 nm by a spectrophotometer. Moreover, cDNA synthesis was carried out utilizing TaqMan reverse transcriptase (RT) kit (Invitrogen, USA, Cat No: N8080234). The RT reaction entailed 1 µL of 10X RT buffer, 2.2 µL of 25 mM MgCl₂, 2 µL of 10 mM dNTPs, 0.5 µL of random hexamers, 0.2 µL of RNase inhibitors, 0.25 µL of M-MLV RT (50 U/µL), RNA template (400–500 ng/µL), and deionized sterile water up to 10 µL. Moreover, the thermal cycling program encompassed 25°C for 10 min, 48°C for 30 min, and 95°C for 5 min.

RT-Polymerase Chain Reaction and Statistical Analysis

Polymerase chain reaction (PCR) was conducted using primers designed by Beacon Designer software for the detection of CDV and CpiV-2. The sequences of primers were as follows: CadF: AAGCCTCACACTGTTCAAG -3', CadR: GATTAGGACTATAATGACATGC -3', and Capi2F: ACAATCCCACCTACAACAC -3', Capi2R: 5'-AATCCGTAGGCAGAATAG -3'.

For detecting CpiV-2, the PCR thermal cycle programs consisted of 5 min at 94°C, 30 cycles of 45 s at 94°C, 45 s at 59°C, 45 s at 72°C, and 5 min at 72°C. For CDV, the PCR cycles and temperature were the same as CpiV2. The only difference was that the annealing temperature was 57°C. In each test, the negative and positive controls prepared from Tehran University were also applied.

The PCR products were electrophoresed in 1.5% agarose with 0.01% Green viewer (Parstous, Iran, Cat No.: B111151) along with 50 base-pair ladders (Fermentas, USA, Cat No.: SM1133). Afterwards, two positive PCR products were sent for sequencing to Bioneer, Korea. Finally, the data were analyzed using the Chi-square test by the SPSS 16 (IBM, Ill., USA) version 16.

Results

There were 29 and one positive cases among symptomatic and asymptomatic dogs based on the results of rapid distemper immunochromatography kits, respectively. The CDV-positive samples and positive control had a band size of 100 bp, while CpiV-positive specimens and positive controls had bands of 102 bp in size (Figures 1 and 2). Moreover, the sequencing of RT-PCR products showed that the degree of the identity of the sequences with the sequences registered in the GenBank for CDV and CpiV-2 was high. This was a good indicator of PCR efficiency (Figures 3 and 4).

In general, we detected 37 and three CDV-positive cases using RT-PCR among 50 symptomatic and 50 asymptomatic dogs, respectively. In addition, the frequency of CpiV-2 cases in the first and second groups was 11 and one cases, respectively. The rate of CDV and CpiV-2 coinfection was 4% only among dogs with distemper clinical signs.

All the 30 positive samples detected by rapid distemper immunochromatography test were also positive by RT-PCR test. Furthermore, there was a statistically significant relationship between the

results of these two tests ($P < 0.05$). However, we noticed no statistically significant correlation between the two studied diseases and gender ($P > 0.05$). However, the relationships of CpiV RT-PCR results and CDV signs with age were statistically significant ($P < 0.05$). The relationships of CDV RT-PCR results and CDV signs with age were statistically significant ($P < 0.05$).

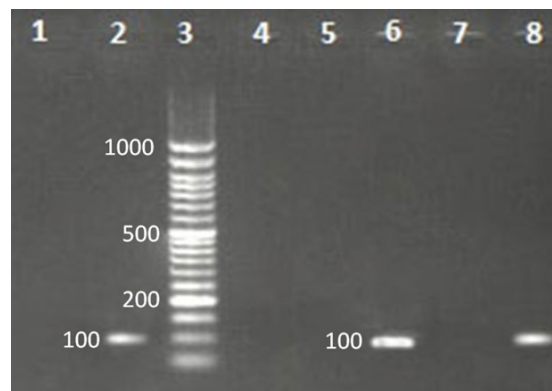


Figure 1. Electrophoresis gel of CDV RT-PCR products.

1: Negative control, 2,8: CDV positive RT-PCR products (100 bp), 6: Positive control (100 bp) 6: Ladder (50 bp)

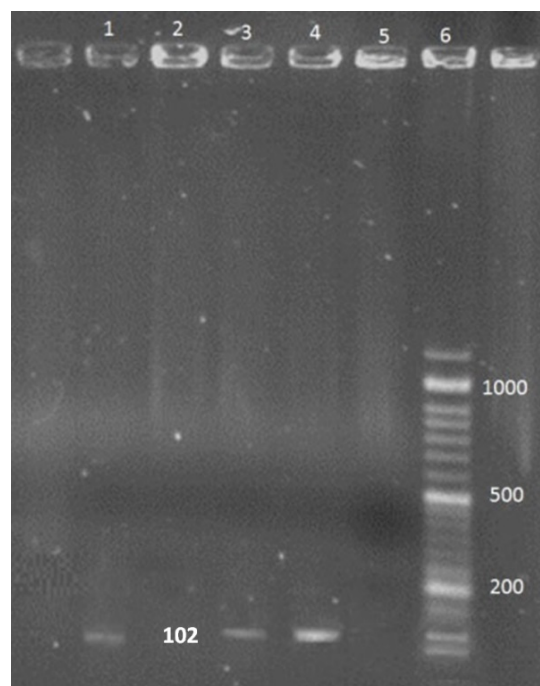


Figure 2. Electrophoresis gel of CpiV-2 RT-PCR product.

1,3: CpiV-2 (102 bp) positive PCR product, 2: Negative control, 4: Positive control, 6: Ladder (50 bp)

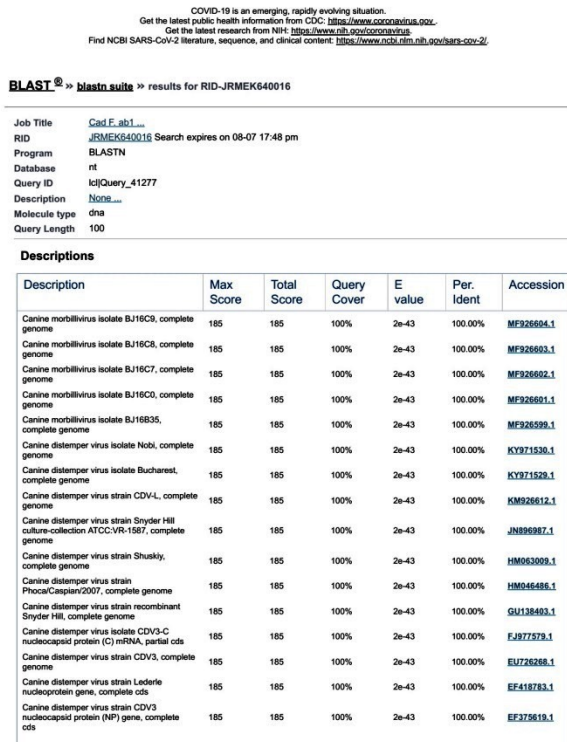


Figure 3. Alignment of CDV RT-PCR product sequence with the sequences registered in the gene bank.

