

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

**FELİNE İMMUNODEFİCİENCY VİRUS (FIV)'UN "ENV"
GEN BÖLGESİ BAZLI FİLOGENETİK ANALİZİ VE
İN-SİLİCO KARAKTERİZASYONU**

**BATURALP SARSILMAZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet Tolga TAN**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-22020 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2023

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Anabilim Dalı (Veteriner) Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Baturalp SARSILMAZ tarafından hazırlanan “Feline İmmunodeficiency Virus (FIV)’un “env” Gen Bölgesi Bazlı Filogenetik Analizi Ve *İnsilico* Karakterizasyonu” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 02/02/2023

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. M. Tolga Tan	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Kezban CAN ŞAHNA	Fırat Üniversitesi
Üye	: Doç. Dr. Nural EROL	Aydın Adnan Menderes 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 V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını, ilgisini ve desteklerini esirgemeyen, akademik bilgi birikimini, mesleki tecrübelerini benimle paylaşıp, bu bilgiler doğrultusunda kendi mesleki geleceğimin şekillenmesini sağlayan, verdiği fikirleri ile ufkumu genişleten saygıdeğer danışman hocam, aynı zamanda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M. Tolga TAN'a çok teşekkür ederim. Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Doç. Dr. Nural EROL'a bana aktardığı değerli bilgilerden, eğitimim boyunca bana olan ilgisi ve ayırdığı değerli zamanlarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Viroloji yüksek lisans programı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Sevin KIRDAR'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Lisansüstü programıma başladığım günden son ana kadar her türlü konuda yardımına başvurduğum, laboratuvar çalışmalarında benimle bire bir zaman geçirip, bildiği her şeyi en ince ayrıntısına kadar bana öğretmeye çalışan, tezimi hazırlamam ve ortaya çıkartmamda sürekli yanımda olan, mesleki olarak örnek aldığım çok değerli hocam sayın Doç. Dr. B. Taylan KOÇ'a sonsuz teşekkür ederim.

Yoğun çalışma temposunda jürimde yer alan, lisans eğitimim esnasında beni viroloji alanı ile ilk kez tanıştıran ve bu alana olan ilgimin şekillenmesini sağlayan ve bu yolda ben her zaman destekleyen sevgili hocam Prof. Dr. Kezban CAN ŞAHNA'ya teşekkür ederim.

Tezimin laboratuvar çalışmaları için gerekli örnekleri toplamamda bana kapılarını açarak her türlü desteği sağlayan değerli Kökekuba Veteriner Polikliniği Başhekimisi Uğur DAYIOĞLU ve tüm klinik ekibine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Lisans üstü eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen ve numune toplamamda büyük katkıları olan değerli arkadaşım ve meslektaşım Kökekuba Veteriner Polikliniği aile üyesi Vet. Hek. Hilal YALÇINKAYA'a teşekkür ederim.

Son olarak, bütün eğitim öğrenim hayatım boyunca benim yanımda olan, aldığım her kararda beni destekleyen ve daha ileriye gitmemi sağlayan, her zaman sabırlı ve anlayışlı olan sevgili babam Fehmi SARSILMAZ'a ve sevgili annem Ayşen SARSILMAZ'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	Error! Bookmark not defined.
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Etiyoloji	3
2.2. Epidemiyoloji	6
2.3. Patogenez/Klinik	8
2.4. Tanı.....	12
2.5. İmmunite.....	14
2.6. Destekleyici Tedavi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Gereç.....	16
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kan Örnekleri	16
3.1.2. Cihazlar.....	16
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Numunelerin Hazırlanması.....	20

3.2.2. Moleküler Virolojik Karakterizasyon.....	20
3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	22
3.2.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel ile Elektroforezi.....	24
3.2.5. Sekans Analizi	25
3.2.6. Moleküler in silico Analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması.....	25
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
KAYNAKLAR.....	40
EKLER	49
Ek 1. Toplanan numunelerimize ait yaş, cinsiyet, fertilitte ve kod bilgileri.....	49
Ek 2. AYDIN ADÜ-HAYDEK KARARI.....	51
BİLİMSEL ETİK BEYANI	52
ÖZ GEÇMİŞ.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ab	: Antikor
Ag	: Antijen
AIDS	: Edinsel Bağışıklık Yetmezliği Sendromu
ARC	: HIV/AIDS kompleksi
Blast	: Basic Local Aligment Search Tool
Bp	: Base pair
CA	: Kapsid
cDNA	: Komplementer Deoksiribo-Nükleik-Asit
CTL	: Cytotoxic T Lymphocyte Response
DNA	: Deoksiribo-Nükleik-Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotit Tri Fosfat
DW	: Distile Su
EDTA	: Etilendiamin Tetraasestik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
env	: Envelope proteini
FeLV	: Feline Leukemia Virus
FIV	: Feline İmmunodeficiency Virus
gag	: Group Spesific Antigen
IN	: İntegraz
LTR	: Long Terminal Repeats
MA	: Matrix proteini
MAD	: Maternal-Derived Antibodies
ML	: Maximum-Likelihood
NC	: Nucleocapsit
nes	: Nested
PBS	: Phospat Buffered Saline
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Potansiyel Hidrojen
PMBC	: Polimorf Kan Hücreleri
PR	: Proteaz

RNA	: Ribonükleik asid
RPD4	: Recombination Detection Programme
RPM	: Revolutions per Minute
RT	: Revers Transkriptaz
SNAP	: Hızlı Test Kiti
SU	: Receptor Binding
TAE	: Tris-Asetik Asit-Ethylen Diamin Tetra Acetic A
Taq	: Thermus Aquaticus
TM	: Transmembrane
vif	: Viral Enfektif Vektör
vRNA	: Viral Ribonükleik Asit
WB	: Western Blot
ZDN	: Zidovudine

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Genel retrovirion yapısı ve bileşenleri.....	5
Şekil 2. FIV enfeksiyonun klinik seyri.....	12
Şekil 3. FIV parsiyel env geni maximum-likelihood ağacı.....	28
Şekil 4. RDP4 programında potansiyel rekombinasyon algoritmaları ve sekansları belirleme..	29
Şekil 5. FIV/TR/Batur/2022/Boos3 için potansiyel rekombinant suşlar.....	29
Şekil 6. FIV/TR/Batur/2022/Boos1 için potansiyel rekombinant suşlar.....	30
Şekil 7: Env geninin parsiyel V3-V5 domainin amino asit ifadelerinin karşılaştırılması.....	31

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Retrovirus Elektronmikroskobu görüntüsü	5
Resim 2. FIV'in genomik organizasyonu.....	6
Resim 3. FIV alt tiplerinin küresel dağılımı	7
Resim 4. FIV pozitif bir kedide gingivostomatitis	11
Resim 5. Çalışmamızda kullandığımız soğutmalı santrifüj cihazımız	17
Resim 6. Çalışmalarımızda kullandığımız biyogüvenlik kabini.....	18
Resim 7. Çalışmalarımızda kullandığımız thermal cycler cihazı.....	18
Resim 8. Çalışmamızda kullandığımız elektroforez cihazı ve küveti.....	19
Resim 9: PCR ürünlerinin, negatif kontrol, pozitif kontrol ve merdivenin elektroforez sonrası mavi ışık altındaki görüntüsü.....	27

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Retrovirus ailesinin, alt aile ve genusları.....	4
Tablo 2. PCR için gerekli olan komponentler ve miktarları.....	22
Tablo 3. FIV için thermal cyclers ısı süre ve siklus sayıları.....	23

ÖZET

FELINE IMMUNODEFICIENCY VIRUS (FIV)'UN "ENV" GEN BÖLGESİ BAZLI FİLOGENETİK ANALİZİ VE IN-SILICO KARAKTERİZASYONU

Sarsılmaz, B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Viroloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Feline immunodeficiency virus (FIV) kedilerin ömür boyu persiste kalabilen ve ilerleyici immun sistem hasarına yol açan bir virustur. Enfekte kedilerde görülen klinik semptomlar oldukça farklı olup bütün bir yaşamını normal olarak sürdürebilir. Ancak FIV enfeksiyonuna bağlı şekillenen sekonder enfeksiyonlar nedeniyle ölümler gerçekleşebilir. Retroviruslar, sahip olduğu revers transkriptaz enzimi sayesinde RNA yapısındaki genomunu konakçı DNA'sına entegre edebilir. Bu özelliği retrovirusların patogenezini oldukça kompleks hale getirmektedir. Reverz transkripsiyon işlemi sırasında hata oranının yüksek olması nedeniyle mutasyonlara çok sık rastlanılır. Bu mutasyonlardan dolayı retroviruslar yüksek oranda genetik farklılıklar göstermektedir. Bu çalışmamızda, Aydın ve İzmir illerinden toplanan numunelerde FIV'un 'env' gen bazlı varlığı aranmış pozitif bulunan numunelerin filogenetik analizi yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında klinik olarak FIV şüpheli olup olmamasına bakılmaksızın 70 kediden toplam 70 EDTA'lı kan numunesi alınmıştır. PCR ile pozitif olduğu tespit edilen örnekler sekans analizi için gönderilmiştir. Elde edilen sekans verileri ile Maximum-Likelihood (ML) metodu ile filogenetik olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca amino asit ifadelerine bakılan sekanslarda kritik noktalardaki amino asit değişiklikleri belirlenmiştir.

Bulgular: Toplanan 70 numuneden 4 tanesinde (%6) FIV pozitifliği saptanmıştır. Pozitif bulunan numunelere Sanger Dideoxy Sequencing metodu kullanılarak yapılan sekanslama işlemi sonrasında, elde edilen diziler ML metoduyla filogenetik olarak incelenmiş ve FIV alt tip B grubuna dahil olduğu belirlenmiştir. Yine yapılan incelemelerde 453, 455, 456, 540, 541, 542, 559, 560 ve 561. amino asitlerde önemli farklılıklar ön plana çıkmıştır.

Sonuç: Çalışma sonucunda, FIV pozitif bulunan numunelerin, FIV alt tip B grubunda olduğu ortaya konmuştur. Bu bilgi literatür bilgisiyle örtüşmektedir. Ayrıca elde edilen sekansların daha önce aynı grupta bildirilen sekanslarla yüksek oranda benzerlik gösterdiği görülmüştür. RPD4 programı ile yapılan rekombinasyon taraması sonucunda elde edilen iki örneğin sekans

verilerinde rekombinasyon meydana geldiğine dair bulgulara rastlanılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, ülkemizde farklı FIV alt tiplerinin gözlenebileceğini işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: Env, feline immunodeficiency virus, in-silico, retrovirus, moleküler filogeni.

ABSTRACT

“ENV” GENE REGION BASED PHYLOGENETIC ANALYSIS OF FELINE IMMUNODEFICIENCY VIRUS (FIV) AND IN-SILICO CHARACTERIZATION

Sarsilmaz, B. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Virology (Veterinary) Department, Master Thesis, Aydın, 2023.

Objective: Feline immunodeficiency virus (FIV) is a virus that can persist for life in cats and causes progressive immune system damage. The clinical symptoms seen in infected cats are quite different, they can live a normal life. However, deaths due to secondary infections due to FIV infection may occur. Due to the reverse transcriptase enzyme that retroviruses have, they can integrate their RNA genome into the DNA genome, and this feature makes retroviruses a very complex structure. Because of the high error rate during the reverse transcription process, mutations are very common. Because of these mutations, retroviruses show high genetic differences. In this study, FIV 'env' gene-based, presence will be searched in samples collected from Aydın and İzmir provinces, and phylogenetic analysis of positive samples will be made.

