**T.C.**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VİROLOJİ (VETERİNER)**

**YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**CANİNE VE FELİNE PARVOVİRUSLARININ**

**VP2 GEN BÖLGESİ BAZLI MOLEKÜLER**

**KARAKTERİZASYONU VE FİLOGENETİK ANALİZİ**

**SELİN NUR KIZILKOCA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. MEHMET TOLGA TAN**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-20025 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN–20****21**

# KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Anabilim Dalı (Veteriner) Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Selin Nur KIZILKOCA tarafından hazırlanan “Canine ve Feline Parvoviruslarının VP2 Gen Bölgesi Bazlı Moleküler Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/08/2021

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Üye (T.D.) | : Prof. Dr. M. Tolga TAN | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi | ……..… |
| Üye | : Doç. Dr. Nural EROL | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi | ……..… |
| Üye | : Dr. Öğr. Üyesi Nüvit COŞKUN | Kafkas Üniversitesi | ……..… |

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ……………..……..… tarih ve ………………………… sayılı oturumunda alınan ……………………nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü Vekili

# TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve öğrenimim süresince ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen, akademik ve mesleki hayatım boyunca ilerlememde yol gösteren, tecrübelerini ve yönlendirmelerini çok dikkate aldığım saygı değer hocam, danışmanım Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M. Tolga TAN’a çok teşekkür ederim. Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nural EROL’a mesleğimi edinmemdeki emekleri, yüksek lisans eğitimimdeki katkıları, bilgisini esirgememesi, hoşgörüsü, varlığı ve destekleri için teşekkürü bir borç bilirim. Viroloji yüksek lisans programı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Sevin KIRDAR’a yapıcı yaklaşımından ötürü teşekkür ederim. Yoğun mesaisi arasında vakit bulup tez jürimde yer alan sayın Dr. Öğr. Üyesi Nüvit COŞKUN’a teşekkür ederim. Gerek yüksek lisans eğitimimde gerekse mesleki olarak yetişmemde bana çok büyük katkıları olan, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmamın ortaya çıkmasında emeği çok büyük olan, kendisini sürekli geliştirmesini ve çok çalışmasını örnek aldığım, her daim lisansüstü eğitimimde bilgisini esirgemeyip ilerlememde etkili olan, çok sevdiğim ve saygı duyduğum Dr. Araş. Gör. B. Taylan KOÇ’a üzerimdeki emekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımızın ilerlemesine yardımcı olan, bilgilerini esirgemediği ve sağladığı numune desteği için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı Dr. Araş. Gör. Ceren Dinler Ay’a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibaren desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım ve meslektaşlarım Vet. Hekim Yağmur YILDIRIM, Vet. Hekim Anna Banu NEUNER, Uzm. Vet. Hekim Rabia KAYA, Uzm. Vet. Hekim Aysu UĞURSAL’a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için babam İlkay KIZILKOCA’ya, annem Nefise KIZILKOCA’ya ve kardeşim Melis Su KIZILKOCA’ya ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

[KABUL VE ONAY i](#_Toc79872287)

[TEŞEKKÜR ii](#_Toc79872288)

[SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v](#_Toc79872289)

[ŞEKİLLER DİZİNİ vii](#_Toc79872290)

[RESİMLER DİZİNİ viii](#_Toc79872291)

[TABLOLAR DİZİNİ ix](#_Toc79872292)

[ÖZET x](#_Toc79872293)

[ABSTRACT xii](#_Toc79872294)

[1. GİRİŞ 1](#_Toc79872295)

[2. GENEL BİLGİLER 3](#_Toc79872296)

[2.1. Canine Parvovirus (CPV) 4](#_Toc79872297)

[2.1.1. Etiyoloji 4](#_Toc79872298)

[2.1.2. Epidemiyoloji 7](#_Toc79872299)

[2.1.3. Patogenez/Klinik 10](#_Toc79872300)

[2.1.4. Tanı 12](#_Toc79872301)

[2.1.5. Destek Tedavi 12](#_Toc79872302)

[2.1.6. Korunma 13](#_Toc79872303)

[2.2. Feline Panleukopenia Virus (FPV) 14](#_Toc79872304)

[2.2.1. Etiyoloji 14](#_Toc79872305)

[2.2.2. Epidemiyoloji 15](#_Toc79872306)

[2.2.3. Patogenez/ Klinik 17](#_Toc79872307)

[2.2.4. Tanı 18](#_Toc79872308)

[2.2.5. Destekleyici Tedavi 18](#_Toc79872309)

[2.2.6. Korunma 18](#_Toc79872310)

[3. GEREÇ VE YÖNTEM 20](#_Toc79872311)

[3.1. Materyal 20](#_Toc79872312)

[3.1.1. Cihazlar 20](#_Toc79872313)

[3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler 21](#_Toc79872314)

[3.2. Yöntem 22](#_Toc79872315)

[3.2.1. Numunelerin hazırlanması 22](#_Toc79872316)

[3.2.2. Moleküler Virolojik Karakterizasyon 22](#_Toc79872317)

[3.2.2.1. Viral genom izolasyonu 22](#_Toc79872318)

[3.2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) 25](#_Toc79872319)

[3.2.2.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel ile Elektroforezi 26](#_Toc79872320)

[3.2.2.4. Sekans Analizi 27](#_Toc79872321)

[3.2.2.5. Moleküler *in silico* analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması 27](#_Toc79872322)

[4. BULGULAR 30](#_Toc79872323)

[5. TARTIŞMA 37](#_Toc79872325)

[6. SONUÇ VE ÖNERİLER 47](#_Toc79872326)

[KAYNAKLAR 49](#_Toc79872327)

[EKLER 60](#_Toc79872328)

[Ek 1. Çalışmada kullanılmak için örnek toplanan parvovirus şüpheli kedi ve köpeklerin, yaş, cinsiyet, ırk, aşı durumu ve semptom bilgileri. 60](#_Toc79872329)

[Ek 2. AYDIN ADÜ- HAYDEK 61](#_Toc79872330)

[Ek 3. Canine ve Feline Parvovirusların VP2 gen bölgesi bazlı filogenetik analizinde kullanılan GenBank veri tabanından alınan izolatların; ülke, yıl, genotip ve yayın bilgileri. 62](#_Toc79872331)

[Ek 4. VP2 gen bölgesi bazlı filogenetik analizde kullanılan GenBank veritabanından alınan izolatlar ile tez çalışmasında elde edilen sekansların amino asit düzeyinde karşılaştırması. 64](#_Toc79872332)

[BİLİMSEL ETİK BEYANI 67](#_Toc79872333)

[ÖZGEÇMİŞ 68](#_Toc79872334)

# SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| **A** | :Alanin |
| **Aa.** | :Amino asit |
| **Ala** | :Alanin |
| **Arg** | :Arjinin |
| **Asn** | :Asparagine |
| **Asp** | :Aspartik asit |
| **BLAST** | :Basic Local Alignment Search Tool |
| **Bp** | :Base Pair, Baz çifti |
| **C** | :Cysteine |
| **CPV** | :Canine Parvovirus |
| **Cys** | :Cysteine |
| **D** | :Aspartik asit |
| **DNA** | :Deoksiribonükleik asit |
| **Dntp** | :Deoksi Nükleotit Tri Fosfat |
| **E** | :Glutamik asit |
| **ELISA** | :Enzyme Linked Immunosorbent Assay |
| **F** | :Fenilalanin |
| **FPLV** | :Feline Panleukopenia Virus |
| **G** | :Glisin |
| **Glu** | :Glutamik asit |
| **Gln** | :Glutamine |
| **Gly** | :Glisin |
| **H** | :Histidine |
| **His** | :Histidine |
| **F** | :Phenylalanine |
| **I** | :Izolösin |
| **Ile** | :Izolösin |
| **K** | :Lizin |
| **Kb** | :Kilobaz |
| **L** | :Lösin |
| **Leu** | :Lösin |
| **Lys** | :Lizin |
| **M** | :Metionin |
| **MCL** | :Maksimum Bileşik Olabilirlik |
| **Met** | :Metionin |
| **MEV** | :Mink enteritis virus |
| **ML** | :Maksimum-likelihood |
| **Ml** | :Mililitre |
| **N** | :Asparjin |
| **NJ** | :Neighboor-Joining |
| **ORF** | :Open Reading Frame (Açık Okuma Çerçevesi) |
| **P** | :Proline |
| **PBS** | :Phosphat Buffer Saline |
| **PCR** | :Polimerase Chain Reaction |
| **pmol** | :Pikomol |
| **Pro** | :Proline |
| **Q** | :Glutamine |
| **R** | :Arjinin |
| **RNA** | :Ribonükleik Asit |
| **RT-PCR** | :Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction |
| **S** | :Serin |
| **Ser** | :Serin |
| **T** | :Treonin |
| **Taq** | :Thermus Aquaticus |
| **Trp** | :Tryptophan |
| **TfR** | :Transferrin reseptörü |
| **Thr** | :Treonin |
| **Tyr** | :Tirozin |
| **W** | :Tryptophan |
| **V** | :Valin |
| **Val** | :Valin |
| **Y** | :Tirozin |
| **µl** | :Mikrolitre |

# ŞEKİLLER DİZİNİ

[**Şekil 1.** Canine Parvovirus üç boyutlu görüntüsü. 4](#_Toc78487133)

[**Şekil 2.** Parvovirus Elektron Mikrografisi Görüntüsü. 6](#_Toc78487134)

[**Şekil 3.** CPV2-a, CPV-2b, CPV-2c’ nin dünya çapında dağılımı 8](#_Toc78487135)

[**Şekil 4.** FPV’nin mutasyona uğrayarak konakçı değiştirmesi sonucunda CPV oluşması. 9](#_Toc78487136)

[**Şekil 5.** CPV-2c varyantının dünya genelinde dağılımı 9](#_Toc78487137)

[**Şekil 6.** Parvovirus enfeksiyonunda kanlı ishal bulgusu. 11](#_Toc78487138)

[**Şekil 7.** Feline Panleukopenia virus renklendirilmiş elektron mikroskop görüntüsü 15](#_Toc78487139)

[**Şekil 8.** Canine Parvovirus evrimi 16](#_Toc78487140)

[**Şekil 9.** Cpv’nin ortaya çıkışı 17](#_Toc78487141)

[**Şekil 10.** Neighboor-Joining metot kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. 32](#_Toc78487142)

[**Şekil 11.** Maksimum likelihood yöntemiyle oluşturulan moleküler filogenetik ağaç. 33](#_Toc78487143)

[**Şekil 12.** RDP4 programında komple VP2 gen hizalamasındaki rekombinasyon araştırılması. 34](#_Toc78487144)

[**Şekil 13.** RDP4 programında referans ve tez çalışmasına ait örneklerin hizalama dosyası üzerinde yapılan komple VP2 genine ait nükleotit farklılıklarını gösteren plot analizi. 34](#_Toc78487145)

# RESİMLER DİZİNİ

[**Resim 1.** Elektroforez uygulaması. 27](#_Toc77203819)

[**Resim 2.** PCR ürünlerinin elektroforez sonrası görüntüleme cihazındaki görüntüsü. 30](#_Toc77203820)

# TABLOLAR DİZİNİ

[**Tablo 1.** *Parvoviridae* ailesinin sınıflandırılması 5](#_Toc76581670)

[**Tablo 2.** Ticari Ekstraksiyon Kiti içeriği. 23](#_Toc76581671)

[**Tablo 3.** Parvovirus VP2 gen bölgesini hedefleyen primer dizinleri. 25](#_Toc76581672)

[**Tablo 4.** CPV tespiti amacıyla PCR analizi için kullanılan karışımın komponent miktarları. 25](#_Toc76581673)

[**Tablo 5.** CPV’ye ait PCR döngüsü aşamaları, uygulanan ısı dereceleri ve süreleri. 26](#_Toc76581674)

[**Tablo 6.** Filogenetik ağaçta geno grupları temsil eden referans ve bu çalışamada elde edilen sekansların benzerlik ve özdeşlik tablosu (identity/similarity matrix) 35](#_Toc76581675)

# 

# ÖZET

**CANİNE VE FELİNE PARVOVİRUSLARININ VP2 GEN BÖLGESİ BAZLI MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE FİLOGENETİK ANALİZİ**

**KIZILKOCA, S.N. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Viroloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.**

**Amaç:** Canine ve feline parvoviruslar köpek ve kedilerde sıklıkla enfeksiyon oluşturan, genellikle gastroenteritle seyreden ve küçük yaşlarda ölüme yol açabilen viruslardır. Tek iplikçikli DNA’ya sahip olan feline parvovirus’un VP2 gen bölgesindeki mutasyonlara bağlı konakçı bariyeri kırılarak köpeklerde CPV-2 ortaya çıktığı varsayılmaktadır. Sürekli gerçekleşen mutasyonların olması, dönüşüm içinde olan parvovirusların araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada eş zamanlı olarak feline ve canine parvovirusların moleküler ve filogenetik açıdan araştırılması hedeflenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Toplamda 25 kedi ve 25 köpeğe ait parvovirus şüpheli 50 numune toplanmıştır. Moleküler olarak araştırılması için PCR testi uygulanarak, pozitif numunelerin VP2 gen bölgesinin tamamı (1755 bp) sekans analizi yapılmştır. Data programları aracılığıyla sekans verileri değerlendirilmiştir. Genotiplendirmeleri ortaya konulup, aminoasit değişiklikleri gözlenerek filogenetik açıdan analizi yapılmıştır. Filogenetik analiz iki farklı metot (ML, NJ) kullanılarak yapılmış ve benzer sonuçların bulunması doğruluğu desteklemiştir. Ayrıca amino asit ifadelerine bakılan sekanslarda konakçı değişiminde rol oynayan kritik noktalar incelenmiştir.

**Bulgular:** 50 adet numunede 4’ü (%16) köpeğe ait; 3’ü (%12) kediye ait olmak üzere toplam 7 (%14) tanesinde parvovirus pozitif tespit edilmiştir. Filogenetik ağaçta CPV 2a, 2b ve 2c olarak, FPV ise G1 ve G2 olarak alt gruplara ayrılmıştır. FPV sekansları G1 genogrubunda yer alırken, CPV sekansları 2a ve 2b genogrubunda bulunmuştur. VP2’nin 426. amino asit noktası halen en kritik konakçı belirleme ve genotiplendirme faktörü olarak saptanmıştır. Ayrıca VP2 üzerindeki 5, 297, 324 ve 370. amino asitlerde değişiklikler dikkat çekmektedir.

**Sonuç:** Filogenetik analiz sonucunda dallanmanın kediler için FPV, köpeklerde CPV-2 şeklinde türe özgü olduğu görülmüştür. Feline ve canine parvovirusların eş zamanlı örneklenerek aynı çalışmada moleküler ve filogenetik değerlendirmenin yapılması sağlanmıştır. Aydın ilinden ilk defa feline ve canine parvovirus sekansına ait veriler Genbank’a tanımlatılmıştır. CPV ve FPV üzerine yapılan moleküler ve filogenetik araştırmalar gelecekte olası konakçı değişikliklerinin saptanması, kullanılan aşıların etkinliğinin gözlenmesi açısından önemli veriler sağlayacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Genotiplendirme, Moleküler Karakterizasyon, Parvovirus, PCR, Filogeni, Mutasyon

# ABSTRACT

**VP2 GENE REGION BASED MOLECULAR CHARACTERIZATION AND PHYLOGENETIC ANALYSIS OF CANINE AND FELINE PARVOVIRUSES**

**KIZILKOCA, S.N. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Virology (Veterinary) Program, Master Thesis, Aydın, 2021.**

**Objective:** Canine and feline parvoviruses are viruses that frequently infect dogs and cats, usually progress with gastroenteritis and can cause death in young animals. It is assumed that CPV-2 emerges in dogs by breaking the host barrier due to mutations in the VP2 gene region of feline parvovirus, which has single-stranded DNA. The existence of mutations that continue to occur constantly necessitated the investigation of parvoviruses in transformation. In this study, we aimed to simultaneously investigate feline and canine parvoviruses in terms of molecular and phylogenetic.

**Material and Methods:** In total, 50 samples of suspected parvovirus belonging to 25 cats and 25 dogs were collected. Almost the entire (1755 bp) sequence analysis of the VP2 gene region of the positive samples was performed by PCR for molecular investigation. Sequence data were evaluated through data programs. Genotyping was revealed, amino acid changes were observed and phylogenetic analysis was made. Phylogenetic analysis was performed using two different methods (ML, NJ) and finding similar results supported the accuracy.

**Results:** Parvovirus positive was obtained in 7 (14%) of them, 4 of them (16%) belonged to dogs and 3 (12%) belonged to cats in 50 samples. In the tree topography, CPV2a is subdivided as 2b and 2c, and FPV as G1 and G2. While the FPV sequences were in the G1 geno group, the CPV sequences were found in the 2a and 2b genogroups. The 426th amino acid residue of VP2 is still the most critical factor for host identification and genotyping. In addition, changes in amino acids 5, 297, 324 and 370 on VP2 are noteworthy.

**Conclusion:** As a result of phylogenetic analysis, it was observed that branching was species-specific as FPV for cats and CPV-2 for dogs. By simultaneous sampling of feline and canine parvoviruses, molecular and phylogenetic evaluation was provided for the first time in the same study. For the first time in Aydın province, the data of feline and canine parvovirus sequences were defined by Genbank. Molecular and phylogenetic studies on CPV and FPV will provide us with feedback in terms of detecting possible host changes in the future and monitoring the effectiveness of the vaccines used.

**Keywords:** Genotyping, Molecular Characterization, Parvovirus, PCR, Phylogeny, Mutation

# 1. GİRİŞ

Salgın hastalıklar, ekolojideki tüm canlılar arasında hiç durmaksızın sürekli sirküle olmaktadır. Bu sirkülasyon birçok etken tarafından tetiklenebilmektedir. Günümüzde salgın sirkülasyonuna en çok neden olan biyolojik ajanlar ise viruslardır. Viruslar ekolojide halen sınırları tam olarak çizilememiş büyük bir biyolojik krallığa sahiptir. Özellikle bir virus tipinin bile farklı birçok canlı türünü enfekte edebilmek için genetik adaptasyon yapabilmesi söz konusu sınırları ve tanımları yapmayı imkansız kılmaktadır. Yakın zamanda buna en iyi örnek COVID-19 etkeni olan SARS-CoV2 örnek olarak verilebilir. Ancak ekolojide SARS-CoV2’den daha sık rastlanan ve çevre kontaminasyonuyla farklı canlı türlerine aktarılabilen birçok virus mevcuttur. Bu viruslar genellikle gastrointestinal sistemi orijin alan viruslardır ve fekal-oral yolla çok hızlı bir şekilde enfeksiyon meydana getirmektedirler. Hem insanlarda hem de hayvanlarda aynı tip olan bu viruslar benzer klinik bulguları da meydana getirebilmektedir (Örn; adenovirus, enterovirus, rotavirus, coronavirus, parvovirus vb.). Kedi ve köpekler pet hayvanları içerisinde en çok yetiştirilen türler olmakla beraber, aralarında sürekli etkileşimi en yoğun olan canlılardır. Sokak, klinik ya da evlerde aynı ortamları paylaşmaları, fekal-oral yolla bulaşan kendi türüne özgü ait viruslar ile çapraz etkilenme potansiyellerini de arttırmaktadır. Viroloji tarihi açısından bakıldığında buna en iyi örnek parvoviruslardır.

Canine ve feline parvoviruslar genomda meydana gelen nokta mutasyonlar sonucu konakçı değişimi gösteren ve buna bağlı olarak devamlı farklı klinik bulgulara neden olabilen önemli viruslardır. Dünyada ve ülkemizde kedi ve köpekler arasında yaygın görülen virus hastalıklarından biri olması ve aşısının bulunmasına karşın halen yavru kedi köpeklerde ölüm-hastalık nedenlerinin başında gelmesi parvovirusun takibini zorunlu kılmaktadır. Genetik ve antijenik yapıları her ne kadar birbirine benzese de birkaç noktasal mutasyonla tamamen farklı bir virus gibi davranması onun moleküler açıdan değerlendirilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

Bu nedenle; Aydın ilimizde ilk defa parvovirusun kedi ve köpekler arasında eş zamanlı olarak moleküler yönden araştırılması tez çalışmasının ana amacı olmuştur. Bu tez çalışması ile elde edilen moleküler dinamik sonuçları güncel veri sağlamakla beraber parvovirusun bulaşma ve patoklinik durum değerlendirilmesinde yeni bilgiler verebilmesi hedeflenmiştir.

Bu çalışmada tür bariyerinin kırılmasına sebep olan bu VP2 gen bölgesi incelenerek elde edilen bulguların Genbanktaki verilerle genetik karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada Aydın ilinde bulunan kedi ve köpek parvoviruslarının diğer Türkiye orijinli sekanslar ve aşı suşları ile genetik olarak karşılaştırılması, bölgede bulunan suşların aşı suşları ile yakınlıkları ve muhtemel mutasyonları hakkında bilgi edinilmesi hedeflenmiştir. Elde edilen verilerin söz konusu enfesiyonlara karşı aşılama, koruma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi üzerine daha sonra yapılacak olan çalışmalar için hazırlayıcı bilgi niteliği taşıyacağı düşünülmektedir.

# 2. GENEL BİLGİLER

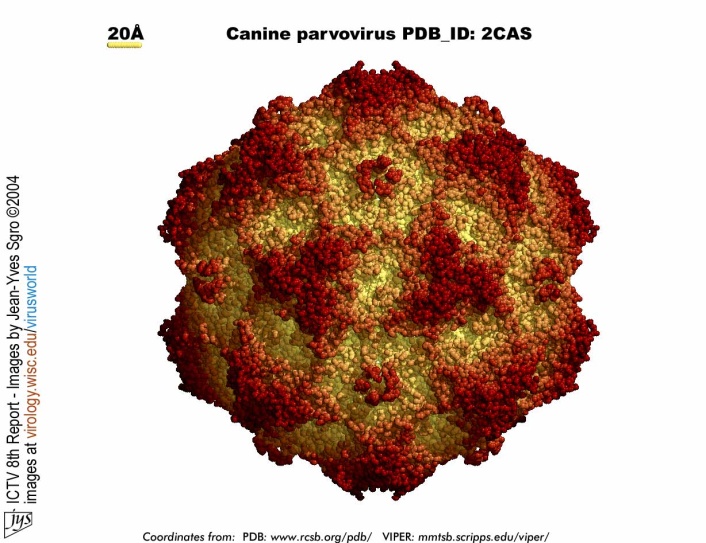
Canine (CPV) ve feline parvoviruslar (feline panleukopenia virus-FPV) köpek ile kedilerde ciddi lökopeni ile seyreden ve intestinal hastalıklara sebep olan patojenleridir. *Protoparvovirus 1*, canine parvovirus tip 2 (CPV-2) ve feline panleukopenia virusunu (FPV)  içerir. *Protoparvovirus 1* küçük, zarfsızdır ve linear tek sarmallı DNA virusları (ssDNA) kapsar. Genomları, iki yapısal olmayan (NS1 ve NS2) ve iki yapısal (VP1 ve VP2) proteini kodlayan DNA molekülünden oluşur. İki büyük açık okuma çerçevesi (open reading frame; ORF'ler) vardır. Terminal uçları dahil olmak üzere genomun tamamı yaklaşık olarak 5200 nükleotid içerir (Reed ve diğerleri, 1988). Köpekler sadece CPV-2 ve alt varyantlarına duyarlıdır. Kediler ise orijinal CPV-2 tipi hariç olmak üzere hem FPV hem de CPV-2 nin diğer varyantlarına duyarlıdır (Decaro ve diğerleri, 2010). Kedilerde parvovirus enfeksiyonlarının nedeni feline panleukopenia virusudur (FPV). Köpeklerde şiddetli gastroenterit, kanlı ishallerin kaynağı olan, oldukça bulaşıcı ve ölümcül seyreden enfeksiyonların nedeni canine parvovirus (CPV) dur (Geetha, 2015). Yüksek oranlarda mortalite ve morbiditeye sahiptir. Yavrularda mortalite oranı daha yüksektir. Yaşlı köpeklerde, yavrulara oranla kuvvetli bağışıklık ve aşılamalara bağlı olarak hiçbir klinik belirti göstermeden asemptomatik şekilde hastalık gözlenebilmektedir. Semptom göstermeyen bu vakalar fark edilemediğinden dolayı bulaşmada aktif rol oynar (Truyen, 2006). Dışkıda çok uzun süre kalabilen CPV aynı ortamda bulunan diğer köpeklere virusun yayılmasına sebep olmaktadır. Enfeksiyonun kontrol altına alınmasında virusun bulaşıcılık ve dayanıklılık gücü göz önüne alınarak gerekli tedbirler alınmalı ve sağlıklı köpeklerle aynı ortamda bulundurulmamalıdır (Truyen ve diğerleri, 2009).

Bunun yanı sıra FPV virusundan CPV oluşumunda genetik rekombinasyonun etkili olduğu konusunda araştırmalar ortaya konulmuştur (Parrish, 1999; Truyen, 2006; Geetha, 2015). CPV kaynaklı NS1 geninden ve FPV kaynaklı VP1 geninden genomunun oluştuğu ve farklı FPV alt türleri arasındaki rekombinasyonun ilk belirtisi olduğu belirlenmiştir (Ohshima ve diğerleri, 2009). Bu çalışmada eş zamanlı olarak kedi ve köpek numunelerinde parvovirus varlığının moleküler tespiti PCR polimeraz zincir reaksiyonu aracılığıyla yapılmıştır.

Tür geçişinin nedeni olan mutasyonların birikim noktası olarak bilinen VP2 gen bölgesinin moleküler karakterizasyonu hedef alınmıştır (Tu ve diğerleri, 2015). Bölgemizdeki CPV türleri hala sınırlıdır. Bu yüzden daha fazla seroprevalans verisi ve VP2 geninin sekanslanması, ile mutasyonların tespiti, olası yeni ortaya çıkan CPV suşlarının tanımlanması için büyük oranda yardımcı olabilir (Singh ve diğerleri, 2021). Bu yüzden ülkemizde ve farklı bölgelerde üstünlük sağlayan CPV antijenik tiplerinin belirlenmesi gerekmektedir.

## 2.1. Canine Parvovirus (CPV)

### 2.1.1. Etiyoloji

****

Şekil 1. Canine Parvovirus üç boyutlu görüntüsü (Jean YvesSgro, 2004).

Köpeklerde Canine parvovirus 1 ve 2 olmak üzere iki farklı parvovirus türü bulunmaktadır. Canine parvovirus 1 etkeni, (canine minutevirus yeni adıyla Carnivore Bocaparvovirus 1) *Parvoviridae* ailesinin *Parvovirinae* alt ailesi içersinde bulunan *Bocaparvovirus* cinsinde sınıflandırılır (Şekil 1). Canine parvovirus 2 olarak bilinen etken ise köpeklerde daha ciddi hastalığa neden olmaktadır. Canine parvovirus 2, 2013 yılından sonra, *Parvoviridae* ailesi (Tablo 1), *Parvovirinae* alt familyası, *Protoparvovirus* genusu içerisinde sınıflandırılmaya alınmıştır (Penzes ve diğerleri, 2020; Uluslararası Virus Taksonomisi Komitesi (ICTV10), 2018).

*Parvoviridae* ailesi içerisinde bulunan viruslar, tek iplikçikli DNA (ssDNA) içeren, 18-26 nm büyüklüğünde zarfsız bir viruslardır. 'Parvo' Latince küçük anlamına gelmektedir (Şekil 2). Virus zarsızdır fakat buna rağmen hemaglutinasyon özelliği gösterir. Zarsız bir etken olduğu için yağ eriticilerine dirençlidir (Burgu ve Akça, 2007).