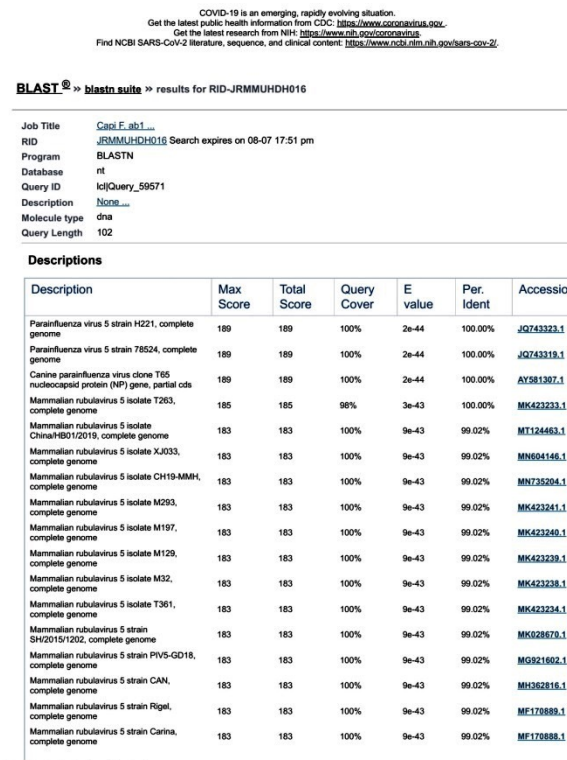
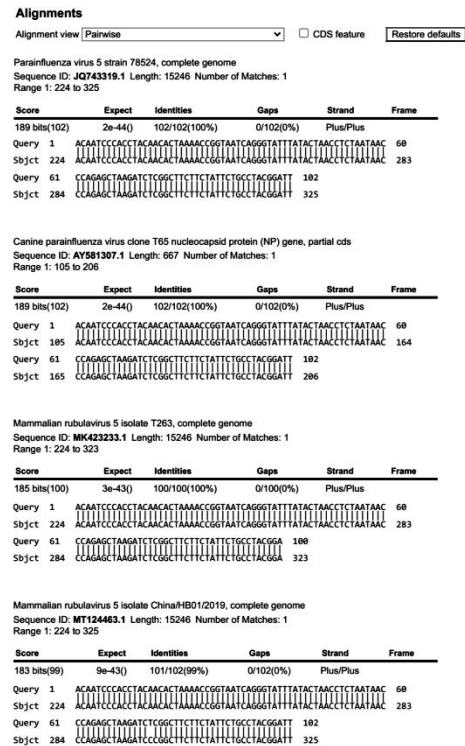
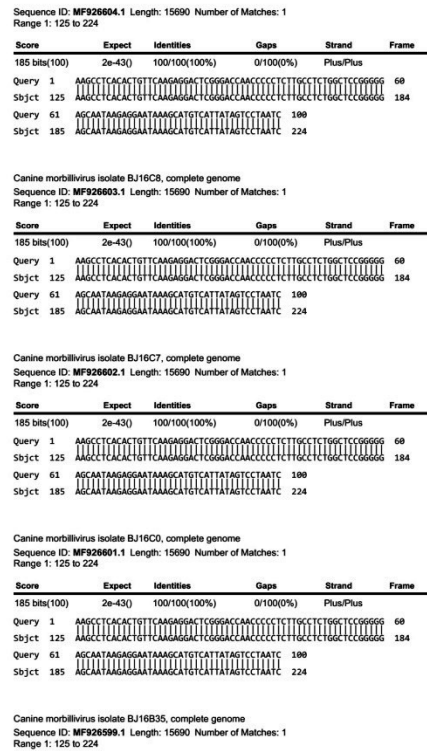


Figure 4. Alignment of CpiV-2 RT-PCR product sequence with the sequences registered in the gene bank



Discussion

Almost all dogs with distemper experience immune suppression. As a result, other infections can be added to the disease and make these dogs sicker. The mechanism of immune suppression in distemper disease is not fully understood. This mechanism depends on several factors. If some white blood cells become infected, long-term immune disorders might continue even after the peripheral blood is cleared of the virus during the recovery period (5).

Therefore, immune-suppressing mechanisms may affect the cells that are not directly involved in viral infection. Although the exact mechanism of immunosuppression due to CDV infection is not yet well understood, the immune system weakness due to this virus is accepted by all scientists.

Symptoms of the early stage of distemper in dogs usually appear as eye and nose discharge, fever, loss of appetite during which other canine respiratory infections may occur. Consequently, it is impossible to distinguish the infections exclusively based on the symptoms. Therefore, considering the possibility of concomitant infections due to immunosuppression resulting from CDV, the current study was conducted to investigate coinfection with distemper and canine parainfluenza type 2. We found coinfection with these two viruses in 4% of the cases with no statistically significant relationship between distemper and canine parainfluenza virus-2.

In the present study, unfortunately, limited access to dogs with distemper clinical symptoms did not allow us to have a large sample size and achieve a significant relationship between the two studied viruses. A rapid distemper diagnostic kit is the best option for diagnosing the virus in veterinary clinics. The specificity and sensitivity of this kit for conjunctival specimens, similar to Nested PCR, is 100%. (29). There is not any interference between vaccination and this diagnostic method. Therefore, this assay can be easily used in areas without diagnostic facilities (18, 28). All the above-mentioned reasons led us to choose this technique for the initial diagnosis of CDV.

Previously, some research groups worked on CDV coinfection with other pathogens. In Iran, we could not find any reports of infections simultaneous with distemper. There were only some reports of CDV infection from some cities. For instance, Avizeh *et al.* in 2007 carried out a serologic detection of CDV in unvaccinated dogs from Ahvaz, Iran. Furthermore, Namroudi *et al.* (2015) detected the Arctic and European clusters of CDV in the north and center of Iran (3, 4).

Moreover, we found some related works in other countries. For example, in Japan, Mochizuki *et al.* (2008) investigated the pathogens involved in upper respiratory tract infections in domestic dogs. In the present study, CPiV (4.7%), canine coronavirus 1 (4.4%), CAAdV-2 (2.9%), canine coronavirus 2 (1.5%), and CDV (1.5%) were detected and two cases of coinfections were observed (14).

In a research performed by Damián *et al.* (2005), CDV, CAV, and CpiV were detected in 77%, 57%, and 51% of the studied population, respectively. The most common coinfection was found to be CDV-CpiV in 14% of the cases (20). Headley *et al.* (2018) reported CDV-associated infections as *Neospora caninum* (100%), CPV-2 (100%), CAAdV-1 (100%), and CAAdV-2 (100%) (11).

Aguar *et al.* (2012) assessed the coinfection of CDV and *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological signs. Using RT-PCR, 80.9%, 38.1%, and 41.1% of dogs were positive for CDV, anti-*T. gondii* antibodies, and both factors, respectively (3). Furthermore, Headley *et al.* in 2015 detected the coinfection of CDV with CHV-1, CAAdV, and CPV in domestic dogs in southern Brazil (11).

The mentioned research indicated a high rate of CDV coinfection with other pathogenic viruses in dogs. This rate confirms the hypothesis that susceptibility to other pathogens due to the weakness of the animal immune system elevates after CDV infection. However, performing further similar studies on other virus hosts can give us more comprehensive information about this issue.

Perspective

The high prevalence of distemper, the possibility of concurrent infections with CDV in Iran and other endemic areas, and the reports of distemper from other hosts suggest that distemper and simultaneous infections in wildlife, rodents, and other species associated with CDV infections need to be investigated.

Conclusion

In the present research, out of the samples taken from symptomatic dogs, a total of four cases were detected to be co-infected with CDV and CPiV-2. Furthermore, no statistically significant correlation was observed between distemper and CPiV. For future research, we recommend similar studies with an appropriate sample size to obtain more accurate results.

Acknowledgment

This work was supported by grants from Shahrekord University (Grant number: 98GRD30M1801).

Conflict of Interest

The authors report no conflict of interest.