Material and Methods: Within the scope of the study, a total of 70 EDTA blood samples were taken from 70 cats to determine whether they were clinically suspected of FIV. In order to be investigated molecularly, PCR test was applied, and the results were sent for sequencing. Sequence data obtained with the necessary programs were evaluated. The obtained sequence data were evaluated phylogenetically by Maximum-Likelihood method. In addition, amino acid changes at critical points were noted in the sequences in which amino acid expressions were examined.

Results: FIV positivity was detected in 4 of 70 collected samples (F4, F23, F45 and F50 samples) (6%). The sequences obtained after sequencing using the Sanger Dideoxy Sequencing method on the samples with positive results were found to be included in the FIV subtype B group in the phylogenetic analysis performed by the ML method. Again, important changes in amino acids 453, 455, 456, 540, 541, 542, 559, 560 and 561 came to the fore.

Conclusion: As a result of this study, it was revealed that the samples that we found FIV positive according to the information obtained were in the FIV subtype B group. This information coincides with the literature information. In addition, it was observed that the sequences obtained were highly similar to those previously reported in the same group. The recombination status for FIV subtype B has been previously mentioned in the literature information. Recombination signals were obtained in two sequences that we obtained as a result of the recombination screening we performed in the RPD4 program. The results of this study indicate that different FIV subtypes could be observed in our country.

Keywords: Env, feline immunodeficiency virus, in-silico, retrovirus, molecular phylogeny.

1.GİRİŞ

Feline immunodeficiency virus (FİV)'un, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de varlığı bilinen bir gerçektir. Retroviruslar, gerek yapısal özellikleri, gerekse replikasyon mekanizmalarıyla, çok farklı ve eşsiz viruslardır. Dünyada FİV üzerine yapılmış pek çok çalışma ve yayın bulunmaktadır. Daha önce çiftlik hayvanları hekimliği gölgesinde kalan pet hekimliği, Ülkemiz pet sektörünün son yıllardaki hızlı gelişimi ile birlikte daha çok ilgi görmeye başlamış, FIV'in de aralarında bulunduğu pet enfeksiyonları önem kazanmıştır.

İmmün yetmezlik benzeri sendromlu bir kedide 1986'da keşfedilmesinden bu yana FIV, kedigiller familyasının puma (Puma Concolor), aslan (Panthero Leo), leopar (Panthera) gibi evcil olmayan çeşitli üyelerinden de izole edilmiştir. Bu evcil olmayan türlerde FIV, evcil kedilere (Felis catus) göre daha az patojenik özellik göstermektedir (Peterson ve diğerleri, 1987; Perharic ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda arkadaş hayvan olarak hayatlarımıza giren kedilerin bizlerle beraber yaşamaya başlamasıyla birlikte, kedigil hastalıkları ve buna olan ilgi artmış, ülkemizdeki durumu netleşmeye başlamıştır. Yapılan araştırmalardan elde edilen bilgilere göre ülkemiz sınırları içerisinde çok sayıda hastalığın bulunduğu ve belirlenen hastalıklara karşı verilen mücadelenin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Gelişmiş dünya ülkelerinde barınak sistemlerinin ve karantina işlemlerinin çok güçlü olması, hasta ya da hastalık şüphesi olan hayvanların kesinlikle diğer hayvanlardan ayrı tutuluyor olması, bu ülkelerde pek çok hastalığın azalmasına ve hatta bitmesine yol açarken, ülkemizde barınak koşullarının elverişsiz olması, "sokak hayvanı" olarak tabir edilen evsiz hayvanların kontrolsüz bir şekilde çoğalması, pek çok sağlık sorununu da beraberinde getirmektedir (Bęczkowski ve diğerleri 2022; Frankenfeld ve diğerleri, 2019).

Sahipsiz hayvanların arasında dolaşan hastalıklardan sadece dış ortamla teması olan hayvanlar değil, dış ortama çıkmadığı halde sahibinin taşıyıcılık yapmasıyla pek çok evcil hayvan da etkilenmektedir. Bu hastalıklar içerisinde FİV, retrovirusların sebep olduğu ve üzerine çok çalışılması gereken hastalıklardan bir tanesi olarak gösterilebilmektedir. FIV'in diğer tüm viral hastalıklar gibi gerekli ilgiyi görmesi ve üzerine yapılan çalışmaların artırılması gerekmektedir (Bęczkowski ve diğerleri, 2022).

Bu nedenle Aydın ve İzmir bölgelerindeki, kediler üzerinde FIV'un moleküler olarak incelenmesi, in-silico ortamda araştırılması tez çalışmasının ana amacı olmuştur. Bu tez

alışması ile elde edilen moleküler dinamik sonuçları güncel veri sağlamakla beraber, FIV'un ülkemizdeki alt tip durumunu güncellemesi hedeflenmiştir.

Bu çalışmada FIV'un env gen bölgesi hedeflenerek yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen yeni verilerin genetik olarak araştırılması, önceki veriler ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Elde edilen yeni verilerin rekombinasyon durumlarının araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

Feline immunodeficiency virus (FIV), *Retroviridae* ailesi içerisinde yer alan, *Orthoretrovirinae* alt ailesine ait *Lentivirus* genusunda sınıflandırılan bir virustur (Tablo 1) (Penzes ve diğerleri, 2020; Uluslararası Virus Taksonomisi Komitesi, 2018). Dünya genelinde yaygın olarak görülen bir virus olup, ülkemizde de varlığı belirlenmiştir. Feline immunodeficiency virus, hayvanlar arasında en yaygın şekilde ısırılma yaraları ile bulaş göstermektedir. Bunun dışında vücut sıvılarının bulaşması, tükürük bezi salgısı, anneden uterus aracılığıyla fetusa bulaşma ya da doğum sonrası emzirme yoluyla bulaşması da mümkündür (Addie ve diğerleri, 2009).

Retroviridae ailesi iki alt aileye (*Orthoretrovirinae* ve *Spumaretrovirinae*) ve yedi cinse ayrılmıştır (Tablo 1). Retrovirusların sınıflandırılması, virionun ultrastrüktürel görünümüne dayanan eski bir sınıflandırma şemasıyla yapılmış ve günümüzde hala kullanılmaktadır. Bu şemalandırmaya göre dört farklı virus partikülü, A-B-C ve D tip retrovirus olarak adlandırılır. Diğer sınıflandırma şemaları, bireysel retrovirusların horizontal ve vertikal geçişine veya bunların enfekte hücreleri dönüştürme yeteneklerine (onkojenik retroviruslar) dayanmaktadır. Şu anda, retrovirusların en yaygın olarak kabul edilen taksonomik sınıflandırması, genomik dizilerine dayanmaktadır; viruslar böylece evrimsel akrabalıklarına göre gruplandırılmaktadır (Knipe ve diğerleri, 2007; MacLachlan ve diğerleri, 2011).

Orthoretrovirinae alt ailesi ayrıca *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* ve *Lentivirus* olmak üzere altı cinse ayrılırken, *Spumaretrovirinae* alt familyası *Spumavirus* cinsini bulundurmaktadır (Tablo 1). Bu cinslerin beşinde yer alan viruslar potansiyel olarak onkojeniktir (eski taksonomiye göre onkoviruslar olarak bilinirken), *Lentivirus* ve *Spumavirus* cinslerine dahil olan üyeler onkojenik değildir. *Lentivirus* enfeksiyonları, ilk enfeksiyon ile hastalığın ortaya çıkması arasında uzun bir kuluçka dönemi ile karakterize edilir (Latince "lenti", "yavaş" anlamına gelir) (Yusuf ve diğerleri, 2014).

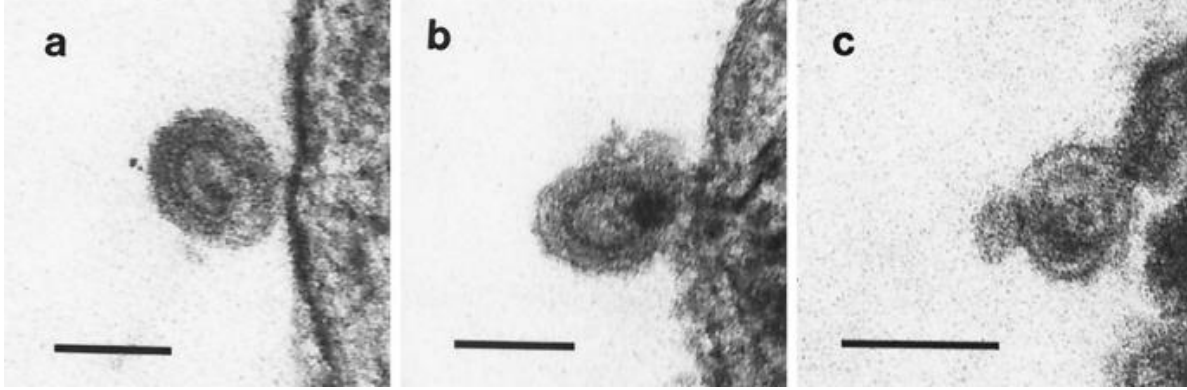
FIV, ikozahedral simetridir, zarflı ve 105-125 nm çapındadır. Viral zarf üzerinde glikoprotein yapısında kısa ışınsal çıkıntılar bulunur. Genom ortalama 9400 baz uzunluğundadır ve env, gag ve pol proteinlerini içerir. Her bir gen bölgesi farklı görevler

üstlenmektedir. FIV'e ait env alt birimi konakçıya ait CD134 reseptörüne bağlanır. Bu durum HIV'de CD134 yerine CD4 reseptörüdür. Env bölgesinin alt birimleri, reseptörle bağlantıya geçerken farklı görevler üstlenmektedir. V3 bölgesi, CD134 ile ilk bağlantıyı kurmaktadır, V5 bölgesi, Virusun nötralizasyonunda ya da nötralizasyondan kaçışta görev yapmaktadır, V1, V2, V4 bölgeleri, glikolizasyonda görev almaktadır. Gag bölgesi ise çekirdek proteinlerinin kodlanmasında görev alır. Pol bölgesi, integraz, proteaz, reverz transkriptaz enzimlerini kodlamakla görevlidir. Env bölge üzerinde meydana gelen değişimler alt tip oluşumunda rol almaktadır. Env gen bölgesinde meydana gelen değişimler sadece yeni alt oluşumuna değil aynı zamanda konakçıya ait savunma sistemlerinden de kaçınılmasına sebep olmaktadır. RNA'nın DNA'ya dönüştürülüp konakçı hücre sine entegrasyonunu sağlamak için diğer retroviruslar gibi FIV'da da reverz transkriptaz enzimi bulunmaktadır. Bu entegrasyon sayesinde viral genom konakçı DNA'sında persiste kalabilmekte ve yeni oluşan nesillere aktarılabilir (Pedersen ve diğerleri, 1991). Dünya genelinde süregelen env gen bazlı filogenetik analizler sonucu 5 ana genotipe ayrıldığı ortaya konmuş ve bu genotipler FIV-A, -B, -C, -D, -E olacak şekilde isimlendirilmiştir (Koç ve Oğuzoğlu, 2020). Türkiye'de yapılan moleküler çalışmalar sonucunda tiplendirilen FIV suşlarının genellikle FIV-B alt tipinde yer aldığı vurgulanmıştır (Koç ve Oğuzoğlu, 2020; Muz ve diğerleri, 2021; Oğuzoğlu ve diğerleri, 2010). Env gen bölgesinde meydana gelen değişimler sonucunda ortaya çıkan bu alt tipler, ortaya çıkan klinik bulgularda değişikliklerin görülmesine yol açmaktadır.