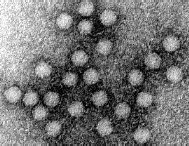
Tablo 1.*Parvoviridae* ailesinin sınıflandırılması (ICTV, 2021).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **AİLE** | ***PARVOVİRİDAE*** | | |
| **ALT AİLE** | ***PARVOVİRİNAE*** | ***DENSOVİRİNAE*** | ***HAMAPARVOVİRİNAE*** |
| **GENUS**  **(CİNS)** | ***Protoparvovirus*** | *Brevidensovirus* | *Brevihamaparvovirus* |
| *Amdoparvovirus* | *Blattambidensovirus* | *Chaphamaparvovirus* |
| *Artiparvovirus* | *Diciambidensovirus* | *Hepanhamaparvovirus* |
| *Aveparvovirus* | *Hemiambidensovirus* | *İhtamaparvovirus* |
| *Bocaparvovirus* | *İteradensovirus* | *Penstilhamaparvovirus* |
| *Copiparvovirus* | *Miniambidensovirus* |  |
| *Dependoparvovirus* | *Muskodensovirus* |  |
| *Eritroparvovirus* | *Pefuambidensovirus* |  |
| *Loriparvovirus* | *Protoambidensovirus* |  |
| *Tetraparvovirus* | *Scindoambidensovirus* |  |
|  | *Tetuambidensovirus* |  |

CPV-2, köpeklerde oldukça bulaşıcı ve ölümcül bir hastalığa neden olur. Dış ortamlara son derece dayanıklıdırlar, genellikle aylarca veya yıllarca çevrede bulaşıcı kalırlar. CPV-2 genomu 5.2 kb uzunluğunda, segmentsiz, iki ORF (açık okuma çerçevesi) içeren, negatif polariteli, tek sarmallı DNA genomuna sahiptir. İlk ORF, yapısal olmayan iki proteini (NS1 ve NS2) kodlar. İkinci ORF iki yapısal proteini kodlar. Bunlar VP1 ve VP2 proteinleridir. VP1 ve VP2 kapsid proteinlerine ek olarak bir bölünme proteini olan VP3, birkaç parvovirus türünde mevcuttur. VP3, N-terminalinden yaklaşık 25 amino asitte VP2'nin bölünmesi ile oluşmuştur. Bu VP3 proteininin üstlendiği rol hakkındaki çalışmalar sınırlıdır ve araştırılmaktadır (Tu ve diğerleri, 2015). ORF’lerden biri transkripsiyon ve DNA replikasyonu için ihtiyaç olan viral enzimleri kodlarken diğeri ise kapsid proteinlerini kodlamaktan sorumludur ([Zhou](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Zhou%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28362831) ve diğerleri, 2017). Repliklasyonu nükleus içerisinde gerçekleştiği için çekirdekte inklüzyon cisimcikleri bulunabilir. Virus hücrenin nukleusunda çoğalmak için hücre DNA sının G2 ve G3 fazlarına gereksinim duyar. Viral replikasyon konakçı hücrenin mitoz bölünmesinin S fazının sonunda ya da G2 fazının başında olur ([Zhou](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Zhou%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28362831) ve diğerleri, 2017).

Fötus veya yeni doğanlarda hücre bölünmeleri esnasında enfeksiyon çok yaygın gözlenir. Buna bağlı olarak fötusta miyokart bozuklukları gözlenir ve kedilerde cerebellum yıkımlanır ([Pollock ve Postorino, 1994](http://www.abcd-vets.org/Guidelines/Pages/en/1201/Feline_panleukopenia/References.aspx)). Yetişkinlerde ise virus replikasyonu, hücre bölünmesinin olduğu doku ve organlarda olmaktadır (İ.Ü ders notları, 2014).

Canine protoparvovirus 1 (CPV-2), kapsid proteini VP2' deki gerçekleşen mutasyonlar aracılığıyla hızlı bir evrim geçirmiştir. Bu evrim sonucunda farklı immünolojik özelliklere sahip varyantlar ortaya çıkmıştır (de Oliveira ve diğerleri, 2019). CPV-2 tipleri ilk olarak 1980’li yıllarda CPV-2a ve CPV-2b olmak üzere iki antijenik varyant şeklinde belirtilmiştir (Decaro ve Buonavoglia, 2012). CPV-2a ilk olarak tanımlanan ve günümüzde hala görülebilen antijenik varyanttır. CPV-2b ise 1984 yılında ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri’nde bildirilmiştir ve daha sonra hemen hemen tüm dünyada tespit edilmiştir (Parrish, 1999). CPV-2c İtalya’da ilk kez 2000’li yıllarda bildirilmiş, Avrupa, Güney Amerika, Asya’da daha sonra ortaya konmuştur (Decaro ve Buonavoglia, 2012). CPV-2’nin antijenik varyantlarının sınıflandırılması VP2 kapsid proteininde bulunan 426. aminoasitteki; asparagine (Asn) CPV-2a için, CPV-2b için aspartik asit (Asp), CPV-2c için glutamik asite (Glu) göre yapılmaktadır (Decaro ve Buonavoglia, 2012). CPV-2a ve CPV-2b nin yeni antijenik varyantları,VP2 protein bölgesinde 297. aminoasitte (Ser297Ala) meydana gelen spesifik bir mutasyon sonucunda oluşmuştur (Guo ve diğerleri, 2013). Bunlar yeni CPV-2a/2b olarak adlandırılmıştır (Castillove diğerleri, 2020).



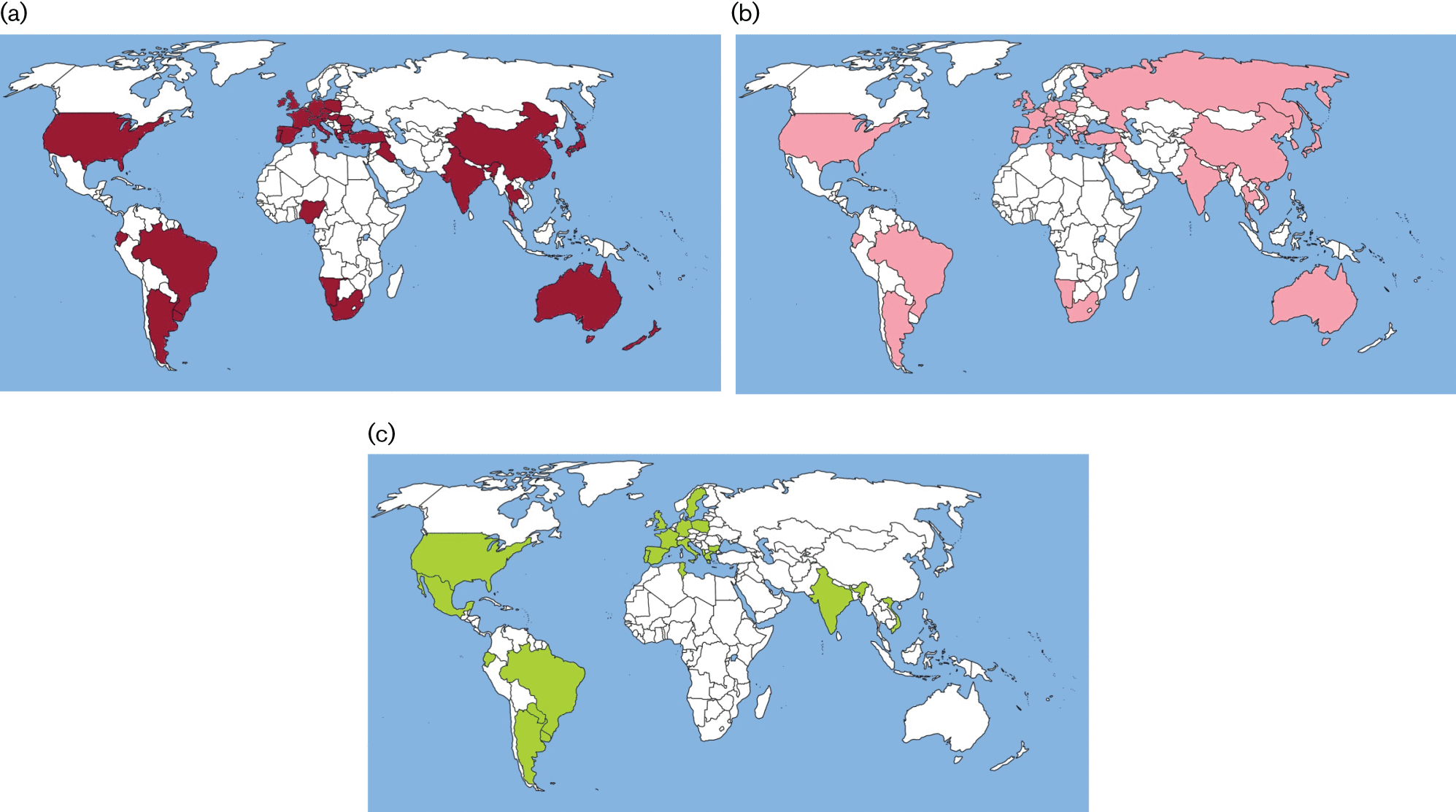
Şekil 2. Parvovirus Elektron Mikrografisi Görüntüsü (Linda M Stannard, 1995).

Parvovirusların ana kapsid proteini olan VP2 hakkında analizler geniş çaplı yapılmış, ancak yapısal olmayan genler olan NS1 ve NS2 hakkında araştırmalar sınırlı kalmıştır. Özellikle NS2 geni çok daha az araştırılmıştır. Fakat parvovirusların moleküler epidemiyolojik araştırmalarında NS1 ve NS2 kodlama dizilerinin; salgınları izlemede, yeni mutant CPV ve FPV’leri tespit etmedeki önemi vurgulanmıştır (Mira ve diğerleri, 2019). Sadece VP2 gen bölgesi odaklı değil tüm ORF bölgelerini kapsayan daha bütüncül analizler, virusun bölgesel evrimini gözlemlememizi sağlamaktadır. FPV, CPV-2’den ayırt edilirken NS1 geninde beş aminoasit mutasyonu gözlenmiştir. NS1 kodlama dizisinde, özellikle bir amino asit kalıntısı (248) FPV'yi CPV'den sürekli ayırmıştır (Mira ve diğerleri, 2019).

### 2.1.2. Epidemiyoloji

Virusun bulaşması fekal-oral yol ile gerçekleşir. Hastalığın saçılmasında enfekte dışkı ve mide içeriğinin sağlıklı hayvanlara teması etkilidir (Truyen ve diğerleri, 2009). Aşılanmamış ve yavru köpekler daha büyük risk altındadır. Gebe köpeklerde, anne karnında enfekte olmuş yavrularda doğumdan 2-3 hafta sonrası periyotta miyokardit dolayısıyla bir anda ölümler şekillenebilir (Saka ve diğerleri, 2020). Persiste enfekte hayvanlar virusu vücut sekretleriyle ve dışkıyla uzun süre saçarlar. Kontamine su ve gıdalar, sağlıklı hayvanların enfekte dışkıları yalaması yayılıma sebep olur (Truyen ve diğerleri, 2009).

Çapraz konakçı değişiminde ise virus mutasyonu temel rol oynar. Yapılan araştırmalarla, konak değiştirme özellikle RNA genomları olan viruslarda daha yaygın olduğu ortaya konmuştur. Geniş ölçekli karşılaştırmalar yapılarak hangi virus ailelerinin konakçı bariyerlerini atlama eğiliminde olduğu ve dolayısıyla yeni konakçılarda nasıl başarılı bir şekilde ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Petrova ve ark, 2018). Bir virus ailesinin konakçı değiştirme potansiyelini tahmin etme olanağını, konakçılar ve viruslar arasındaki benzerlik derecesini değerlendiren filogenetik analizler sağlar (Huelsenbeck ve ark, 1996). Filogenetik olarak ilişkili konakçılar arasında başarılı çapraz konakçı değişimi daha sık meydana gelir. Çünkü genetik olarak benzer konakçılarda virus enfeksiyonu ve çoğalması daha kolaydır. Ayrıca, ilgili konakçılar bazen aynı ortamda yaşayabilir ve virusa daha yoğun maruz kalma sonucu türler arası bulaşma olasılığı gelişebilir (Huelsenbeck ve ark, 1996).



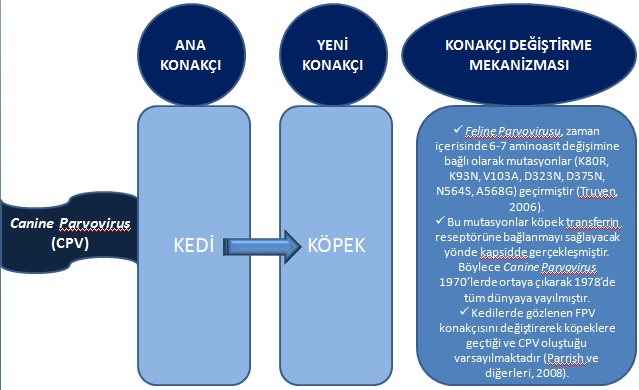
CPV-2b

CPV-2a

CPV-2c

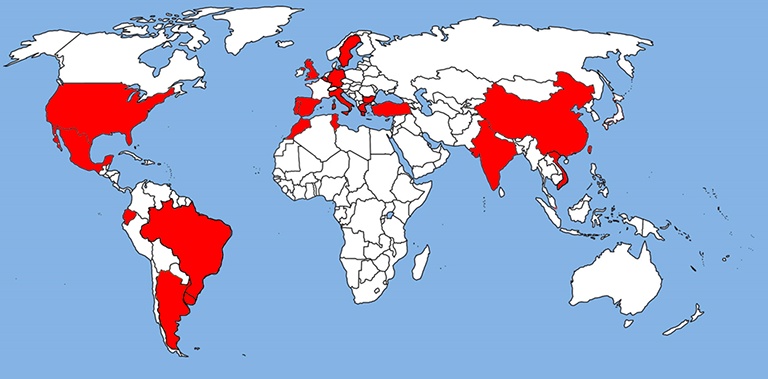
Şekil 3. CPV2-a, CPV-2b, CPV-2c’nin dünya çapında dağılımı (Miranda ve Thompson, 2016’dan uyarlanmıştır).

Parvovirus ilk bildirildiği zamandan bugüne birçok mutasyon geçirmiştir ve geçirmeye devam ettiği moleküler çalışmalarla ifade edilmiştir (Castillo ve diğerleri, 2020; Guo ve diğerleri, 2013; Wang ve diğerleri, 2016; Zobba ve diğerleri, 2021). Canine parvovirus çok hızlı mutasyon geçirme yeteneğine sahiptir. Bu yüzden epidemiyolojik açıdan önem arz etmektedir (Miranda ve diğerleri, 2016). Vizonlarda görülen parvovirus enfeksiyonu (MPV) 1947 yılında ortaya çıkmış ve hızla yayılmıştır. CPV, FPV ve MPV arasında serolojik olarak yakınlık bulunmaktadır. Canine parvovirus ile feline panleukopenia virus arasında antijenik yakınlık söz konusudur. Feline panleukopenia virusunun mutasyona uğraması ile canine parvovirus’un ortaya çıktığı benimsenmektedir (Geetha, 2015) (Şekil 3). FPV, köpek transferrin reseptörüne etkili bir şekilde bağlanmasına izin veren, kapsiddeki en az iki nokta mutasyonu sonucu 1970'lerin başında ortaya çıkıp, 1978'de dünyaya yayılmıştır (Parrish ve diğerleri, 2008). FPV enfeksiyonu kediler ve diğer *Felidae* ailesi için oldukça bulaşıcı ve ölüme sebep olabilen bir hastalıktır. Aynı zamanda köpek parvovirusu (CPV) hem sağlıklı hem de hasta kedilerden izole edilebilmektedir. Vietnam ve Tayvan’da panleukopenili kedilerde yapılan bir çalışmada kedi örneklerinden CPV-2a ve türevleri ile enfekte olduğu bildirilmiştir (Ikeda ve diğerleri, 2000).



Şekil 4. FPV’nin mutasyona uğrayarak konakçı değiştirmesi sonucunda CPV oluşması.

CPV-2a, CPV-2b ve CPV-2c viruslarına karşı, kısa süreli olarak korumak için FPV aşıları kullanılabilmektedir. Kedilerde, FPV’den CPV-2 varyantlarına karşı, CPV-2 çeşitleri bazlı aşılar; yüksek titre nötralize edici antikor geliştirmiştir (Steinel ve diğerleri, 2000)



Kırmızı işaretli bölgelerde

CPV-2c gözlenmektedir.

Şekil 5.CPV-2c varyantının dünya genelinde dağılımı (Lin ve Chiang, 2016’dan uyarlanmıştır).

Dünya genelinde CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c varyantları dolaşmaktadır (Şekil 4). CPV-2a ilk olarak Çin, CVP-2b Vietnam, CPV-2c ilk İtalyada bildirilmiştir (Ikeda ve diğerleri, 2000). Virusun kapsid proteinin VP2 gen bölgesi konakçı aralığını belirleyen kısımdır. Ana antijenik belirleyicilerin ve viral patojenitenin saptanmasında önemlidir. VP2 gen bölgesindeki nokta mutasyonları belirlemek için 297, 300, 305, 323. aminoasitlere dikkat edilir. Konak aralığı için 426. aa. önemli olup, mutasyonlara bağlı konakçı değişimlerinde etkilidir. CPV-2a suşunda 426 Asn-, CPV-2b’de 426 Asp-, CPV-2c’de ise 426 Glu- antijenik karekteristik alanlarıdır (Decaro ve diğerleri, 2005). Filogenetik analiz sonuçlarına göre Türkiye’de genetik olarak baskın suşlara yakın aşılar kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (Muz ve diğerleri, 2012).

CPV-2'nin, Lys80Arg, Lys93Asn, Val103Ala, Asp323Asn, Asn564Ser ve Ala568Gly kapsid proteini VP2 kalıntılarındaki spesifik mutasyonlara bağlı konakçı değişikliğini kolaylaştırdığı ve böylece FPV den türediği varsayılmıştır. CPV-2 bu mutasyonlara bağlı köpekleri enfekte ederken, kedigilleri enfekte edebilme yeteneğini yitirmiştir (Miranda ve Thompson, 2016).

VP2'nin amino asit yapısındaki birkaç değişikliğin virusun biyolojik özelliklerinde değişikliğe yol açtığı bulunmuştur (Parrish ve Carmichael, 1986). 1984 ile 2000 yılları arasında, VP2 amino asit sekansında yeni değişikliklere sahip viral varyantlar tespit edilmiştir (CPV-2b ve CPV-2c, (Buonavoglia ve diğerleri, 2001).  Hem CPV-2a hem de CPV-2b'de 297 pozisyonunda (Ser → Ala) ek bir amino asit değişikliği, “yeni CPV-2a” ve “yeni CPV-2b” nin belirlenmesine yol açmıştır (Decaro ve Buonavoglia 2012; Zobba ve diğerleri, 2021).

CPV nin varyantlarının yayılmasında göç etkilidir. Büyük olasılıkla coğrafi olarak yakın ülkeler arasında enfekte hayvanlar veya mekanik vektörler vasıtasıyla kıtalar arası varyantlar taşınmaktadır. Böylece CPV’nin küresel yayılmasına neden olmaktadır (Jiangve diğerleri, 2021). Aşılamalardaki başarısızlıklarda CPV varyantlarının kesin rolü olduğu belirtilmiştir. Çünkü aşılanmış köpeklerde de CPV-2c varyantı sıklıkla rastlanmaya başlamıştır (Şekil 5.). CPV suşlarına sahada kullanılan eski tip (CPV-2 bazlı) ticari aşılar sık sık gözden geçirilip, koruyuculuğu test edilmelidir (Wang ve diğerleri, 2016; Jiang ve diğerleri, 2021).

### 2.1.3. Patogenez/Klinik

CPV enfeksiyonları akut ve çoğunlukla öldürücü seyreder. Özellikle yavrularda mortalite oranları daha yüksektir. Canine parvovirus enfeksiyonlarında en önemli klinik bulgu kötü kokulu kanlı ishaldir ancak makroskopik olarak kan her zaman görülmeyebilir (Şekil 6). Ateş, hemorajik enterit, kusma, dehidratasyon, halsizlik, mukozalarda solgunluk, iştahsızlık, mukoid ya da kanlı ishal, depresyon, akut lenfopeni, miyokardit gibi klinik bulgular gözlenmektedir (Truyen ve diğerleri, 2009). Abdomene palpasyon yapıldığında bağırsakların sıvı dolu olduğu saptanır. Şiddetli klinik formu özellikle 6 aylıktan küçük yavrularda görülür. Yetişkinlerde de bağışıklığın düşük olmasına bağlı olarak şiddetli seyredebilir (Reddy ve diğerleri, 2015).

Parvovirus özellikle kemik iliği, bağırsak kript hücreleri, lenfoid dokular gibi kuvvetli mitotik aktivitesi olan hücrelerde çoğalır. Neonatal ya da in-utero enfeksiyon, serebellar hipoplaziye sebep olur (Stuetzer ve Hartmaan, 2014). CPV-2 enfeksiyonunda intestinal mukozal bariyerin bozulması, malabsorpsiyon, villusların atrofiye uğramasıyla üst düzeyde lökopeni gözlenir. İshal ve kusmaya bağlı dehidrasyon, metabolikasidoz ya da alkaloz, septisemi, sistemik enflamatuvar yanıt sendromu, çoklu organ bozukluğu ve ölüm gerçekleşebilir (Reddy ve diğerleri, 2015). Parvoviral enterit olan köpeklerde artmış Total Oksidan-Antioksidan miktarı prognozu kötü yönde değerlendirmede etkilidir (Aydoğdu ve diğerleri, 2018).



Şekil 6. Parvovirus enfeksiyonunda kanlı ishal bulgusu (Mowbrayvet, 2019).

Parvovirus enfeksiyonlarının klinik olarak üç formu vardır:

-Jeneralize Formu: Genellikle semptom göstermeden ölüm gerçekleşir. Doğumdan sonra 2-12 gün arasında enfeksiyon meydana gelir. Bu dönemde akciğer, böbrek, karaciğer, ince bağırsak, beyin, kalp gibi organlardan virus izole edilebilir.

-Myocarditis Formu: Yavrularda ani ölümle karakterizedir. Enfeksiyon klinik belirti göstermeden akut olarak ortaya çıkar. Gastrointestinal enfeksiyon geçirenlerde kusma, dispnea ve zayıflama görülür. Miyokardit gözlenir.

-Enteritis Formu: İshal, kusma, dehidratasyon, anoreksi, lökopeni ile seyreder (İ.Ü. ders notları, 2014; Vannamahaxay ve diğerleri, 2017).

### 2.1.4. Tanı

Canine parvovirus enfeksiyonlarında klinik belirtilere bakılarak şüpheli tanı konabilir, ancak diğer ishalle seyreden enfeksiyon hastalıklardan ayrımı ve kesin tanısı için laboratuar metodları gereklidir. Hemogram sonucunda gözlenen lökopeni, nötropeni, lenfopeni bulguları CPV enfeksiyonunu akla getirebilmektedir. CPV enfeksiyonlarının laboratuvar analizlerinde kedi ve köpeklerden marazi madde olarak dışkı, kan, rektal sürüntü ve organ örnekleri alınır. CPV hedef olarak bağırsak, lenf düğümleri, dalak ve kalbe yerleşir. Az test edilse de beyin ve beyincik dokularından da alınan örneklerde pozitiflik elde edilmiştir (Decaro ve diğerleri, 2007). CPV enfeksiyonlarında pratikte test kitleri kullanılmaktadır. Ancak bazı test kitlerinin doğru sonuç vermeme ihtimali dikkate alınmalıdır. ELISA yöntemi CPV tanısında kullanılır. Doğruluğu daha güvenilir olan CPV’nin moleküler düzeyde tanı yöntemi PCR’dır. Köpek ve kedilerde, kan, rektal sürüntü, bağırsak, dalak, kalp, beyin gibi organlardan alınan örnekler virolojik tanı analizleri için kullanılmaktadır. Bağırsak, dalak, lenf düğümleri virusun tutunduğu hedef bölgeler olduğu için örneklemeler beyin ve beyinciğe oranla daha çok kullanılır (Decarove diğerleri, 2007).

CPV tespitinde hemaglütinasyon testi ile antijen tespiti, elektron mikroskobu ile direkt virus tespiti, immun floresan, immun peroksidaz testleri kullanılmaktadır. ELISA, hemaglütinasyon inhibisyon, immunodiffüzyon ve nötralizasyon immunperoksidaz testleri indirekt serumdaki antikorların tespitinde kullanılır. Ayrıca PCR ve ardından sekans analizi, antijenik varyantları birbirinden ayırmak için kullanır ([Nandi ve diğerleri, 2010](https://translate.googleusercontent.com/translate_f#7)).

### 2.1.5. Destek Tedavi

Parvovirus enfeksiyonlarının kesin bir tedavisi yoktur. Bu yüzden aşılamalar ile hastalıktan korunma esas olmalıdır. Destek tedavi ve sekonder enfeksiyonları önlemek adına tedavi protokolleri oluşturulur. Semptomatik tedavi olarak kusma ve ishal önlenmelidir. Parvovirus enfeksiyonlarında en önemli olan dehidrasyonun giderilmesidir. Şiddetli dehidrasyona ve hipovolemik şoka bağlı olarak ölümler yaşanır (Vannamahaxay ve diğerleri, 2017). Bu yüzden intravenöz sıvı tedavisi önem teşkil etmektedir. Dengeli elektrolitler, dekstroz ve laktatlı ringer solüsyonları kullanılarak sıvı tedavisi başlanır (Stuetzer ve Hartmaan, 2014). Böylece CPV’nin en önemli bulgusu olan kanlı ishale ve kusmalara bağlı hastanın kaybettiği sıvı tekrar yerine konularak elektrolit dengesi sağlanır (Pennisi ve diğerleri, 2015). Enfeksiyonun semptomatik ve destekleyici tedavisinde antiemetikler, H2-reseptör blokörleri ve immunglobulinler uygulanır (Reddy ve diğerleri, 2015). Sekonder enfeksiyonları önlemek adına antibiyotik tedavisi ve vitamin desteği uygulanabilir. Parvovirus geçirmiş bir hastanın bağışıklık seviyesi azaldığı için diğer bakteriyel ve viral hastalıklara açık hale gelir (Reddy ve diğerleri, 2015; Saka ve diğerleri, 2020).

Yapılan bir çalışmada sefotaksim (25 mg/kg), metaklopramid (0.2 mg/kg), intravenöz %5 Dekstroz ve Laktatlı Ringer içeren tedavi protokolü izlenerek 27 canine parvovirus vakasından 24 tanesi tedavi edilmiştir (Reddy ve diğerleri, 2015).