شناسایی ژنومی و ایمونولوژیک ویروس دیستمبر و بررسی عفونت همزمان آن با پارآنفلوانزای سگ تیپ دو

افسانه توکلی زانیانی^۱، اعظم مختاری*^{۱،۲}، عاطفه اسماعیل نژاد^۳

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: ویروس دیستمبر سگ (CDV) ویروسی بسیار مسری و عامل بیماری کشنده در گوشت خواران سراسر جهان است. ویروس دیستمبر کارآیی سیستم ایمنی میزبان را کاسته و باعث افزایش احتمال ابتلا به سایر عوامل بیماری‌زا می‌شود. هدف مطالعه حاضر جستجوی ویروس دیستمبر به روش ژنومی و ایمونولوژیک و بررسی عفونت همزمان با پارآنفلوانزای سگ تیپ ۲ (CpiV-2) بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه، در فاصله بهار ۹۷ تا زمستان ۹۸ تعداد ۵۰ نمونه خون و سواب چشمی، تنفسی و گوارشی از سگ‌های مشکوک به دیستمبر و ۵۰ نمونه از سگ‌های به‌ظاهر سالم اخذ شد. به‌منظور تشخیص اولیه ویروس دیستمبر به روش ایمونولوژیک از کیت ایمونوکروماتوگرافی سریع دیستمبر استفاده شد. برای جستجوی ژنومی هر دو ویروس، پس از استخراج RNA و انجام واکنش رونوشت برداری معکوس، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی آزمون RT-PCR انجام شد.

یافته‌ها: نتایج ایمونوکروماتوگرافی سریع حاکی از ۲۹ نمونه در گروه سگ‌های مشکوک به CDV و یک نمونه مثبت در بین نمونه‌های گرفته شده از سگ‌های به‌ظاهر سالم بود. بر اساس نتایج آزمون RT-PCR، در گروه اول ۳۷ نمونه CDV مثبت و ۱۱ نمونه CpiV-2 مثبت بودند. همچنین، از نمونه‌های گرفته شده از سگ‌های معمولی، سه مورد CDV مثبت و یک نمونه CpiV-2 مثبت به‌دست آمد. در کل، فراوانی عفونت همزمان ۴٪ بود.

نتیجه‌گیری: با استفاده از بررسی‌های آماری ارتباط معنی‌داری بین عفونت CVD و CpiV-2 به‌دست نیامد. به نظر می‌رسد انجام بررسی‌هایی از این دست با حجم نمونه بیشتر نتایج دقیق‌تری می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: دیستمبر، پارآنفلوانزا، جستجوی ژنومی، تشخیص ایمونولوژیک، سگ

کپی‌رایت © مجله میکروبیولوژی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۷

پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵

انتشار آنلاین: ۱۴۰۰/۰۱/۲۰

موضوع:

بیماری‌های مشترک انسان - دام

نویسنده مسئول:

اعظم مختاری، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

ایمیل:

mokhtari_dvm@yahoo.com

مقدمه

شده است (۳). در مطالعه‌ای که توسط Avizeh و همکاران (۲۰۰۷) انجام شده است، شیوع CDV 52/17 درصد بوده است (۴).

CDV با هدف قرار دادن سلول‌هایی که مولکول فعال‌کننده پیام‌رسانی ۴ (SLAMF4) را بیان می‌کنند در میزبان‌های حساس باعث سرکوب ایمنی می‌شود (۵). این وضعیت اغلب به عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب نظیر *Bordetella bronchiseptica*، گونه‌های *Candida*، *Clostridium piliforme*، *Toxoplasma gondii*، *Dirofilaria immitis*، *Mycoplasma cynos* و *Talaromyces marneffei* و ... شانس بروز و عفونت‌زایی می‌دهد. اگر چه به علت استفاده از واکسن ابتلا به CD به‌طور قابل ملاحظه‌ای در

ویروس دیستمبر سگ (CDV) ویروسی بسیار مسری است که در سراسر جهان باعث بیماری کشنده در گوشت‌خواران می‌شود. CDV عضو جنس *Morbillivirus* متعلق به خانواده *Paramyxoviridae* است که می‌تواند بعضی رده‌های سلولی از بافت‌های اپیتلیال دستگاه تنفسی، گوارش یا عصبی را آلوده کند (۱). مطالعات مربوط به بیماری دیستمبر سگ در بسیاری از کشورها از جمله در مناطقی که ویروس بومی است مانند هند، دانمارک، فنلاند، برزیل و آمریکای شمالی توصیف شده است (۲). به‌طور کلی، تعدادی گزارش از شیوع CDV در سگ‌های ایران وجود دارد. شیوع بالای CDV (۵۵/۶٪) در میان سگ‌های روستایی در شمال ایران گزارش

جمعیت سگ‌ها کاهش یافته‌است، اما این بیماری در بسیاری نقاط جهان بومی است (۶-۱۲).

عفونت ویروس دیستمپر به‌طور هم‌زمان به همراه ویروس‌های متداول دیگری نظیر پاروویروس تیپ ۲ سگ (CPV-2) آلفا هریس ویروس تیپ ۱ سگ و آدنوویروس‌های تیپ ۱ و ۲ سگ (CAV-1,2) گزارش شده است. اخیراً گزارش‌های جدیدی منتشر شده است که نشان می‌دهد عفونت CDV می‌تواند تسهیل کننده بروز بیماری‌های ناشی از ویروس‌های نوظهوری نظیر *kobuvirus* سگ، *pneumovirus* و کورونایروس تنفسی سگ باشد. مطالعات جستجوی ژنومی و مولکولی حضور عوامل بیماری‌زای سگ را در سگ‌های واجد علامت و بی علامت نشان داده‌اند (۱۷-۱۳).

موربیلی ویروس‌ها شامل ویروس دیستمپر توسط آئروسول‌ها منتقل می‌شوند و شباهت‌های بالینی مانند تب، آبریزش شدید از بینی، سرفه و همچنین علائم تنفسی و دستگاه گوارش را که اغلب با عفونت‌های باکتریایی ثانویه پیچیده می‌شوند، ایجاد می‌کنند. علاوه بر این، یکی از بدترین ویژگی‌های عفونت موربیلی ویروسی، سرکوب شدید موقت سیستم ایمنی است (۷).

ویروس دیستمپر معمولاً توسط آئروسول‌ها منتقل می‌شود و دستگاه تنفسی فوقانی را آلوده می‌کند. در طی ۲۴ ساعت اول پس از عفونت، ویروسی در ماکروفاژها و سلول‌های B و T تجمع یافته و بعداً، ذرات ویروسی از طریق مسیر لنفاوی به گره‌های لنفاوی برونش و لوزه‌ها گسترش می‌یابند (۱۹، ۱۸). تکثیر اولیه ویروس در بافت‌های لنفوئیدی منجر به سرکوب شدید سیستم ایمنی می‌شود (۲۱، ۲۰).

حدود دو تا چهار روز بعد از عفونت، مقدار زیادی از ذرات ویروسی در لوزه‌ها و همچنین گره‌های لنفاوی رتروفارینجینال و برونش وجود دارد. با این حال، تعداد سلول‌های تک‌هسته‌ای آلوده در دیگر ارگان‌های لنفی کم است. طی چهار تا شش روز پس از عفونت، تکثیر ویروس در بافت لنفوئیدی، مغز استخوان، تیروئید، طحال، گره‌های لنفاوی، گره‌های لنفاوی مزانتریک، پلاک‌های پاپیر، سلول‌های معده، سلول‌های Kupffer و سلول‌های تک‌هسته‌ای در اطراف عروق برونش و ریه اتفاق می‌افتد. سپس، بین روزهای دوم و ششم، با توجه به میزان بالای ضایعات ویروسی در ارگان‌های لنفی و همچنین لکوپنی ناشی از تخریب سلول‌های لنفاوی، هیپرترمی مشاهده می‌شود (۲۲).

بعد از ویرمی، حدود هشت تا ده روز پس از عفونت، CDV از طریق مسیرهای هماتوژن یا مایع مغزی نخاعی (CSF) به چندین

بافت اپیتلیال و سیستم عصبی مرکزی (CNS) انتشار می‌یابد (۱۹). لنفوسیت‌های عفونی در بافت اپیتلیال نفوذ کرده و ممکن است به‌صورت موضعی سبب ورود بسیار زیاد ویروس به سلول‌های اپیتلیال و به دنبال آن عفونت تنفسی، روده‌ای و ادراری شود. نفوذ لنفوسیت T و سلول‌های دندریتیک (DC) سبب تظاهرات پوستی بیماری می‌شود (۲۳).