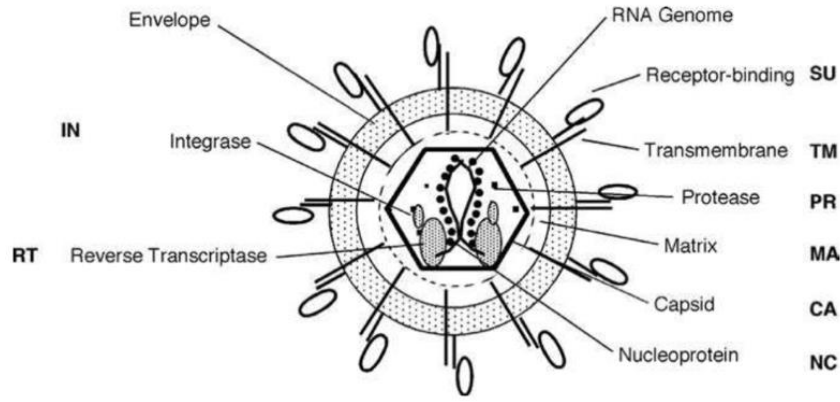
Tablo 1. Retrovirus ailesinin, alt aile ve genusları.

Aile	Retrovirus	
Alt Aile	Orthoretrovirinae	Spumaretrovirinae
Genus	Alpharetrovirus	Bavispumavirus
	Betaretrovirus	Equispumavirus
	Deltaretrovirus	Felispumavirus
	Epsilonretrovirus	Prosimiispumavirus
	Gammaretrovirus	Simiispumavirus
	Lentivirus	

Son yıllarda yapılan çalışmalarda F alt tipi ve UNV-Z alt tiplerinden de bahsedilmektedir (Koç, 2018). Genotiplendirmedeki ayırım, env genindeki V3-V5 bölgelerinde meydana gelen değişimler, alt tipler arasındaki farklılıkların oluşmasında önemli bir faktördür (Koç, 2018; Beczowski ve diğerleri 2014).

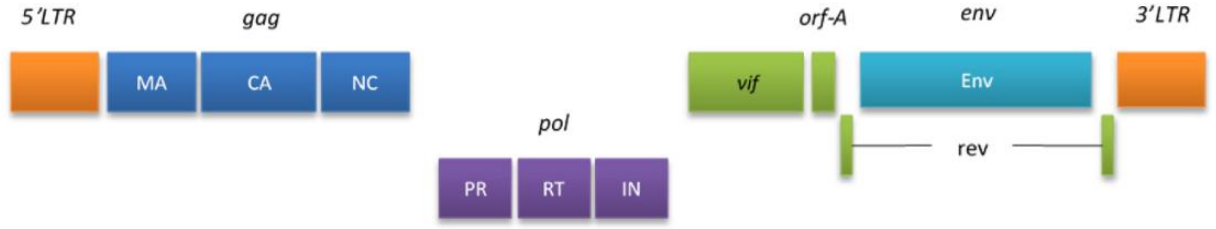


Resim 1. Retrovirus Elektronmikroskobu görüntüsü (Purcell D., 1999).



Şekil 1. Genel retrovirion yapısı ve bileşenleri (Knipe ve diğerleri, 2001).

FIV genomu 3 ana genden oluşur; çekirdek proteinleri kodlayan gag: matris (MA), kapsid (CA, p24) ve nükleokapsid (NC) içerir. Anahtar enzimleri kodlayan pol: integraz (IN), proteaz (PR) ve ters transkriptaz (RT) içerir ve zarf glikoproteini (Env), bir düzenleyici (rev) ve 2 yardımcı geni (vif, orf-a) kodlayan env. Genler, provirus içindeki uzun terminal tekrarlar (LTR'ler) ile sınırlandırılmıştır.



Resim 2. FIV'in genomik organizasyonu (Beczowski ve diğeri, 2022).

2.2. Epidemiyoloji

FIV ilk izole edildiği 1987 yılından beri tüm coğrafyalarda ve tüm kedigillerde tespit edilebilmektedir ve hastalığın prevalansı %2-44 arasında değişkenlik gösterebilmektedir (Tan, 2021). Enfeksiyon genellikle beş yaş üzerindeki erkek kedilerde ısırılma yaralarına bağlı olarak dişi kedilere oranla daha fazla görülmektedir (Yılmaz ve diğeri, 1995). Isırılma yaralanmalarının dışında; veneral yolla, intrauterin, perinatal ya da yeni doğanlarda enfekte anne sütü ile bulaşmada gerçekleşebilir. Etken, enfekte kedilerin kan, serum, plazma, serebrospinal sıvı ve tükürük bezlerinden izole edilebilmektedir (Knipe ve diğeri, 2007; Tan, 2021; Bayraktar, 2006).

FIV, beş ayrı alt genotipe ayrılmakta ve bu genotipler A, B, C, D ve E şeklinde adlandırılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda F alt tipi ve UNV-Z alt tiplerinden de bahsedilmektedir (Beczowski ve diğeri 2014). Genotiplendirmedeki ayırım, env genindeki V3-V5 bölgelerinde meydana gelen değişimler, alt tipler arasındaki farklılıkların oluşmasında önemli bir faktördür (Koç, 2018).

Feline immunodeficiency virus genotipleri dünya genelinde farklı bölgelerde yayılım göstermektedir. Türkiye'de ilk seroprevalans çalışması Yılmaz (2000) tarafından yapılmıştır. İstanbul bölgesinde yapılan bu çalışmada FIV seroprevalansı %23 olarak tespit edilmiştir. Van kedileri üzerinde ELİSA ile yapılan başka bir çalışmada ise seroprevalans %3 olarak bulunmuştur (Yüksek ve diğeri, 2005). Aydın ve İzmir illerinde yapılan diğer bir seroprevalans çalışması sonucunda FIV antikor varlığı %19,5 olarak belirlenmiştir (Erol ve Paşa, 2013). En ayrıntılı seroprevalans çalışması Oğuzoğlu ve diğeri (2013) tarafından gerçekleştirilmiştir, bu çalışmada prevalansın %9,5 olduğu tespit edilmiştir. Evcil kedilerin sahipleriyle kurulan duygusal bağa bağlı olarak kıtalar arası seyahat etmesi, ticaret gibi sebeplere bağlı olarak yavaş yavaş alt tiplerin farklı bölgelerde de ortaya çıkması ihtimali vardır.

FIV'in alt tipleri dünyanın farklı bölgelerinde görülmektedir, tip A, Avustralya, Birleşik Krallık, Güney Afrika, Amerika Birleşik Devletleri'nin batı kıyısı ve Japonya'nın bazı bölgelerinde sıklıkla görülmektedir. Tip B, güney Avrupa, Brezilya, Kanada, Amerika Birleşik Devletleri ve Japonya'daki kedilerde tanımlanmıştır. Alt tip C, Yeni Zelanda ve Kanada'da izole edilmiş, D ve E alt türleri ise yalnızca Japonya ve Arjantin'de tanımlanmıştır. Ülkemizde FIV alt tiplerinden B tespit edilmiştir. Yapılan son çalışmalarda alt tip E'nin varlığı da ülkemizde saptanmıştır (Oğuzoğlu ve diğerleri 2010; Koç, 2018)



Resim 3. FIV alt tiplerinin küresel dağılımı (Beczowski ve diğerleri, 2022).

Hastalığın yayılmasındaki en önemli faktör, sokakta yaşayan ve kısırlaştırılmamış kedi popülasyonları olup, FIV'in yayılmasını arttırmaktadır. Yine aynı şekilde barınak ve bakım evlerinde kısırlaştırılmadan bir arada tutulan kediler arasında da yayılım göstermektedir. Evde kontrollü olarak beslenen kediler arasında yayılma, sokak ve barınaklardaki kedilere oranla daha düşüktür, ancak enfekte anneler tarafından, anne sütü ile bulaşma gerçekleşebilmektedir. Virus spermden izole edilebilmektedir, ancak cinsel yolla bulaşma olduğuna dair bir bildirim yapılmamıştır (Litster, 2014). Diğer bir bulaşma türü ise her ne kadar ülkemizde nadirde olsa kan naklidir. Nakil yapılacak kedilerden donör olanın FIV açısından test edilmelidir. Kan naklinde donör kedi FIV pozitifse bulaşma gerçekleşmektedir (Pennisi ve diğerleri, 2015).

2.3. Patogenez/Klinik

FIV enfeksiyonunun birincil hedefi, aktive edilmiş CD4+ T lenfositleridir. Bu hücreler, humoral ve hücresele bağışıklığın oluşmasını sağlayan, bağışıklık oluşması için önemli görevi olan T hücreleri olarak işlev görmektedir. FIV zarf glikoproteini gp120, hücre yüzeyindeki bir birincil reseptör olan CD134 molekülüne bağlanmaktadır (Hosie ve diğerleri, 2009). RNA genomunun bir DNA kopyasına (veya provirusa) transkripsiyonuna aracılık eden viral reverz transkriptaz, olası hatalara açıktır. Bu hatalar sonucunda FIV hızla mutasyona uğrar ve büyük bir genetik çeşitlilik gösterir. Viral varyantlar, immun sistemden kaçabilir, moleküler teşhis tekniklerinin ve aşuların geliştirilmesine engel olmaktadır (Hosie ve diğerleri 2009).

Enfeksiyon, eğer enfekte edilen hücre aktif bir hücre değilse latent olarak devam eder. Latent olarak enfekte olan hücreler 'rezerv' görevi görürler ve nötralizan antikordardan kaçınır. Bu kaçış mekanizması etkili bir aşı geliştirilmesine engel olmaktadır (Addie ve diğerleri, 2009).

Deneysel enfeksiyondan sonraki ilk birkaç gün içinde FIV, dendritik hücrelerde, makrofajlarda ve CD4+ T lenfositlerde çoğalmaktadır ve 2 hafta içinde plazmada görülmektedir. Hem plazmadaki virus seviyeleri hem de kan mononükleer hücrelerindeki proviral DNA miktarları artar ve maruziyetten 8-12 hafta sonra zirveye ulaşmaktadır. Bu dönemde iştahsızlık, depresyon ve ateş gibi hafif ve orta şiddette klinik belirtiler görülebilir ki, bu bulgular oldukça sıradan olup, pek çok viral ve bakteriyel enfeksiyonda görülmektedir. Bu bulgular genellikle hızla azalırken, lenf nodüllerindeki aktif germinal hücrelerin sayısının ve boyutunun artmasına bağlı olarak generalize lenfadenopati gibi belirtiler haftalarca veya aylarca devam edebilmektedir. Plazma viral yükündeki azalma, yıllarca sürebilir. Bu durum 'asemptomatik' fazın başlangıcıdır. Kediler uzun yıllar bu durumda yaşayabilmektedirler (Hartmann ve diğerleri, 2009).

Replikasyon, 'hücreye bağlanma ve penetrasyon' aşamasında, virion zarf glikoproteininin hücre reseptörüne bağlanmasıyla başlamaktadır. Her retrovirus genusunun bağlandığı spesifik hücresele reseptörler vardır. Kedi immun yetmezlik virusu ve insan immun yetmezlik virusu gibi immun yetmezlik indükleyen lentiviruslar, ilgili konakçılarının (kediler ve insanlar) hem monosit/makrofajları hem de CD4+ T hücrelerini bağlayabilir, penetre olabilir ve enfekte edebilir, bir inflamasyon indükleyici caprine arthritis encephalitis virusu gibi viruslar, CD4+ T hücrelerini değil, yalnızca keçi monosit/makrofajlarını enfekte edebilmektedirler. Viral zarfın hücre membranına tutunması ve füzyon olayından sonra viral nükleokapsidin sitoplazmaya girişine izin verilir. Nadiren reseptör aracılı endositozla da hücre girişi mevcuttur. Belirli bir retrovirusla enfekte hücreler, genellikle bir başka retrovirusla süperenfeksiyona karşı oldukça

dirençlidir. FIV'e ait farklı suşlar replike olurken farklı hücreleri tercih ederler. Bu farklılık, hastalığın klinik tablosunda bireysel farklılıklar gösterebilir (Tan, 2021). FIV, özellikle CD4+, CD8+ T lenfositleri, B lenfositleri, makrofajlar, astrositler ve mikroglia hücrelerinde çoğalma eğilimine sahiptir (Tan, 2021).