### 2.1.6. Korunma

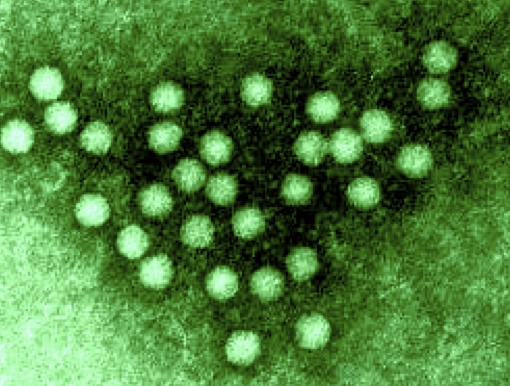
Parvovirus dışarıda çok uzun süre enfeksiyon oluşturma yeteneğini koruyarak kalabilen dayanıklı bir virustur. Mücadelesinde bu durum göz önüne alınarak hayvanların birbiri ile teması engellenmelidir. Dezenfektanlara, asit, kloroform gibi maddelere dayanıklıdır. Konakçı dışında aylarca hatta yıllarca sağlam kalabildiği için yüzeylerin %3-6’lık sodyum hipoklorid çözeltisiyle temizlenip virusun inaktif hale gelmesi sağlanır. Virus, pH 3 ve pH 9 arasında 80oC’ye kadar dayanıklılığını korur (İ.Ü. ders notları, 2014). Parvovirusların bulaşmasında; toplu yaşama, barınaklar, hasta olanlarla sağlıklı olanlar arasındaki etkileşim, dışkıyla bulaşık ortamlara sağlıklı hayvanların sokulması, aşılamaların hiç yapılmaması veya etkin koruma sağlamayan aşıların yapılması enfeksiyonun oluşmasının nedenlerindendir. Enfekte dışkı ve mide içeriği bulaşmada en önemli faktörlerdir. Fekal-oral yolla bulaşma sıkça gözlenir. Enfekte hayvanlarla sağlıklı hayvanların teması en aza indirgenmelidir (Truyen ve diğerleri, 2009). CPV enfeksiyonlarında en etkin korunma düzgün aşılama yapılmasıdır. Yapılan araştırmalar yavru kedilerde anneden sağlanan antikorların bilinenden daha uzun süre koruyuculuğu devam ettirdiğini ortaya koymuştur (Stuetzer ve Hartmaan, 2014).

## 2.2. Feline Panleukopenia Virus (FPV)

Virusların zaman içerisindeki geçirdikleri mutasyonlarla birlikte konakçı değişimleri gerçekleşmiştir. Bu konakçı değişimine bağlı, yeni konakçılara adaptasyon ile beraber yeni tip viruslar oluşmuş ve yeni viral enfeksiyonlar meydana gelmiştir. Kedilerde feline panleukopenia enfeksiyonun etkeni olan feline panleukopenia virus (FPV) ilk olarak 1928 yılında ortaya çıkmıştır. FPV’nin ilk izolasyonu 1964 senesinde leopardan gerçekleştirilmiştir (Parrish, 1999). Birçok vahşi karnivorda FPV gözlenmiştir. FPV kedilerde bulaşıcı ve ölümlere neden olan enfeksiyona sebep olmaktadır (Stuetzer ve Hartmaan, 2014). CPV’nin Feline panleukopenia virusunun (FPV) mutasyonlarına bağlı konakçı değişiminin meydana geldiğive köpeklere geçerek ortaya çıktığı düşünülmektedir. FPV’den doğrudan bir mutasyon geçirmesiyle ya da FPV aşı virusundan bir mutasyon sonucu oluşmasıyla ortaya çıktığı varsayılmaktadır. Ayrıca vizon gibi evcil olmayan etoburlar aracılığıyla köpeklere adapte (CPV) olduğu düşünülmektedir **(**Parrish ve ark, 2008). Canine parvovirus tip 2 (CPV-2), zaman içerisinde feline panleukopenia virusu (FPV) alt türlerinden mutasyona uğramıştır ve köpeklerde de görülmeye başlayarak konakçı değiştirmiştir. CPV ortaya çıktığından beri FPV’ye göre çok hızlı gelişmiştir. Bunun sebebi yüksek mutasyon oranı ve kapsid genindeki mutasyonların evrimini hızlandırmasıdır ([Battilani ve ark.](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113511005013?via%3Dihub#bib0120)[, 2006](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113511005013?via%3Dihub#bib0005)). FPV, köpek transferrin reseptörüne bağlanabilecek yönde mutasyonlar geçirerek konakçı aralığını değiştirmiştir. FPV 20. yüzyılın başlarında belirlendiği zamandan bu yana genetik stabilitesini devam ettirmiştir (Decaro ve diğerleri, 2008). Kedilerde ateş, gastrointestinal enterit, şiddetli lökopeni tablosu, halsizlik, sinir sistemi bozuklukları gibi belirtilerle seyreden hastalık oldukça bulaşıcıdır ve kontrolünün sağlanması gerekir.

### 2.2.1. Etiyoloji

FPV zarfsız, tek sarmallı DNA içeren 18-22 nm çapında, ikosahedral simetriye sahip bir virustur (Şekil 7). Kedilerde FPV'nin oluşturduğu enfeksiyon 20. yüzyılın başından itibaren bilinmektedir. Zarfsız, tek sarmallı DNA virusu olan feline panleukopenia virus (FPV) kedilerde bulaşıcı ve ölümcül olabilen feline panleukopenia hastalığına sebep olur (Stuetzer ve Hartmann, 2014). CPV-2 ve FPV arasında %98'lik bir genom homolojisi vardır ve çok yakından ilişkili viruslardır (Steinel ve diğerleri, 2000).

****

Şekil 7. Feline Panleukopenia virus renklendirilmiş elektron mikroskop görüntüsü (Fred Murphy).

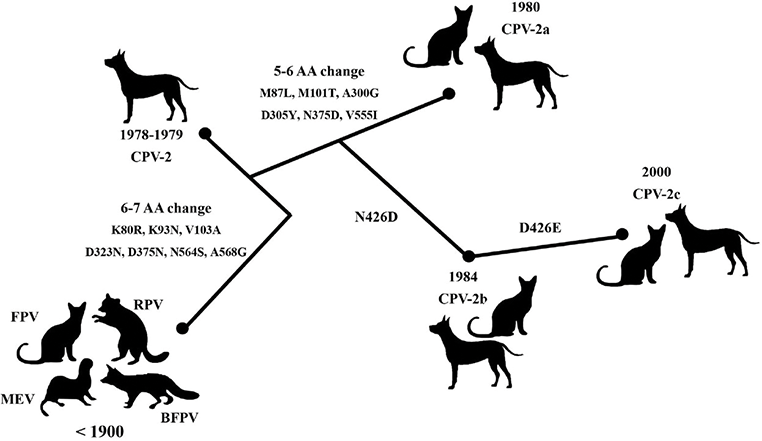
DNA virusu olmasına rağmen CPV-2 genomunda hızlı mutasyonlar gerçekleşmektedir. Buna bağlı günümüzde CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c olmak üzere üç antijenik tipi oluşmuştur. FPV ve CPV-2’ye ait VP2 kapsid proteini arasında altı veya yedi adet aminoasit değişimi olmuştur (Truyen, 1999). Özellikle 426. amino asitteki nokta mutasyonuna bağlı olarak CPV-2’nin genetik olarak farklı 3 tipi meydana gelmiştir (Brindhalakshmi ve diğerleri, 2016).

Parvoviruslarda kapsid; hücre içi taşıma ile lokalizasyonda, adsorpsiyonda ve konakçı hücreye girişte, viral çıkışta ayrıca bağışıklık tepkisinin indüklenmesinde görevlidir (Tu ve diğerleri, 2015). Major kapsid proteini VP2 parvovirusların antijenik özelliklerini oluşturur. VP2 deki aminoasitler virusun yeni konaklara adaptasyonunda oldukça etkilidir. Özellikle 297, 300, 305, 323 ve 568. aminoasitlerdeki mutasyonlar konakçı değişiminde etkin rol oynar (Brindhalakshmi ve diğerleri, 2016). CPV-2’de meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak kedilerin hem FPV hem de CPV-2 virusu ile enfekte olduğu görülmüştür. CPV ve FPV büyük oranda genetik benzerliğe sahip olsalar da, VP2 kapsid proteini açısından birbirinden 6-7 aminoasit farklılığı içerir. Bu farklılık genotipik açıdan CPV ve FPV virusun tespitini sağlamaktadır (Decaro ve diğerleri, 2008; Dinçer ve Timurkan, 2018). Virusun moleküler değişikliklerini aydınlatmak ve bölgede var olan ya da yayılabilecek yeni CPV-2 varyantlarını tespit etmek amacıyla, CPV-2'yi karakterize etmeyi sürekli hale getirmek oldukça önemlidir (Giraldo-Ramirez ve diğerleri, 2020).

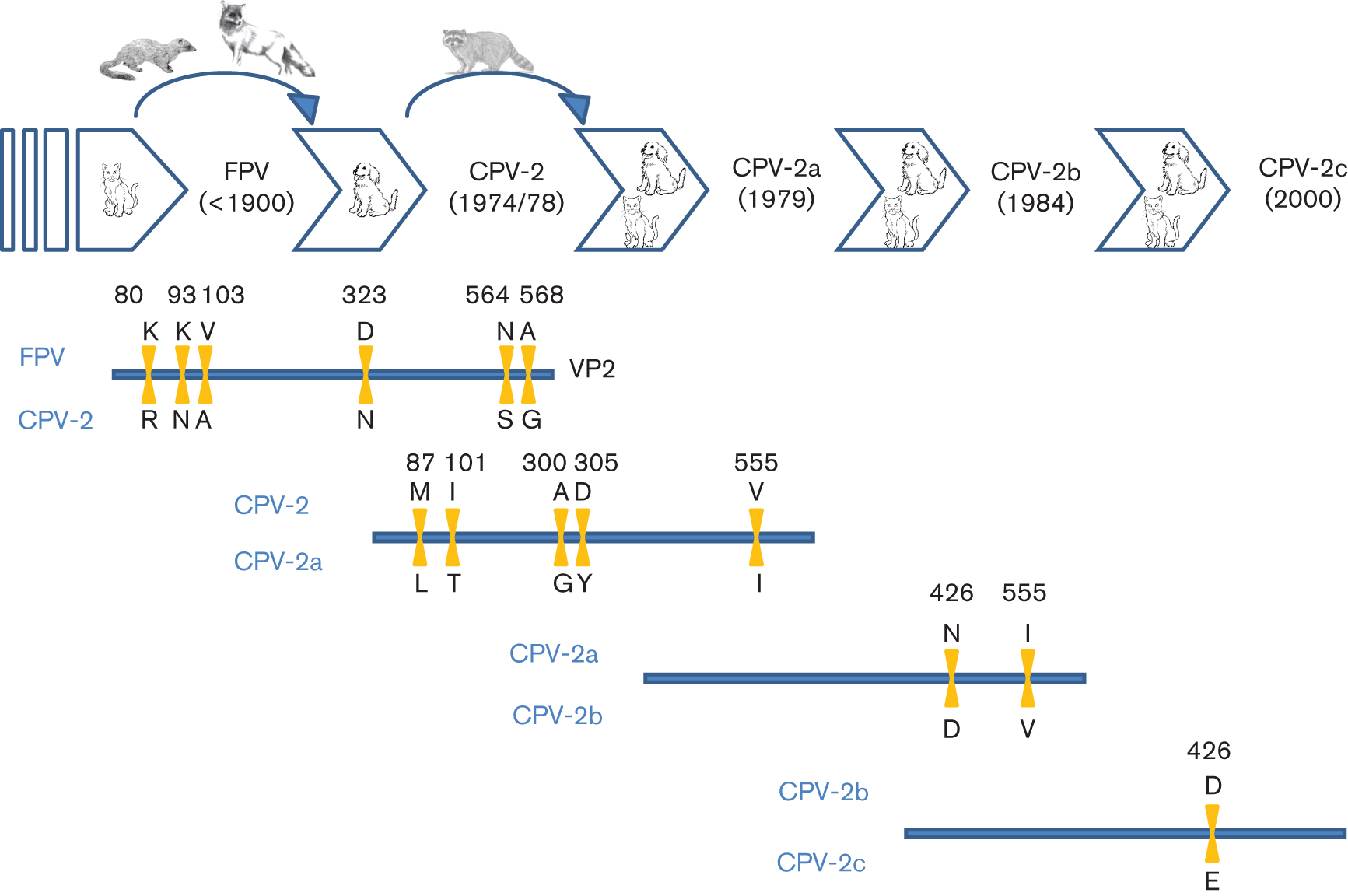
### 2.2.2. Epidemiyoloji

FPV doğrudan temas yoluyla ya da kontamine olmuş materyalle sağlıklı hayvanlara bulaşmaktadır. Enfekte organik materyalde en az 1 yıla kadar varlığını koruyabilir. Dışkı, salya, kusmuk, idrar ile virus saçılmaktadır. Yaş ile FPV arasında pozitif kolerasyon bulunmaktadır (Scott, 1999). Yeni doğan ve genç kedilerde prognoz daha kötü, belirtiler daha şiddetli, mortalite yüksektir. Yavru kedilerde ölüm oranları daha yüksek iken, ilerleyen yaşlarda bu oran düşmektedir. Bağışık annelerden doğan kediler 10 haftaya kadar korunmaktadır (Stuetzer ve Hartmann, 2014).

Türler arası geçiş sıklıklarının belirlenmesi, virus evrimi ve hastalıkların ortaya çıkmasının temel mekanizmalarını anlamak için büyük öneme sahiptir. Özellikle, bazı virus ailelerinin konakçılara diğerlerinden daha fazla geçme eğilimi olup olmadığını ve bu durumu hangi faktörlerin etkilediğini belirlemek önemlidir (Parrish ve diğerleri, 2008). Virusların ve viral enfeksiyonların araştırılmasıyla yeni virülan suşların tespit edilmesi ve viral enfeksiyonun prevalansının değerlendirilmesi sağlanır (Ahmedve diğerleri, 2018). Virusların zaman içerisinde geçirdikleri mutasyonlarla birlikte konakçı değişimleri gerçekleşmiştir (Şekil 8). Bu konakçı değişimine bağlı olarak yeni konakçılara adaptasyon ile beraber yeni tip viruslar oluşmuş ve yeni viral enfeksiyonlar meydana gelmiştir. CPV’nin FPV’den mutasyonlara bağlı konakçı değişimi sonucu köpeklere geçerek ortaya çıktığı düşünülmektedir (Decaro ve diğerleri, 2010).



Şekil 8.Canine Parvovirus evrimi (Truyen, 2006).



Şekil 9. CPV-2’nin alt tiplerinin ortaya çıkışı (Miranda ve Thompson, 2016).

FPV, kedilerde oldukça bulaşıcı, anoreksi, kusma, ishal, nötropeni, lenfopeni gibi klinik bulgular gösteren bir viral enfeksiyondur. Virus bağırsak kriptlerine, kemik iliğine, lenfoid dokulara affinite göstermektedir (Stuetzer ve Hartmann, 2014). CPV’nin zaman içerisinde mutasyona uğrayarak FPV’den evrimleştiği varsayılmıştır (Şekil 9). Genellikle konakçı hücre transferrin reseptörü (TfR) ile etkileşen VP2 alanında mutasyonlar birikim göstermektedir (Decaro ve Buonavoglia, 2012).

### 2.2.3. Patogenez/ Klinik

FPV özellikle genç kedilerde bulaşıcıdır. Şiddetli lökopeni, akut hemorajik gastroenterit, sinir sistemi bozuklukları, ateş, halsizlik, iştahsızlık, hareketsizlik klinik bulguları görülür. Virus burun içi veya oral yolla alındıktan 2-7 gün sonra viremi gerçekleşerek tüm vücuda dağılır (Truyen ve diğerleri, 2009).

Kemik iliğinin FPV nedeniyle tahrip olmasına bağlı olarak akyuvar sayısında azalış meydana gelir. Lökopeni tablosu FPV enfeksiyonlarının en önemli bulgularındandır. FPV ince bağırsak hücrelerini hedef almaktadır (Greene ve Addie, 2005). Kedilerde gastrointestinal sistem, bağışıklık sistemi ve sinir sistemi hastalıklarına neden olur (Parker ve diğerleri, 2001).

### 2.2.4. Tanı

Şüpheli dışkı örnekelerinden hemaglutinasyon testi yapılarak tanı konulabilmektedir. Serolojik testlerden ELISA, PCR, hücre kültüründe üretme identifikasyonu sağlar ([Nandi ve diğerleri, 2010](https://translate.googleusercontent.com/translate_f#7)). Hızlı tanı kitleri FPV tespitinde kullanılır. Parvovirus tespiti için Nested PCR, Gerçek Zamanlı PCR, hemaglütinasyon inhibisyon ve aglütinasyon testleri, elektron mikroskobu gibi birçok tanı yöntemi kullanılır. Ancak parvovirusun antijenik türünü doğrulamak için virusun gen dizisi ve filogenetik analizi gereklidir (Das ve diğerleri, 2019).

### 2.2.5. Destekleyici Tedavi

Feline panleukopenia virus enfeksiyonlarının kesin bir tedavisi yoktur. Destekleyici tedavi ve sekonder enfeksiyonları önlemeye yönelik tedavi protokolleri hazırlanmaktadır. Sıvı tedavisinin sürekliliği hastalığın prognozunu etkiler. Dehidrasyona bağlı sıvı kayıplarının tamamlanması gerekir (Reddy ve diğerleri, 2015).

### 2.2.6. Korunma

Anneden yavruya geçen maternal antikorlarla yaşamın ilk döneminde korunma sağlanır. FPV enfeksiyonlarında en etkin korunma yöntemi aşılamadır (Truyen, 2006). Kedilerde 8-9. haftada yapılan karma aşılar ve tekrar dozları ile bağışıklık sağlanır. FPV serum antikor testleri vardır, ama maternal antikorların yavru kedilerde koruma durumunun özenle yorumlanması gereklidir (Stuetzer ve Hartmann, 2014).

Canlı modifiye edilmiş FPV aşıları köpeklere yapıldığında başarılı immunizasyon sağlanmıştır (Carmichael, 2005). FPV aşılarının bazı türleri kedileri CPV-2b’den de korumuştur (Chalmers ve diğerleri, 1999). Adjuvanlanmış ve modifiye edilmiş canlı aşılar FPV enfeksiyonlarına karşı korumak için bağışıklık sağlamaktadır. Bağışıklık yanıtı yeterli kedilerde modifiye edilmiş canlı aşılar daha etkin hızlı bir koruma sağlamaktadır (Levy ve diğerleri, 2006). Ayrıca etkili bir inaktif FPV aşısı da tek dozla, kısa sürede antikor oluşturmayı sağlamaktadır ([Fischer ve diğerleri, 2007](https://www.avma.org/News/Journals/Collections/Documents/javma_230_1_52.pdf)).

Barınaklarda ve toplu yaşam alanı olan çiftliklerde bulaşıcılığın fazla olmasından dolayı enfeksiyon kontrolünün sağlanması gerekir. Ülkemizde attenüe ve inaktif aşılar kullanılmaktadır. Yavrularda maternal antikorların %10’u transplasental %90’ı kolostrum ile sağlanır ve 9 hafta sonunda koruma sınırı düşer. En uygun aşılama 4-6 haftalık yaşlarda başlar ve 2-3 hafta arayla tekrar dozları yapılır. Doğal enfeksiyondan sonra nötralizan antikorlar gelişir ve hayat boyu kalır. (İ.Ü ders notları, 2014; Truyen, 2006).

Ülkemizde parvovirus için kullanılan ticari aşılardan bazıları Felocell (Zoetis), Purevax PCP (Merial) gibi karma aşılardır (Dinçer ve Timurkan, 2018). Parvovirus üzerine yapılan moleküler ve filogenetik çalışmalar, mevcut aşı türlerinden büyük oranda farklılığa sahip yeni viral varyantların ortaya çıktığını göstermektedir (de Oliveira ve diğerleri, 2019).

Ayrıca parvoviruslar kimyasallara dayanıklı olduğu için daha etkili olan sodyum klorit çözeltileri ile temas edilen yüzeylerin dezenfekte edilmesi gerekmektedir. Dışkı ile temas eden yüzeyler, mama ve su kapları arındırılmalıdır (Truyen ve diğerleri, 2009).

Tüm bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasıyla;

* Feline ve canine parvoviruslarının moleküler olarak araştırılması amaçlanmıştır.
* Genbank veritabanında yer alan feline ve canine parvovirusları ile filogenetik ayrıntılı analiz yapılması amaçlanmaktadır.
* Feline ve canine parvovirusların eş zamanlı örneklenerek ilk defa aynı çalışmada moleküler ve program bazlı translasyonel düzeyde değerlendirmenin yapılması hedeflenmektedir.
* Aydın’dan ilk defa parvoviruslara ait sekans bilgisinin GenBank’a tanımlanarak gelecek çalışmalara bölgesel olarak referans gösterilmesi hedeflenmektedir.
* Türkiye’de bulunan parvovirus suşlarının aşılarla olan filogenetik uyumunun incelenmesi hedeflenmektedir.

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

## 3.1. Materyal

Tez çalışması kapsamında parvovirus klinik şüphesi gösteren 25 kedi ve 25 köpek olmak üzere toplam 50 hayvandan tam kan ve rektal swab[[1]](#footnote-2) numunesi toplandı. Söz konusu hayvanlara ait bilgiler, klinik bulgular Tablo 1’de sunulmuştur (Ek-1). Çalışma eş zamanlı yürütülerek gruplandırma yapılmadı. Kan numuneleri kedi ve köpeklerin sefalik venlerinden (*vena cephalica*) 2 ml hacminde Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA)’lı tüplere alındı. Rektal swab alındıktan sonra, 1 ml fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile sulandırıldı ve -20°C’de saklandı. Çalışmanın materyal toplama kısmı “iyi klinik uygulamalar” çerçevesine uygun olarak klinisyen veteriner hekimler tarafından yapılmış olup, çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu’nun 09.07.2020 tarih ve 64583101/2020/038 sayılı izni ile yürütülmüştür (Ek-2). Numuneler soğuk zincir altında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı’na ulaştırıldı.

### 3.1.1. Cihazlar

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı’nda bulunan aşağıdaki cihazlar kullanıldı.

* +4°C buzdolabı (BEKO, Türkiye)
* 2 ml’lik vakumlu EDTA kan tüpü
* -20°C derin dondurucu
* Bireysel biyogüvenlik ekipmanı (maske,önlük vs.)
* BSL2 güvenlik kabini
* Corbett Research CG1-96 pcr thermal cycler (Avustralya)
* Elektroforez Sistemi (Major Science Mini-300, Tayvan)
* Elektroforez jel görüntüleme sistemi (BLook, Taipei, Taiwan)
* Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)
* Mikro santrifüj tüpü 2,2 ml
* Mikro dalga fırın (BEKO MD 1610S, Türkiye)
* Mini Santrifüj (ALFAGEN Mini-7K, Türkiye)
* Nitril eldiven
* Otomatik Pipet (Thermo Scientific)
* Pipet mavi tip
* Pipet sarı tip
* PP- steril tüp 50ml
* PP-steril tüp 15 ml
* Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter Allegra X-22, Almanya)
* Vortex (Nüve NM 110, Türkiye)

### 

### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal ve sarf maddeler şunlardır:

* 100 bp DNA ladder
* Agaroz Jel
* SafeView (Agaroz jel boyası)
* DNAse RNAse free Distile su (molecular grade)
* dNTp mix
* Magnezyum klorür (MgCl2)
* Oligonükleotitler (primerler)
* *Taq* Enzim ve buffer (DreamTaq, Thermo)
* DNA Jel Yükleme Boyası (6X) (Thermo Scientific)
* Mikro santrifüj tüp 1.5 ml
* Phosphat buffered saline (PBS) Solusyon
* Tris-Asetik asit-EDTA (TAE)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Numunelerin hazırlanması

Alınan numuneler ivedilikle soğuk zincir ile ADÜ Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı’na ulaştırıldı. Dışkı numuneleri biyogüvenlik kabininde, phosphat buffered saline (PBS) ile yaklaşık 1:10 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası vortex ile çalkalandı ve santrifüj işlemi yapıldı. Santrifüj +4°C’de 4000 rpm devirde 15 dk. boyunca yapıldı. Santrifüj sonrasında ayrılan süpernatant viral nükleik asit izolasyonu amacıyla alınıp, steril 1,5 mililitrelik eppendorf tüplere aktarıldı. Geriye kalan şahit numune -20 °C  derin dondurucuda saklandı. Antikoagulant (EDTA-ethylendiaminetetra-acetic asit)’lı tüplere alınan kan numuneleri +4 °C ’de 2000 rpm devirde 5 dk. boyunca santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında elde edilen kan plazması ayrı tüplere alınıp isimlendirilerek test için kullanılıncaya kadar -20°C derin dondurucuda saklandı. Daha sonra numuneler viral genom izolasyonu için kullanıldı.

### 3.2.2. Moleküler Virolojik Karakterizasyon

#### 3.2.2.1. Viral genom izolasyonu

Viral genom izolasyonu için alınan kan ve süpernatantlara ticari ekstraksiyon kiti ile viral DNA ekstraksiyon protokolü uygulandı. Viral DNA izolasyonu, ticari ekstraksiyon test kiti (GeneMATRIX Viral RNA/DNA Purification Kit, EURX Molecular Biology Products, Version 1.3, April 2020, Cat.no. E3592, Polonya) kullanılarak yapıldı. DNA ekstraksiyonu için kit uygulanırken sırasıyla protokolde yazılan işlemler yapılmıştır. Ticari ekstraksiyon kiti içinde bulunan komponentlerin saklama dereceleri ve miktarları Tablo 4’de gösterilmiştir. Kitin protokolü aşağıda açıklanan şekildedir.

Tablo 2. Ticari Ekstraksiyon Kiti içeriği.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Kit içindekiler** | **Miktar** | **Saklama dereceleri** |
| Buffer A | 3 ml | 15- 25 °C |
| Solüsyon V | 26 ml | 15- 25 °C |
| Wash V1 | 60 ml | 15- 25 °C |
| Wash RBW | 60 ml | 15- 25 °C |
| Proeteinase K (20 mg/ml) | 2,4 ml | -20 °C |
| RNase- freewater | 18 ml | 15- 25 °C |
| Carrier RNA | 2x 300 μg | 15- 25 °C |
| DNA/ RNA Binding Columns | 2x 50 | 15- 25 °C |

* Parçalama, bağlama, yıkama ve elüsyon adımlarından oluşan protokolü uygulamaya başlamadan önce taşıyıcı RNA çözdürüldü. Saflaştırılmış RNA / DNA elüsyonu, RNase- free water aracılığıyla sağlandı.
* l’lik çözelti elde etmek için 300 μg liyofilize içeren tüpe 300 μl RNase- free water eklendi.
* Taşıyıcı RNA tam olarak çözdürüldükten sonra -20° C'de saklandı. Her hazırlık için 5 mikrolitre taşıyıcı RNA kullanıldı.
* Bütün santrifüj işlemleri oda sıcaklığında yapıldı.
* Aktivasyon için 25 µl Buffer A eklendi ancak döndürülmedi ve lizatı aktarana kadar oda sıcaklığında en az 10 dakika beklendi. Buffer A sayesinde DNA’nın maksimum bağlanması sağlandı.
* Örnekler oda sıcaklığına gelene kadar beklendi.
* RNase- freewater içinde süspanse edilmiş 5 µl taşıyıcı RNA 215 µl Sol V tamponuna eklendi.
* Taşıyıcı RNA, Sol V tamponunda çözünmediği için ilk önce RNase- freewater çözüldü sonrasında Sol V tamponuna eklendi.
* RNA / DNA izolasyonu için 20 µl Proteinaz K 1.5-2 ml Eppendorf tüpüne pipetle aktarıldı.
* Proteinaz K içeren tüpe 200 µl plazma veya serum eklendi.
* Numune hacmi 200 μl' den az olduğu takdirde uygun hacimde% 0,9 sodyum klorür ile tamamlandı.
* 220 µl taşıyıcı RNA içeren Sol V tamponu eklendi ve tüpün kapağı sıkıca kapatılıp iyice vortekslendi.
* Karışım 60° C'de 15 dakika inkubasyona bırakıldı.
* İnkubasyon süresi boyunca tüp birkaç defa ters çevirilerek karıştırıldı.
* Daha sonra tüplerin kapak kısmındaki çözelti damlalarını çıkarmak amacıyla tüpler kısa süreli düşük hızda santrifüjlendi.
* 250 μl etanol (% 96-100) eklendi ve iyice karıştırıldı. Oda sıcaklığında 1 dakika lizat etanol ile inkübe edildi.
* Numune 2 mililitrelik tüpe aktarıldı ve bağlama döndürme kolonuna dikkatlice yerleştirildi.
* Kapağı kapatılarak 8000 devirde 1 dakika boyunca santrifüj işlemi uygulandı. Döndürme kolonu temiz alıcı tüpe taşındı ve süzüntü içeren tüp atıldı.
* Kolon dikkatli bir şekilde açılarak 500 µl Wash V1 tamponu eklendi. Kapak kapatılarak 8000 devirde 1 dakika santrifüj yapıldı. Döndürme kolonu temiz alıcı tüpe yerleştirildi ve süzüntü içeren tüp atıldı.
* Daha sonra 500 µl Wash RBW buffer eklendi. Kapağı kapatılıp 8000 devirde 1 dakika santrifüj uygulandı.
* Döndürme kolonu kirletilmeden dikkatlice çıkartıldı, süpernatantı döküldü ve alıcı tüpe geri yerleştirildi.
* Membranı tamamen kurutmak amacıyla tam hızda 2 dakika santrifüj işlemi yapıldı.
* Döndürme kolonu 1,5-2 ml lik temiz mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. 50-100 µl RNase- freewater doğrudan membran üzerine eklendi. Elüsyon tamponunun tam merkeze eklenmesi RNA / DNA verimini arttırır.
* Daha sonra oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi ve 2 dakika boyunca tam hızda santrifüj işlemi uygulandı.
* Döndürme kolonu çıkarıldı ve alıcı tüpün kapağı kapatıldı. Böylece RNA/DNA analizi için purifikasyon işlemi tamamlanmıştır.
* İzole edilmiş RNA / DNA, 2-8 °C'de ya da -20 ° C'de saklanabilir. Birden çok defa çözdürülme ve dondurma işlemi uygulanmamalıdır.