در طی فاز حاد دیستمپر، لنفوپنی با کاهش مداوم سلول‌های CD4 + T، سلول‌های CD8 + T و سلول‌های CD21 + B از خون محیطی مشخص می‌شود. سلول‌های CD4 + T بیشترین سلول‌های هدف در طی عفونت حاد CDV هستند و کاهش CD4 + T در اندام‌های لنفی ناشی از تخریب سلول‌های CD8 + T است (۲۲، ۲۱). لنفوسیت‌های CD4 + T به مدت چندین هفته، احتمالاً به علت آپوپتوز ناشی از ویروس تخریب می‌شوند (۲۴، ۲۳)، در حالی که سلول‌های CD8 + T کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند و نسبتاً سریع بهبود می‌یابند (۲۵).

کاهش سلول‌های سیستم ایمنی در گردش ممکن است به علت کاهش تولید سلول‌ها در اندام‌های لنفاوی اولیه و ثانویه و همچنین به علت آپوپتوز لکوسیت‌های خون محیطی باشد. مرگ سلولی برنامه ریزی شده در بافت‌های لنفی می‌تواند در تعداد قابل توجهی از سلول‌های غیر عفونی نیز اتفاق افتد که نشان دهنده وجود مکانیسم اضافی آپوپتوز مستقل از عفونت ویروسی است. مکانیسم‌های دیگر علاوه بر آپوپتوز که به‌طور مستقیم توسط ویروس ایجاد می‌شوند، از قبیل فعال شدن بیش از حد سیستم ایمنی بدن یا آپوپتوز سلول‌های لنفی از طریق پروتئین Fas، باید به‌عنوان مکانیسم‌های احتمالی مرگ سلولی در دیستمپر سگ، مورد توجه قرار گیرد (۲۷، ۲۶).

تخریب زودهنگام لنفوسیت‌ها به دلیل عفونت با ویروس دیستمپر موجب سرکوب ایمنی حیوانات آلوده می‌شود؛ با این حال، مکانیسم‌های بعدی که بر ارائه آنتی ژن و بلوغ لنفوسیت تأثیر می‌گذارد هنوز شناخته نشده‌است (۱۸).

ویروس پارا آنفلوآنزای سگ ((CPiV-2 یک RNA ویروس تک‌رشته‌ای متعلق به خانواده Paramyxoviridae بوده و بسیار شبیه به Simian Virus 5 است. ویروس پارا آنفلوآنزای سگ اولین بار توسط Binn و همکاران در سال ۱۹۶۷ به‌عنوان یک ویروس شبه Simian-5 از سگ‌های آزمایشگاهی دارای علائم تنفسی جدا شد. متعاقباً Crandell و همکاران (۱۹۶۸)، Appel و همکاران

دارای علائم درگیری سیستم تنفسی و مشکوک به دیستمپر بودند و ۵۰ نمونه از سگ‌های به‌ظاهر سالم تهیه گردید.

ایمونوکروماتوگرافی سریع دیستمپر

برای تشخیص اولیه ویروس دیستمپر از کیت ایمونوکروماتوگرافی سریع ویروس دیستمپر استفاده شد. برای تشخیص سریع با این کیت‌ها می‌توان از ترشحات چشم، بزاق، ادرار و خون استفاده کرد. در مطالعه حاضر، نمونه‌های سواب‌های چشمی - تنفسی چشم اخذ شده برای آزمایش برای شناسایی ویروس distemper از کیت VetALL SensPERT Canine Distemper Virus Test Test Kit، CDV Ag استفاده شد. به‌طور خلاصه نمونه سواب اخذ شده در بافر تهیه شده توسط کیت قرار گرفته و برای رقیق شدن نمونه چند بار حرکت داده می‌شد. سپس با استفاده از قطره چکان تعبیه شده در کیت، مقدار ۱۰۰ μL محلول نمونه مورد آزمایش کشیده شده و این مقدار نمونه (تقریباً ۴ قطره) در سوراخ بیضوی شکل مخصوص لود نمونه ریخته می‌شد و از همین لحظه، زمان در نظر گرفته می‌شد. باید دقت شود که مقدار نمونه بیش از ظرفیت چاهک نباشد. پس از جذب محلول نمونه در پد صفحه تست، ظهور باند قرمز در موقعیت‌های C (کنترل) و T (تست) نشان‌دهنده مثبت بودن نتیجه تست است.

استخراج RNA و واکنش رونوشت برداری معکوس

برای تشخیص CDV و CPiV-2، RNA از بافی کوت مطابق با دستورالعمل سازنده با کیت QIAamp Viral Cat No: 5290 (Qiagen) استخراج RNA، استخراج شد. به‌منظور بررسی کیفیت RNA استخراج شده، جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ قرائت گردید. واکنش RT با استفاده از کیت TaqMan Reverse Transcription Reagents /N8080234 (Invitrogen، آلمان) طبق دستورالعمل کیت انجام شد. به‌طور خلاصه، واکنش در حجم ۱۰ μL و شامل ۱ μL از بافر RT x10، 2.2 μL از 25 mM MgCl_2 ، 2 μL از mM10 dNTP، 0.5 μL از Random hexamers، 0.2 μL از مهارکننده RNase، RNase 25/0 μL از آنزیم رونوشت بردار معکوس (150 U/ μL) (MMLV RT) و مقدار محاسبه شده از RNA الگو - آب عاری از DNase/RNase (ng/ μL 400-500) و آب دیونیزه استریل بود. برنامه‌ریزی حرارتی واکنش RT شامل: ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه، ۴۸ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه و ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه بود. سپس نمونه‌های cDNA در دمای ۲۰ درجه سلسیوس برای آزمایش PCR نگهداری شدند.

Rosenberg و همکاران (۱۹۷۰)، Cornwell (۱۹۷۱) و همکاران (۱۹۷۶)، Mc Candish و همکاران (۱۹۷۸) و بسیاری دیگر محققان این ویروس را گزارش کردند. CPiV-2 ویروسی بسیار مسری است. از مهم‌ترین علائم عفونت حاصل از این ویروس می‌توان به سرفه‌های خشک اشاره کرد. تب خفیف، ترشحات بینی، کمبود انرژی و از دست دادن اشتها از سایر علائم بیماری هستند. تجمع و نگهداری سگ‌ها در پناهگاه‌ها و مراکز پرورش و یا تماس با سگ بیمار سبب انتشار بیشتر بیماری می‌شود. واکسیناسیون و تجویز مواد تقویتی برای توله‌سگ‌ها می‌تواند سگ‌ها را از ابتلا به ویروس حفظ کنند. در مقایسه با بالغین، توله‌سگ‌ها نسبت به ذات‌الریه آسیب‌پذیرتر هستند. آلودگی عموماً منجر به سرفه‌های کوتاه‌مدت، همراه با تعدادی علائم عمومی می‌شود. با وجود واکسیناسیون این ویروس هنوز هم از شایع‌ترین عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی سگ است (۲۷).