Virionlar spesifik hücre reseptörlerine zar glikoproteinleri vasıtasıyla adsorbe olur. Füzyon, penetrasyon ve soyunma sonrası virion RNA'sının viriona bağlı reverz transkriptaz tarafından çift iplikli bir DNA kopyası meydana getirilmesi aşamaları gerçekleştirilir. Çift iplikçikli DNA, nukleusa hareket eder ve iki long terminal repeat (LTR) ile uç uca sirküle olur ve bu moleküllerin birkaçı hücre DNA'sının çeşitli yerlerinde provirus olarak entegre olur. Hücresel RNA polimeraz tarafından transkripsiyon 5' LTR de başlatılır ve 3' LTR de sonlandırılır. Oluşanlar yeni virion RNA'larıdır (Shelton ve diğerleri, 1990; Beatty ve diğerleri, 1998).

Retrovirusların replikasyonunda reverz transkripsiyon işlemlerinde sık oluşan hatalar, yüksek mutasyon oranlarıyla sonuçlanmaktadır (her jenerasyonda 10^{-4} – 10^{-5}). Değişik retrovirus genomları ile ikili enfekte edilmiş hücrelerde çok sık rekombinasyonlar şekillenir. Mutasyon ve rekombinasyonun birlikte görülme sıklığı herhangi bir diğer hayvan virusundan çok daha fazladır. Akut olarak transforme edici onkojenik retroviruslar tarafından meydana gelen tümör tipleri, bu değişkenliğin sebebini açıklamaktadır (Shelton ve diğerleri, 1990).

Virusların hayvanlarda enfeksiyon oluşturabilmesi için, önce doğal bariyerleri geçip, sonra spesifik ve non-spesifik immün cevaptan kurtulmaları gerekmektedir. Her virusun kendine özgü kaçış mekanizmaları vardır. Retroviruslarında konakçı savunma mekanizmalarından kaçışını sağlayan bazı kaçış mekanizmaları mevcuttur. Non-litik enfeksiyonda virus, konakçı hücrelerine minimum hasar vererek immün sistemden kaçabilir. Hücresel yayılım gösteren viruslar, sadece hücre içi ortamda kalarak, hücre dışı ortamda etkili olan immün yanıtı korumuş olurlar. İmmün sistem hücrelerini enfekte ederek immün sistemden kaçınmış olurlar. Antijenik değişime uğrayan viruslar, meydana gelen mutasyon sebebiyle immün yanıtı kaçabilirler. Bazı retroviruslara karşı immüntolerans şekillenebilir. Bu immüntolerans sayesinde immün sistemden kaçabilirler. Retroviruslar tarafından en çok kullanılan kaçış mekanizmalarından bir tanesi de konakçı genomuna entegrasyondur. Enfeksiyon sonrasında viral RNA, reverz transkriptaz enzimiyle DNA'ya çevrilip konak genomuna entegre olabilmekte, bu şekilde persiste kalarak immün sistemden kaçabilmektedir (Yeşilbağ, 2017).

FIV enfeksiyonlarında klinik olarak orijini belirli olmayan ateş nöbetleri, lökopeni, lenfadenopati, anemi, uyuşukluk, ağırlık kaybı ve spesifik olmayan davranış değişiklikleri gözlenebilmektedir. Bu safhada fırsatçı enfeksiyonlar bulunmamaktadır. Ancak hastalık sürecinde çoğunlukla mantar ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlar saptanmaktadır. Özellikle ağız, diş dokusu diş etleri, yüz ve dilde sekonder enfeksiyonlara bağlı lezyonlara sık rastlanmaktadır (Yeşilbağ ve diğerleri, 2021; Bayraktar ve diğerleri, 2006).

FIV enfeksiyonunun klinik gelişimi beş aşamadan oluşmakta ve birinci aşamada spesifik olmayan; ateş, depresyon, lenfadeniti gibi klinik belirtiler gözlenebilmektedir. İkinci aşamada 1-5 yıl sürebilen, asemptomatik seyir görülmektedir. Üçüncü aşama aylar ya da yıllar sürebilir ve non-spesifik belirtiler ile karakterizedir. Dördüncü aşamada (ARC, AIDS-ilişkili kompleks) sekonder enfeksiyonlar mevcut olup, birkaç ay ile bir yıl kadar sürer. Yine birkaç ay süren beşinci aşama fırsatçı enfeksiyonların başlaması ile karakterizedir (Flemming ve diğerleri 1991; Shelton ve diğerleri, 1990). FIV ile enfekte kediler hastalık fazının gelişimine bağlı olarak değişken klinik belirtiler göstermektedir (Beatty ve diğerleri, 1991). Son fazda, enfekte kediler ağır anemi, fırsatçı enfeksiyonlar ve tümörler gibi bağışıklığın zayıfladığına dair semptomlar göstermektedir. Kedilerdeki FIV enfeksiyonu, B lenfositlerin spesifik olmayan poliklonal aktivasyonunun aracılık ettiği IL-6 üretimindeki artış ile sonuçlanır. FIV ile enfekte semptomatik kedilerin polimorf kan hücreleri (PMBC), mitojenlere karşı yanıtta oluşan IL-2 üretimindeki azalmanın aksine IL-1, IL-6 ve TNF- α üretimde önemli bir artış gösterir. FIV ile deneysel olarak enfekte edilmiş kedilerde, virusla doğal olarak enfekte olanlardaki gibi serum TNF- α düzeylerinin arttığı görülmektedir (Bayraktar ve diğerleri, 2006).

Klinik muayene sırasında enfekte kedilerde hiçbir semptom görülememekte bu nedenle hastalığın belirlenmesi zor olabilmektedir. Bununla birlikte, standart ve uzun süreli tedavilere yanıt vermeyen refrakter enfeksiyonlarda FIV'den şüphelenmek mantıklı bir yaklaşım olarak görülebilmektedir.

Env gen bölgesinde meydana gelen değişimler sonucu şekillenen yeni alt tiplere göre, enfekte kedide görülen klinik semptomlar değişiklik göstermektedir. Örneğin; FIV alt tip A ve FIV alt tip C ile enfekte olan bir kedide nöreolojik enfeksiyonlara sebep olmaktadır. FIV alt tip B ile enfekte olan kediler asemptomatik olarak seyretmektedir. FIV alt tip D ve FIV alt tip E ise tam olarak bir klinik bulgu ile eşleştirememiştir (Beckowzki ve diğerleri, 2014).



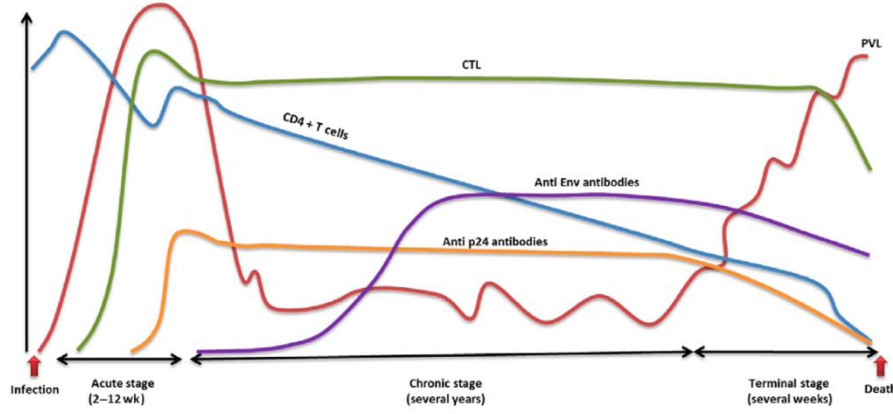
Resim 4. FIV pozitif bir kedide gingivostomatitis (Beczowski ve diğerkleri, 2022).

FIV ile enfekte olmuş kedilerde FIV ile seyreden farklı viral, paraziter, bakteriyel ve fungal hastalıklar bildirilmiş, bu hastalıkların ayırımı zor olsa da FIV hiçbir zaman göz ardı edilmemelidir (Pennisi ve diğerkleri, 2009). Kedilerde gözlemlenen inatçı deri hastalıkları, demodikoz ya da pediküloz görüldüğü durumlarda FIV enfeksiyonu olabilme ihtimali unutulmamalıdır (Hosie ve diğerkleri 2009). B hücreli lenfosarkomlar, miyeloproliferatif hastalık ve skuamöz hücreli karsinom gibi çeşitli neoplastik durumlar FIV enfeksiyonu ile ilişkili olarak bildirilmiştir (Callanan ve diğerkleri, 1996).

Kronik gingivostomatit, FIV ile enfekte olan kedilerde en sık görülen belirtilerden bir tanesidir ve kedinin yaşam kalitesini ciddi oranda bozmaktadır (Tenerio ve diğerkleri, 1991).

Nörovirulan suşlarla deneysel olarak enfekte edilen kedilerde doğrulandığı gibi, merkezi sinir sistemi tutulumu ve periferik nöropati, erken sublinik olaylardır (Ryan ve diğerkleri, 2005). Davranış değişiklikleri, nöbetler, bozulan uyku düzenleri, bozulmuş öğrenme ve parezi de bildirilmiştir (Phillips ve diğerkleri, 1996).

Enfekte kedilerde üreme bozuklukları meydana gelebildiği bildirilmiştir (Weaver ve diğerkleri, 2005). FIV ile enfekte kedilerde şiddetli proteinüri ile ilişkili glomerüler ve tubulointerstisyel lezyonlardan kaynaklanan böbrek tutulumu sık görülmektedir (Poli ve diğerkleri, 1995).



Şekil 2. FIV enfeksiyonunun klinik seyri (Beczowski ve diğerleri, 2022).

2.4. Tanı

FIV'in teşhisinde klinik bulgular incelenerek bir sonuca ulaşılması mümkün değildir. Persiste bir enfeksiyon olması nedeniyle teşhis için kandan virus izolasyonu ile teşhisi mümkündür. FIV için immün sistem tarafından oluşturulmuş antikorların tespiti ile de FIV teşhis edilebilir. Bu antikorlar immünflorasan testi ve ELISA ile tespit edilebilir. Pratik olarak kullanılan hızlı test kitleri de mevcuttur. Ancak spesifite ve sensitivite olmaması sebebi ile polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ya da diğer serolojik testlerle desteklenmelidir (Tan, 2021; Yusuf, 1999).

FIV tanısı direkt ve indirekt tanı olacak şekilde iki temel grup şeklinde incelenebilmektedir, direkt yöntemlerin arasında virus izolasyonu ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gösterilebilmektedir.

Virus izolasyonu en güvenilir teşhis yöntemlerinden bir tanesi şeklinde gösterilmektedir ancak rutinde kullanılamaması ve uygulanmasının güçlüğü nedeniyle pratik bir yöntem olmadığı belirtilmiştir (Hosier ve diğerleri, 2009). Virus izolasyonu için, taze heparinize kan örneklerinden ayrılan periferik kan lenfositleri (buffy coat), primer kedi T hücrelerine inokule edilmekte, 2-3 hafta inkubasyondan sonra kültür sıvılarındaki viral nükleoprotein seviyeleri ölçülerek virus çoğalması doğrulanmaktadır (Hosier ve diğerleri, 2009). Bir diğer direkt teşhis yöntemi ise PCR olup, bu yöntem ile proviral DNA saptanabilmektedir fakat PCR'in serolojik testlere göre duyarlılığı düşüktür. (Beczowski ve diğerleri, 2022; Bienzle ve diğerleri, 2004; Hosier ve diğerleri, 2009).