Elde edilen DNA’lar polimeraz zincir reaksiyonuna (PCR) kadar -20 °C bekletildi.

#### 3.2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Hem parvovirus varlığını saptamak ve hem de DNA dizileme çalışması için aynı primer çiftleri kullanılarak PCR testi yapılmıştır. PCR döngüsü uygulanan ısı dereceleri ve süreleri Tablo 3’de sunulmuştur.

PCR, termal döngü cihazında ticari firmadan alınan enzim kitinin uygulama yönergesine göre yapıldı (DreamTaq, Thermo, United States).

Tablo 3. Parvovirus VP2 gen bölgesini hedefleyen primer dizinleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Virus** | **Dizin (5’🡪3’)** | **Referans** |
| *CPV ve FPV VP2* | ATGAGTGATGGAGCAGTTC | Battilani ve diğerleri (2006) |
| TTCTAGGTGCTAGTTGAG |

Moleküler karakterizasyonu belirleyebilmek için VP2 gen bölgesini hedefleyen primerler kullanılmıştır. Böylece PCR testinde VP2 gen bölgesi tanıyarak çoğaltılmış, varyant tespiti yapılmıştır. VP2’nin tamamı (1755bp) incelenmek üzere analiz edilmiştir. VP2 gen bölgesinin tamamı, parvovirus komple genomunun 2783-4537 nükleotitler arasına denk gelmektedir. PCR analizi için kullanılan komponentler Tablo 4’de gösterilmiştir. PCR testi uygulama protokolü optimizasyon işleminden sonra Tablo 5’deki gibi belirlenmiştir.

Tablo 4. CPV tespiti amacıyla PCR analizi için kullanılan karışımın komponent miktarları.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Komponent** | **Miktar** | |
| Distile su (DW) | 14,2 μl |
| 10 x Buffer | 2 μl |
| MgCl2 | 0,15 μl |
| Nücleotide Mix (dnTpMix) | 0,5 μl |
| Forward Primer (10 pmol) | 0,5 μl |
| Reverse Primer (10 pmol) | 0,5 μl |
| Taq DNA Polymerase (DreamTaq) | 0,15 μl |

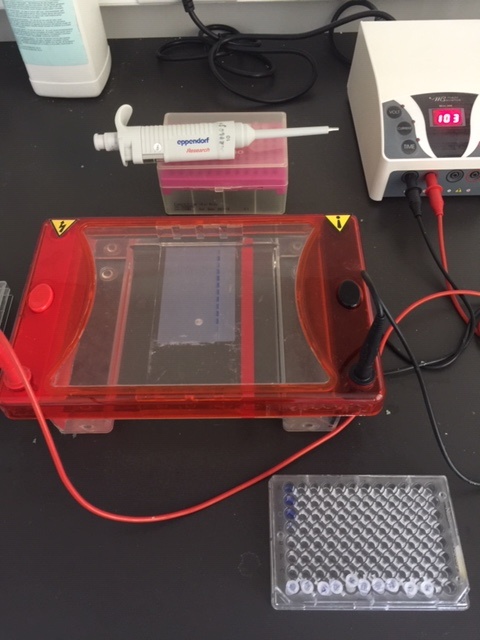
Tablo 5.CPV’ye ait PCR döngüsü aşamaları, uygulanan ısı dereceleri ve süreleri.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **Isı** | **Zaman** |
| Başlangıç Denatürasyonu | 94 °C | 5 dakika |
| Denatürasyon | 94 °C | 30 saniye | 35 Siklus |
| Bağlanma (Annealing) | 50 °C | 30 saniye |
| Uzatma (Extension) | 72 °C | 1 dakika 30 saniye |
| Son uzama | 72 °C | 10 dakika |

#### 3.2.2.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel ile Elektroforezi

Yapılan işlemler sonucunda elde edilen amplikonları görüntülüyebilmek için agaroz jel hazırlandı. Bunun için non-kanserojenik boya (SafeView Classic, ABM, Richmond, Canada) içeren %1’ lik agaroz jel (Merck Agarose Low EEO, Darmstadt, Germany) kullanıldı. Agaroz jel ve tank tamponu hazırlanmasında 10xTAE [Tris - Asetik Asit – Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA)] tamponu kullanıldı. Mikro dalga fırın ile ısı sağlanarak 0,5xTAE solüsyonu içinde agaroz çözdürüldü. Soğutulma işleminden sonra üzerine 5μl/100ml oranında floresan nükleik asit jel boyası (Safe View Classic, ABM, Richmond, Canada) eklendi. Karıştırılmasının ardından jel küveti parçaları takılarak jel tarakları yerleştirildi. Jel küveti hazır hale geldikten sonra karışım küvetin içine döküldü ve 20 dakika beklendi. Bekleme sonrasında donan jel elektroforez tankına yerleştirildi. Jel taraklara ürün yüklemesi yapmak için çıkartıldı. Elektroforez tankına yükleme jeli oturtulduktan sonra elde edilen PCR ürünleri jele yükleme boyası (6X Thermo Scientific Loading Dye) ile parafin kağıt üzerinde karıştırılarak yüklendi. Yükleme boyası kullanılırken kesilen parafin kağıt üzerine, her bir örnek sayısı kadar ayrı ayrı boya, pipet yardımıyla konuldu. Boyaların üstüne 2 μl örnek konularak pipetasyon yapıldı.

Ürün büyüklüğünün yaklaşık olarak belirlenmesi için 100 baz çiftlik (bp) merdiven (ThermoFisher 100 bp plus, Waltham, MA USA) solüsyonundan en dıştaki kuyucuklara 1 μl yüklendi. Jele yüklenen ürünlere uygulanan elektroforez işlemi Resim 1’de gösterilmiştir. Elektroforez cihazı 25 dakika zaman ayarına ve 100 Volt/cm elektrik akımına ayarlanarak başlatıldı. Elektroforez cihazı bitiş alarmı verdikten sonra jel dikkatlice alınarak jel görüntüleme sistemi (BLooK, GeneDireX, Taipei, Taiwan) aracılığıyla mavi ışık altında PCR sonucu elde edilen amplikonlar görüntülendi. Pozitif kontrol, negatif kontrol ve merdivenlerin ilerlemesi baz alınarak kontrolü yapıldı ve bant oluşumları değerlendirildi.



Resim 1.Elektroforez uygulaması.

#### 3.2.2.4. Sekans Analizi

PCR analizi sonrası elde edilen amplikonlara sekans analizi yapıldı. Bunun için elde edilen amplikonlar, hizmet alımı ile firmaya gönderildi (BM Labosis, Ankara). Sekans analizi öncesi tüm PCR ürünleri ticari kit kullanılarak (InvitrogenPureLink® Quick Gel Extractionand PCR Purification Combo Kit Waltham, MA USA) purifiye edildi. Sekans analizi için Sanger dideoksigenin metodu kullanıldı. Sekanslama işlemi Beckman Coulter CEQ-8000 Analyzer® ile yapıldı. Elde edilen ham data işlenmek üzere laboratuvardan teslim alındı.

#### 3.2.2.5. Moleküler *in silico* analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması

Sekans analizi sonrası elde edilen ham veriye ait histogram ve ilgili nükleotit atamaları FINCH TV (GeoSpizaInc., http://www.geospiza.com/Products/finchtv.html) programı ile kontrol edildi. Arka fonda zayıf histogramlar ve terminal bölgelerdeki bazı yanlış okumalar düzeltildi. İşlem sonrası sekansların doğruluğunu ve uyuşma yüzdeliğini sorgulamak için web-tabanlı *“Basic Local Alignment Search Tool”* (BLAST) programı kullanıldı. Temizlenen ve konfirme edilen sekanslar “Banklt” arayüzü kullanılarak GenBank veri tabanına girildi. Her sekansa ait “accession” numaraları GenBank veri tabanında sağlanılarak bulgularda sunulmuştur.

Filogenetik ağaç oluşturmak ve moleküler analiz yapmak için elde edilen sekanslarla ilişkili referans izolatlara ait sekans verileri yine bir web-tabanlı program olan GenBank veri tabanından FASTA formatında (.fas, .fasta) çekildi. İndirilen referans sekanslara ait GenBank “accession” numaraları ve bilgileri Ek-3’de sunulmuştur. Genbank veri tabanından indirilen referans sekanslar ve tez çalışmasında elde edilen sekanslar BioEdit (Hall, 1999) programı kullanılarak hizalandı. Hizalama işlemi Clustal W algoritması kullanılarak yapıldı. Hizalama sonrası terminal uçlarda yeralan örtüşmeyen bölgeler kesilerek çoklu hizalama sağlandı (multiple alignment). Hizalama dosyası filogenetik ve translasyonel analiz için FASTA (.fas, .fasta) formatında kaydedildi.

Filogenetik ağacı oluşturmak için kaydedilen hizalama dosyası “Molecular Evolutionary Genetics Analysis” (MEGA, v11, 2021) “alignment editor” kullanılarak açıldı. Hizalama dosyası MEGA (.meg, .mas) formatında ayrıca kaydedildi. Ayrıca filogenetik analiz işlemi başlatılarak protein kodlayan bölge (VP2, kapsid protein) olarak tanımlandı. Filogenetik ağaç için iki farklı metot uygulandı. Neighbor-Joining (NJ) filogenetik ağacını oluşturmak için Tamura-Nei parametresi ve 1000 bootstrapping tekrarlama algoritması seçildi. Maximum-likelihood (ML) ağacını oluşturmak için ise MEGA programında yer alan “Find best model” ile ML ağacına en uygun parametre belirlenmesi sağlandı. “Find best model” işlemi sonrası en uygun parametre Tamura-Nei modeli olarak belirlendi. ML ağacının oluşturulması için yine MEGA’da 1000 bootstrapping tekrarlama ve alt tür ayrımı sağlayan “gamma distribution” sayısı 2 olarak seçildi. Filogenetik ağaç oluşturulmasından sonra ilgili genogruplar ağaç üzerinde belirtilmiştir. En yüksek log olasılığına sahip ağaç (-3871.6223) gösterildi. İlişkili taksonların bir arada kümelendiği ağaçların yüzdesi dalların yanında gösterildi. Sezgisel arama için ilk ağaç(lar), “Komşu Birleştirme” yönteminin Maksimum Bileşik Olabilirlik (MCL) yaklaşımı kullanılarak tahmin edilen bir ikili mesafe matrisine uygulanmasıyla elde edildi. Siteler arasındaki evrimsel hız farklılıklarını modellemek için ayrı bir Gama dağılımı kullanıldı (2 kategori (+G, parametre = 0.1000)). Oran varyasyon modeli, bazı sitelerin evrimsel olarak değişmez olmasına izin verdi ([+I], %23,6854 siteler). Ağaç, alan başına ikame sayısıyla ölçülen dal uzunlukları ile ölçeğe göre çizildi.

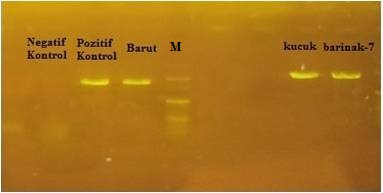
BioEdit programında hizalama sonrası “Toggle translation” seçeneği ile nükleotitlerin ifade ettiği amino asitler incelenmiştir. Özellikle konakçı değişiminde ve patogenez olarak farklılık yaratabilecek amino asit değişimleri ayrıca incelenmiştir.

Sekansların hizalamada bulunan diğer sekanslar ile karşılaştırmalı olarak nükleotit benzerlik ve özdeşlik oranları (similarity/identity) Matrix Global Alignment Tool MatGaT v2.0 (Campanella ve diğerleri, 2003) ile elde edilmiştir. Bu veriler excel (.xls, .xlsx) dosya formatında çalışmada sunulmuştur.

Hizalamada karşılaştırılan referans sekanslar ile çalışmada elde edilen yeni sekanslar arasında herhangi bir rekombinasyonel durum varlığı olup olmadığı Recombination Detection Program (RDP v4.97 Beta) ile sorgulandı (Martin ve diğerleri, 2015). Ayrıca nükleotit bazlı “distance-plot-analysis” işlemi yapılarak VP2 gen bölgesi üzerinde kısmi uzaklıklar görselleştirildi.

# 4. BULGULAR

Çalışma kapsamında, parvovirus şüpheli 25 kedi ve 25 köpeğe ait numuneden; 4 (%16) tanesi köpeklere, 3 (%12) tanesi ise kedilere ait numunelerden olmak üzere toplam 7 (%14) numunede parvovirus pozitif tespit edildi. Çalışmada ilgili gen olan VP2’nin tümü 1755 bp olarak söz konusu 7 numunede amplifiye edilmiştir. Kan ve swab numuneleri uyumlu çıkmıştır. Amplifiye edilen bazı örneklere ait resimler Resim 2’de sunulmuştur.

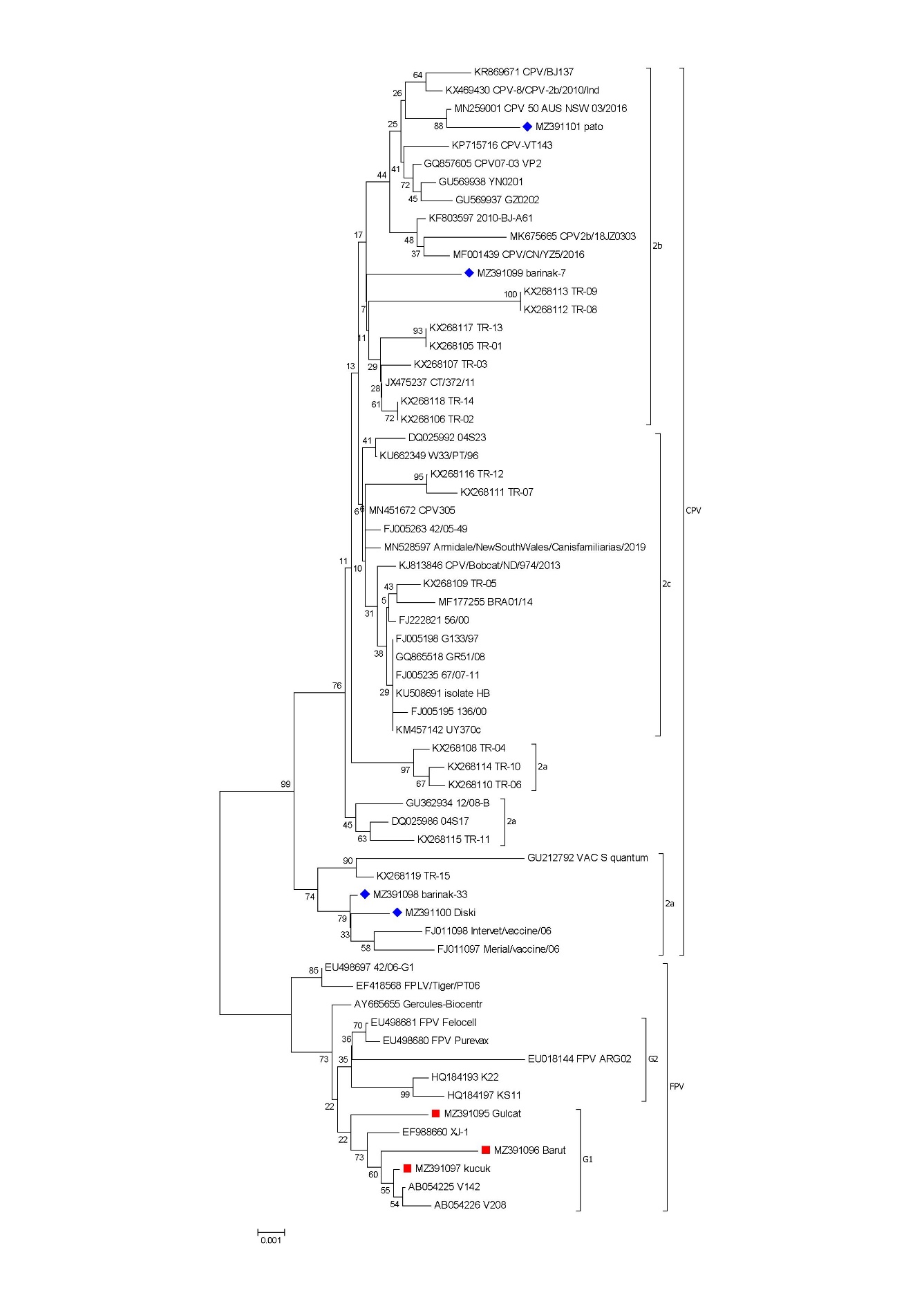


Resim 2. PCR ürünlerinin elektroforez sonrası görüntüleme cihazındaki görüntüsü. M: Merdiven, Parvovirus pozitif numuneler (Barut, kucuk, barinak-7).

Elde edilen PCR ürünlerine sekans işlemi öncesi purifikasyon işlemleri uygulanmıştır. Sekans sonrasında elde edilen ham data programlar ile gözden geçirilmiştir. Bunun sayesinde ilgili sekansın okunma güvenilirliği konfirme edilmiştir. Kan numunesi pozitif çıkan hayvanlar arasında sadece bir köpeğe ait dışkı numunesi elde edilmiş olup iki numuneye de (kan ve swab) ait sekans sonucu arasında herhangi bir farklılık tespit edilemiştir. Bu yüzden Diski (MZ391100) olarak isimlendirilen numunenin moleküler işlemleri için tek sekans baz alınmıştır.

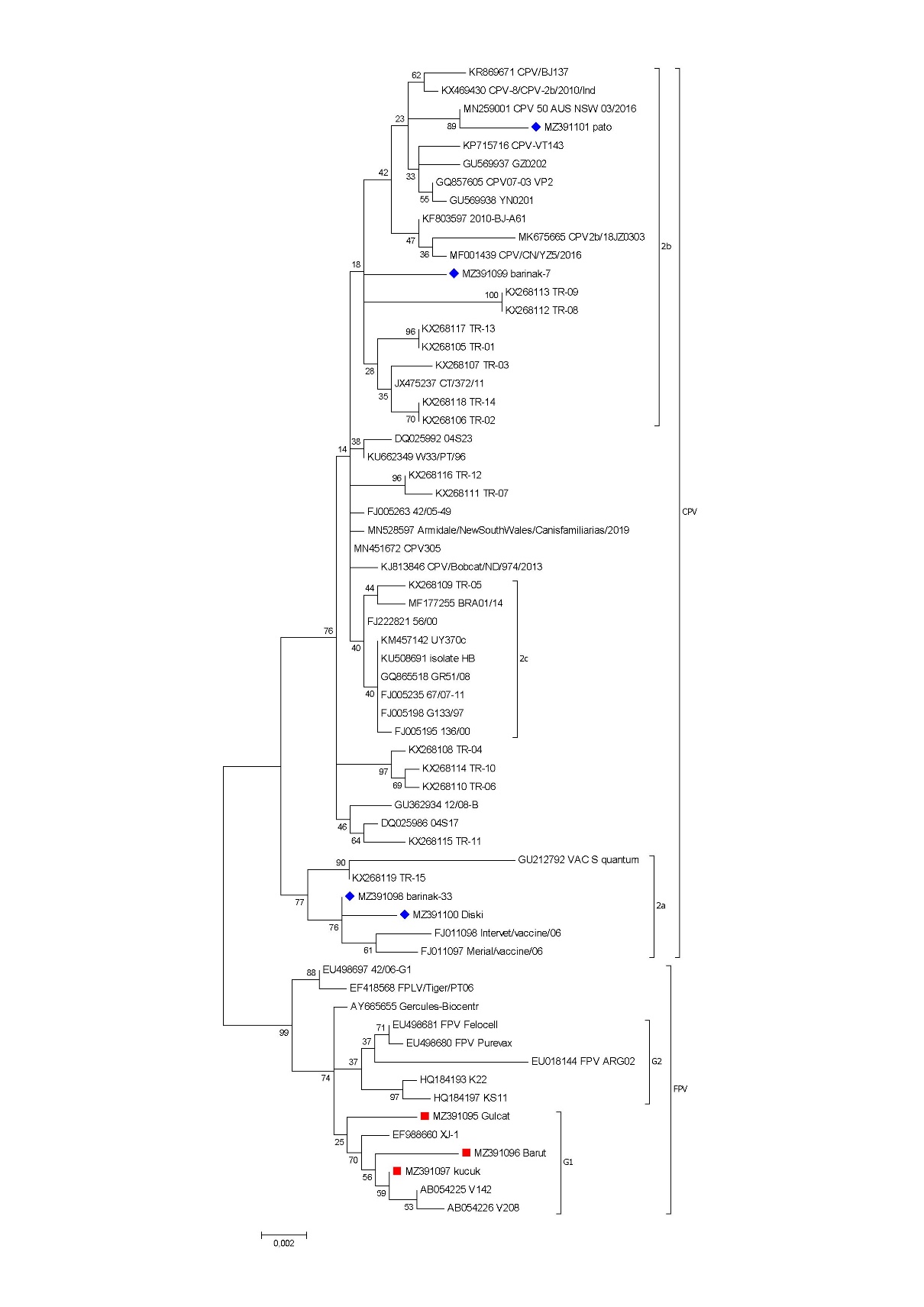
Filogenetik analiz iki farklı metot kullanılarak yapılmış olup her iki farklı metot sonucu da benzer çıkması verilerin doğruluğunu göstermiştir. Neighbor-Joining (NJ) metotla yapılan filogenetik ağaca bakıldığında CPV ve FPV’ye ait suşların ana iki dal oluşturduğu görülmüştür (Şekil 10). Ağaç topografisinde CPV-2a, 2b ve 2c olarak, FPV ise G1 ve G2 olarak altgrup ayrıldığı tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen FPV sekansları Genogrup G1 içerisinde yer almıştır. CPV sekanslarından barinak-33 (MZ391098) ve Diski (MZ391100) CPV-2a altında aşı suşlarına yakınlık göstermiştir. Maksimum-likelihood (ML) metodu ile yaptığımız filogenetik değerlendirmede de aynı genogruplaşma tespit edilmiştir. FPV sekansları G1 geno grubunda yer alırken, CPV sekansları 2a ve 2b genogrubunda yer almıştır (Şekil 11).

Elde edilen FPV sekansları kendi aralarındaki benzerlik ve özdeşlik oranları değerlendirmesinde yüksek homoloji göstermiştir. Buna göre; Gulcat (MZ391095), Barut (MZ391096) ile %98,9; kucuk (MZ391097) ile %99,1 oranında benzerlik ve özdeşlik göstermiştir. Gulcat (MZ391095) elde edilen CPV sekansları barinak-33 (MZ391098) ile %98,3; barinak-7 (MZ-391099) ile %98,0; Diski (MZ391100) ile %98,1 ve son olarak pato (MZ391101) ile %97,5 oranında benzerlik göstermiştir. Barut (MZ391096), barinak-33 (MZ391098) ile %98,6; barinak-7 (MZ-391099) ile %98,2; Diski (MZ391100) ile %98,3 ve son olarak pato (MZ391101) ile %97,8 oranında benzerlik göstermiştir. Kucuk (MZ391097), barinak-33 (MZ391098) ile %98,9; barinak-7 (MZ-391099) ile %98,5; Diski (MZ391100) ile %98,6 ve son olarak pato (MZ391101) ile %98,1 oranında benzerlik göstermiştir. Gulcat (MZ391095), GenBank veri tabanından indirilen referans sekanslar içerisinde en yüksek özdeşliği ve benzerliği (%99,1) XJ-1 (EF988660) ile göstermiştir. Barut (MZ391096) referans sekanslar içerisinde en yüksek benzerliği V142 ve V208 ile göstermiştir; en homolojik özdeşliği ise %99,5 oranında V142 (AB054225), V208 (AB054226) ve XJ-1 (EF988660) suşları ile göstermiştir. Kucuk (MZ391097), referans suşlardan en yüksek benzerliği V142 ve V208 ile göstermiştir (%99,9). Kucuk (MZ391097) en yüksek özdeşliği ise %99,5 oranında V142 (AB054225), V208 (AB054226) ve XJ-1 (EF988660) suşları ile göstermiştir. Elde edilen CPV sekansları kendi aralarında FPV sekanslarına benzer şekilde yüksek homoloji göstermiştir. Barinak-33 (MZ391098), barinak-7 (MZ-391099) ile %99,2; Diski (MZ391100) %99,8 ve pato (MZ391101) ile %98,7 oranında benzerlik, aynı oranlarda da özdeşlik göstermiştir. Barinak-7 (MZ-391099), Diski (MZ391100) ve pato(MZ391101) ile %99,0 oranında hem özdeşlik hem benzerlik sergilemiştir. Diski (MZ391100) ile pato (MZ391101) ise %98,6 oranında benzerlik ve özdeşlik göstermiştir. Detaylı benzerlik ve özdeşlik oranlarını Tablo 6’da bulabilirsiniz.



Şekil 10. Neighboor-Joiningmetot kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç.

\*Filogenetik analiz sonucunda FPV sekansları G1’de yer almıştır ve“■” simgesi ile gösterilmiştir. CPV sekansları ise 2a ve 2b genogruplarında“♦”simgesi ile gösterilmiştir.