به دلیل تأثیر ویروس دیستمپر بر کارایی سیستم ایمنی میزبان و در نتیجه افزایش احتمال ابتلا به سایر عوامل بیماری‌زا، مطالعه حاضر با هدف بررسی عفونت هم‌زمان ویروس دیستمپر و پارآنفلوانزای سگ به روش جستجوی ژنومی و سرولوژیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری در فاصله بهار ۹۷ تا زمستان ۹۸ از سگ‌های ارجاعی به کلینیک‌های شهر اصفهان انجام شد. تعیین سن بر اساس اظهارات مالک حیوان و بررسی دندان‌های حیوان انجام گرفت. به‌منظور نمونه‌برداری ابتدا حیوان به‌صورت فیزیکی مقید شده، از نظر وجود نشانه‌های بالینی مورد معاینه قرار می‌گرفت. در صورت وجود علائم بیماری، از مخاطات تنفسی و گوارشی سواب تنفسی برای بررسی با استفاده از کیت تشخیص سریع آنتی‌ژن دیستمپر (بیوتک، چین) اخذ می‌شد. حیوان با استفاده از ترکیب کتامین (آلفاسان، هلند) - آسپرومازین (هوگسترانی، بلژیک) به‌صورت شیمیایی مقید شده و پس از ثبت سن و جنس، ۳ mL خون از ورید سافن یا سفالیک اخذ و برای جداسازی سرم به آزمایشگاه منتقل می‌شد. جداسازی سرم و بافی کوت از خون توسط سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه صورت می‌گرفت. هم‌زمان نمونه سواب چشمی، تنفسی و گوارشی نیز از حیوان مقید شده تهیه شده و در PBS استریل انداخته می‌شد. تا زمان انجام آزمایشات نمونه‌ها در دمای ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. در این مطالعه ۵۰ نمونه سرم از سگ‌هایی که

RT-PCR

تست PCR با استفاده از آغازگرهای طراحی شده برای تشخیص CDV و CpiV-2 انجام شد. توالی آغازگرها به شرح زیر بود: CadF: AAGCCTCACACTGTTCAAG -3', CadR: GATTAGGACTATAATGACATGC -3' and Capi2F: ACAATCCCACCTACAACAC -3', Capi2R: 5'-AATCCGTAGGCAGAATAG -3'. برای تشخیص CpiV-2، برنامه حرارتی PCR شامل واسرشتی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه، ۵۹ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس برای ۴۵ ثانیه و به دنبال آن توسعه نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه بود. چرخه‌ها و شرایط دمایی PCR برای شناسایی CDV مشابه با CpiV2 انجام شد. تنها تفاوت این بود که دمای اتصال ۵۷ درجه سلسیوس بود. در هر آزمون از کنترل‌های منفی و مثبت استفاده شد. محصولات PCR پس از الکتروفورز در آگارز ۱/۳٪ با رنگ آمیزی با Green viewer مورد الکتروفورز قرار گرفته و با مارکر DNA (۵۰ جفت باز، Fermentas) مقایسه شدند. سپس محصولات PCR در یک سیستم توالی‌یابی دی داکسی فلورسنت خودکار توالی‌یابی شدند (Bioneer، کره).

تحلیل آماری

پس از ورود اطلاعات در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ (SPSS Inc., Chicago, IL., USA) و ترسیم جدول توافقی دو طرفه، رابطه بین متغیرها با استفاده از آزمون مجذور کای بررسی شد.

یافته‌ها

ایمونوکروماتوگرافی سریع دیستمبر

در مجموع از ۵۰ نمونه اخذ شده از سگ‌های واجد علائم مشکوک به دیستمبر با استفاده از کیت ایمونوکروماتوگرافی سریع ۲۹ نمونه مثبت تشخیص داده شد و از ۵۰ نمونه گرفته شده از سگ‌های به‌ظاهر سالم ۱ نمونه مثبت تشخیص داده شد. نتایج در جدول ۱ خلاصه شده است.

RT-PCR

باند‌های اختصاصی CDV و CpiV به ترتیب با اندازه‌های ۱۰۰ جفت باز و ۱۰۲ جفت باز به ترتیب در نمونه‌های مثبت برای هر یک از آنها شناسایی شدند. محصولات RT-PCR مثبت در همان اندازه محصولات کنترل مثبت بودند (شکل ۱ و ۲).

درجه تشابه توالی استخراج شده از خوانش محصول PCR ژن‌های مورد مطالعه با توالی‌های ثبت شده در بانک ژن برای ویروس distemper و CpiV-2، به خوبی نشان‌دهنده کفایت PCR بود (شکل‌های ۳ و ۴).

در مجموع از ۵۰ نمونه اخذ شده از سگ‌های واجد علائم مشکوک به دیستمبر با استفاده از آزمایش RT-PCR 37 نمونه مثبت از نظر حضور اسید نوکلئیک دیستمبر تشخیص داده شد و از ۵۰ نمونه گرفته شده از سگ‌های به‌ظاهر سالم ۳ نمونه مثبت از نظر حضور اسید نوکلئیک دیستمبر تشخیص داده شد. با استفاده از آزمایش RT-PCR مخصوص تشخیص پارائفلوانزای سگ از تعداد کل ۵۰ نمونه اخذ شده از سگ‌های مشکوک به داشتن علائم بالینی دیستمبر ۱۱ نمونه از نظر حضور اسید نوکلئیک ویروس پارائفلوانزای سگ مثبت بودند و از بین ۵۰ نمونه از سگ‌های به‌ظاهر سالم ۱ نمونه از نظر وجود اسید نوکلئیک این ویروس مثبت تشخیص داده شد. فراوانی موارد عفونت توأم ۴ مورد در نمونه‌های اخذ شده در سگ‌های واجد علائم مشکوک به دیستمبر بود.

بررسی آماری

پس از وارد کردن اطلاعات در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و رسم جدول دو طرفه توافقی، ارتباط بین متغیرها با استفاده از آزمون کای دو بررسی شد و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ هیچ ارتباط آماری معنی‌داری بین دو بیماری، نتایج RT-PCR CpiV و جنسیت و نتایج RT-PCR CDV و جنسیت به‌دست نیامد ($P > 0/05$) (جدول ۴-۱). با این وجود رابطه بین نتایج RT-PCR ویروس‌های CpiV-2 و CDV با علائم دیستمبر و گروه‌های سنی از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$) (جدول ۵-۱۳).

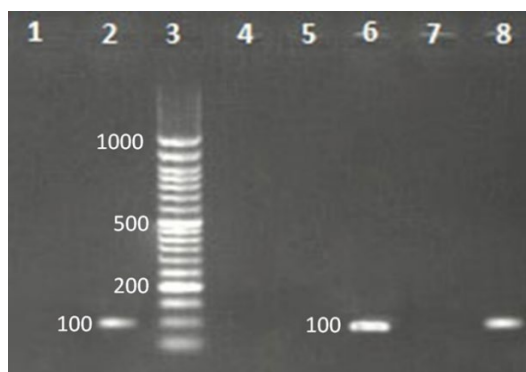


Figure 1. Electrophoresis gel of CDV RT-PCR products.

1: Negative control, 2,8: CDV positive RT-PCR products (100 bp), 6: Positive control (100 bp) 6: Ladder (50 bp)

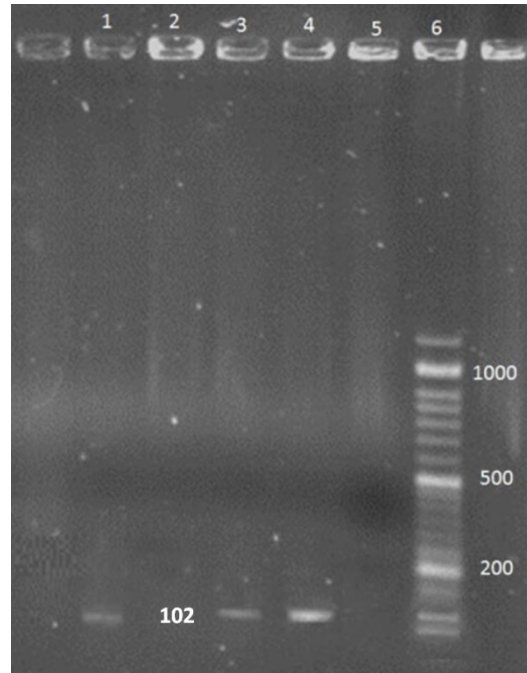


Figure 2. Electrophoresis gel of CpiV-2 RT-PCR product.