İndirekt tanı yöntemi ise virusa karşı oluşmuş antikorların tespitine dayanır. FIV enfeksiyonu için kullanılan serolojik testlerde viral yapısal proteinleri (kapsit proteini p24 ve gp41 gibi) tanıyan anti-antikorlar kullanılmaktadır. Serolojik teşhiste kullanılan Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) ve immünokromatografik yöntemler (Lateral Flow Test) bu prensibe dayalı olarak dizayn edilmektedir. Rutin kullanılan ELISA kitleri de p24 ve transmembran proteinini saptayan antikorlarının varlığının tespit edilmesine dayalı çalışmaktadır. Lateral flow testinde ise yalnızca transmembran proteininden daha kısa peptitleri tanıyan antikorların varlığı tespit edilir (Hosier ve diğerleri, 2009; Lutz ve diğerleri, 1988). Bu testin avantajı hızlı sonuç vermesi ve maliyetinin düşük olmasıdır (Akata ve diğerleri, 2014). Western blot analizi (WB), FIV serolojisi için "altın standart" olarak kabul edilmekte ve şüpheli sonuçları doğrulamada kullanılmaktadır. Western blot analizinde purifiye edilen virus önce jel elektroforezi ile onu oluşturan proteinlere ayrılır ve bireysel FIV proteinleri, antikorlar tarafından tespit edilir (Lutz ve diğerleri, 1988).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler tanı yöntemleri, sahip oldukları avantajlardan dolayı serolojik yöntemlere göre daha sık tercih edilir. Periferal kandaki monositik hücrelerde proviral DNA'nın saptanması, antikor varlığından ya da viremiden bağımsız olarak virusun saptanmasına olanak tanımaktadır. PCR tekniğinin sensitivitesi son derece yüksek olup, teorik olarak 105 hücrede bulunabilecek tek bir DNA molekülünün saptanmasına olanak tanır (Saiki ve diğerleri, 1988). Periferal kandaki monositik hücrelerde ve taze veya formol ile fikze edilmiş dokularda FIV'i saptamak için birçok deneysel çalışmada PCR kullanılmıştır (Bayraktar, 2006).

Yeni doğan yavrularda anneden geçen antikorlar (maternal derived antibodies-MADs) beş aya kadar varlığını sürdürebilir. Bu yüzden 5 aylığa kadar olan kedi yavrularına uygulanan testler hatalı sonuçlar verebilir. Bu durumdan kaçınmak için testler altıncı aydan sonra tekrarlanmalıdır (MacDonald ve diğerleri, 2004). İmmunokromatografik hızlı test kitleri, sıklıkla pratik hayatta kullanılmaktadır. FIV tanısı için kullanılan SNAP Kombo FeLV Ag/FIV Ab Testi (IDEXX Laboratories, Inc, Westbrook, ME, ABD) oldukça duyarlı ve spesifiktir ancak doğal enfeksiyon ile aşılamanın neden olduğu antikorların ayrımını yapamamaktadır. Antigen Rapid FIV Ab/FeLV Ag Test Kiti (Bionote, Inc, Hwaseong-si, South Korea) ve WITNESS FeLV-FIV Test Kiti (Zoetis, Inc, Flor- ham Park, NJ, USA) FIV ile enfekte olanları ayırt edebilir (Hosier ve diğerleri, 2009).

2.5. İmmunite

Etkenin alınmasının ardından alınan virus miktarına bağlı olarak, genellikle viremiyi takiben 2-4 hafta içinde plazmada anti FIV antikorları tespit edilebilir. Yine aynı şekilde etkenin alınmasını takip eden 1 hafta sonra FIV spesifik T hücreleri saptanabilmektedir. Ancak tüm bu vücut savunma mekanizmalarının oluşturduğu yanıtlara rağmen etken, enfekte ettiği kedilerde persiste olarak kalmaktadır bu durum FIV ile mücadeleyi oldukça güç bir hale getirmektedir.

Enfeksiyon riski yüksek olan kedilerden (kısırlaştırılmamış, başıboş, erkek) ve bu kedilerin bulunduğu ortamlardan evcil kedilerin uzak tutulması en iyi koruma yoludur. Retrovirusların biyolojik özellikleri nedeniyle aşı geliştirmek oldukça güçtür. Ancak çalışmalar devam etmekte olup, piyasada 2002 yılından bu yana kullanılmakta olan Fel-O-Vax FIV aşısı, alt tip A (Petulama suşu) ve alt tip D (Shizuoka suşu) inaktivasyonu aracılığıyla elde edilmektedir. 2002 yılından günümüze kadar kullanılmakta olan bu aşı alt tip B'ye karşı önemli bir koruma sağlayamamaktadır. Bununla birlikte, aşılama yapılmış kedilerde herhangi bir şüpheli hastalık durumunda FIV için yapılacak serolojik testler aşılamaya bağlı pozitiflik vereceğinden, aşılama kararı klinisyen veteriner hekim tarafından verilmektedir (Kusuhara ve diğerleri, 2005; Levy ve diğerleri, 2008). FIV enfeksiyonlarında etkenin tamamen bertaraf edilmesi mümkün olmadığı için, koruma en ön planda yer almaktadır. Hasta hayvanlara uygulanacak tedavinin başlıca prensipleri ise sekonder enfeksiyonlarla mücadele ve bağıışıklığın desteklenmesidir. Antiviral tedavi olarak zidovudine (ZDN) kullanımı denenebilir. Ancak en nihayetinde kullanılan ilaçlar veya aşılar FIV'e karşı tam anlamıyla bir koruma ya da tedavi sağlayamamaktadır (Tan, 2021). Brezilya'da yapılan aşı çalışmalarında, koruyucu immun yanıt alınabilen aşı prototiplerinin geliştirilmeye başlandığı bildirilmektedir (Andrade ve diğerleri, 2022).

2.6. Destekleyici Tedavi

FIV enfeksiyonunda, enfekte olan kedilerde erken teşhis ve destekleyici tedavilerin uygulanması oldukça önemlidir. Sekonder olarak bakteriyel enfeksiyonlar geçiren kedilerde antibiyotik kullanımı oldukça önemlidir (Hosie ve diğerleri, 2009). Filgastrim (rekombinant insan sitokini) nötrofil sayısının artmasını sağlarken, aynı zamanda viral yükte de artışa sebep olabilmektedir (Arai ve diğerleri, 2000; Philips ve diğerleri, 2006). İnsülin benzeri büyüme

faktörü 1, timik büyümei uyarır ve T hücre fonksiyonunu uyarılmaktadır ve FIV tedavisinde önerilmektedir (Woo ve diğeri, 1999)

İnsanlarda HIV tedavisi için günümüzde kullanılan antiviral ajanlar, kediler için oldukça toksik olup, insanlarda alınan etki maalesef kedilerden alınamamaktadır (Hatmann ve diğeri, 1995). Bu ajanlardan AZT (3'-azido-2',3'-dideoksitimidin), reverz transkriptazı bloke eden bir timidin türevidir. AZT, FIV replikasyonunu inhibe ederek viral yükü azaltabilir. Tedaviye devam edildiği sürece, kedilerin klinik durumunda düzelme ve yaşam kalitelerinde artma gözlemlenmektedir (Hosie ve diğeri, 2009).

Son yıllarda kullanılmaya başlanan interferonlar, türe özgü antiviral, immünomodülatör ve anti-tümör sitokinlerdir olup, kedi interferon-omega enfekte kedinin yaşamı boyunca antikor oluşturmada kullanılabilir (Mari ve diğeri, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kan Örnekleri

Bu tez çalışmasında Aydın ve İzmir illerindeki veteriner kliniklerinden, klinik belirtisi aranmaksızın toplam 70 kediden kan numunesi toplanmıştır. Kan alma işlemi vena cephalica antebrachii'den, Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA)'lı tüplere yapılmıştır. Ayrıca hayvan sahipleri numune alınırken bilgilendirilmiş olup, izinleri ile işlem yapılmıştır (BİLGİ ONAM FORMU). Elde edilen kan numuneleri soğuk zincir altında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'na ulaştırıldı.

Tez çalışmasında kullanılan kan örnekleri İzmir ve Aydın illerindeki kliniklere getirilen kedilerden alınmıştır. Toplanan 70 numunenin 17 adedi sahihsiz sokak hayvanlarından alınmış olup, 53 adedi ise sahipli kedilerden alınmıştır. Çalışmada kullanılan sahipli kedilerin düzenli olarak muayene edildiği ve aşı programlarının aksatılmadığı belirlenmiştir. Toplanan numunelere ait bilgiler ek 1'de sunulmuştur. Yaş aralıkları 4 aylıktan 18 yaşa kadar değişen bu kedilerin sahipleri, klinik ziyaretlerini düzenli aralıklarla yapmalarına rağmen, kedilerindeki FIV durumu hakkında bilgi sahibi olmadıkları belirlenmiştir.

3.1.2. Cihazlar

Çalışma süresince Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nda aşağıda bulunan cihaz ve ekipmanlar kullanılmıştır.

- +4°C buzdolabı (Beko, Türkiye)
- -20°C derin dondurucu (Beko, Türkiye)
- -80°C derin dondurucu (Nüve, Türkiye)
- Elektroforez Sistemi (Major Science Mini 300, Tayvan)
- Elektroforez görüntüleme sistemi (BLook, Tayvan)
- Soğutmalı Santrifüj (Beckman Coulter allegra X-22, Almanya)
- Vortex (Nüve, Türkiye)
- Mikrodalga fırın (Beko, Türkiye)

- Mini Santrifüj (ALFAGEN, Türkiye)
- Etüv (Nüve, Türkiye)
- Biyogüvenlik kabini (Nüve MN 120, Türkiye)
- Corbett Research CG1-96 pcr thermal cycler (Avustralya)
- Miulab PR-96E Gradient Thermal Cycler (Çin)
- Bireysel güvenlik ekipmaları (maske, önlük, gözlük...)
- Nitril eldiven
- Otomatik pipet (Thermo Scientific)
- Eppendorf Tüpü



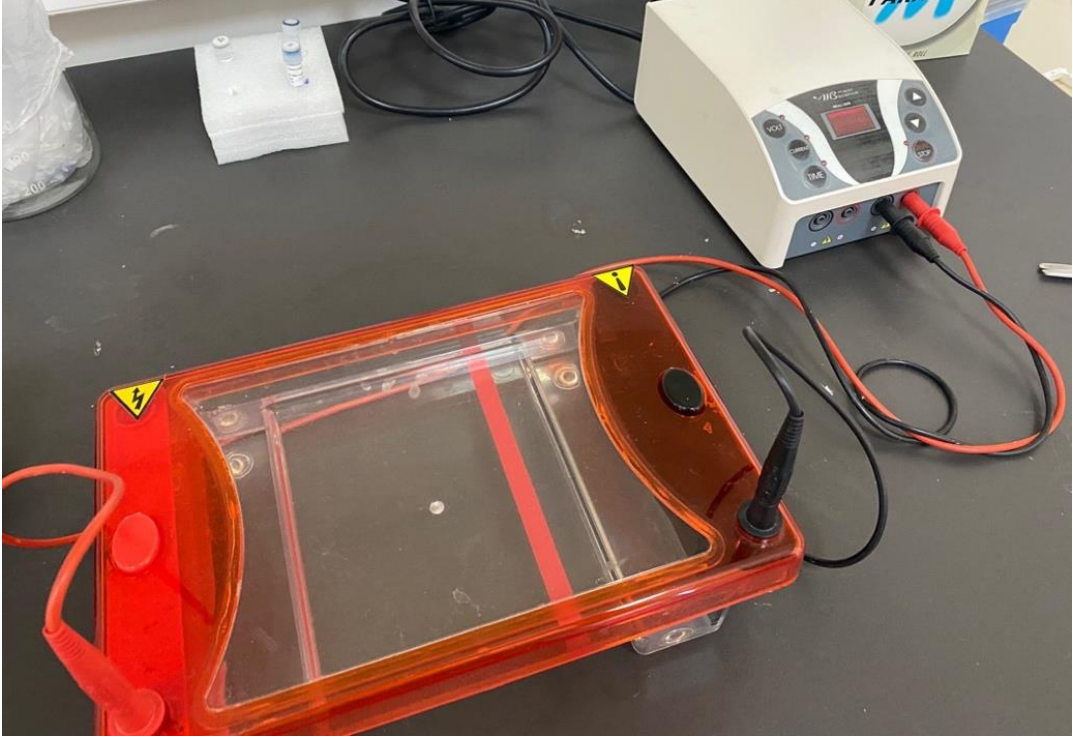
Resim 5. Çalışmada kullanılan soğutmalı santrifüj cihazı.