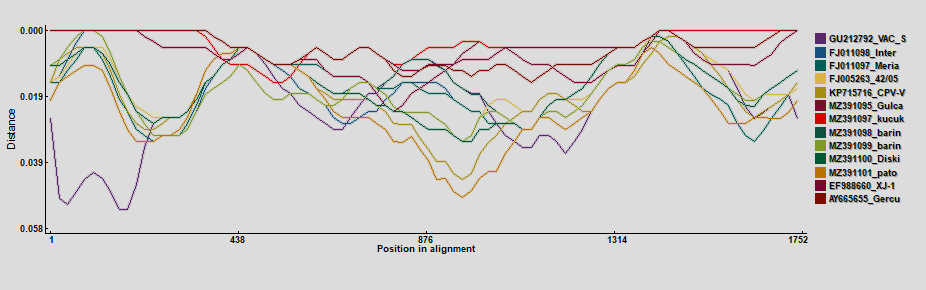
Şekil 11. Maksimum likelihood yöntemiyle oluşturulan moleküler filogenetik ağaç.

\* Filogenetik analiz sonucunda FPV sekansları G1’de yer almıştır ve “■” simgesi ile gösterilmiştir. CPV sekansları ise 2a ve 2b genogruplarında “♦” simgesi ile gösterilmiştir

# 

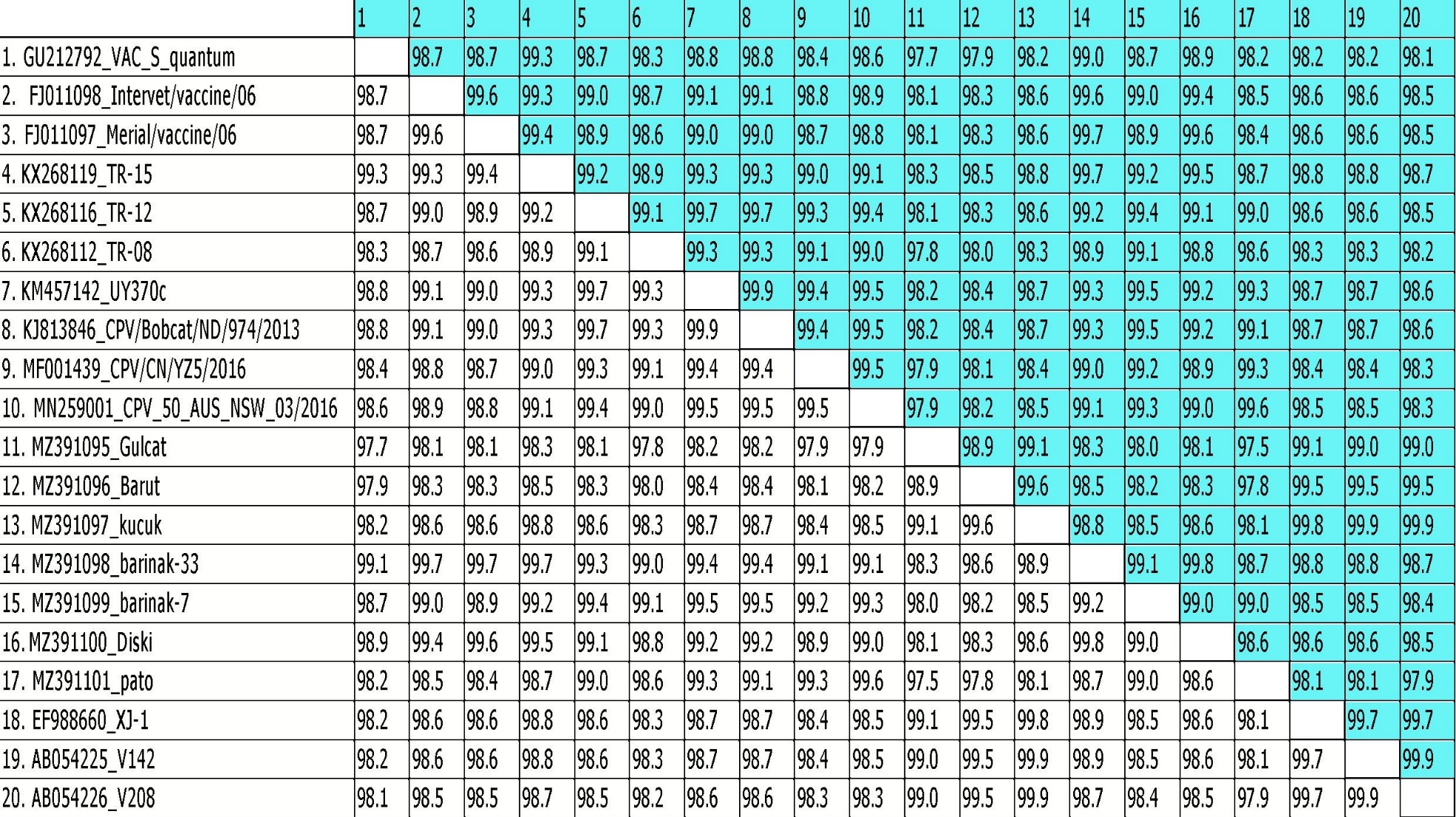
Şekil 12. RDP4 programında komple VP2 gen hizalamasındaki rekombinasyon araştırılması.

RDP4 programında sorgulanan karşılaştırılmalı rekombinasyon sorgulaması sonrası, moleküler analiz kapsamında kullanılan 63 sekans arasında herhangi bir rekombinasyonel sinyal alınamamıştır (Şekil 12). Ancak aşı suşları, referans bazı suşlar ile tez çalışmasına ait sekanslar üzerinde yapılan “manual-distance-plot” analizinde VP2 gen bölgesinin belirli bölgelerinde kritik farklılıkların olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 13). Özellikle VAC\_S ile sorgulanan sekanslar arasında 1. – 438. nükleotit aralığında ayrım söz konusudur. Bu bölge “Parvo-coat” proteinini kodlayan domaini içermektedir.



Şekil 13. RDP4 programında referans ve tez çalışmasına ait örneklerin hizalama dosyası üzerinde yapılan komple VP2 genine ait nükleotit farklılıklarını gösteren plot analizi.

Tablo 6. Filogenetik ağaçta genogrupları temsil eden referans ve bu çalışmada elde edilen sekansların benzerlik ve özdeşlik tablosu (identity/similarity matrix)[[2]](#footnote-3). Tez çalışmasında elde edilen sekanslar 11.-17. numaralar arasındadır.



# Komple VP2 gen bölgesi hizalaması üzerinde yapılan amino asit analizi (toggle translation) sonucunda FPV ve CPV suşlarında yer alan noktasal amino asit değişimleri tablolaştırılmıştır (Ek-4). Konakçı belirlenmesini sağlayan ve çalışma sekanslarında referans suşlara göre farklılık gösteren kritik noktasal değişimler izlenmiştir. Buna göre; 5. aa. üzerinde pato (MZ391101) sekansında Alanin Glisin’e (A→G) dönmüştür. 87. aa. düzeyinde pato (MZ391101) haricindeki tez çalışmasındaki tüm sekanslar Lösin’den Metionin’e (L→M) dönüşmüştür. 101. aa. düzeyinde barinak-33 (MZ391098) ve Diski (MZ391100) sekanslarında Treonin’den Izolösin’e (T→I) dönüşüm gerçekleşmiştir. 156. aa. düzeyinde barinak-7 (MZ-391099)’de Serin’den Fenilalanin’e (S→F) dönüşüm olmuştur. 232. aa. düzeyinde FPV sekanlarımızda İzolöysin Valin’e (I→V) dönmüştür. 267. aa. düzeyinde pato (MZ391101)’da Fenilalanin Tirozin’e (F→Y) dönmüştür. 300. aa. düzeyinde FPV çalışma sekansları ile barinak-33 (MZ391098) sekansında Glisin Alanin’e (G→A) dönüşmüştür. Yine 300. aa. düzeyinde Diski (MZ391100)’da Glisin Aspartik asit’e (G→D) dönüşmüştür. 305. aa. barinak-33 (MZ391098) ve Diski (MZ391100) sekanslarında Tirozin Aspartik asit’e (Y→D) dönüşmüştür. Pato (MZ391101) sekansında 324. aa. Tirozin İzolöysin’e (Y→I) dönüşmüştür. 375. aa. düzeyinde barinak-33 (MZ391098) ve Diski (MZ391100)’da Aspartik asit Asparjin’e (D→N) dönmüştür. 426. aa. düzeyinde barinak-7 (MZ-391099) sekansında Asparjin’den Aspartik asit’e (N→D); pato (MZ391101) sekansında ise Asparjin Glutamikasit’e (N→E) dönüşmüştür. 564. aa. düzeyinde elde edilen CPV sekanslarında Asparjin’den Serin’e (N→S) dönmüştür. 568. aa. düzeyinde ise elde edilen CPV sekansları Alanin’den Glisin’e (A→G) dönüşmüştür.

# 5. TARTIŞMA

Canine parvovirus ve feline panleukopenia virusu günümüzde pet hayvanlarında en sık görülen enfeksiyon ajanlarından olup bu iki virus arasında sıkı bir antijenik, filogenetik, evrimsel bir ilişki mevcuttur. Bu yüzden ICTV bu iki virusu ve yakın orijinli olan diğer virusları *Carnivore protoparvovirus 1* tipi olarak identifiye etmiştir. Hatta bu iki virus klinik olarak da benzer bulgulara sebep olmasından ötürü türler arası geçiş ve çevre kontaminasyonu açısından da büyük önem taşımaktadır. Pet hayvanları için parvovirusun evrimsel tarihine bakıldığında CPV-2’nin FPV’den köken aldığı görüşü kabul edilmektedir. Bu görüşe göre; FPV, 1900’lü yılların başında kedigiller ve vahşi hayvanlar arasında görülen dominant parvovirus türü iken 1974-1978 yıllarında kapsid proreinini kodlayan VP2 bölgesinde meydana gelen 6-7 amino asitlik noktasal mutasyon CPV-2’nin ortaya çıkmasına neden olmuş ve köpekler arasında panzootik olarak yaygın görülen parvovirus alt tipi olmuştur (Miranda ve Thompson, 2016; Truyen, 2006). 1979-1980 yıllarında ise CPV-2’nin VP2 gen bölgesinde bulunan 5-6 amino asit üzerinde meydana gelen değişiklik sonucunda CPV-2a ortaya çıkmıştır. CPV-2a’nın da aynı gen bölgesi üzerinde 426. aa. üzerinde 1984 ve 2000 yıllarında meydana gelen noktasal mutasyonlar yoluyla da CPV-2b ve CPV-2c alt tipleri ortaya çıkmıştır (Miranda ve Thompson, 2016; Truyen, 2006). Parvovirusun tek iplikçikli DNA genomuna sahip olması ve ekolojide çok yaygın olarak görülmesi, onu moleküler açıdan da dinamik hale getirmektedir. Özellikle CPV ve FPV arasındaki yüksek etkileşim sonucunda ortaya çıkan varyantlar, söz konusu moleküler bilgilerin sürekli güncel tutulmasını zorunlu kılmaktadır. Ancak bu sayede parvoviruslarla mücadele etkin bir şekilde yapılabilmektedir. Bu amaçla tez çalışmasında CPV ve FPV’nin köpek ve kedilerdeki moleküler varlıkları ve yapıları karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Dünya’da CPV ve FPV’nin eş zamanlı olarak kedi ve köpek numunelerinde moleküler araştırılması sınırlıdır. Ülkemizde ise bu tip çalışma mevcut değildir (Allison ve diğerleri, 2013; Wu ve diğerleri, 2015).

Tez çalışmasında, tür geçişinin nedeni olan mutasyonların birikim noktası olarak bilinen VP2 gen bölgesi, parvovirusun moleküler varlığı ve karakterizasyonu için hedef alındı. Yapılan PCR test sonucunda 25 kediye ait numuneden 3 tanesinde FPV pozitiflik elde ederken (%12); 25 köpeğe ait numuneden 4 tanesinde CPV pozitifliği elde edilmiştir (%16). Toplam 50 hayvanda ise 7 adet parvovirus pozitifliği saptanmıştır (%14). Bu sonuçları ülkemizde daha önce yapılan çalışmaların verileri ile karşılaştırdığımızda genel olarak uyumlu bulunmuştur.

Tür ayrımı olmaksızın parvovirus şüpheli hayvanlardan alınarak incelenen toplamda 50 örneğin; 12 tanesine aşı uygulanmış (%24), 38 tanesine ise aşı uygulanmamıştır (%76). Pozitif olarak tespit edilen 7 örnekten 3 tanesi aşılı (%42,85) hayvan olduğu, 4 tanesinin aşısız (%57,15) olduğu görülmüştür.

Bu tez çalışmasında incelenen toplam 25 köpekten; 16 tanesi aşılı (%64), 9 tanesi aşısız hayvandır (%36). Parvovirus pozitiflik gösteren 4 köpek numunesinden; 1 tanesi aşılı, 3 tanesi aşısızdır. Çalışmada parvovirus varlığı yönünden analiz edilen 25 kedi örneğinden, 20 tanesi aşılı (%80), 5 tanesi ise aşısız hayvandır (%20). Parvovirus pozitif bulunan 3 kedi örneğinden 2 kedi aşılı,1 kedi aşısızdır.

Singh ve diğerleri (2021), yaptıkları çalışmada klinik olarak CPV belirtileri gösteren 118 köpekten alınan rektal sürüntü örneklerini moleküler düzeyde incelemişlerdir. Pozitif numuneleri % 75,90 oranında aşılanmamış, % 24,10 oranında aşılanmış hayvanlarda tespit edilmiştir. Aşılı hayvanlarda gözlenen CPV varlığı tez çalışmasıyla uyumluluk göstermiştir. Aşılı hayvanlarda dahi parvovirus varlığının tespit edilmesi aşıların etkinliği açısından kuşku oluşturmaktadır. Bu konuya birçok çalışma dikkat çekmiştir (Jiang ve diğerleri, 2021; Muz ve diğerleri, 2012; Wang ve diğerleri, 2016). Parvovirusların hızlı mutasyonel değişikliği nedeniyle aşıların genotipe özgü yeterli bağışıklık oluşturamadığı söylenebilir. Bazı çalışmalar aşıların bölgede hakim olan baskın varyanta göre revize edilmesi gerektiğini vurgulamıştır (de Oliveira ve diğerleri, 2019; Zobba ve diğerleri 2021).

Çalışmada parvovirus yönünden pozitiflik gösteren 7 örnekten; 2’si köpek, 2’si kedi olmak üzere 4 adet hayvan (%57,1) 12 aylık veya 12 aylıktan küçüktür. 2’si köpek, 1’i kedi olmak üzere toplam 3 hayvan (%42,9) 12 aylıktan büyüktür. Örnek sayısı epidemiyolojik açıdan net veri sağlamasa da tez sonuçlarına göre 12 aylıktan küçük hayvanlarda daha fazla parvovirus varlığı bulunmuştur. Gargari ve Karaoğlu (2015) çalışmasında CPV pozitif hayvanlardan 10 tanesi 3 aydan küçük, 15 tanesi 3-6 ay arasında ve 9 tanesi 6 aydan büyük olarak belirtmiştir. Behera ve diğerlerinin (2015) yaptığı başka bir çalışmada PCR ile analiz edilen 71 örnekten 29’u (%40,85) pozitif bulunmuştur. Yaş bazında yapılan prevalans araştırmasına göre; %41,37 oranında 3-6 aylık yaş grubunda daha fazla görüldüğünü bildirmişlerdir. Takiben %27,59 oranında 1-3 ay ve %27,59 oranında 6-12 ay grubunda gözlenmiştir. %3,45 oranında en az 12 aydan büyük yaş grubunda gözlendiğini bildirmişlerdir. Önceki çalışmalara bakıldığında 6 aylıktan küçük hayvanlarda daha fazla enfeksiyon oluştuğu belirtilmiştir (Stuetzer ve Hartmaan, 2014). 12 ay üstünde daha az parvovirus varlığının saptanmasında; aşılama programları, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, çevresel etkilere bağlı olarak antikor oluşumunun sağlanması etkili olabilir.

Berkin ve diğerleri (1981)’nin yaptığı çalışmada enteritli köpeklerde Türkiye’de ilk defa parvovirus varlığı gösterilmiştir. Ayrıca Berkin ve diğerleri (1986) yaptıkları retrospektif çalışmada Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda 1973 ve 1984 yılları arasındaki nekropsi raporlarına göre toplam 523 köpekte parvoviral enterit varlığını %7,6 olarak belirlemiştir.

Canine parvovirusun ülkemizde ilk moleküler tanısını Özkul ve diğerleri (2001) enteritli bir köpekte PCR metodunu kullanarak yapmıştır.

Muz ve diğerleri (2012) tarafından yapılan bir diğer moleküler çalışmada ise 25 evcil kedide CPV varlığı tespit edilmiştir (25/65; %38,5).

Karaoğlu (2013) tarafından yapılan diğer bir moleküler çalışmada ise 79 enteritli köpeğe ait dışkı örneklerinin 40 adedinde parvovirus pozitiflik tespit etmiştir (40/79; %50,6).

Gargari ve Karaoğlu (2015)’nda yaptığı doktora tez çalışmasında ise toplam 100 köpeğe ait numunenin 52 adedi PCR ile pozitif bulunmuştur (%52).

Timurkan ve Oğuzoğlu (2015) yaptığı moleküler çalışmada 64 köpeğin 25’inde CPV pozitiflik elde etmiştir (25/64; %38,4).

Gür ve Avdatek (2016) Afyon’da yaşları 3 ay ile 6 yaş arası yaşları değişen 151 sokak kedisinden toplanan kan örnekleriyle yaptılar. Antikor ELISA test kitiyle 24 örneğin FPV antikor pozitif olduğunu bulmuşlardır (24/151; %15,9).

Kale ve diğerlerinin (2017) antikor ELISA kullanarak yaptığı Burdur ve yöresindeki çalışmada, CPV enfeksiyonun 6 aylıktan küçük köpeklerde prevalans değerini (4/117; %3,42) bulmuştur, CPV enfeksiyonun erkeklerde daha fazla görüldüğünü ortaya koymuştur. Araştırıcılar, bunun sebebinin erkek köpeklerde üstünlük kurma mücadelesine bağlı olarak daha çok birbiriyle temasta bulunması bulaşıcılığı arttırdığına dayandırmışlardır (Kale ve diğerleri, 2017).

Dinçer ve Timurkan (2018) Mersin’de yaptıkları çalışmada gastroenteritis semptomu görülen 16 kedi dışkı örneğini FPV yönünde moleküler olarak incelemişler ve 4 ü dişi 3 ü erkek 7 örneği FPV pozitif bulmuşlardır (%43,75). Pozitif örnekler genellikle 2 yaş altında gözlemlendiği bildirilmiştir. Dişi ve erkeklerde görülme sıklığı arasında net fark görülmemiştir.

Aydın ve Timurkan (2018) Erzurum’da yaptıkları çalışmada 50 FPV şüpheli kedi örneğinden PCR ile moleküler olarak VP2 genini analiz edip 5’ini pozitif bulmuşlardır (%10). Yaptıkları sekans analizinin sonrasında Asya suşları ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca FPV nin Avrupa suşlarıyla yakın olduğunu da göstermişlerdir (G1). Bu tez çalışmasında FPV izolatları benzer şekilde G1 genogrubunda yer almıştır. Bu çıktı ülkemizde görülen FPV’lerin birçoğunun G1 genogrubunda yeraldığı görüşünü güçlendirmiştir. G1 genogrubunda aşı suşlarına yakın monofiletik olarak çalışma sekanslarının yer alması aşılar üzerine bir kez daha düşünülmesi gerektiğini göstermiştir. Benzer şekilde İtalya’da yapılan birçok moleküler çalışma sahadan izole edilen sekansların aşı suşlarına ait sekanslar ile aynı filogenetik grupta yer alması aşı güvenilirliği hakkında düşünülmesi gerekliliğinin altını çizmiştir (Mira ve diğerleri 2019; Tucciarone ve diğerleri 2021; Zhou ve diğerleri 2017).

Türkiye’de yapılan bu çalışmaların birçoğu net bir epidemiyolojik veri sağlamamakla beraber hem CPV hem de FPV varlığı genel olarak %3 ila %60 aralığında saptanmıştır. Epidemiyolojik açıdan değerlendirebilmek için daha geniş popülasyon ve zaman aralığında değerlendirmesi daha sağlıklı olacaktır. Bu açıdan bakıldığında bu tez çalışması ile, epidemiyolojik bir veri sağlamamakla beraber, Türkiye’de ilk defa kedi ve köpeklerde eş zamanlı FPV ve CPV araştırması yapılmıştır. Moleküler açıdan bakıldığında ise ülkemizde özellikle son yıllarda artan çalışmalar dikkat çekmektedir (Akkutay ve diğerleri, 2019; Akkutay ve diğerleri 2020; Aydın ve Timurkan, 2018; Dinçer ve Timurkan, 2018; Gargari ve Karaoğlu, 2015; Koç ve Oğuzoğlu 2016; Muz ve diğerleri 2012; Timurkan ve Oğuzoğlu, 2015)

Tez çalışmasındaki filogenetik analiz sonucunda yapılan gruplandırma ile FPV ve CPV saptanan numunelerin türe uygun olarak dallara ayrıldığı gözlemlenmiştir. Diğer bir deyişle köpekte saptanan parvoviruslar CPV-2 grubunda yer alırken; kedilerde saptanan parvovirus pozitiflikler FPV grubunda yer almıştır. CPV-2 saptanan toplam dört sekanstan iki tanesi CPV-2a diğer iki tanesi ise CPV-2b içinde yer almıştır. CPV-2c’nin genel olarak daha az yaygın ve klinik olarak daha az etkili olduğu bilgisine katkı sağlamıştır (Martella ve diğerleri 2004; Nakamura ve diğerleri 2004; Vannamahaxay ve diğerleri 2017). CPV-2c her ne kadar İtalya’da keşfedilen son varyant olsa da yapılan moleküler araştırmalarda Asya kıtasında daha yaygın görülmeye başlandığı ortaya konmuştur (Chiang ve diğerleri 2016; Hong ve diğerleri 2007; Martella ve diğerleri 2004; Nakamura ve diğerleri 2004; Vannamahaxay ve diğerleri 2017; Wang ve diğerleri 2016; Yi ve diğerleri 2016). Tez çalışmasında ortaya çıkan sonuç ise genel olarak önceki moleküler çalışmalara uyumlu olmakla beraber, bazı istisnai durumda söz konusu olabilmektedir. Koc ve Oguzoglu (2016)’nun kedi örneklerinde yapmış olduğu parvovirus enfeksiyonun moleküler analizinde iki örnek CPV-2c genogrubu içinde yer almıştır. Buna benzer ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada CPV-2 alt tiplerinin bazıları evcil kedilerde yapılan moleküler çalışma ile identifiye edilmiştir (Muz ve diğerleri, 2012). Yakın zamanda kedilerden elde edilen parvovirus izolatları ile yapılan bir başka çalışmada ise parsiyel VP2 gen bölgesi (427 bp) filogenetik değerlendirmede sekanslanan izolatlar CPV-2b ve -2c’ye yakın monofiletik dallarda yer alırken, yaklaşık komple VP2 gen bölgesi (1530 bp) ile yapılan filogenetik analizde FPV-benzeri genogrupta yer almışlardır. Bu çalışma FPV ve CPV moleküler tiplendirmesinde komple VP2’nin ne derecede kritik olduğunu göstermiştir (Akkutay ve diğerleri, 2019). Bu tip parsiyel VP2 gen bölgesi ile yapılan analizler ile kritik mutasyonel bölgelerin değerlendirilmesinin mümkün olamayacağı sonucu ortaya çıkmıştır. Özellikle Türkiye’den yer alan sekansların birçoğunun 400. ile 530. aa arasındaki bölgesi kapsamasından ötürü bunlarla yapılacak filogenetik ve moleküler analiz eksiklikler gösterebilmektedir. VP2 Parvo\_coat proteinini 1. ile 438. aa arasındaki domainin ifade ettiği düşünüldüğünde VP2 gen bölgesinin tamamının karakterize edilmesi filogenetik çalışmalar için önemlidir. Özellikle tez çalışmasındaki bulgulara bakıldığında VAC\_S referans suşun çalışmadaki sekanslar ile 1. ile 438. aa.ler aralığında farklılık göstermesi bu durumun önemli bir kanıtıdır.

Tez çalışmasında bu duruma uygun olarak komple VP2 gen bölgesi sekanslanmıştır ve moleküler olarak analiz edilmiştir. Ülkemizden daha önce GenBank veritabanına girilen komple VP2 gen bölgesine ait sekans bilgileri[[3]](#footnote-4) ile global olarak referans kabul edilen ve genotiplendirme sağlayan sekanslar GenBank veritabanından indirilmiştir. Çalışmada filogenetik analiz sonucunda köpek numunelerinden elde edilen sekanslar CPV-2a ve -2b alt tipinde yer almıştır. Özellikle barinak-33 (MZ391098)’ün ve Diski (MZ391100)’nin aşı suşlarına yakınlık göstermesi dikkati çekmiştir. barinak-33 aşılı iken Diski’nin aşısız olması aşıların ülkemizde sirküle olan parvovirusa karşı etkinliği hakkında tekrardan düşünülmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Daha önce Gargari ve Karaoğlu (2015) tarafından yapılan çalışmaya ait bir suş da aynı şekilde bu grup içinde yer almıştır. Bu sonuç süregelen yıllar içerisinde lokal aşı geliştirilmesi gerekliliğine işaret etmektedir. Akkutay ve diğerlerinin (2019) yaptığı yakın tarihli çalışmada CPV-2a ve CPV-2b nin dışında iki genogruba yakın parafiletik olarak yer alan bir grubun (CPV-2a/2b) daha varlığının olabileceğini ve Ülkemizde sirküle olabileceğini vurgulamışlardır. Bu çalışmayı destekler şekilde dünyada son yapılan çalışmalarda benzer filogenetik ve moleküler veri ortaya konmuştur (Chen ve diğerleri 2021; Mira ve diğerleri 2019). Tez çalışmasında bu olasılığı da öngörüp filogenetik analiz yanısıra RDP yazılımı ile olası rekombinasyonel sinyaller araştırıldı. Çalışmada elde edilen sekansların hiçbirinde CPV-2a/2b ve/veya herhangi farklı bir rekombinasyonel sinyal tespit edilemedi. Bu durum dünyadaki benzer çalışmalar ile karşılaştırıldığında, bu tip varyantların klinik bulgulu hayvanlar arasında daha sınırlı olduğu belirtilebilir (Chen ve diğerleri 2021; Mira ve diğerleri 2019).