1,3: CpiV-2 (102 bp) positive PCR product, 2: Negative control, 4: Positive control, 6: Ladder (50 bp)

COVID-19 is an emerging, rapidly evolving situation.
Get the latest public health information from CDC: <https://www.cdc.gov/covid>.
Get the latest research from NIH: <https://www.nih.gov/coronavirus>.
Find NCBI SARS-CoV-2 literature, sequence, and clinical content: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>.

BLAST » [blastn suite](#) » results for RID-JRMEK640016

Job Title: Cad F. ab1...
RID: JRMEK640016 Search expires on 08-07 17:48 pm
Program: BLASTN
Database: nt
Query ID: kljQuery_41277
Description: None...
Molecule type: dna
Query Length: 100

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Canine morbillivirus isolate BJ16C9, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	MF926604.1
Canine morbillivirus isolate BJ16C8, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	MF926603.1
Canine morbillivirus isolate BJ16C7, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	MF926602.1
Canine morbillivirus isolate BJ16C0, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	MF926601.1
Canine morbillivirus isolate BJ16B35, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	MF926599.1
Canine distemper virus isolate Nob1, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	KY971530.1
Canine distemper virus isolate Bucharest, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	KY971529.1
Canine distemper virus strain CDV-L, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	KM826812.1
Canine distemper virus strain Snyder Hill culture-collection ATCC:VR-1567, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	JN898887.1
Canine distemper virus strain Shushly, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	HM063009.1
Canine distemper virus strain Phoca/Caspar/2007, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	HM046466.1
Canine distemper virus strain recombinant Snyder Hill, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	GU1138403.1
Canine distemper virus isolate CDV3-C nucleocapsid protein (C) mRNA, partial cds	185	185	100%	2e-43	100.00%	FJ977379.1
Canine distemper virus strain CDV3, complete genome	185	185	100%	2e-43	100.00%	EU728268.1
Canine distemper virus strain Lederle nucleoprotein gene, complete cds	185	185	100%	2e-43	100.00%	EF418783.1
Canine distemper virus strain CDV3 nucleocapsid protein (NP) gene, complete cds	185	185	100%	2e-43	100.00%	EF375619.1

Sequence ID: MF926604.1 Length: 15690 Number of Matches: 1
Range 1: 125 to 224

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
185 bits(100)	2e-43()	100/100(100%)	0/100(0%)	Plus/Plus	
Query 1	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	60			
Sbjct 125	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	184			
Query 61	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	100			
Sbjct 185	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	224			

Canine morbillivirus isolate BJ16C8, complete genome
Sequence ID: MF926603.1 Length: 15690 Number of Matches: 1
Range 1: 125 to 224

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
185 bits(100)	2e-43()	100/100(100%)	0/100(0%)	Plus/Plus	
Query 1	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	60			
Sbjct 125	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	184			
Query 61	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	100			
Sbjct 185	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	224			

Canine morbillivirus isolate BJ16C7, complete genome
Sequence ID: MF926602.1 Length: 15690 Number of Matches: 1
Range 1: 125 to 224

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
185 bits(100)	2e-43()	100/100(100%)	0/100(0%)	Plus/Plus	
Query 1	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	60			
Sbjct 125	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	184			
Query 61	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	100			
Sbjct 185	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	224			

Canine morbillivirus isolate BJ16C0, complete genome
Sequence ID: MF926601.1 Length: 15690 Number of Matches: 1
Range 1: 125 to 224

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
185 bits(100)	2e-43()	100/100(100%)	0/100(0%)	Plus/Plus	
Query 1	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	60			
Sbjct 125	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	184			
Query 61	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	100			
Sbjct 185	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	224			

Canine morbillivirus isolate BJ16B35, complete genome
Sequence ID: MF926599.1 Length: 15690 Number of Matches: 1
Range 1: 125 to 224

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
185 bits(100)	2e-43()	100/100(100%)	0/100(0%)	Plus/Plus	
Query 1	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	60			
Sbjct 125	AAGCCTCACACTGTTCAAGAGGACTGGGGACCAACCCCTCTGGCTCTGGCTCCGGGGG	184			
Query 61	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	100			
Sbjct 185	AGCAATAMAGGGAATAAGCATGTCTATTAGTCTTAATC	224			

Figure 3. Alignment of CDV RT-PCR product sequence with the sequences registered in the gene bank.

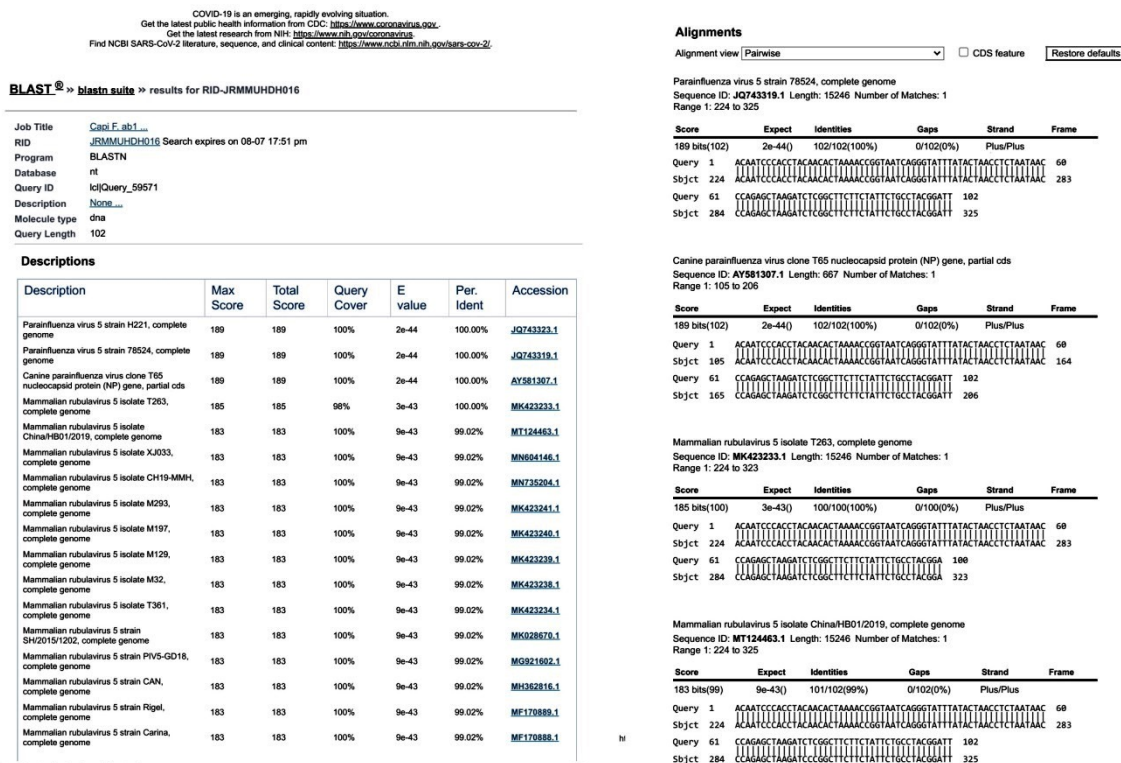


Figure 4. Alignment of CpiV-2 RT-PCR product sequence with the sequences registered in the gene bank

بحث

ویروس دیستمپر، مطالعه حاضر به منظور شناسایی عفونت توأمان ویروس دیستمپر و پارآنفلوانزای سگ به عنوان یکی دیگر از عوامل بیماری زای تنفسی سگ‌ها انجام شد و علی رغم شناسایی عفونت هم‌زمان این دو ویروس در چهار درصد موارد، ارتباط معنی دار آماری بین ابتلا به دیستمپر و پارا آنفلوانزای سگ به دست نیامد. احتمالاً محدودیت مطالعه حاضر در دسترسی به تعداد بالاتر از سگ‌های واجد علائم بالینی دیستمپر و در نتیجه حجم نمونه پایین می‌تواند یکی از دلایل به دست نیامدن رابطه معنی دار آماری بین ابتلا به دو ویروس باشد.