Resim 6. Çalışmada kullanılan biyogüvenlik kabini.



Resim 7. Çalışmada kullanılan thermal cycler cihazı.



Resim 8. Çalışmada kullanılan elektroforez cihazı ve küveti.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında aşağıdaki kimyasal maddeler ve sarf materyaller kullanılmıştır.

- Sol-D
- Asit-Fenol
- Kloroform
- Na-Acetate (pH 4,2)
- İzopronil alkol
- %70 ETOH
- Distile su
- 100 bp DNA ladder
- SAfeView (Agaroz jel boyası)
- dNTp mix
- Magnezyum Klorür (MgCl₂)
- Taq enzim ve taq buffer (Thermo scientific)

- DNA Jel yükleme boyası (6X) (Thermo Scientific)
- Tris-Asetik Asit EDTA (TAE)
- Agaroz jel hazırlama tozu
- 10xTAE
- 0,5xTAE

3.2. Yöntem

3.2.1. Numunelerin Hazırlanması

Kliniklerden toplanan numuneler, en kısa zamanda ve soğuk zincir altında ADÜ Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'na ulaştırıldı. Getirilen örnekler 1:5 oranında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile dilüe edilerek 3000 RPM devirde 15 dakika boyunca santrifüje yerleştirildi. Santrifüjlenen numunelerin süpernatantı ayrı tüpe alınıp genom ekstraksiyonu işlemine hazır hale getirilir. Ekstraksiyon işlemine hazır hale getirilen örnekler numune alınması tamamlanıncaya kadar Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan -80°C derin dondurucuda saklanması gerekmektedir.

3.2.2. Moleküler Virolojik Karakterizasyon

Yeter sayıda numuneye ulaşıldıktan sonra Anabilim Dalı moleküler laboratuvarında virusun proviral DNA'sını elde etmek amacıyla önce in-house yöntemle DNAekstraksiyonu işlemi (Fenol-Kloroform ekstraksiyonu) uygulandı.

- Ekstraksiyon işlemi için -80°C 'de muhafaza edilen numuneler oda sıcaklığında çözülmeye bırakıldı, çözünme işlemi tamamlandıktan sonra ivedilikle ekstraksiyon işlemine başlandı.
- Ekstaksiyon için 400 µl numuneden alınıp eppendorf tüplerine konuldu.
- 400ml numunenin üzerine yine aynı miktarda (400 µl) solüsyon-D konuldu.
- Birbirine iyice karışması için 10 saniye vortexlenen tüpler tek tek stantlara yerleştirilerek, kapakları yeniden açıldı.
- Tüplere sırasıyla 300 µl Asit fenol, 300 µl kloroform ve 100 µl 3M NA Acetate (pH 4,2) eklendi.

- Bütün kimyasalların iyice karışabilmesi için her tüp teker teker 15 saniye boyunca vortexlendi.
- Tüm tüpler vortexlendikten sonra gruplar halinde 10 dakika boyunca 12.000rpm'de devirde santrifüj edildi.
- Cihazın haznesinin kapasitesinden dolayı santrifüj işlemi toplam dört grupta yapıldı.
- Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra eppendorf tüplerinde alt kısmı koyu kahve-kırmızı üstü ise berrak şekilde iki katmanlı bir görüntü ortaya çıktı.
- Bu iki katmandan üstte kalan berrak sıvıdan 700 µl dikkatli bir şekilde alınarak yeni eppendorf tüpüne geçirildi.
- Eppendorf tüpünün dibinde kalan koyu renkli kısım, eppendorf tüpüyle beraber tıbbi atık kutusuna atıldı.
- Bu işlem tüm eppendorf tüpleri için tekrarlandı.
- Yeni tüpe alınan 700 µl berrak sıvının üzerine -20°C'de bekletilen 700 µl izopropil alkol eklendi.
- Birbirlerine iyice karışması için 15-20 saniye boyunca vortexlendi.
- Berrak bir görünüme sahip bu karışım, 24 saat boyunca -80°C'de bekletildi.
- 24 saat -80°C'de bekletilen karışım oda sıcaklığında çözünmeye alındı.
- Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra ekstarksiyon işlemine ivedilikle devam edildi
- Oda ısısına gelen karışım yine dört grup halinde 10 dakika boyunca 12.000RPM devirde santrifüj edildi.
- Bu santrifüj işlemi sırasında eppendorf tüpleri santrifüjün haznesine konulurken kapak yönlerinin aynı, kapak uçlarının haznenin iç tarafına bakacak şekilde olmasına özen gösterildi.
- Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra tüm eppendorf tüpleri yeniden stantlara alındı.
- Yapılan son santrifüj işleminden sonra eppendorf tüplerinin altında peletlerin oluştuğu gözlemlendi, her zaman peletin varlığı gözle görülemediği için tüm tüpler tek tek kontrol edildi.
- Tüm eppendorf tüplerinde oluşması beklenen peletin oluştuğu gözlemlendi.
- Oluşan pelete müdahale etmeden, tüpteki bütün süpernatant tıbbi atığa döküldü.
- Ayrılan süpernatant, -20°C'de muhafaza edilen %70 ETOH ile yıkandı.
- Yıkama işlemi, 300 µl %70 ETOH eklenen tüplerin 12000RPM devirde 5 dakika boyunca santrifüj edilmesiyle yapıldı.

- Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra eppendorf tüpleri tek tek stantlara alındı ve kapakları açıldı.
- Eppendorf tüplerindeki 300 µl %70 ETOH aspire edildi.
- Aspirasyon işleminden sonra peletlerin görünürlükleri kontrol edildi ve tüm tüplerdeki peletlerin daha net bir şekilde görüldüğü gözlemlendi.
- Kapakları açık bir şekilde etüve alınan eppendorf tüpleri yaklaşık olarak 30-45 dakika boyunca +37°C’de kurutuldu.
- Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra tüm tüplere tek tek 20 µl distile su ilave edildi ve kapakları kapatıldı.
- Kapakları kapatıldıktan sonra ekstraksiyon işlemi tamamlanmış oldu ve bir sonraki aşama olan polimeraz zincir reaksiyonu için tüm tüpler biyogüvenlik kabinine alındı.

3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Yapılan çalışmada FIV tanısını koymak ve moleküler karakterizasyonunu sağlamak amacıyla nested-PCR yöntemi uygulanmıştır. İki basamaklı olarak uygulanan bu PCR yönteminde, moleküler karakterizasyonun belirlenmesi amacıyla env gen bölgesi hedef alınmıştır. Hedef alınan bölge için daha önce Endo ve diğerleri (1997) tarafından tasarlanan primerler kullanıldı.

Tablo 2. PCR için gerekli olan komponentler ve miktarları.

Komponent	Miktar
Distile su (DW)	14,2 µl
10 x buffer	2 µl
MgCl ₂	0.15 µl
Nücleotid mix (dNTP)	0.5 µl
Forward primer	0.5 µl
Reverse primer	0.5 µl
Taq DNA Polymerase (DreamTaq)	0.15 µl

Endo ve diğeri (1997) tarafından tasarlanmış olan bu primerler, env gen bölgesini hedeflemektedir ve 859 bp'lık bir bölgede çalışmaktadır. İlk tur için GAGTAGATACWTGGTTRCAAG ve CATCCTAATTCTTGCATAGC şeklindedir. İkinci turda kullanılan primerler ise CAAAATGTGGATGGTGGAAAYC ve ACCATTCCWATAGCAGTRGC şeklindedir.

Thermal cycler cihazından önce, biyogüvenlik kabininde tablo 2'de nevi ve miktarları komponentler PCR tüplerine alınarak, İlk tur için FIV 1 ve FIV 2 primerleri kullanılmıştır. Toplamda her bir PCR tüpünde 18 µl olacak şekilde alınan tüm komponentlerin üzerine, daha önceden ekstraksiyon işlemini yapılan numunelerden 2 µl eklenerek, her bir PCR tüpüne bir numune alınarak numaralandırıldı (örn: f1, f2, f3...).

Numaralandırma işleminin ardından PCR tüplerini thermal cycler cihazına yükledi ve ilk tur için cihaz çalıştırdı. FIV için olan thermal cycler ısı dereceleri, süresi ve siklus sayısı tablo 3'te verilmiştir.

İlk tur tamamlandıktan sonra PCR tüpleri thermal cycler'dan çıkartılarak, ikinci tur için hazırlandı. İlk turda izlenen adımlar takip edilerek ikinci tur için kullanıldı. Biyogüvenlik kabininde, tablo 2'de gösterilen komponentler, verilen miktarlarda PCR tüplerine konularak ikinci basamak primerleri FIV 3 ve FIV 4 eklenmiştir. PCR tüpleri ikinci tur olduğunu belirtecek şekilde numaralandırıldı (örn: f1nes, f2nes, f3nes..). İlk turda tüplere verilen numaralara karşılık gelecek şekilde birinci turdan elde edilen PCR ürünleri, bu turda numune yerine kullanılmıştır. Her bir ikinci tur PCR tüpüne 2 µl birinci tur PCR ürünün eklenmiştir. İkinci tur için hazırlanan PCR tüpleri, thermal cycler cihazına yükledi ve birinci turdaki gibi tablo 3'te verilen şekilde cihaz çalıştırıldı.

Tablo 3. FIV için thermal cycler ısı, süre ve siklus sayıları.

	Birinci Tur		İkinci Tur	
	Isı	Süre	Isı	Süre
Başlangıç Denatürasyonu	94°C	5dk	94°C	5dk
Döngü 35 Siklus	94°C	45sn	94°C	45sn
	50°C	45sn	50°C	45sn
	72°C	1dk 18sn (Her siklusta +3sn)	72°C	1dk 18sn (Her siklusta +3sn)
Son Uzama	72°C	5dk	72°C	5dk

3.2.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel ile Elektroforezi

Thermal cycler'daki işlemlerin ardından PCR ürünlerini görüntüleyebilmek için Agaroz Jel Elektroforezi hazırlığı yapıldı. Agaroz jel hazırlamak için, ısıya dayanıklı beherglas içersine toz agardan hassas tartı ile 0,40 gr konuldu. Üzerine beherglas derecelerinden kontrol ederek 40 ml 0,5xTAE (Tris-Asetik Asit-Ethylen Diamin Tetra Acetic Asit (EDTA)) eklendi. Ardından beherglas bütün toz partiküller eriyip şeffaf bir görüntü sağlayıncaya kadar (3-4 dk) mikrodalgada 600w güçte ısıtıldı. Isınıp berrak bir hal alan agar üzerine görüntü alabilmek için 5 µl /100ml oranında jel boyası olan Safe View (SAfe View Classic, ABM, Richmond, Canada) eklendi. Jel boyası eklendikten sonra sıvının döküleceği küvet hazırlandı. Parçaları birleştirilen küvete son olarak jel tarakları eklendi ve hazırlanan sıcak haldeki jel tankın içine döküldü. Yaklaşık olarak 20 dakika soğuması ve donması beklenen jelden jel tarakları çıkartıldı. Tanka 10xTAE dolduruldu. Küvet uygun bir şekilde elektroforez tankına yerleştirildi. Yerleştirme işlemi tamamlandıktan sonra jel tarağının oluşturduğu kuyucuklara ürün yükleme işlemine geçildi.