Filogenetik analizler, elde edilen veriler FPV ve CPV’nin moleküler değerlendirilmesinde en önemli uygulamalardır. Ancak yapılan onca moleküler çalışmaya karşın araştırmacılar filogenetik değerlendirmede patoklinik bazlı genotiplendirmeyi mi yoksa coğrafik bazlı filocoğrafik değerlendirmenin mi daha önemli olduğu konusunda tam bir görüş birliği sağlayamamıştır (Franzo ve diğerleri 2019; Mira ve diğerleri 2019; Shackelton ve diğerleri 2005; Tion ve diğerleri 2021; Tuccaiarone ve diğerleri 2021). Bu sebepten birçok filogenetik çalışmada kesin bir genotiplendirme metodu mevcut değildir. Özellikle carnivore protoparvovirusun geniş konakçı spektrumu olması ve buna bağlı oldukça yaygın oluşu net bir değerlendirme faktörü ortaya konulmasını zorlaştırmaktadır. Böyle bir handikaptan dolayı carnivore protoparvovirus için tüm filogenetik çalışmalarda amino asit düzeyinde değerlendirme yapılması ön plana çıkmıştır (Franzo ve diğerleri 2019; Mira ve diğerleri 2019; Shackelton ve diğerleri 2005; Tion ve diğerleri 2021; Tuccaiarone ve diğerleri 2021). Özellikle *Carnivore protoparvovirus 1* içerisinde noktasal mutasyon değişimlerinin konakçı değiştirmede etkin rol oynaması bir bakıma bu analizi zorunlu kılmaktadır. Şekil 7 ve 8’de görüldüğü gibi evrimsel kronolojiye bakıldığında konakçı değişiminde kritik bazı amino asit kalıntıları ön plana çıkmaktadır (Miranda ve Thompson, 2016). Evrimsel süreçte FPV’den baz alan parvovirusun CPV-2’ye evrilerek konakçısının kediden köpeğe değişmesinde VP2 proteininde yer alan 80., 93., 103., 323., 564. ve 568. amino asitler dikkat çekmiştir. Daha sonraki süreçte ise CPV-2’nin alt tiplendirilmesinde 87., 101., 300., 305., 426. ve 555. amino asitler ön plana çıkmıştır (Decaro ve Buonavoglia 2012; Miranda ve Thompson, 2016). Birçok moleküler çalışmada üzerine çalışılmış olan bu amino asit kalıntıları yanında bazı çalışmalarda farklı kalıntıların da kritik değişikliklere yol açabileceği iddia edilmiştir. 267., 297., 440., 580. ve 584. amino asitler bazı moleküler çalışmalarda üzerinde meydana gelebilecek değişikliklerin önemli olabileceğini iddia etmektedir (Chen ve diğerleri 2021; Vannamahaxay ve diğerleri 2017; Wang ve diğerleri 2016; Yi ve diğerleri 2016).

Ek 4’de filogenetik analizde kullanılan tüm referans sekanslar ile tez çalışmasında elde edilen sekansların amino asit düzeyinde karşılaştırılması yapılmıştır. Bu karşılaştırmada farklılıklar baz alınmış olup tüm sekanslarda aynı olan amino asitler tabloda belirtilmemiştir. Çalışmada elde edilen sekansların amino asitleri genel olarak FPV, CPV-2a ve CPV-2b’ye uyumludur. Spesifik veya özgün bir değişiklik tespit edilmemiştir. Ancak genel durumu bozmamakla beraber bazı kritik noktalarda olan değişiklikler dikkat çekmiştir. Bunlardan en önemlisi Diski (MZ391100) adlı sekansta 316. aa. kalıntısının Lösin olarak saptanmasıdır. Diğer sekansların hepsinde Valin iken söz konusu aa. lösin olarak tespit edilmiştir (V316L). Konakçı ve alt tiplendirmede en kritik amino asit olan 426. aa FPV ve CPV-2a sekanslarda beklenildiği gibiyken pato (MZ391101)’da 426E (glutamik asit) olarak tespit edilmiştir. Genellikle D426E durumu CPV-2c’lerde saptanması (Miranda ve Thompson, 2016), söz konusu varyantın muhtemel varlığı ile etkileşim sonucu ortaya çıkabileceğini akla getirmiştir. Yine pato (MZ391101) için 5G, 267Y, 324I. ve 370R. aa’lerin diğerlerine göre farklı olduğu görülmüştür. Chen ve diğerlerinin (2021) çalışmada aynı değişim olan sekansların Asya kökenli olabileceği vurgulanmıştır. Bu durum CPV-2c’nin ülkemizde varlığının sınırlı olabileceğini ancak Asya’dan orijin alıyor ise gitgide CPV-2c’nin ya da farklı alt tiplerin daha yoğun görülebilmesi konusunda dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca söz konusu örneğe ait köpeğin örnekleme sonrası ölmesi söz konusu değişiklerin patoklinik ilerlemede etkili olup olmayacağını tekrardan düşündürmektedir.

Bu kapsamda son yıllarda dünya çapında yapılan önemli moleküler çalışmalar ve sonuçları aşağıda sunulmuş olup, çalışma verileri ile karşılaştırılmıştır.

Jiang ve diğerleri (2021), Çin’in Jelin eyaletinde, CPV şüpheli evcil köpeklerden 44 dışkı örneği toplanarak yaptıkları moleküler çalışmada, tam VP2 genlerinin dizi analizini gerçekleştirmişlerdir. Bu analiz sonucunda en yaygın varyant CPV-2c (n = 31; %70,4), sonrasında yeni-CPV-2a ( n = 8;% 18,2), yeni-CPV-2b (n = 4;% 9,1) , ve ardından CPV-2 (n = 1;% 2,3) tespit etmişlerdir. CPV-2c suşlarının filogenetik analizlerini yapmış ve VP2 proteininin tümü, Ala5Gly, Phe267Tyr, Tyr324Ile ve Gln370Arg mutasyonlarına sahip olduğunu belirlemişlerdir. Sadece ek yeni bir Arg481Lys mutasyonu gözlendiğini bildirilmişlerdir. Yukarda da bahsedildiği üzere tez çalışmasında sadece pato (MZ391101)’nun benzer aa değişikliklerine sahip olduğunu söyleyebiliriz ancak Jinag ve diğerleri (2021)’nin belirtiği üzere 481. aa’da böyle bir değişiklik gözlenmemiştir.

Mira ve diğerleri (2019) VP2 geni üzerine çalışmaların geniş çaplı çalışmalar yapmışlardır. Ancak NS1 geni üzerine sınırlı veri olmasından dolayı gen analizinde NS1 genin de odaklanmışlardır. 2009-2017 yılları arasında İtalya'da yapılan bu çalışmada FPV ve CPV şüpheli 18 kedi ve 29 köpekten toplanan örnekleri PCR yaparak sonrasında gen sekanslama yapmışlardır. Tüm örnekler pozitif bulunmuştur. Ayrıca, CPV'nin özelliği olarak varsayılan spesifik amino asitleri (247Q, 545E ve 595Q) FPV suşları arasında da gözlemişlerdir. VP2 gen analizine göre 18 kedinin 17 suşu FPV, bir tanesi CPV-2c şeklinde tiplendirmişlerdir. Köpeklerde CPV2a, CPV-2b ve CPV-2c varyantları tiplendirilmiştir. Sonuç olarak NS1 geninin iki soy içinde farklı evrimsel farklılıklara maruz kalabileceği gösterilmiştir. Tez çalışmasında benzer sonuçlar olmasına karşın NS1 ayrıca karakterize edilmemiştir.

Zobba ve diğerleri (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada; Akdeniz’de (Sardunya, İtalya) ciddi enterit bulgusu gösteren 39 köpekten alınan örneklere moleküler karakterizasyona tabi tutmuşlardır. Test yapılan 34 örnek CPV-2 pozitif olarak bulmuşlardır. CPV-2, % 87,2 oranıyla en sık tespit edilen suş olduğunu ortaya koymuşlardır. Önceki verilere göre yaygın suşun CPV-2c (% 53), sonrasında daha düşük oranda CPV-2a (% 40,2) ve CPV-2b (% 2,8) ve CPV-2 (% 3,7) ’yi gösterirken bu çalışmada tersi durum gözlemlemişlerdir. Daha yeni verilere göre İtalya’da yaygın varyant olarak CPV-2a'yı, ardından CPV-2b ve CPV-2c'yi göstermekte olduğunu bildirmişlerdir (Tucciarone ve diğerleri [2018](https://link.springer.com/article/10.1007/s11259-020-09785-w#ref-CR84); Battilani ve diğerleri [2019](https://link.springer.com/article/10.1007/s11259-020-09785-w#ref-CR9)).  Yaptıkları amino asit sekans analizi, CPV-2a ve CPV-2b sekans tiplerinin, 297 pozisyonunda Ser yerine Ala'ya sahip olduğunu göstermiştir. Yeni üretilen aşıların bölgeye hakim suşa göre revize edilmesi gerektiğinin önemini vurgulamışlardır. Bu çalışma yakın coğrafyada ve benzer sonuçları kapsaması açısından önemlidir. Tez çalışmasında pato (MZ391101) ve barinak-7 (MZ-391099) sekanslarında 297 aa. kalıntısının Alanin (297A) olduğu ortaya çıkmıştır. Zobba ve diğerleri (2021) belirttiği üzere CPV-2b genotipi içerisinde ciddi varyant sayısı barındırmakta olup, lokal aşı geliştirilmesi bir gereklilik arz etmektedir.

Singh ve diğerlerinin (2021) gerçekleştirdiği çalışmada ise CPV’yi moleküler açıdan inceleyerek epidemiyolojisi hakkında bilgi edinmeyi Hindistan'ın kuzey bölgelerinde baskın olan antijenik CPV tipini belirlemeyi hedeflemişlerdir. Klinik olarak CPV belirtileri gösteren 118 köpekten alınan rektal sürüntü örneklerini moleküler düzeyde incelemişlerdir. VP2 gen bölgesi hedef alınarak yapılan dizi analizinde CPV-2a’yı en yaygın tip olarak ortaya koymuşlardır. Diğer çalışmalarla uyumlu olarak cinsiyet yönünden pozitif örneklerin % 60,24 ’lük örnek erkek % 39,76 dişi olduğunu bildirmişlerdir. Pozitif numunelerden aşılanmamış % 75,90, aşılanmış ise % 24,10 oranında bulmuşlardır. Irk açısından diğer çalışmalarla uyumlu olarak Labrador retriever, Alman kurdu ve Pomeranian ırklarının CPV enfeksiyonuna daha yatkın olduğunu ve 3,5 aylıktan küçük köpeklerde daha yaygın görüldüğünü bildirmişlerdir. Tez çalışmasında bu çalışma ile görülen en büyük farklılık aşılı hayvanlarda saptanan pozitiflik oranıdır, ancak genel olarak çalışma içindeki popülasyona göre bu oranlar büyük aralıklarda değişiklik göstermektedir.

Giraldo-Ramirez ve diğerleri (2020) Kolombiya’da yaptıkları çalışmada CPV-2 şüpheli 56 dışkı örneğindentam VP2 kapsid proteinini karakterize etmişlerdir. Numunelerin % 51,7'sini CPV-2 pozitif olarak bulmuşlardır. Kolombiya'da coğrafi olarak uzak iki kökene sahip iki antijenik varyant olan CPV-2a ve CPV-2b dolaşmakta olduğunu belirtip, CPV-2c bulmadıklarını bildirmişlerdir. Amino asit dizisi analizi sonucunda ise CPV-2b'de önemli değişikliklerin olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Dolaşan antijenik varyantlar, CPV-2a ve CPV-2b, sırasıyla Güney Amerika I sınıfından ve Asya I sınıfından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Mutasyonlara bağlı olarak baskın varyant yeni CPV-2a örneklerin %93,1’inde tespit edilmiştir. CPV-2b'deki 440Ala mutasyonunu, virus-reseptör etkileşimi ile ilgili çıkarımları bildirmişlerdir ve virusun moleküler değişimlerini belirlemek ve bölgede baskın hale gelebilecek yeni CPV-2 suşlarının tespiti için karakterizasyon çalışmalarının sürdürülmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Ülkemizde son yapılan bir çalışmada da 440. aa kalıntısındaki değişikliğe dikkat çekilmiştir (Akkutay-Yoldar ve Koç, 2019). Buna karşın tez çalışmasında 440. aa düzeyinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (440Thr). 440Ala mutasyonu bu sebepten CPV-2b için zorunlu bir biyolojik olay olmayabilir.

Kulkarni ve diğerleri (2019) Hindistan’da gerçekleştirdiği çalışmada, ishal ve kusma belirtileri gösteren 150 köpekten alınan dışkı örneği toplayıp hemaglütinasyona (HA) tabi tutmuşlardır. %64 üzerinde HA titreleri gösteren örneklere DNA ekstrasyonu yapıp VP2 gen bölgesi odaklı PCR işlemi uygulamışlardır. İncelenen örnekler PCR ile %6 pozitiflik göstermiştir. Dizi analizi, izolatlar arasındaki nükleotid farklılığının %0,00–0,42 olduğunu, nükleotid homolojisinin ise %99,58–100 şeklinde belirtmişlerdir. Sekans ve filogenetik analiz işlemi yaptıklarında izolatların CPV-2a ve KATN1 (KU866391, 2014) izole edildiğini bulmuşlardır. Tez çalışmasında yapılan homoloji matriksinde benzer görünüm elde edilmiştir ve nükleotit homolojisi %98,0-99,9 olarak saptanmıştır. Bu durum Kulkarni ve diğerleri (2019)’nin elde ettiği sonuçla uyumludur.

Das ve diğerleri (2019) tarafından yapılan bir çalışmada kusma, ishal, hemorajik ishal gösteren 100 adet köpekten toplanan numunelere PCR işlemi uygulanmıştır. VP2 gen bölgesi hedefli gen sekans analizi NCBI BLAST kullanarak yapılmıştır ve filogenetik yönden değerlendirilmiştir. CPV yönünden 77 örnek pozitif bulunmuştur. Tüm VP2 gen sekanslarının canine parvovirus ile % 98-99 homolojiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışma filogenetik analizle CPV-2c’nin bölgede varlığını bulmuştur. Gen dizi analiziyle CPV'nin genomik organizasyonunun feline panleukopenia virusuna (FPV) benzediğini ve nükleotid, amino asit homolojileri; CPV için %98, FPV için % 99 olarak belirlemiştir. Tez çalışmasıyla uyum sağlamaktadır (Tablo 6).

de Oliveira ve diğerleri (2019) Brezilya’da yaptıkları çalışmada 38 CPV-2 izolatının tam VP2 gen dizisini incelemiştir. Viral varyantları, 426. aa kalıntısında sırasıyla amino asit Asn, Asp veya Glu varlığına göre CPV-2a, -2b veya -2c olarak tiplendirmişlerdir. VP2 gen bölgesinin 426. amino asit sekans analizi, 20 CPV-2c ve 4 CPV-2b izolatı tanımladı. 11 virus Yeni CPV-2a, 2 Yeni CPV-2b ve biri orijinal CPV-2'ye benzeyen ve CPV-2 benzeri olarak tanımlamışlardır. Güney Brezilya'daki köpeklerde dolaşan CPV'nin yüksek VP2 çeşitliliğine sahip olduğunu ortaya koyarak kullanılan aşı türlerinden büyük ölçüde farklı yeni viral varyantların ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Birçok çalışmada ve aynı zamanda tez çalışmasında da öne çıkan 426. aa moleküler karakterizasyonda en önemli nokta olmasına karşın, de Oliviera ve diğerleri (2019)’nin ileri sürdüğü CPV-2c alt tiplendirmesinde tek başına yeterli olmayacağı kanısı oluşmuştur. Özellikle CPV-2b’nin çok geniş olması ve farklı varyant içermesi filogeni ve tiplendirmede tekrar gözden geçirilmesi gereken önemli bir konudur.

# 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canine ve feline parvoviruslarının genetik dinamiklerinin karşılaştırılmalı olarak yapıldığı bu tez çalışması ile moleküler olarak ve indirekt olarak birçok kriter hakkında bilgi sağlanmıştır. Elde edilen bu veriler ve varılan sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çalışmanın Aydın ilinde yapılması ile canine ve feline parvovirusların lokal olarak güncel durumu belirlenmiş ve moleküler olarak analiz edilmesi sağlanmıştır. Bu verilere göre ishalli ya da gastroenteritli kedi ve köpeklerde hastalığın nedeninin parvovirus olabileceği ihtimali muhakkak göz önünde tutulmalıdır.

Parvovirus moleküler karakterizasyon sonucunda ve daha önceki verilerle de karşılaştırıldığında VP2 gen bölgesi halen en önemli karakterizasyon bölgesidir. VP2’nin kapsid proteinini kodlaması onu enfeksiyon seyrinin takibinde en önemli karakterizasyon aracı haline getirmektedir. Çalışma sonucunda özellikle 426. aa durumuna tür geçiş ve genotiplendirmede dikkat edilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bunun yanında 2b genotipi içerisinde çok farklı aa yapısına sahip örneklerin beraber aynı grupta yer alabileceği ortaya konmuştur. Sadece 426. aa değil, farklı aa bölgeleri de kontrol edilmelidir. Örneğin; 5., 101., 297., 300., 323., 324., 440. vb.). Bu bölgelerdeki değişimlerin CPV-2 içerisinde genotiplendirme sağladığı düşüncesi söz konusudur. Tez çalışmasında da bu bölgelerin mutlaka güncel olarak kontrol edilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.

Tez çalışmasına ait bir örnekte kritik değişim noktalarında aa. farklılıkları mevcut olmasına karşın CPV-2b içinde çıkmasıdır. Özellikle CPV-2b genogrubunun ayrıntılı olarak incelenmesi gerekliliği göze çarpmıştır. Türkiye’de daha önce elde edilen moleküler veriler ışığında FPV, CPV-2a ve CPV-2b en çok görülen parvovirus alt tipleridir. Tez çalışması da buna uygun olarak sonuçlanmıştır. Ancak bu gruplar içinde bile birkaç farklı mutasyon görülmesi, aşıların koruyuculuğu hakkında düşünülmesi gerektiğini göstermektedir. Özellikle geliştirilecek lokal ve yerel aşıların bu virus ile mücadelede daha etkin olacağı ihtimali ortaya çıkmaktadır.

CPV suşlarına karşı aktif olarak kliniklerde kullanılan ticari aşılar eski tip (CPV-2 bazlı) olduğu için yeni varyantlara karşı koruyuculuk oluşturmadığı çalışmalarla gösterilmiştir. Aşılanmış hayvanlarda dahi CPV enfeksiyonlarının sıklıkla görülmesi aşıların koruyuculuk derecesinin virus mutasyonlarına bağlı olarak düştüğünü göstermektedir (Truyen, 2006). Yeni parvovirus suşlarına yönelik aşılar geliştirilmelidir. Bunun için filogenetik ve epidemiyolojik çalışmalara önem verilmeli, bölgesel varyant baskınlıklarına yönelik analizler yapılmalıdır. Ayrıca virusların genetik karakterizasyonunun klinik çalışmalar ve aşı etkinliklerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi yapılmalıdır.

Türkiye’de ve bölgemizde daha fazla sayıda izolattan elde edilen VP2 geninin dizi analizi yapılması, hakim olan antijenik CPV tipini ortaya koyacaktır. Böylece epidemiyolojik çalışmalara yön vererek güçlü koruyuculuk sağlayan yeni aşıların geliştirilmesine de yardımcı olacaktır. Elde edilen tüm bu veriler işlenerek bir sonraki çalışmalara kaynak oluşturma potansiyeline sahiptir.

Gelecek çalışmalarda VP2 gen bölgesi yanısıra farklı gen bölgelerinin de araştırılıp, detaylı değerlendirilmesi düşünülmektedir. Bu bölgeler içerisinde öne çıkan gen bölgesi ise NS1’dir. Ancak komple genom analizleri değerlendirme açısından çok daha güvenilir ve daha fazla veri sağlayabilecek niteliktedir.

# KAYNAKLAR

Ahmed, N., Riaz, A., Zubair, Z., Saqib, M., Ijaz, S., Nawaz-Ul-Rehman, M. S., Al-Qahtani, A., Mubin, M. (2018). Molecular analysis of partial VP-2 gene amplified from rectal swab samples of diarrheic dogs in Pakistan confirms the circulation of canine parvovirus genetic variant CPV-2a and detects sequences of feline panleukopenia virus (FPV). *Virology Journal*, 15(1), 45 doi: 10.1186/s12985-018-0958-y.

Akkutay-Yoldar, Z ve Taylan Koç, B. (2019). Molecular characterization of partial and nearly full parvovirus VP2 gene sequences from Turkish domestic cats*. Veterinaria México*, 6(4), 1-12. doi: [10.22201/fmvz.24486760e.2019.4.643](http://dx.doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.4.643)

Allison, A. B., Kohler, D. J., Fox, K. A., Brown, J. D., Gerhold, R. W., Shearn-Bochsler, V. I., Holmes, E. C. (2013). Frequent cross-species transmission of parvoviruses among diverse carnivore hosts. *Journal of virology*, *87*(4), 2342-2347. doi: 10.1128/JVI.02428-12.

Allison, A.B., Kohler, D.J, Ortega, A., Hoover, E.A., Grove, D.M., Holmes, E.C., Parrish, CR. (2014). Host-specific parvovirus evolution in nature is recapitulated by in vitro adaptation to different carnivore species. [*Plos Pathogens,* 10(11):e1004475. doi: 10.1371/journal.ppat.1004475.](https://en.wikipedia.org/wiki/PLOS_Pathogens)

An DJ, Jeong W, Jeoung HY, Yoon SH, Kim HJ, Park JY, Park BK. (2011). Phylogenetic analysis of feline panleukopenia virus (FPV) strains in Korean cats. [*Research in Veterinary Science,* 90(1):163-7. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.05.010.](https://www.sciencedirect.com/journal/research-in-veterinary-science)

Aydın, H., ve Timurkan, M.Ö., (2018). A pilot study on feline astrovirus and feline panleukopenia virus in shelter cats in Erzurum, Turkey. *Revue De Medecıne Veterinaıre*, vol.169, 52-57.

Aydoğdu, U., Coşkun, A., Başbuğ, O., Ağaoğlu, Z. T. (2018). Parvoviral enteritisli köpeklerde total oksidan-antioksidan durum ile oksidatif stres indeksinin değerlendirilmesi. *[Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,](http://veteriner.fusabil.org/summary.php3?id=1292)* [32(3), 161-164.](http://veteriner.fusabil.org/summary.php3?id=1292)

Battilani, M., Scagliarini, A., Ciulli, S., Morganti, L., Prosperi, S. (2006). High genetic diversity of the VP2 gene of a canine parvovirus strain detected in a domestic cat. *Virology Journal*, 352(1), 22–26. doi: 10.1016/j.virol.2006.06.002. doi: 10.1016/j.virol.2006.06.002.

Battilani, M., Modugno, F., Mira, F., Purpari, G., Di Bella, S., Guercio, A., Balboni, A. (2019). Molecular epidemiology of canine parvovirus type 2 in Italy from 1994 to 2017: recurrence of the CPV-2b variant. *BMC Veterinary Research*, *15*(1), 1-13. doi: 10.1186/s12917-019-2096-1.

Berkin, Ş., Milli, Ü.H, Urman, H.K., (1981). Türkiye'de köpeklerde parvoviral enteritisler, *Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 28, 36-49.

Berkin, Ş. (1986). 1973-1984 periyodunda incelenen 523 köpeğin post mortem bulguları üzerinde survey çalışma. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33 (01). doi: 10.1501/Vetfak\_0000000990

Brindhalakshmi. (2016). Isolation and molecular characterization of canine and feline Parvovirus strains - an updated review. *Journal of Dairy Veterinary & Animal Research*, *3*(5), 62–65. doi: [10.15406/jdvar.2016.03.00093](https://doi.org/10.15406/jdvar.2016.03.00093)

Buonavoglia, C., Martella, V., Pratelli, A., Tempesta, M., Cavalli, A., Buonavoglia, D., Bozzo, G., Elia, G., Decaro, N., Carmichael, L. (2001). Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *The Journal of General Virology*, *82*(Pt 12), 3021–3025. doi: 10.1099/0022-1317-82-12-3021.

Campanella, J. J., Bitincka, L., Smalley, J. (2003). MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. *BMC Bioinformatics*, 4(1), 1-4. doi:[10.1186/1471-2105-4-29](http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-4-29)

Carmichael, L. E. (2005). An annotated historical account of canine parvovirus. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health,*52(7–8), 303–311. doi: 10.1111/j.1439-0450.2005.00868.x.

Castillo, C., Neira, V., Aniñir, P., Grecco, S., Pérez, R., Panzera, Y., Ortega, R. (2020). First molecular identification of canine Parvovirus type 2 (CPV-2) in Chile reveals high occurrence of CPV-2c antigenic variant. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*, 194. doi:  [10.3389/fvets.2020.00194](https://dx.doi.org/10.3389%2Ffvets.2020.00194)

Chalmers, W. S., Truyen, U., Greenwood, N. M., Baxendale, W. (1999). Efficacy of feline panleucopenia vaccine to prevent infection with an isolate of CPV2b obtained from a cat*. Veterinary Microbiology*, 69(1–2), 41–45. doi: 10.1016/s0378-1135(99)00085-1.

Chen, Y., Wang, J., Bi, Z., Tan, Y., Lv, L., Zhao, H., Qian, J. (2021). Molecular epidemiology and genetic evolution of canine parvovirus in East China, during 2018‐2020. *Infection, Genetics and Evolution*, *90*, 104780. doi: [10.1016/j.meegid.2021.104780](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104780)

Chung, H.C, Kim, S.J, Nguyen ,V.G, Shin, S., Kim, J.Y., Lim, S.K., Park, Y.H., Park B. (2020). New genotype classification and molecular characterization of canine and feline parvoviruses. *[Journal of Veterinary Science,](https://www.vetsci.org/)* [(3):e43. doi: 10.4142/jvs.2020.21.e43.](https://www.vetsci.org/)

Das, H., Kaur, G., Chandra, M. and Dwivedi, P.N. (2019). Detection of CPV-2c antigen type of Canine parvovirus in the States of Punjab and Assam, India. [*Current Journal of Applied Science and Technology,* 38(2): 1-7. doi: [10.9734/cjast/2019/v38i230354](https://doi.org/10.9734/cjast/2019/v38i230354)](https://www.journalcjast.com/)

de Oliveira, P. S. B., Cargnelutti, J. F., Masuda, E. K., Weiblen, R., Flores, E. F. (2019). New variants of canine parvovirus in dogs in southern Brazil. *Archives of Virology*, *164*(5), 1361–1369. doi: 10.1007/s00705-019-04198-w.

Decaro, N., Buonavoglia, C. (2012). Canine parvovirus--a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology*, *155*(1), 1–12. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.09.007.

Decaro, N., Buonavoglia, D., Desario, C., Amorisco, F., Colaianni, M. L., Parisi, A., Buonavoglia, C. (2010). Characterisation of canine parvovirus strains isolated from cats with feline panleukopenia. *Research in Veterinary Science*, 89(2), 275–278. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.03.001.

Decaro, N., Desario, C., Miccolupo, A., Campolo, M., Parisi, A., Martella, V., Amorisco, F., Lucente, M. S., Lavazza, A., Buonavoglia, C. (2008). Genetic analysis of feline panleukopenia viruses from cats with gastroenteritis. *The Journal of General Virology*, *89*(Pt 9), 2290–2298. doi: [10.1099/vir.0.0.2008/001503-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.2008/001503-0)

Decaro, N., Martella, V., Elia, G., Desario, C., Campolo, M., Lorusso, E., Buonavoglia, C. (2007). Tissue distribution of the antigenic variants of canine parvovirus type 2 in dogs. *Veterinary Microbiology*, 121(1-2), 39-44. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.11.005.

Dinçer, E. ve Timurkan, M. Ö. (2018). Mersin İlinde Feline Panleukopenia Virus (FPV) Enfeksiyonunun Tespiti ve Filogenetik Analizi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, *32* (3), 213-217.

Feline panleukopenia (2021). <http://www.abcdcatsvets.org/abcd-guidelines-on-feline-panleukopenia-2012-edition/>adresinden erişildi.

Fischer, S. M., Quest, C. M., Dubovi, E. J., Davis, R. D., Tucker, S. J., Friary, J. A., Crawford, P. C., Ricke, T. A., Levy, J. K. (2007). Response of feral cats to vaccination at the time of neutering. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *230*(1), 52–58. doi: 10.2460/javma.230.1.52.

Franzo, G., Tucciarone, C. M., Casagrande, S., Caldin, M., Cortey, M., Furlanello, T., Drigo, M. (2019). Canine parvovirus (CPV) phylogeny is associated with disease severity. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-8. doi.org/10.1038/s41598-019-47773-6

Gargari, S. ve Karaoğlu, M.T. (2015). *Gastroenteritis semptomlu köpeklerde canine parvovirus tip 2'nin tesbiti ve moleküler karakterizasyonu.* Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Geetha, M. (2015). Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvo viral infection–a mini review*. International Journal of Scientific Engineering and Applied Science,* 1(9), 21-27.