استفاده از کیت تشخیصی دیستمپر بهترین گزینه برای تشخیص ویروس در بیمارستان‌های دامپزشکی است. به طوری که ویژگی و حساسیت آن در نمونه‌های به دست آمده از ملتحمه، مشابه روش Nested PCR و برابر ۱۰۰ درصد است، زیرا ویروس در فاز حاد، به سرعت غدد اشکی و ترشحات ملتحمه را آلوده می‌کند (۲۹).

واکسیناسیون نیز در نتیجه این آزمایش خللی وارد نمی‌کند. بنابراین می‌توان به راحتی از این روش در مناطقی با کمبود امکانات تشخیصی، بهره جست (۲۸، ۱۸).

تقریباً تمام سگ‌های مبتلا به دیستمپر لنفوپنی و ضعف در سیستم ایمنی بدن را تجربه می‌کنند و در نتیجه دیگر عفونت‌ها می‌توانند به بیماری اضافه شده و آنها را بیمارتر کنند. مکانیسم سرکوب سیستم ایمنی در بیماری دیستمپر به طور کامل شناخته نشده است و احتمالاً وابسته به فاکتورهای متعددی است. ابتدا بخشی از سلول‌ها آلوده شده و سپس اختلالات ایمنی طولانی مدت، حتی پس از پاک شدن خون محیطی از این ویروس در دوره نقاهت ادامه پیدا می‌کنند (۵). بنابراین احتمالاً مکانیسم‌های تضعیف کننده سیستم ایمنی در سلول‌هایی که به طور مستقیم با عفونت ویروسی درگیر نشده‌اند، نقش داشته باشند. با وجودی که ساز و کار دقیق سرکوب ایمنی ناشی از عفونت با ویروس دیستمپر به خوبی شناسایی نشده است اما تضعیف سیستم ایمنی در اثر این ویروس مورد قبول همه دانشمندان است. علامت‌های فاز ابتدایی ابتلا به ویروس دیستمپر در سگ معمولاً مربوط به ترشحات چشم، تب، از دست دادن اشتها و آبریزش بینی می‌شود و در این زمان سایر عفونت‌های تنفسی سگ ممکن است بروز پیدا کرده و تفکیک علائم هر عفونت امکان پذیر نباشد. به همین منظور و با توجه به احتمال بروز عفونت‌های بیشتر در اثر تضعیف ایمنی منتج از

سگ، آدنووایروس و پارووایروس را در سگ‌های خانگی را گزارش کردند (۱۰). نتایج تمام مطالعات برشمرده میزان بالای عفونت توأم دیستمپر با سایر عوامل بیماری‌زای سگ را نشان می‌دهد و فرضیه تأثیر این ویروس در افزایش استعداد ابتلا به سایر عوامل پاتوژن در اثر تضعیف سیستم ایمنی حیوان را تأیید می‌کند. با این وجود انجام مطالعات مشابه بیشتر در سایر میزبان‌های ویروس می‌تواند اطلاعات راجع به این نظریه را تأیید کند.

چشم انداز

شیوع بالای ویروس دیستمپر و احتمال ابتلا به عفونت همزمان با CDV در ایران و سایر مناطق بومی، و نیز گزارشات مربوط به این بیماری از سایر میزبانان، این مسئله را یادآور می‌شود که باید عفونت‌های پراکنده و همزمان در حیات وحش، جوندگان و سایر گونه‌های مرتبط با عفونت CDV بررسی شود.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر در مجموع از ۱۰۰ نمونه اخذ شده از سگ‌های واجد علائم مشکوک به و به‌ظاهر سالم فراوانی موارد عفونت توأم ۴ مورد و تنها در نمونه‌های اخذ شده در سگ‌های واجد علائم مشکوک به دیستمپر گزارش شد. با این وجود با استفاده از بررسی‌های آماری ارتباط معنی‌داری بین ابتلا به دیستمپر و پارائنفلوانزای سگ به‌دست نیامد. به‌نظر می‌رسد انجام بررسی‌هایی از این دست با حجم نمونه بیشتر نتایج دقیق‌تری به‌دست می‌دهد.

سپاسگزاری

ندارد.

تعارض در منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارضی در منافع گزارش نکردند.

منابع مالی

ندارد.

ما نتوانستیم گزارشی از عفونت همزمان دیستمپر و بیماری دیگری را در ایران پیدا کنیم. تعدادی گزارش از عفونت CDV از برخی از شهرها وجود دارد مانند مطالعه‌ای که در آن تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری سگ در سگ‌های روستایی واکسینه‌نشده در اهواز توسط آویزه و همکاران در سال ۲۰۰۷ بررسی شد. علاوه بر این Namroudi و همکاران (۲۰۱۵) در شمال و مرکز ایران خوشه قطب شمالی و اروپایی ویروس دیستمپر را شناسایی کردند (۳،۴).

Mochizuki و همکاران در سال ۲۰۰۸ میلادی به بررسی عفونت‌های تنفسی فوقانی سگ‌های خانگی پرداختند. ویروس parainfluenza سگ (۷/۴٪) کورونایروس گروه ۱ (۴/۴٪)، آدنویروس نوع ۲ سگ (۲/۹٪)، کورونا ویروس گروه ۲ تنفسی سگ (۱/۵٪) و ویروس دیستمپر سگ (۱/۵٪) شناسایی شدند و تنها ۲ مورد عفونت مخلوط در این مطالعه گزارش گردید (۱۴).

در مطالعه انجام شده توسط Damián و همکاران در سال ۲۰۰۵ میلادی CDV در ۷۷٪ موارد، CAV در ۵۷٪ و CpiV در ۵۱٪ موارد شناسایی شد. شایع‌ترین ارتباط دوگانه بین CDV و CpiV و ۱۴٪ بود (۲۰).

در مطالعه Headley و همکاران در سال ۲۰۱۸ میلادی آلودگی‌های همزمان با ویروس دیستمپر به این صورت گزارش گردید: (۱۰۰٪) *N. caninum*، (۱۰۰٪) CPV-2، (۱۰۰٪) CAdV-1، و (۱۰۰٪) (۱۱). Aguiar و همکاران در سال ۲۰۱۲ میلادی به بررسی عفونت همزمان دیستمپر سگ و توکسوپلازما گوندی در سگ‌های واجد علائم عصبی پرداختند. ۸۰/۹٪ سگ‌ها از نظر CDV با استفاده از آزمون RT-PCR مثبت بودند و ۳۸/۱٪ از نظر آنتی‌بادی‌های ضد *T. gondii* مثبت گزارش شدند. ۴۱/۱٪ از نظر هر دو عامل مثبت بودند که نشان می‌داد عفونت توأم با هر دو پاتوژن صورت گرفته است (۳).

Headley و همکاران در سال ۲۰۱۵ میلادی در جنوب برزیل عفونت‌های همزمان ویروس دیستمپر با هرپس ویروس تیپ ۱

Referance

1. Isfahani MS, Rostami A, Bahonar A, Barin A, Memarian I. Serologic survey for canine distemper virus in free-ranging wild canids in the northeast of Iran. *Revue De Medecine Veterinaire*. 2017;168(10-12):247-51.
2. Namroudi S, Rostami A, Barin A, Ardebili KM. Antibody monitoring to canine distemper virus in unvaccinated rural dogs in the southern coastal region of Caspian sea. *Journal of Veterinary Research*. 2013;68(3):209-15.