Elektroforez tank küvetinin boyutlarından dolayı jel hazırlama, jele yükleme işlemi ve görüntüleme işlemleri toplamda beş turda gerçekleştirildi.

Elektroforez tankındaki jele ürünleri yüklemek için uygun boyutta bir parafin kağıt kesildi. Parafin kağıdın üzerine 19 damla jel yükleme boyası (6X Thermo Scientific Loading Dye) kondu. Elde edilen PCR ürünlerinin her birinden 2 µl alınarak bu boya ile pipetasyonu yapıldı. Pipetasyonun ardından en baştan birinci kuyucuk boş kalacak şekilde dikkatlice kuyucuklara dolduruldu. Son iki kuyucuğa pozitif ve negatif örnekler koyuldu. Bu çalışmada pozitif ve negatif kontrol olarak, Koç ve Oğuzoğlu (2020) tarafından elde edilen pozitif ve negatif numuneler kullanıldı. Boş bırakılan ilk kuyucuğa ise, ürün büyüklüğünü görüntülemeye yardımcı olacak 100 base pair'lık merdivenden (Referans) (ThermoFisher 100bp plus, MA, USA) 2 µl dolduruldu. Doldurma işlemi tamamlandıktan sonra tank kapağı kapatılarak elektroforez cihazı çalıştırıldı.

Elektroforez cihazı 25 dakika boyunca 100 Volt/cm elektrik akımında çalıştı. Süre sonunda cihazdan alınan jel görüntüleme cihazına (BLook, GeneDirex, Tayvan) aktarıldı.

Mavi ışık altında, pozitif kontrol, negatif kontrol ve merdivenin ilerlemesi baz alınarak örnekler değerlendirildi.

3.2.5. Sekans Analizi

PCR işlemi sonucunda pozitif olduğu belirlenen numunelerin sekans işlemi hizmet alımı yoluyla yapıldı. Sekans analizi Sanger Dideoxy Sequencing metodu kullanılarak yapılmıştır.

3.2.6. Moleküler *in silico* Analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması

Sekans analizinden gelen sonuçlardaki ham verinin (Raw Data) FINCH TV isimli bilgisayar programı ile kontrolleri yapıldı. Zayıf okunan histogramlar ile terminal bölgelerindeki yanlış okunan bölgeler düzeltildi. Düzeltme işlemi için gerekli referanslar, “GenBank” isimli web sitesindeki “Basic Local Alignment Search Tool” (BLAST) uzantısıyla temin edildi. İlgili referanslara göre sekanslardaki hatalar düzeltildi. Düzelttiğimiz sekanslar FASTA formatında (.fas, .fasta) kaydedildi.

Finch TV’de düzenlenen sekansların “accession” numaralarını almak için, yine genbank isimli web sitesindeki “BankIt” arayüzü kullanılarak sekanslar düzenlendi ve sisteme girildi.

BankIt arayüzüne sekans girme adımları:

- İstenen kişisel bilgileri dolduruldu,
- Makale başlığı, yayında emeği geçen kişilerin bilgileri girildi,
- Sekanslama metodu işaretlendi (Sanger Dideoxy Sequencing),
- Sekansların moleküler tipi olarak genomic RNA ve viral bir sekans olduğu tanımlandı,
- Çoğaltılan gen bölgesinin adı ve bu sekansa verilmek istenen isim yazıldı,
- Finch tv’de düzenlenen sekans dizilimi girildi.
- Sekansı düzenleyen birincil kişi olduğumuz belirtildi
- Sekansı alan kişinin bilgileri, alındığı tarihi, alınan yer, sekansa verilen isim ve sekansın ait olduğu konakçı “.text” formatında sisteme yüklendi.

Sistemin bir sonraki istediği bilgi olan kodon tespiti için, dosya halinde yükleme seçeneği tercih edildi ve Koç T. (2018) tarafından daha önce hazırlanmış olan veri dosyası güncelleyerek kullanıldı. Bu dosyadaki verilerle sisteme, hangi sekans aralığının hangi kodonu ifade ettiği verisi yüklemiş oldu. Bu aşama tamamlandıktan sonra sistem sekansın hangi bölgede ifade olduğunu ve ne kadarının ifade olduğunu bilgisini gösterdi, kontrol edip sistemin son aşamasına geçildi.

Son aşamada girilen tüm verilerin kontrolü yapıldı, giriş sonlandırılarak genbank sistemine sekanslar yüklemiş oldu.

Genbank tarafından kontrolleri tamamlandıktan sonra, sekansımıza ait “accession” numaraları tarafımıza ulaştırıldı.

Genbank web sitesinin Blast uzantısından daha önce elde ettiğimiz referans sekansları ile çalışmada elde ettiğimiz ve finch tv programında düzenleyip accession numaralarını alınan sekansların hizalaması yapıldı. Bu işlem, BioEdit (Hall, 1999) programına fasta formatında yüklenen veriler ile gerçekleştirildi. Hizalama işlemi Clustal W algoritması kullanılarak yapıldı. Hizalama işleminin ardından terminal uçlardaki örtüşmeyen kısımlar trimlenerek, çoklu hizalama (multiple alignment) sağlandı. Hizalama işlemi tamamlandıktan sonra filogenetik ağaçlandırma ve translasyonel analiz yapabilmek adına fasta formatında veri dosyası olarak kaydedildi. Kaydedilen veri dosyası, filogenetik ağaç oluşturmak için “Molecular Evolutionary Genetics Analysis” (MEGA v.11 2021) programına yüklendi.

Filogeni oluşturmada en güvenilir algortimaların başında Maximum-likelihood algoritması gelmektedir. Maximum-likelihood ağacı oluşturmak için MEGA v11.0’da “best-fitting” model araması sonrası filogenetik ağacın “Hasegawa-Kino-Yano” modeli ve “uniform rates” heterojenitesi kullanılmıştır. Optimal taksonomiye oluşturabilmek için 1000 bootstrapping replikasyonu kullanıldı. “Best-fitting modeli” veya “find best model” MEGA programı içinde bulunan bir uygulamadır. Maximum-likelihood ağacı oluşturmada önce yapılması en doğru ağaç yapısını oluşturmak için gereklidir.

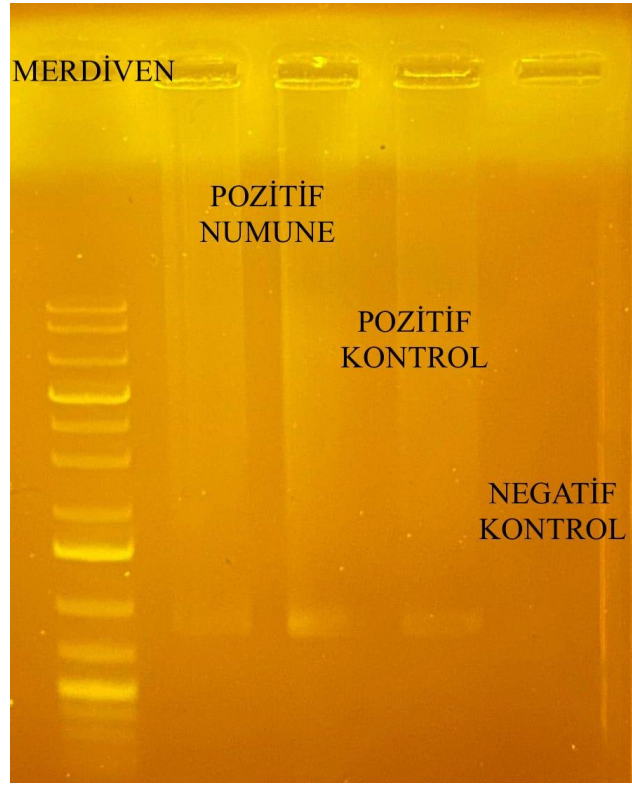
BioEdit programında hizalama işlemi tamamlandıktan sonra, sekans için “Toggle Translation” işlemi yapılmıştır. Bu işlem sayesinde nükleotitlerin hangi amino asitleri ifade ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu işlem sayesinde meydana gelen amino asit değişiklikleri incelenmiştir.

Yine BioEdit programında hizalanan sekansların Potansiyel rekombinasyon durumu RDP4 (Recombination Detection Progame v.4, 2021, Amerika) programı kullanılarak araştırılmıştır (Martin ve diğerleri, 2015). RDP4 programı ile potansiyel rekombinasyon ve sekansları, RDP, GENECOV, Bootscan, MAXCHI, CHIMAERA, SISCAN, ve 3SEQ algoritmaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

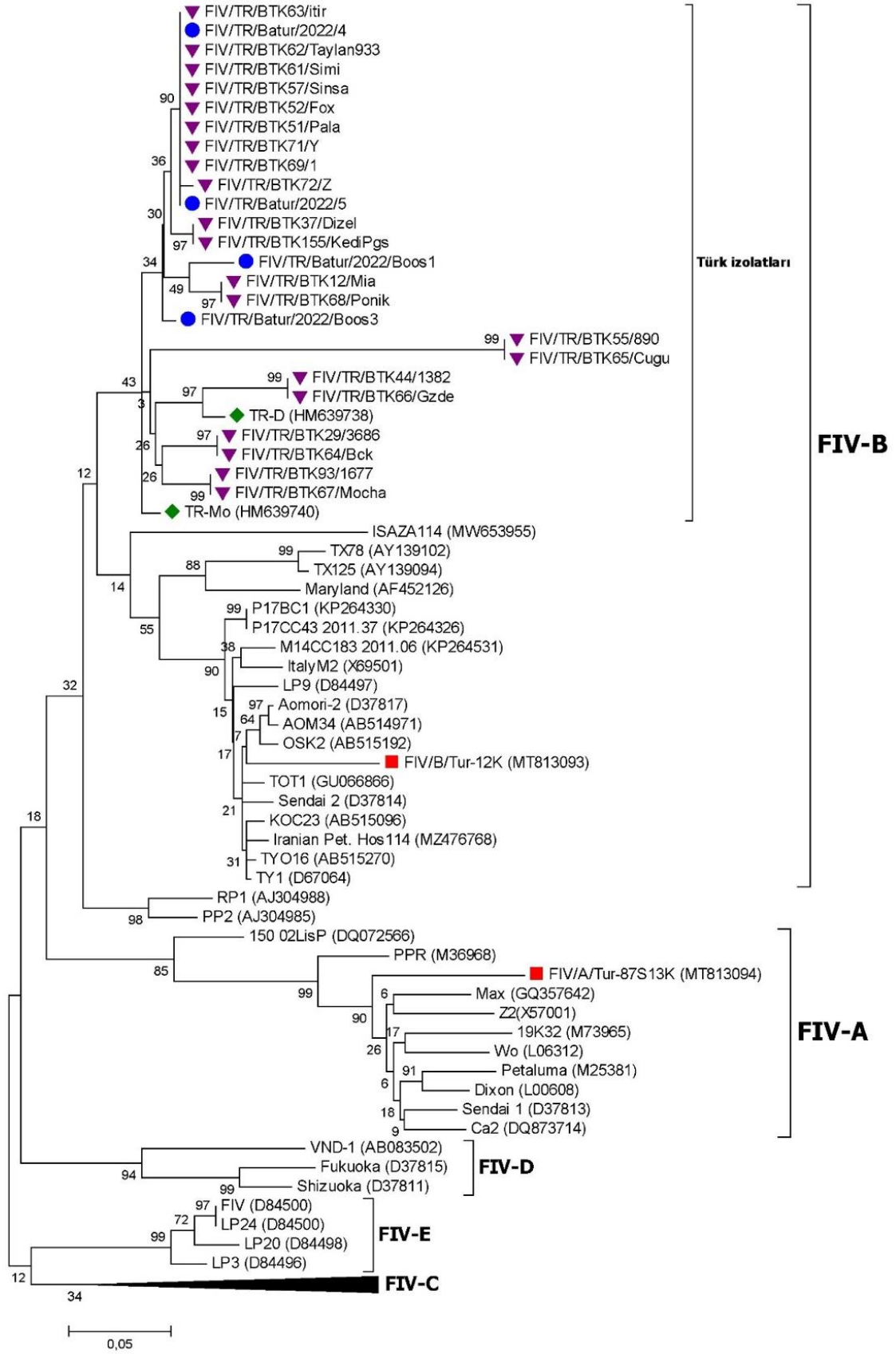
Yapılan çalışma kapsamında, İzmir ve Aydın bölgelerindeki kliniklerden toplam 70 kediden örnek alındı. Toplanan bu numunelere FIV *env* gen bölgesi için sentezlenen primerlerle nested-PCR (859 bp) işlemi yapıldıktan sonra içlerinden 4 tanesinden (%6) pozitiflik alındı.