Giraldo-Ramirez, S., Rendon-Marin, S. and Ruiz-Saenz, J. (2020). Phylogenetic, evolutionary and structural analysis of canine parvovirus (CPV-2) antigenic variants circulating in Colombia. *Viruses*, 12(5): 500. doi: 10.3390/v12050500.

Greene CE, Addie DD (2005). Feline panleukopenia. In Infectious diseases of the dog and cat, Ed. CE Greene, WB Saunders Company, Philadelphia. pp 78-88.

Grecco, S., Iraola, G., Decaro, N., Alfieri, A., Alfieri, A., Gallo Calderón, M., Pérez, R. (2018). Inter- and intracontinental migrations and local differentiation have shaped the contemporary epidemiological landscape of canine parvovirus in South America. *Virus Evolution*, *4*(1), vey011.

Guo, L., Yang, S.-L., Chen, S.-J., Zhang, Z., Wang, C., Hou, R., Yan, Q.-G. (2013). Identification of canine parvovirus with the Q370R point mutation in the VP2 gene from a giant panda (Ailuropoda melanoleuca). *Virology Journal*, *10*(1), 163. doi: [10.1186/1743-422X-10-163](http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-10-163)

Gür, S., Avdatek, K. (2016). A serological investigation for Feline Panleukopenia Virus in Cats in Afyonkarahisar. *Kocatepe Veterinary Journal*, *9*(3), 165–170.

Hall, T. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In Nucleic Acids Symp. Ser. (Vol. 41, pp. 95-98).

Hong, C., Decaro, N., Desario, C., Tanner, P., Pardo, M. C., Sanchez, S., Saliki, J. T. (2007). Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *19*(5), 535-539. doi: 10.1177/104063870701900512.

Huelsenbeck J.P, James J.B, Clifford W.C. (1996). Combining data in phylogenetic analysis. *Trends in Ecology & Evolution*, 11.4 152-158.

Ikeda, Y., Mochizuki, M., Naito, R., Nakamura, K., Miyazawa, T., Mikami, T., Takahashi, E. (2000). Predominance of canine parvovirus (CPV) in unvaccinated cat populations and emergence of new antigenic types of CPVs in cats. *Virology Journal*, *278*(1), 13–19. doi:[10.1006/viro.2000.0653](https://doi.org/10.1006/viro.2000.0653)

Jiang, H., Yu, Y., Yang, R., Zhang, S., Wang, D., Jiang, Y., Yang, W., Huang, H., Shi, C., Ye, L., Yang, G., Wang, J., Wang, C. (2021). Detection and molecular epidemiology of canine parvovirus type 2 (CPV-2) circulating in Jilin Province, Northeast China. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 74(101602), 101602. doi: [10.1016 / j.cimid.2020.101602](https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101602)

Kale, M., Yıldırım, Y., Avcı, O., Hasırcıoğlu, S., Saltık, H. S., Sevgisunar, N. S. (2017). Virological investigation of canine parvovirus infection in dogs with gastroenteritis in Burdur district. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(3), 315-319. doi: [10.17094/ataunivbd.368898](https://doi.org/10.17094/ataunivbd.368898)

Karaoğlu, M.T. (2013). Ankara ilinde köpeklerde parvoviral enteritis ve köpek gençlik hastalığının yaygınlığının araştırılması, *Ankara Üniversitesi bilimsel araştırma projesi sonuç raporu (BAP-12Ö3338003)*, Ankara.

Karaoğlu, M. T. (2015). Gastroenteritis semptomlu köpeklerde canine parvovirus tip 2’nin tesbiti ve moleküler karakterizasyonu*. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Sonuç Raporu. (BAP-13L3338007),* Ankara.

Kaur, G., Chandra, M., Dwivedi, P. N. (2016). Phylogenetic analysis of VP2 gene of canine parvovirus and comparison with Indian and world isolates. *Acta Virologica*, *60*(01), 106–110. doi: 10.4149/av\_2016\_01\_106.

Koç, B , Oğuzoğlu, T . (2016). The Investigation of Feline Parvoviruses (FPVs) into Two Different Phylogenetic Lineages in Turkey*. Journal of Applied Biological Sciences*, 10 (2) , 4-7.

Kulkarni, M. B., Deshpande, A. R., Gaikwad, S. S., Majee, S. B., Suryawanshi, P. R., Awandkar, S. P. (2019). Molecular epidemiology of Canine parvovirus shows CPV-2a genotype circulating in dogs from western India. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, *75*(103987), 103987. doi: 10.1016/j.meegid.2019.103987.

Levy, J. K., Fisher, S. M., Quest, C. M., Tucker, S. J. (2006). Serological responses of feral cats to vaccination in trap-neuter-return programs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *20*(3), 711–711.

Lin, C.-N., Chiang, S.-Y. (2016). Canine Parvovirus Type 2. In H. A. E. Kaoud (Ed.), *Canine Medicine - Recent Topics and Advanced Research*. doi: 10.5772/65801

Litster, A., Benjanirut, C. (2014). Case series of feline panleukopenia virus in an animal shelter. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(4), 346–353. doi: 10.1177/1098612X13497738.

Lloret, A., Addie, D. D., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Horzinek, M. C., Hosie, M. J., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M. G., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U., Möstl, K., European Advisory Board on Cat Diseases. (2015). Hepatozoonosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(7), 642–644. doi: 10.1016/j.jfms.2009.05.006.

Martin, D. P., Murrell, B., Golden, M., Khoosal, A., Muhire, B. (2015). RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evolution*, 1(1), vev003. doi: 10.1093/ve/vev003.

Mira, F., Canuti, M., Purpari, G., Cannella, V., Di Bella, S., Occhiogrosso, L., Lastra, A. (2019). Molecular characterization and evolutionary analyses of carnivore protoparvovirus 1 NS1 gene. *Viruses*, 11(4), 308. doi: 10.3390/v11040308.

Miranda, C., Parrish, C. R., Thompson, G. (2016). Epidemiological evolution of canine parvovirus in the Portuguese domestic dog population. *Veterinary microbiology*, 183, 37-42. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.11.037.

Miranda, C., Thompson, G. (2016). Canine parvovirus: the worldwide occurrence of antigenic variants. *The Journal of General Virology*, 97(9), 2043–2057. doi: 10.1099/jgv.0.000540.

Miranda, C., Santos, N., Parrish, C., Thompson, G. (2017). Genetic characterization of canine parvovirus in sympatric free-rangıng wild carnivores in portugal. *[Journal of Wildlife Diseases,](https://meridian.allenpress.com/jwd)* [53(4):824-831. doi: 10.7589/2016-08-194.](https://meridian.allenpress.com/jwd)

Mowbrayvet (2019). *Mowbray Veterinary Clinic*. https://mowbrayvet.com.au/canine-parvovirus-in-australia/ adresinden erişildi.

Muz, D., Oğuzoğlu, T. Ç., Timurkan, M. Ö., Akın, H. (2012). Characterization of the partial VP2 gene region of canine parvoviruses in domestic cats from Turkey. *Virus Genes*, *44*(2), 301-308. doi: 10.1007/s11262-011-0703-8.

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Ders Notları. (2014). <http://cdn.istanbul.edu.tr/FileHandler2.ashx?f=viroloji_ders_notu.pdf> adresinden erişildi.

Mukhopadhyay, H. K., Nookala, M., Thangamani, N. R., Sivaprakasam, A., Antony, P. X., Thanislass, J., Srinivas, M. V., Pillai, R. M. (2017). Molecular characterisation of parvoviruses from domestic cats reveals emergence of newervariants in India. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(8), 846–852. doi: 10.1177/1098612X16661375.

Nakamura, M., Tohya, Y., Miyazawa, T., Mochizuki, M., Phung, H. T. T., Nguyen, N. H., Akashi, H. (2004). A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. *Archives of virology*, *149*(11), 2261-2269. doi: 10.1007/s00705-004-0367-y.

Nandi, S., Anbuzhagan, R., Kumar, Manoj, (2010). Strain differentiation and characterization of canine parvovirus by PCR and RE mapping. [*Indian Journal of Biotechnology,* 9, 38–42.](http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/38) doi: 10.1007/s13337-010-0007-y

Nandi, S., Kumar, M. (2010). Canine parvovirus: current perspective. *Indian Journal of Virology*, 21(1), 31–44. doi: 10.1007/s13337-010-0007-y.

Ntafis, V., Xylouri, E., Kalli, I., Desario, C., Mari, V., Decaro, N., Buonavoglia, C. (2010). Characterization of Canine parvovirus 2 variants circulating in Greece. *[Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,](https://journals.sagepub.com/home/vdi)* [737-40. doi: 10.1177/104063871002200512.](https://journals.sagepub.com/home/vdi)

Ohshima, T., Mochizuki, M. (2009). Evidence for recombination between feline panleukopenia virus and canine parvovirus type 2. *The Journal of Veterinary Medical Science*, *71*(4), 403–408. doi: 10.1292/jvms.71.403.

Özkul, A., Keleş, I., Karaoğlu, T., çabalar, M., Burgu, I. (2001). Detection and RFLP analysis of canine parvovirus (CPV) dna bypolemerase reaction (PCR) in dog. *Turkish Journal Of Veterinary And Animal Sciences,* 26 1201-1203.

Parrish, C. R. (1990). Emergence, natural history, and variation of canine, mink, and feline parvoviruses. *Advances in Virus Research,* 38, 403–450. doi: 10.1016/s0065-3527(08)60867-2.doi: 10.1016/s0378-1135(99)00084-x.

Parrish, C. R. (1999). Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, *69*(1–2), 29–40. doi: 10.1016/s0378-1135(99)00084-x.

Parrish, C. R., Carmichael, L. E. (1986). Characterization and recombination mapping of an antigenic and host range mutation of canine parvovirus. *Virology Journal*, 148(1), 121–132. doi: 10.1016/0042-6822(86)90408-3.

(N.d.). Edu.Tr. Retrieved May 10, 2021, from <http://cdn.istanbul.edu.tr/FileHandler2.ashx?f=viroloji_ders_notu.pdf>

Parker, J. S., Murphy, W. J., Wang, D., O’Brien, S. J., Parrish, C. R. (2001). Canine and Feline Parvoviruses can use human or feline transferrin receptors to bind, enter, and infect cells. *Journal of Virology*, *75*(8), 3896–3902. doi: 10.1128/JVI.75.8.3896-​3902.2001.

Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. M., Park, E.-C., Burke, D. S., Calisher, C. H., Laughlin, C. A., Saif, L. J., Daszak, P. (2008). Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 72(3), 457–470. doi: [10.1128/MMBR.00004-08](https://doi.org/10.1128/MMBR.00004-08)

Penzes, J. J., Söderlund-Venermo, M., Canuti, M., Eis-Hübinger, A. M., Hughes, J., Cotmore, S. F.,Harrach, B. (2020). Reorganizing the family Parvoviridae: a revised taxonomy in dependent of the can on ical approach based on host association. *Archives of Virology*, 165(9), 2133–2146. doi: 10.1007/​s00705-020-04632-4.

Perez R, Calleros L, Marandino A, Sarute N, Iraola G, Grecco S, Blanc H, Vignuzzi M, Isakov O, Shomron N, Carrau L, Hernández M, Francia L, Sosa K, Tomás G, Panzera Y. (2014). Phylogenetic and genome-wide deep-sequencing analyses of canine parvovirus reveal co-infection with field variants and emergence of a recent recombinant strain. *PLoS One*, (11):e111779. doi: 10.1371/journal.pone.0111779.

Petrova, V.N, Russell, C.A. (2018). The evolution of seasonal İnfluenza viruses. Nature Reviews Microbiology, 16(1), 47–60. doi: 10.1038/nrmicro.2017.118.

Phromnoi, S., Sirinarumitr, K., Sirinarumitr, T. (2010). Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolates in Thailand*. Virus Genes*, 41(1):23-9. doi: 10.1007/s11262-010-0475-6.

Pollock, R.V.H., Postorino, N.C. (1994). Feline panleukopenia and other enteric viral diseases In The Cat: Diseases and Clinical Management, 2nd Edition Ed R G Sherding, Churchill Livingstone, New York pp 479-487.

Reddy, K. B., Shobhamani, B., Sreedevi, B., Prameela, D. R., Reddy, B. S. (2015). Canine parvo viral infection in dogs and their treatment. *International Journal of Veterinary Science*, 4(3), 142-144.

Reed, A. P., Jones, E. V., Miller, T. J. (1988). Nucleotide sequence and genome organization of canine parvovirus. *Journal of Virology*, 62(1), 266–276. doi: 10.1128/JVI.62.1.266-276.1988.

Saka S.Ü., Bayrakal A., İskefli O. (2020). Enfeksiyöz hastalıklar: Köpek parvovirus enfeksiyonu. Bayrakal A., İskefli O. (Ed.), *Veteriner Reçete Rehberi* içinde (ss.313-315). Ankara: Ayrıntı Basım Yayın ve Matbaacılık.

Scott FW, Geissinger CM (1999): Long-termimmunity in cats vaccinated with an inactivated trivalent vaccine. *American Journal of Veterinary Research*, 60(5), 652-658.

Shackelton, L. A., Parrish, C. R., Truyen, U., Holmes, E. C. (2005). High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proceedings of the National Academy of Science,*102(2), 379-384. doi: 10.1073/pnas.04067665102.

Sharma, K. K., Kalyani, I. H., Pandya, S. M., Vala, J. A. (2018). Diagnosis and characterization of canine parvovirus-2 affecting canines of South Gujarat, India. *Acta Veterinaria*, 87(3), 247–254. doi: [10.2754/avb201887030247](http://dx.doi.org/10.2754/avb201887030247)

Singh, P., Kaur, G., Chandra, M., Dwivedi, P. N. (2021). Prevalence and molecular characterization of canine parvovirus. *Veterinary World*, *14*(3), 603–606. doi: 10.14202/vetworld.2021.603-606

Steinel, A., Munson, L., van Vuuren, M., Truyen, U. (2000). Genetic characterization of Feline Parvovirus sequences from various carnivores. *The Journal of General Virology*, *81*(Pt 2), 345–350. doi: 10.1099/0022-1317-81-2-345.

Stuetzer, B., Hartmann, K. (2014). Feline parvovirus infection and associated diseases. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, *201*(2), 150–155. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.05.027.

Tamura K, Stecher G, and Kumar S (2021) MEGA11: Molecularm Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*. doi: 10.1093/molbev/msab120.

Timurkan M, Oğuzoğlu T. (2015). Molecular characterization of canine parvovirus (CPV) infection in dogs in Turkey. *Veterinaria Italiana*, 51(1):39-44. doi: 10.12834/VetIt.263.908.3.

Tion, MT, Shima, FK, Ogbu, KI, Omobowale, TO, Amine, AA, Nguetyo, SA, Zon, GA (2021). Genetic diversity of canine parvovirus variants, circulating in Nigeria. *Infection, Genetic and Evolution* , 104996.

Truyen, U. (1999). Emergence and recent evolution of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, *69*(1–2), 47–50. doi: 10.1016/s0378-1135(99)00086-​3.

Truyen, U. (2006). Evolution of canine parvovirus--a need for new vaccines? *Veterinary Microbiology*, *117*(1), 9–13. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.04.003..

Truyen, U., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M., Radford, A., Thiry, E., Horzinek, M.C. (2009). Feline panleukopenia. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery, 11*, 538 - 546. doi: 10.1016/j.jfms.2009.05.006.

Truyen, U., Parrish, C.R. (2000). Epidemiology and pathology of autonomous parvoviruses In *Contributions to Microbiology*: *Parvoviruses, Eds S Faisst and J Rommelaere Karger AG*, Basel, vol 4, 149-162. doi: 10.1159/000060331.

Tu, M., Liu, F., Chen, S., Wang, M., Cheng, A. (2015). Role of capsid proteins in parvoviruses infection. *Virology Journal*, *12*(1), 1-8. doi: 10.1186/s12985-015-0344-y.

Tucciarone, C. M., Franzo, G., Mazzetto, E., Legnardi, M., Caldin, M., Furlanello, T., Drigo, M. (2018). Molecular insight into Italian canine parvovirus heterogeneity and comparison with the worldwide scenario. *Infection, Genetics and Evolution*, *66*, 171-179. [doi.org/10.1016/j.meegid.2018.09.021](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.09.021)

Tucciarone, C. M., Franzo, G., Legnardi, M., Lazzaro, E., Zoia, A., Petini, M., Drigo, M. (2021). Genetic Insights into Feline Parvovirus: Evaluation of Viral Evolutionary Patterns and Association between Phylogeny and Clinical Variables. *Viruses*, *13*(6), 1033. doi: 10.3390/v13061033.

Vannamahaxay, S., Chuammitri, P. (2017). Update on canine parvovirus: Molecular and genomic aspects, with emphasis on genetic variants affecting the canine host. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *23*(5). doi: 10.9775/kvfd.2017.17673

Virus World,[ICTV dbPicture Gallery](file:///E:\Mozilla%20İndirilenler\ICTV%20dbPicture%20Gallery) (2014). . <http://www.virology.wisc.edu/virusworld/viruslist.php?virus=cpv> adresinden erişildi.

Wang, J., Lin, P., Zhao, H., Cheng, Y., Jiang, Z., Zhu, H., Wu, H., Cheng, S. (2016). Continuing evolution of canine parvovirus in China: Isolation of novel variants with an Ala5Gly mutation in the VP2 protein. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, *38*, 73–78. doi: 10.1016/j.meegid.​2015.12.009.

Wu, J., Gao, X. T., Hou, S. H., Guo, X. Y., Yang, X. S., Yuan, W. F., Jia, H. (2015). Molecular epidemiological and phylogenetic analysis of canine parvovirus in domestic dogs and cats in Beijing, 2010–2013. *Journal of Veterinary Medical Science*, 14-0665. doi: [10.1292/jvms.14-0665](https://doi.org/10.1292/jvms.14-0665)

Yi, L., Tong, M., Cheng, Y., Song, W., & Cheng, S. (2016). Phylogenetic Analysis of Canine Parvovirus VP 2 Gene in C hina. *Transboundary and Emerging Diseases*, 63(2), e262-e269. doi: [10.1111/tbed.12268](http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12268)

Zhou, P., Zeng, W., Zhang, X., Li, S. (2017). The genetic evolution of canine parvovirus - A new perspective. *PloS One*, *12*(3), e0175035. doi: 10.1371/journal.pone.0175035.

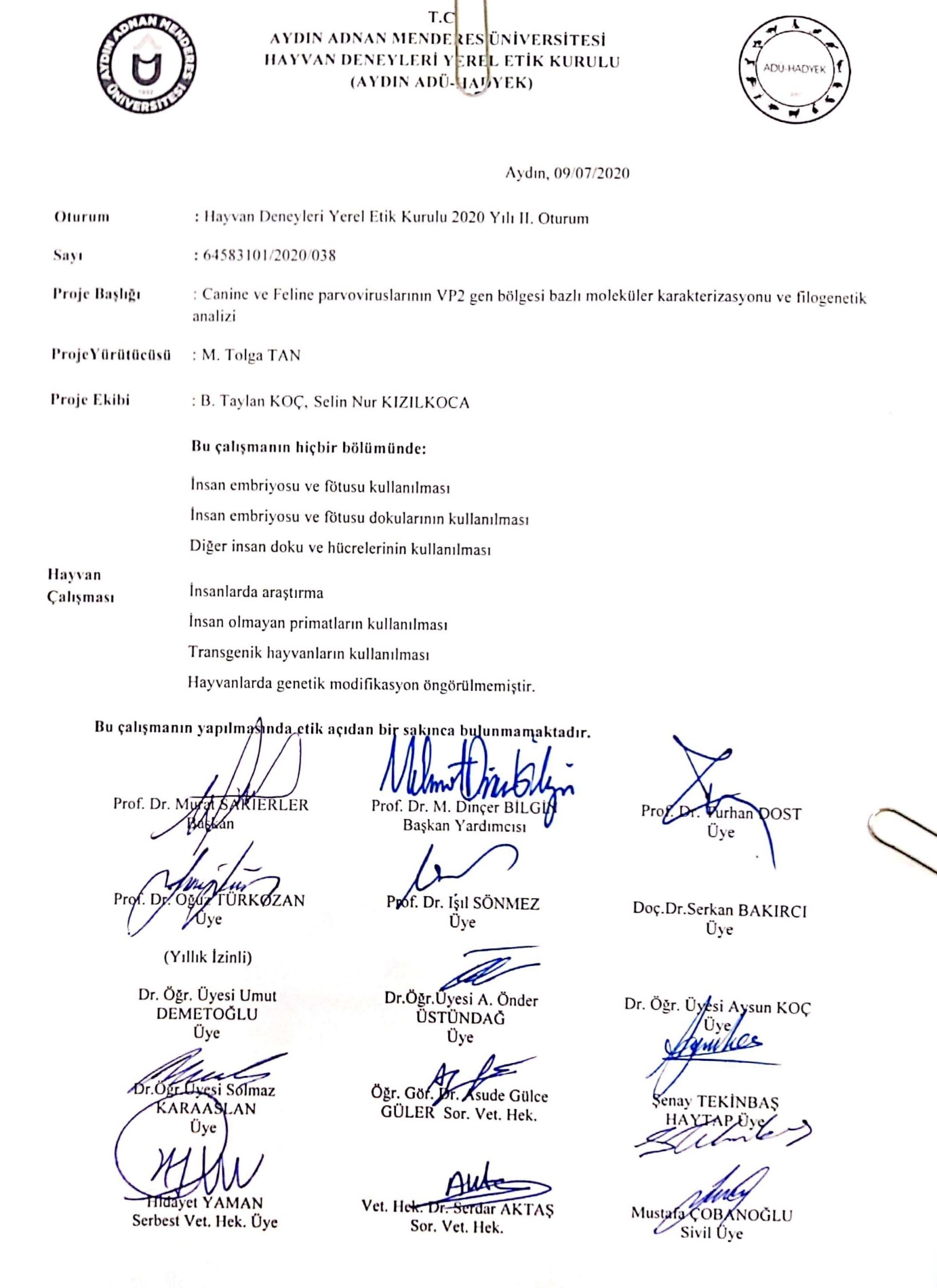
Zobba, R., Visco, S., Sotgiu, F., Pinna Parpaglia, M. L., Pittau, M., Alberti, A. (2021). Molecular survey of parvovirus, astrovirus, coronavirus, and calicivirus in symptomatic dogs. *Veterinary Research Communications*, *45*(1), 31–40. doi:10.1007/s11259-020-09785-w

# EKLER

## Ek **1**. Çalışmada kullanılmak için örnek toplanan parvovirus şüpheli kedi ve köpeklerin, yaş, cinsiyet, ırk, aşı durumu ve semptom bilgileri.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  | İsim | Yaş (ay) | Cinsiyet | Irk | Aşı durumu | Semptom |
| **1** | **Kedi** | **Gül** | **28** | **Dişi** | **Mix** | **Aşılı** | **İshal** |
| **2** | **Kedi** | **Küçük** | **5** | **Dişi** | **Saf** | **Aşılı** | **Dehidrasyon** |
| **3** | **Kedi** | **Barut** | **3** | **Dişi** | **Mix** | **Aşısız** | **Ateş** |
| 4 | Kedi | Texas | 18 | Erkek | Mix | Aşılı | İshal, sinirsel (inkoordinasyon) |
| 5 | Kedi | Nuran | 33 | Dişi | Mix | Aşılı | Kusma, iştahsızlık |
| 6 | Kedi | Loya | 15 | Dişi | Mix | Aşılı | İshal |
| 7 | Kedi | Chucky | 19 | Erkek | Saf | Aşılı | Dehidrasyon,iştahsızlık |
| 8 | Kedi | Marin | 60 | Erkek | Mix | Aşılı | Kusma |
| 9 | Kedi | Lila | 84 | Dişi | Mix | Aşılı | Dehidrasyon |
| 10 | Kedi | Barnie | 8 | Erkek | Saf | Aşılı | Kusma |
| 11 | Kedi | Cacık | 96 | Erkek | Mix | Aşılı | İshal |
| 12 | Kedi | Karaduman | 48 | Erkek | Saf | Aşılı | İshal |
| 13 | Kedi | Fifa | 84 | Erkek | Mix | Aşılı | Kanlı ishal |
| 14 | Kedi | Pipet | 27 | Dişi | Mix | Aşılı | Kusma, dehidrasyon, iştahsızlık |
| 15 | Kedi | Pispis | 11 | Dişi | Saf | Aşılı | İshal |
| 16 | Kedi | Sokak kedisi-2 | 96 | Erkek | Mix | Aşısız | Kusma, dehidrasyon |
| 17 | Kedi | Sokak kedisi-18 | 72 | Erkek | Mix | Aşısız | İshal |
| 18 | Kedi | Faraş | 69 | Dişi | Saf | Aşılı | Dehidrasyon |
| 19 | Kedi | Concon | 12 | Erkek | Mix | Aşılı | Kusma |
| 20 | Kedi | Kömür | 21 | Dişi | Mix | Aşılı | İshal |
| 21 | Kedi | Cici | 54 | Dişi | Mix | Aşılı | İshal |
| 22 | Kedi | Sokak kedisi-7 | 72 | Dişi | Mix | Aşısız | İshal, Dehidrasyon,iştahsızlık |
| 23 | Kedi | Çilek | 7 | Dişi | Saf | Aşılı | Kusma |
| 24 | Kedi | Sokak kedisi-4 | 60 | Dişi | Mix | Aşısız | İshal, Dehidrasyon |
| 25 | Kedi | Dido | 12 | Erkek | Mix | Aşılı | İshal |
| **1** | **Köpek** | **Diski** | **36** | **Dişi** | **Mix** | **Aşısız** | **Kanlı İshal** |
| **2** | **Köpek** | **Pato** | **3** | **Erkek** | **Saf** | **Aşısız** | **Kanlı İshal, sinirsel bulgular** |
| 3 | Köpek | barinak-22 | 36 | Erkek | Mix | Aşılı | Kanlı İshal |
| 4 | Köpek | Cüce | 24 | Erkek | Mix | Aşılı | İshal |
| 5 | Köpek | Kösto | 21 | Dişi | Saf | Aşılı | Kanlı İshal |
| 6 | Köpek | barınak-1 | 56 | Dişi | Mix | Aşısız | Kanlı İshal |
| **7** | **Köpek** | **Barınak-7** | **6** | **Erkek** | **Mix** | **Aşısız** | **Kanlı İshal** |
| 8 | Köpek | 282 | 12 | Erkek | Saf | Aşılı | Kanlı İshal |
| **9** | **Köpek** | **Barınak-33** | **84** | **Erkek** | **Saf** | **Aşılı** | **Kanlı İshal** |
| 10 | Köpek | Baron | 36 | Erkek | Saf | Aşılı | Kanlı İshal, sinirsel bulgular |
| 11 | Köpek | Sokak köpeği-32 | 45 | Dişi | Mix | Aşılı | İshal |
| 12 | Köpek | Barınak-25 | 72 | Dişi | Mix | Aşısız | Kanlı İshal |
| 13 | Köpek | Barınak-34 | 60 | Erkek | Mix | Aşısız | Kanlı İshal |
| 14 | Köpek | Barınak-35 | 60 | Dişi | Mix | Aşılı | İshal |
| 15 | Köpek | Ares | 28 | Dişi | Saf | Aşılı | Kanlı İshal |
| 16 | Köpek | Tyson | 39 | Erkek | Saf | Aşılı | Kanlı İshal |
| 17 | Köpek | Barınak-38 | 84 | Erkek | Mix | Aşılı | Kanlı İshal |
| 18 | Köpek | Fox | 48 | Erkek | Mix | Aşılı | Kanlı İshal |
| 19 | Köpek | Barınak-40 | 54 | Erkek | Mix | Aşısız | Kanlı İshal |
| 20 | Köpek | Barınak-41 | 60 | Dişi | Mix | Aşısız | Kanlı İshal |
| 21 | Köpek | Barınak-42 | 60 | Dişi | Mix | Aşılı | İshal |
| 22 | Köpek | Ateş | 38 | Erkek | Saf | Aşılı | Kanlı İshal, sinirsel bulgular |
| 23 | Köpek | Barınak-44 | 72 | Dişi | Mix | Aşısız | Kanlı İshal |
| 24 | Köpek | Coni | 15 | Erkek | Saf | Aşılı | Kanlı İshal |
| 25 | Köpek | Pars | 26 | Erkek | Saf | Aşılı | Kanlı İshal |