3. Aguiar D, Amude A, Santos LGF, Ribeiro M, Ueno TEH, Megid J, et al. Canine distemper virus and *Toxoplasma gondii* co-infection in dogs with neurological signs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2012; 64(1): 221-224. [DOI:10.1590/S0102-09352012000100032]
4. Avizeh R, Shapouri MR, Akhlaghi N. Antibody titers against canine distemper virus in unvaccinated rural dogs from Ahvaz, Iran. *Pak J Biol Sci*. 2007 Nov 1;10(21):3970-2. doi: 10.3923/pjbs.2007.3970.3972. PMID: 19090267. [DOI:10.3923/pjbs.2007.3970.3972] [PMID]
5. Headley SA, Alfieri AA, Fritzen JT, Garcia JL, Weissenböck H, da Silva AP, Bodnar L, Okano W, Alfieri AF. Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2013; 25: 129-135. [DOI:10.1177/1040638712471344] [PMID]
6. Headley SA, Graça DL, Costa MM, Vargas AC. Canine distemper virus infection with secondary *Bordetella bronchiseptica* pneumonia in dogs. *Ciência Rural*. 1999 Dec;29(4):741-3. [DOI:10.1590/S0103-84781999000400030]
7. Headley SA & Saito TB. Simultaneous canine distemper encephalitis and canine parvovirus infection with distemper-associated cardiac necrosis in a pup. *Ciência Rural*, 2003; 33: 1075-1080. [DOI:10.1590/S0103-84782003000600023]
8. Headley SA, Shirota K, Baba T, Ikeda T, Sukura A. Diagnostic exercise: Tyzzer's disease, distemper, and coccidiosis in a pup. *Veterinary Pathology*, 46, 2009; 151-154. [DOI:10.1354/vp.46-1-151] [PMID]
9. Schulz BS, Kurz S, Weber K, Balzer HJ, Hartmann K. Detection of respiratory viruses and *Bordetella bronchiseptica* in dogs with acute respiratory tract infections. *Veterinary Journal*, 2014; 201: 365-369. [DOI:10.1016/j.tvjl.2014.04.019] [PMID] [PMCID]
10. Headley SA, Bodnar L, Silva AP, Alfieri AF, Gomes LA, Okano W, Alfieri AA. Canine Distemper Virus with Concomitant Infections Due to Canine Herpesvirus-1, Canine Parvovirus, and Canine Adenovirus in Puppies from Southern Brazil. *Jacobs Journal of Microbiology and Pathology*, 2015; 1(2): 015. [DOI:10.1016/j.jcpa.2013.11.106] [PMCID]
11. Headley SA, Oliveira TES, Pereira AHT, Moreira JR, Michelazzo MMZ, Pires BG, et al. Canine morbillivirus (canine distemper virus) with concomitant canine adenovirus, canine parvovirus-2, and *Neospora caninum* in puppies: a retrospective immunohistochemical study. *Scientific Reports*, 2018; 8(1):13477. [DOI:10.1038/s41598-018-31540-0] [PMID] [PMCID]
12. Teixeira Ribeiro AI, da Cruz Burema M, de Souza Borges AP, de Melo Bruno VC, Brandini Néspoli PE, Colodel EM, Furlan Gouvêa FH, Dutra V, Nakazato L, Ribeiro MG, de Aguiar DM. Pyogranulomatous pleuropneumonia caused by *Nocardia asiatica* in a dog coinfecting with canine morbillivirus (canine distemper virus). *Veterinary medicine and science*. 2020 Feb;6(1):25-31.
13. Lavan R & Knesl O. Prevalence of canine infectious respiratory pathogens in asymptomatic dogs presented at US animal shelters. *Journal of Small Animal Practice*, 2015; 56: 572-576. [DOI:10.1111/jsap.12389] [PMID] [PMCID]
14. Mochizuki M, Yachi A, Ohshima T, Ohuchi A, Ishida T. Etiologic study of upper respiratory infections of household dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2008; 70(6): 563-569. [DOI:10.1292/jvms.70.563] [PMID]
15. Vandeveld M & Zurbriggen A. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathologica*, 2005; 109(1): 56-68. [DOI:10.1007/s00401-004-0958-4] [PMID]
16. Siering O, Sawatsky B, Pfaller CK. C Protein is Essential for Canine Distemper Virus Virulence and Pathogenicity in Ferrets. *Journal of Virology*. 2020. [DOI:10.1128/JVI.01840-20] [PMID]
17. Buragohain M, Goswami S, Kalita D. Clinicopathological findings of canine distemper virus infection in dogs. *J Entomol Zool Studies*. 2017;5:1817-9.
18. Headley S, Pretto-Giordano L, Lima S, Suhett W, Pereira A, Freitas L, et al. Pneumonia due to *Talaromyces marneffe* in a dog from Southern Brazil with concomitant canine distemper virus infection. *Journal of comparative pathology*. 2017;157(1):61-6. [DOI:10.1016/j.jcpa.2017.06.001] [PMID]
19. Petrova VN, Sawatsky B, Han AX, Laksono BM, Walz L, Parker E, et al. Incomplete genetic reconstitution of B cell pools contributes to prolonged immunosuppression after measles. *Science immunology*. 2019;4(41). [DOI:10.1126/sciimmunol.aay6125] [PMID]
20. Damián M, Morales E, Salas G, Trigo FJ. Immunohistochemical detection of antigens of distemper, adenovirus and parainfluenza viruses in domestic dogs with pneumonia. *Journal of Comparative Pathology*, 2005;133(4): 289-293. [DOI:10.1016/j.jcpa.2005.05.005] [PMID]
21. Feng H, Dong J, Chen Y, Shi L, Shen B, Sun X, et al. Nanoparticles of Conformation-stabilized Canine Distemper Virus Hemagglutinin are Highly Immunogenic and Induce Robust Immunity. 2020. [DOI:10.21203/rs.3.rs-74893/v1]

22. Wünschmann A, Kremmer E, Baumgärtner W. Phenotypical characterization of T and B cell areas in lymphoid tissues of dogs with spontaneous distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2000; 73(1): 83-98. [[DOI:10.1016/S0165-2427\(99\)00156-7](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(99)00156-7)]
23. Kumagai K, Yamaguchi R, Uchida K, Tateyama S. Lymphoid apoptosis in acute canine distemper. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2004; 66(2): 175-181. [[DOI:10.1292/jvms.66.175](https://doi.org/10.1292/jvms.66.175)] [[PMID](#)]
24. Moro L, de Sousa Martins A, de Moraes Alves C, de Araújo Santos FG, dos Santos Nunes JE, Carneiro RA, et al. Apoptosis in canine distemper. *Archives of Virology*, 2003;148(1): 153-164. [[DOI:10.1007/s00705-002-0903-6](https://doi.org/10.1007/s00705-002-0903-6)] [[PMID](#)]
25. Tipold A, Vandeveld M, Wittek R, Moore P, Summerfield A, Zurbriggen A. Partial protection and intrathecal invasion of CD8+ T cells in acute canine distemper virus infection. *Veterinary Microbiology*, 2001; 83(3): 189-203. [[DOI:10.1016/S0378-1135\(01\)00422-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00422-9)]
26. Moro L, Martins AS, Alves CM, Santos FG, Del Puerto HL, Vasconcelos AC. Apoptosis in the cerebellum of dogs with distemper. *Journal of Veterinary Medicine*, 2003; 50(5): 221-225. [[DOI:10.1046/j.1439-0450.2003.00657.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00657.x)] [[PMID](#)]
27. Schobesberger M, Summerfield A, Doherr MG, Zurbriggen A, Griot C. Canine distemper virus-induced depletion of uninfected lymphocytes is associated with apoptosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2005; 104(1-2): 33-44. [[DOI:10.1016/j.vetimm.2004.09.032](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.09.032)] [[PMID](#)] [[PMCID](#)]
28. Mosallanejad B, Avizeh R, Seyfiabad Shapouri MR, et al. Antigenic detection of Canine Parainfluenza virus in urban dogs with respiratory disease in Ahvaz area, southwestern Iran. *Archives of Razi Institute*, 2009; 2: 115-122.
29. 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*. 2008;147(2):244-9. [[DOI:10.1016/j.jviromet.2007.09.006](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.09.006)] [[PMID](#)] [[PMCID](#)].