## Ek . AYDIN ADÜ- HAYDEK



## Ek 3. Canine ve Feline Parvovirusların VP2 gen bölgesi bazlı filogenetik analizinde kullanılan GenBank veri tabanından alınan izolatların; ülke, yıl, genotip ve yayın bilgileri.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Accession no** | **Yıl** | **Ülke** | **Virus** | **Genotip** | **Yayın Bilgileri** |
| KR869671 | 2014 | ÇİN/Pekin | CPV | 2a | Wang, 2014. (Yayınlanmadı.) |
| KX469430 | 2010 | Hindistan | CPV | 2b | Gupta ve diğerleri, 2010. (Yayınlanmadı.) |
| MN259001 | 2016 | Avustralya | CPV |  | - |
| KP715716 | 2015 | Tayland | CPV | 2b | Inthong, 2015. (Yayınlanmadı.) |
| GQ857605 | 2007 | Çin | CPV | 2b | Xie ve diğerleri. (Yayınlanmadı.) |
| GU569938 | 2002 | Çin | CPV | 2b | Zhang ve diğerleri, 2010. |
| GU569937 | 2002 | Çin | CPV | 2b | Zhang ve diğerleri, 2010. |
| KF803597 | 2010 | Çin | CPV | 2a | Wu ve diğerleri, 2015 |
| MK675665 | 2018 | Çin/Jinzhou | CPV | 2b | Yi, 2018. (Yayınlanmadı.) |
| MF001439 | 2016 | Çin | CPV | 2a | - |
| KX268113 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268112 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268117 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268105 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268107 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| JX475237 | 2011 | ABD/Connecticut | CPV | 2b | Allison ve diğerleri, 2013. |
| KX268118 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268106 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015.(YÖK Tez Merkezi) |
| DQ025992 | 2005 | Fransa | CPV | 2b | Pingret ve Boucraut-Baralon. (Yayınlanmadı.) |
| KU662349 | 1996 | Portekiz | CPV | 2b | Miranda ve diğerleri, 2017 |
| KX268116 | 2013 | Türkiye | CPV |  | Gargari ve Karaoğlu, 2015.(YÖK Tez Merkezi) |
| KX268111 | 2013 | Türkiye | CPV |  | Gargari ve Karaoğlu, 2015.(YÖK Tez Merkezi) |
| FJ005263 | 2005 | İtalya | CPV | 2b | Decaro ve diğerleri, 2009. |
| MN528597 | 2019 | Birleşik Krallık: Galler, Avustralya, Armidale, Yeni Güney" | CPV | 2c | Kwan ve diğerleri (Yayınlanmadı). |
| MN451672 | 1993 | ABD | CPV |  | Voorhees ve Parrish, 2019 (Yayınlanmadı). |
| KJ813846 | 2013 | ABD: Kuzey Dakota | CPV |  | Allison ve diğerleri, 2014. |
| KX268109 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. |
| MF177255 | 2014 | Brezilya | CPV | 2c | Grecco ve diğerleri, 2018. |
| FJ222821 | 2000 | İtalya | CPV | 2c | Decaro ve diğerleri, 2009. |
| KU508691 | 2015 | Avustralya | CPV | 2c | Hemmatzadeh ve diğerleri. (Yayınlanmadı.) |
| GQ865518 | 2008 | Yunanistan | CPV | 2c | Ntafis ve diğerleri, 2010. |
| FJ005235 | 2007 | ABD | CPV | 2c | Decaro ve diğerleri, 2009. |
| FJ005198 | 1997 | Almanya | CPV | 2c | Decaro ve diğerleri, 2009. |
| FJ005195 | 2000 | İtalya | CPV | 2c | Decaro ve diğerleri, 2009. |
| KM457142 | 2011 | Uruguay | CPV | 2c | Perez ve diğerleri, 2014. |
| KX268108 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268114 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| KX268110 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| DQ025986 | 2005 | Fransa | CPV | 2a benzeri | Pingret ve Boucraut-Baralon. (Yayınlanmadı.) |
| KX268115 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| GU362934 | 2008 | İtalya | CPV | 2a | Decaro ve diğerleri, 2010. |
| GU212792 | 2009 | Tayland | CPV | 2b | Phromnoi ve diğerleri, 2010. |
| KX268119 | 2013 | Türkiye | CPV | 2 | Gargari ve Karaoğlu, 2015. (YÖK Tez Merkezi) |
| FJ011098 | 2008 | Intervet/aşı/06,Tayvan | CPV |  | Juo ve Lin. (Yayınlanmadı). |
| FJ011097 | 2008 | Merial/aşı/06, Tayvan | CPV |  | Juo ve Lin. (Yayınlanmadı). |
| EU498681 | 2008 | Pfizer aşısı | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| EU498680 | 2008 | İtalya | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| EU018144 | 2007 | Arjantin | FPV |  | - |
| MN400978 | 2017 | Güney Kore | FPV | G1 | Chung ve diğerleri, 2020. |
| HQ184200 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| MN683826 | 2017 | Güney Kore | FPV |  | Youngji (Yayınlanmadı.) |
| HQ184189 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| HQ184196 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| EF988660 | 2007 | Çin | FPV |  | Su ve diğerleri, 2007. (Yayınlanmadı.) |
| AB054226 | 2001 | Japonya | FPV |  | Ikeda ve diğerleri, 2000. |
| AB054225 | 2001 | Japonya | FPV |  | Ikeda ve diğerleri, 2000. |
| HQ184203 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| HQ184194 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| EU498699 | 2006 | İtalya | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| EU498706 | 2006 | İtalya | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| AY665655 | 2004 | Rusya | FPV |  | - |
| D88286 | 1996 | Japonya | FPV |  | - |
| EU498680 | 2008 | Purevax aşı | FPV |  | - |
| EU498681 | 2008 | İtalya, Felocell, Pfizer aşı | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| HQ184197 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| HQ184192 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| HQ184193 | 2008 | Güney Kore | FPV |  | An ve diğerleri, 2011. |
| EU498688 | 2004 | İtalya | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| EU498695 | 2005 | İtalya | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| EU498712 | 2006 | İtalya | FPV |  | Decaro ve diğerleri, 2008. |
| EF418568 | 2006 | Portekiz | FPV |  | - |
| EU498697 | 2006 | İtalya | FPV | G1 | Decaro ve diğerleri, 2008. |

## Ek 4. VP2 gen bölgesi bazlı filogenetik analizde kullanılan GenBank veritabanından alınan izolatlar ile tez çalışmasında elde edilen sekansların amino asit düzeyinde karşılaştırması.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **İzolat** | **BÖLGE** | **YIL** | **5** | **13** | **21** | **35** | **38** | **44** | **56** | **80** | **87** | **91** | **93** | **101** | **103** | **121** | **156** | **164** | **192** | **207** | **219** | **230** |
| GU362934\_12/08-B | İtalya | 2000 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| GQ865518\_GR51/08 | Yunanistan | 2008 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| GU212792\_VAC\_S\_quantum | Tayland | 2009 | A | P | T | F | G | A | N | R | M | A | N | I | A | F | S | V | S | S | I | T |
| EU018144\_FPV\_ARG02 | Arjantin | 2007 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | S | K | T | V | L | S | V | S | P | I | I |
| EU498681\_FPV\_Felocell | İtalya | 2008 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| EU498680\_FPV\_Purevax | İtalya | 2008 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | I | V | F | S | V | S | P | I | T |
| DQ025992\_04S23 | Fransa | 2005 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| DQ025986\_04S17 | Fransa | 2005 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | I | S | P | I | T |
| FJ011098\_Intervet/vaccine/06 | Tayvan | 2008 | A | P | T | S | V | T | N | R | M | A | N | I | A | F | S | V | S | P | V | T |
| FJ011097\_Merial/vaccine/06 | Tayvan | 2008 | A | P | T | S | V | A | N | R | M | A | N | I | A | F | S | V | S | P | I | T |
| FJ005263\_42/05-49 | İtalya | 2005 | A | A | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| FJ005235\_67/07-11 | ABD | 2007 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| FJ005198\_G133/97 | Almanya | 1997 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| FJ005195\_136/00 | İtalya | 2000 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268119\_TR-15 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | A | N | R | M | A | N | I | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268118\_TR-14 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268117\_TV-13 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268116\_TR-12 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268115\_TR-11 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268114\_TR-10 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | I | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268113\_TR-09 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268112\_TR-08 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268111\_TR-07 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268110\_TR-06 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268109\_TR-05 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX2681108\_TR-04 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268107\_TR-03 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268106\_TR-02 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX268105\_TR-01 | Türkiye | 2013 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KR869671\_CPV/BJ137 | Çin | 2014 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| GQ857605\_CPV07-03\_VP2 | Çin | 2007 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| MN528597\_Armidale/NewSouthWales/Canisfamiliarias/2019 | Birleşik Krallık | 2019 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| MF177255\_BRA01/14 | Brezilya | 2014 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KU508691\_isolate\_HB | Avustralya | 2015 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KM457142\_UY370c | Uruguay | 2011 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KJ813846\_CPV/Bobcat/ND/974/2013 | ABD | 2013 | A | P | T | S | V | T | D | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| MN451672\_CPV305 | ABD | 1993 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KU662349\_W33/PT/96 | Portekiz | 1996 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| FJ222821\_56/00 | İtalya | 2000 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| MK675665\_CPV2b/18JZ0303 | Çin | 2018 | A | P | T | S | V | T | N | R | M | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| MF001439\_CPV/CN/YZ5/2016 | Çin | 2016 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KF803597\_2010-BJ-A61 | Çin | 2010 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| JX475237\_CT/372/11 | ABD | 2011 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| GU569938\_YN0201 | Çin | 2002 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| GU569937\_GZ0202 | Çin | 2000 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| MN259001\_CPV\_50\_AUS\_NSW\_03/2016 | Avustralya | 2016 | G | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KX469430\_CPV-8/CPV-2b/2010/Ind | Hindistan | 2010 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| KP715716\_CPV-VT143 | Tayland | 2015 | A | P | T | S | V | T | N | R | L | A | N | T | A | F | S | V | S | P | I | T |
| **MZ391095\_Gulcat** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **P** | **T** | **S** | **V** | **T** | **N** | **K** | **M** | **A** | **K** | **T** | **V** | **F** | **S** | **V** | **S** | **P** | **I** | **T** |
| **MZ391096\_Barut** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **P** | **T** | **S** | **V** | **T** | **N** | **K** | **M** | **A** | **K** | **T** | **V** | **F** | **S** | **V** | **S** | **P** | **I** | **T** |
| **MZ391097\_kucuk** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **P** | **T** | **S** | **V** | **T** | **N** | **K** | **M** | **A** | **K** | **T** | **V** | **F** | **S** | **V** | **S** | **P** | **I** | **T** |
| **MZ391098\_barinak-33** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **P** | **T** | **S** | **V** | **A** | **N** | **R** | **M** | **A** | **N** | **I** | **A** | **F** | **S** | **V** | **S** | **P** | **I** | **T** |
| **MZ391099\_barinak-7** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **P** | **T** | **S** | **V** | **T** | **N** | **R** | **M** | **A** | **N** | **T** | **A** | **F** | **F** | **V** | **F** | **P** | **I** | **T** |
| **MZ391100\_Diski** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **P** | **T** | **S** | **V** | **A** | **N** | **R** | **M** | **A** | **N** | **I** | **A** | **F** | **S** | **V** | **S** | **P** | **I** | **T** |
| **MZ391101\_pato5** | **Türkiye** | **2020** | **G** | **P** | **T** | **S** | **V** | **T** | **N** | **R** | **L** | **A** | **N** | **T** | **A** | **F** | **S** | **V** | **S** | **P** | **I** | **T** |
| EU498697\_42/06-G1 | İtalya | 2006 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| EF418568\_FPV/Tiger/PT06 | Portekiz | 2006 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| HQ184193\_K22 | Güney Kore | 2008 | A | P | A | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| EF988660\_XJ-1 | Çin | 2007 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| AB054225\_V142 | Japonya | 2001 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| AB054226\_V208 | Japonya | 2001 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| AY665655\_Gercules-Biocentr | Rusya | 2004 | A | P | T | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |
| HQ184197\_KS11 | Güney Kore | 2008 | A | P | A | S | V | T | N | K | M | A | K | T | V | F | S | V | S | P | I | T |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **İzolat** | **BÖLGE** | **YIL** | **232** | **256** | **267** | **271** | **297** | **300** | **301** | **303** | **305** | **308** | **309** | **316** | **321** | **323** | **324** | **365** | **370** | **375** |
| GU362934\_12/08-B | İtalya | 2000 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| GQ865518\_GR51/08 | Yunanistan | 2008 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| GU212792\_VAC\_S\_quantum | Tayland | 2009 | I | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | E |
| EU018144\_FPV\_ARG02 | Arjantin | 2007 | I | R | F | K | S | A | T | F | D | V | R | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| EU498681\_FPV\_Felocell | İtalya | 2008 | I | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| EU498680\_FPV\_Purevax | İtalya | 2008 | I | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| DQ025992\_04S23 | Fransa | 2005 | I | R | F | K | S | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| DQ025986\_04S17 | Fransa | 2005 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| FJ011098\_Intervet/vaccine/06 | Tayvan | 2008 | I | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | I | N | N | Y | Q | Q | N |
| FJ011097\_Merial/vaccine/06 | Tayvan | 2008 | I | R | F | R | S | A | T | F | D | V | Q | I | N | N | Y | Q | Q | N |
| FJ005263\_42/05-49 | İtalya | 2005 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| FJ005235\_67/07-11 | ABD | 2007 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| FJ005198\_G133/97 | Almanya | 1997 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| FJ005195\_136/00 | İtalya | 2000 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268119\_TR-15 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | E |
| KX268118\_TR-14 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268117\_TV-13 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268116\_TR-12 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268115\_TR-11 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268114\_TR-10 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268113\_TR-09 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268112\_TR-08 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268111\_TR-07 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268110\_TR-06 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268109\_TR-05 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX2681108\_TR-04 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268107\_TR-03 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268106\_TR-02 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX268105\_TR-01 | Türkiye | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KR869671\_CPV/BJ137 | Çin | 2014 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | I | Q | Q | D |
| GQ857605\_CPV07-03\_VP2 | Çin | 2007 | I | K | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| MN528597\_Armidale/NewSouthWales/Canisfamiliarias/2019 | Birleşik Krallık | 2019 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | K | N | Y | Q | Q | D |
| MF177255\_BRA01/14 | Brezilya | 2014 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KU508691\_isolate\_HB | Avustralya | 2015 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KM457142\_UY370c | Uruguay | 2011 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KJ813846\_CPV/Bobcat/ND/974/2013 | ABD | 2013 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| MN451672\_CPV305 | ABD | 1993 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KU662349\_W33/PT/96 | Portekiz | 1996 | I | R | F | K | S | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| FJ222821\_56/00 | İtalya | 2000 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| MK675665\_CPV2b/18JZ0303 | Çin | 2018 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | I | Q | Q | D |
| MF001439\_CPV/CN/YZ5/2016 | Çin | 2016 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | I | Q | Q | D |
| KF803597\_2010-BJ-A61 | Çin | 2010 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | I | Q | Q | D |
| JX475237\_CT/372/11 | ABD | 2011 | I | R | F | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| GU569938\_YN0201 | Çin | 2002 | I | K | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | N |
| GU569937\_GZ0202 | Çin | 2000 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | N |
| MN259001\_CPV\_50\_AUS\_NSW\_03/2016 | Avustralya | 2016 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KX469430\_CPV-8/CPV-2b/2010/Ind | Hindistan | 2010 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| KP715716\_CPV-VT143 | Tayland | 2015 | I | R | Y | K | A | G | T | F | Y | V | Q | V | N | N | I | Q | Q | D |
| **MZ391095\_Gulcat** | **Türkiye** | **2020** | **V** | **R** | **F** | **K** | **S** | **A** | **T** | **F** | **D** | **V** | **Q** | **V** | **N** | **D** | **Y** | **Q** | **Q** | **D** |
| **MZ391096\_Barut** | **Türkiye** | **2020** | **V** | **R** | **F** | **K** | **S** | **A** | **T** | **F** | **D** | **V** | **Q** | **V** | **N** | **D** | **Y** | **Q** | **Q** | **D** |
| **MZ391097\_kucuk** | **Türkiye** | **2020** | **V** | **R** | **F** | **K** | **S** | **A** | **T** | **F** | **D** | **V** | **Q** | **V** | **N** | **D** | **Y** | **Q** | **Q** | **D** |
| **MZ391098\_barinak-33** | **Türkiye** | **2020** | **I** | **R** | **F** | **K** | **S** | **A** | **T** | **F** | **D** | **V** | **Q** | **V** | **N** | **N** | **Y** | **Q** | **Q** | **N** |
| **MZ391099\_barinak-7** | **Türkiye** | **2020** | **I** | **R** | **F** | **K** | **A** | **G** | **T** | **F** | **Y** | **V** | **Q** | **V** | **N** | **N** | **Y** | **Q** | **Q** | **D** |
| **MZ391100\_Diski** | **Türkiye** | **2020** | **I** | **R** | **F** | **R** | **S** | **D** | **I** | **F** | **D** | **V** | **Q** | **L** | **N** | **N** | **Y** | **Q** | **Q** | **N** |
| **MZ391101\_pato5** | **Türkiye** | **2020** | **I** | **R** | **Y** | **K** | **A** | **G** | **T** | **F** | **Y** | **V** | **Q** | **V** | **N** | **N** | **I** | **Q** | **R** | **D** |
| EU498697\_42/06-G1 | İtalya | 2006 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| EF418568\_FPV/Tiger/PT06 | Portekiz | 2006 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| HQ184193\_K22 | Güney Kore | 2008 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| EF988660\_XJ-1 | Çin | 2007 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | A | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| AB054225\_V142 | Japonya | 2001 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | N | Y | Q | Q | D |
| AB054226\_V208 | Japonya | 2001 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | L | Q | D |
| AY665655\_Gercules-Biocentr | Rusya | 2004 | V | R | F | K | S | A | T | Y | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |
| HQ184197\_KS11 | Güney Kore | 2008 | V | R | F | K | S | A | T | F | D | V | Q | V | N | D | Y | Q | Q | D |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **İzolat** | **BÖLGE** | **YIL** | **379** | **426** | **440** | **560** | **562** | **564** | **568** | **570** | **573** |
| GU362934\_12/08-B | İtalya | 2000 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| GQ865518\_GR51/08 | Yunanistan | 2008 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| GU212792\_VAC\_S\_quantum | Tayland | 2009 | V | D | T | N | V | S | G | K | F |
| EU018144\_FPV\_ARG02 | Arjantin | 2007 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| EU498681\_FPV\_Felocell | İtalya | 2008 | A | N | T | N | L | N | A | K | Y |
| EU498680\_FPV\_Purevax | İtalya | 2008 | A | N | T | N | L | N | A | K | Y |
| DQ025992\_04S23 | Fransa | 2005 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| DQ025986\_04S17 | Fransa | 2005 | A | N | T | N | V | S | G | K | Y |
| FJ011098\_Intervet/vaccine/06 | Tayvan | 2008 | A | N | T | N | V | S | G | T | Y |
| FJ011097\_Merial/vaccine/06 | Tayvan | 2008 | A | N | T | N | V | S | G | T | Y |
| FJ005263\_42/05-49 | İtalya | 2005 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| FJ005235\_67/07-11 | ABD | 2007 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| FJ005198\_G133/97 | Almanya | 1997 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| FJ005195\_136/00 | İtalya | 2000 | A | E | T | K | V | S | G | K | Y |
| KX268119\_TR-15 | Türkiye | 2013 | A | N | T | N | V | S | G | K | F |
| KX268118\_TR-14 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268117\_TV-13 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268116\_TR-12 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268115\_TR-11 | Türkiye | 2013 | A | N | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268114\_TR-10 | Türkiye | 2013 | A | N | A | N | V | S | G | K | Y |
| KX268113\_TR-09 | Türkiye | 2013 | A | N | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268112\_TR-08 | Türkiye | 2013 | A | N | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268111\_TR-07 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268110\_TR-06 | Türkiye | 2013 | A | E | A | N | V | S | G | K | Y |
| KX268109\_TR-05 | Türkiye | 2013 | A | N | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX2681108\_TR-04 | Türkiye | 2013 | A | N | A | N | V | S | G | K | Y |
| KX268107\_TR-03 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268106\_TR-02 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX268105\_TR-01 | Türkiye | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KR869671\_CPV/BJ137 | Çin | 2014 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| GQ857605\_CPV07-03\_VP2 | Çin | 2007 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| MN528597\_Armidale/NewSouthWales/Canisfamiliarias/2019 | Birleşik Krallık | 2019 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| MF177255\_BRA01/14 | Brezilya | 2014 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| KU508691\_isolate\_HB | Avustralya | 2015 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| KM457142\_UY370c | Uruguay | 2011 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| KJ813846\_CPV/Bobcat/ND/974/2013 | ABD | 2013 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| MN451672\_CPV305 | ABD | 1993 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KU662349\_W33/PT/96 | Portekiz | 1996 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| FJ222821\_56/00 | İtalya | 2000 | A | E | T | N | V | S | G | K | Y |
| MK675665\_CPV2b/18JZ0303 | Çin | 2018 | A | D | A | N | V | S | G | K | Y |
| MF001439\_CPV/CN/YZ5/2016 | Çin | 2016 | A | N | A | N | V | S | G | K | Y |
| KF803597\_2010-BJ-A61 | Çin | 2010 | A | N | T | N | V | S | G | K | Y |
| JX475237\_CT/372/11 | ABD | 2011 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| GU569938\_YN0201 | Çin | 2002 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| GU569937\_GZ0202 | Çin | 2000 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| MN259001\_CPV\_50\_AUS\_NSW\_03/2016 | Avustralya | 2016 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KX469430\_CPV-8/CPV-2b/2010/Ind | Hindistan | 2010 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| KP715716\_CPV-VT143 | Tayland | 2015 | A | D | T | N | V | S | G | K | Y |
| **MZ391095\_Gulcat** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **N** | **T** | **N** | **V** | **N** | **A** | **K** | **Y** |
| **MZ391096\_Barut** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **N** | **T** | **N** | **V** | **N** | **A** | **K** | **Y** |
| **MZ391097\_kucuk** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **N** | **T** | **N** | **V** | **N** | **A** | **K** | **Y** |
| **MZ391098\_barinak-33** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **N** | **T** | **N** | **V** | **S** | **G** | **K** | **Y** |
| **MZ391099\_barinak-7** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **D** | **T** | **N** | **V** | **S** | **G** | **K** | **Y** |
| **MZ391100\_Diski** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **N** | **T** | **N** | **V** | **S** | **G** | **K** | **Y** |
| **MZ391101\_pato5** | **Türkiye** | **2020** | **A** | **E** | **T** | **N** | **V** | **S** | **G** | **K** | **Y** |
| EU498697\_42/06-G1 | İtalya | 2006 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| EF418568\_FPLV/Tiger/PT06 | Portekiz | 2006 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| HQ184193\_K22 | Güney Kore | 2008 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| EF988660\_XJ-1 | Çin | 2007 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| AB054225\_V142 | Japonya | 2001 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| AB054226\_V208 | Japonya | 2001 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| AY665655\_Gercules-Biocentr | Rusya | 2004 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |
| HQ184197\_KS11 | Güney Kore | 2008 | A | N | T | N | V | N | A | K | Y |

**T.C.**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Canine ve Feline Parvoviruslarının VP2 Gen Bölgesi Bazlı Moleküler Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi” başlıklı Yüksek Lisans tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Selin Nur KIZILKOCA

Öğrencinin Adı ve Soyadı

……. / …../ 2021

# ÖZGEÇMİŞ

|  |  |
| --- | --- |
| **Soyadı, Adı** | : KIZILKOCA Selin Nur |
| **Uyruk** . | : T.C. |
| **Doğumyerivetarihi** | : İzmir / 23.08.1995 |
| **Telefon** | : 0 544 799 32 88 |
| **E-posta** | : [selinkizilkoca@hotmail.com](mailto:selinkizilkoca@hotmail.com) |
| **Yabancı dil** | : İngilizce |
| **ORCID no:** | : 0000-0002-8766-6379 |

**EĞİTİM**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Derece** | **Kurum** | **Mezuniyet tarihi** |
| Y. Lisans | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji (Veteriner) | - |
| Lisans | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi | 03.06.2019 |

**BURSLAR ve ÖDÜLLER**

**İŞ DENEYİMİ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Yıl** | **Yer/Kurum** | **Ünvan** |
| Temmuz 2017  Temmuz-Ağustos 2018  Ekim-Ocak 2020  Ocak-Mart 2021  Mart 2021 | Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi İzmir Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü  İzmir Vetacademia Veteriner Kliniği  İzmir Truva Veteriner Kliniği  MEB- Aydın Germencik  Çok Programlı Anadolu Lisesi | Stajyer Veteriner Hekim  Stajyer Veteriner Hekim  Stajyer Veteriner Hekim  Veteriner Hekim  Hayvan Sağlığı Öğretmeni |
|  |  |  |

**AKADEMİK YAYINLAR**

**1.MAKALELER**

-Viruslarda Genetik Değişiklere Bağlı Konakçı Değişimleri.

(Kızılkoca, S , Koç, B , Tan, M . (2021). Viruslarda Genetik Değişiklere Bağlı Konakçı Değişimleri . Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi , 14 (1) , 77-82 . [doi: 10.47027/duvetfd.827886](https://doi.org/10.47027/duvetfd.827886))

**2. PROJELER**

-Canine ve Feline Parvoviruslarının VP2 Gen Bölgesi Bazlı Moleküler Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi.(Kızılkoca, S , Koç, B , Tan, M . (2020). – Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Bütçe: 15000 TL

**3. BİLDİRİLER**

**A) Uluslarası Kongrelerde Sunulan Bildiriler**

**-**21.Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi (İ.Ü.BAK)-‘’Şişe Burunlu yunustan ilk kez Photobacterium Swingsii’nin moleküler identifikasyonu’’(2019).

1. Tüm hayvanlardan kan örneği toplanmıştır. Bazı vakalarda diaretik gaita veya rektal swab alınması klinik olarak mümkün olamamıştır. [↑](#footnote-ref-2)
2. Benzerlik (similarity) oranı beyaz arka plana yazılmıştır. Özdeşlik (identity) oranları ise turkuaz renkli arka plana sahiptir. [↑](#footnote-ref-3)
3. GenBank veritabanında Türkiye’den alınan komple VP2 sekansları accession numaraları (KX268105-KX268119 arası) [↑](#footnote-ref-4)