Toplanan 70 numuneden pozitiflik veren 4 tanesi sekanslanarak alınan veriler değerlendirildi. Sekanslama işlemiyle pozitif çıkan numunelerin pozitiflikleri pozitif oldukları doğrulandı.



Resim 9. PCR ürünlerinin, negatif kontrol, pozitif kontrol ve merdivenin elektroforez sonrası mavi ışık altındaki görüntüsü.

Filogenetik ağaç oluşturmak için maximum-likelihood metodu kullanıldı. Yapılan değerlendirmeler sonucunda elde edilen sekanslarımız *env* gen bölgelerine göre FIV tip B'ye yakınlık göstermiştir. Elde ettiğimiz FIV/TR/Batur/2022/1 (OP414770), FIV/TR/Batur/2022/3 (OP414771), FIV/TR/Batur/2022/4 (OP414772) ve FIV/TR/Batur/2022/5 (OP414773) Türk izolatları grubu içerisinde yer almaktadır.

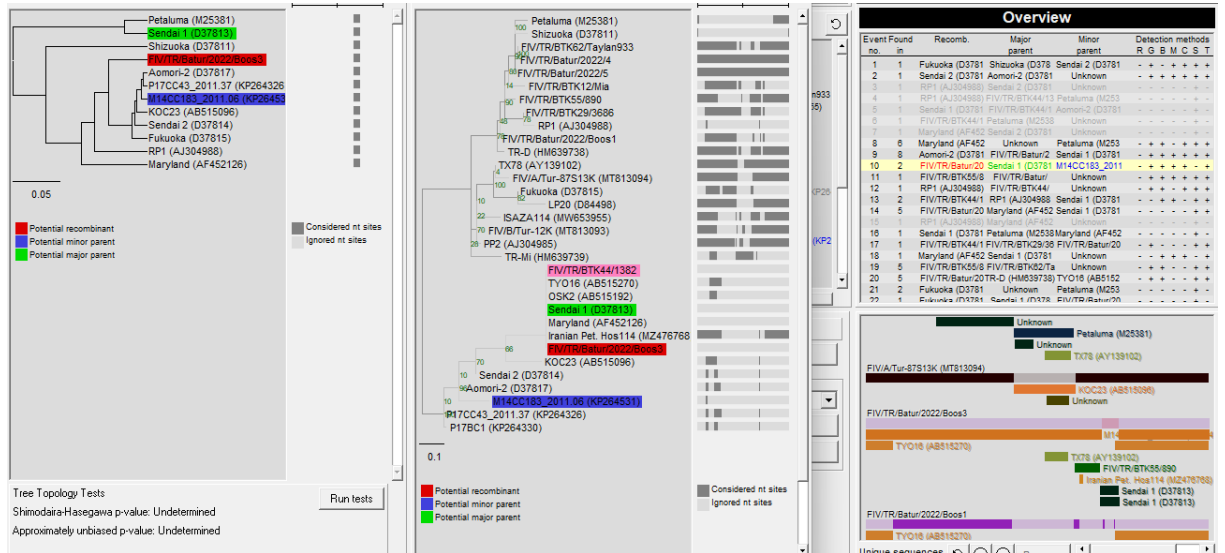


Şekil 3. FIV parsiyel env geni maximum-likelihood ağacı. Tez çalışması kapsamında elde edilen yeni sekanslar filogenetik ağaçta B alt tipinde “●” ile işaretlenmiştir.

Event number	Found in	Recomb.	Major parent	Minor parent	Detection methods						
					R	G	B	M	C	S	T
1	1	Fukuoka (D37815)	Shizuoka (D37811)	Sendai 2 (D37814)	-	+	-	+	+	+	+
2	1	Sendai 2 (D37814)	Aomori-2 (D37817)	Unknown	-	+	+	+	+	+	+
3	1	RP1 (AJ304988)	Sendai 2 (D37814)	Unknown	-	-	-	-	-	+	-
4	1	RP1 (AJ304988)	FIV/TR/BTK44/1382	Petaluma (M25381)	-	-	-	-	-	+	-
5	1	Sendai 1 (D37813)	FIV/TR/BTK44/1382	Aomori-2 (D37817)	-	-	-	-	-	+	-
6	1	FIV/TR/BTK44/1382	Petaluma (M25381)	Unknown	-	-	-	-	-	+	-
7	1	Maryland (AF452126)	Sendai 2 (D37814)	Unknown	-	-	-	-	-	+	-
8	6	Maryland (AF452126)	Unknown	Petaluma (M25381)	-	+	+	-	+	+	+
9	8	Aomori-2 (D37817)	FIV/TR/Batur/2022	Sendai 1 (D37813)	-	+	+	+	+	+	+
10	2	FIV/TR/Batur/2022/Boos3	Sendai 1 (D37813)	M14CC183_2011.06 (KP26453)	-	+	+	+	+	-	+
11	1	FIV/TR/BTK55/890	FIV/TR/Batur/2022/Boos3	Unknown	-	+	+	+	+	+	+
12	1	RP1 (AJ304988)	FIV/TR/BTK44/1382	Unknown	-	+	+	-	+	+	+
13	2	FIV/TR/BTK44/1382	RP1 (AJ304988)	Sendai 1 (D37813)	-	-	+	+	-	+	+
14	5	FIV/TR/Batur/2022/Boos3	Maryland (AF452126)	Sendai 1 (D37813)	-	-	-	-	-	+	+
15	1	RP1 (AJ304988)	Maryland (AF452126)	Unknown	-	-	-	-	-	+	-
16	1	Sendai 1 (D37813)	Petaluma (M25381)	Maryland (AF452126)	-	-	-	-	-	+	-
17	1	FIV/TR/BTK44/1382	FIV/TR/BTK29/3686	FIV/TR/Batur/2022/Boos1	-	+	-	-	-	+	+
18	1	Maryland (AF452126)	Sendai 1 (D37813)	Unknown	-	-	+	+	+	-	+
19	5	FIV/TR/BTK55/890	FIV/TR/BTK82/Taylan933	Unknown	-	+	+	-	-	+	+
20	5	FIV/TR/Batur/2022/Boos1	TR-D (HM639738)	TYO16 (AB515270)	-	+	+	-	-	+	+
21	2	Fukuoka (D37815)	Unknown	Petaluma (M25381)	-	-	-	-	-	+	+
22	1	Fukuoka (D37815)	Sendai 1 (D37813)	FIV/TR/Batur/2022/Boos3	-	-	-	-	-	+	-

Şekil 4. RDP4 programı ile potansiyel rekombinasyon algoritmalarının ve sekanslarının belirlenmesi.

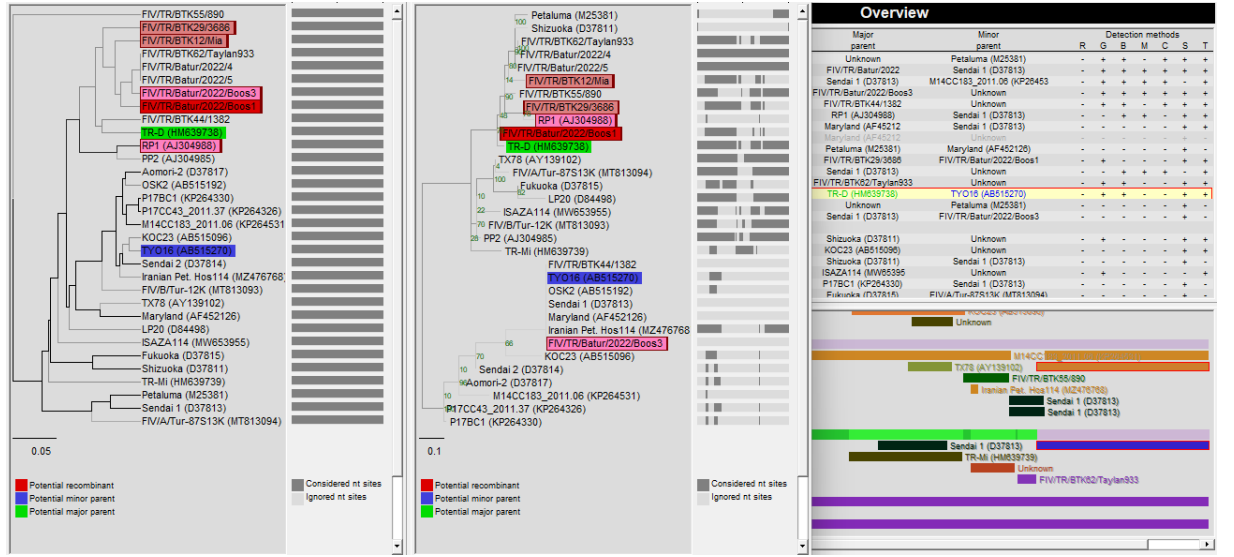
RDP4 programı kullanılarak yapılan analiz sonucunda, RDP, GENECOV, Bootscan, MAXCHI, CHIMAERA, SISCAN, and 3SEQ metotlarından FIV/TR/Batur/2022/Boos3 sekansı için 5 ve FIV/TR/Batur/2022/Boos1 için 4 metotla rekombinasyon sinyalleri alınmıştır. Şekildeki listede her metod için metodun başharfi kullanılmıştır. FIV/TR/Batur/2022/Boos3 sekansı için 5 (G, B, M, C ve T) ve FIV/TR/Batur/2022/Boos1 için 4 metod (G, B, S ve T) la rekombinasyon sinyalleri alınmıştır (Şekil.3).



Şekil 5. FIV/TR/Batur/2022/Boos3 için potansiyel rekombinant suşlar kırmızı ile işaretlenmiştir.

Yapılan çalışmada, in-silico olarak RPD4 programında 7 farklı algoritmayla yapılan rekombinasyon taramalarının sonucunda FIV/TR/Batur/2022/Boos3 (OP414771) ve FIV/TR/Batur/2022/Boos1 (OP414770) sekanslarından rekombinasyon sinyalleri alınmıştır.

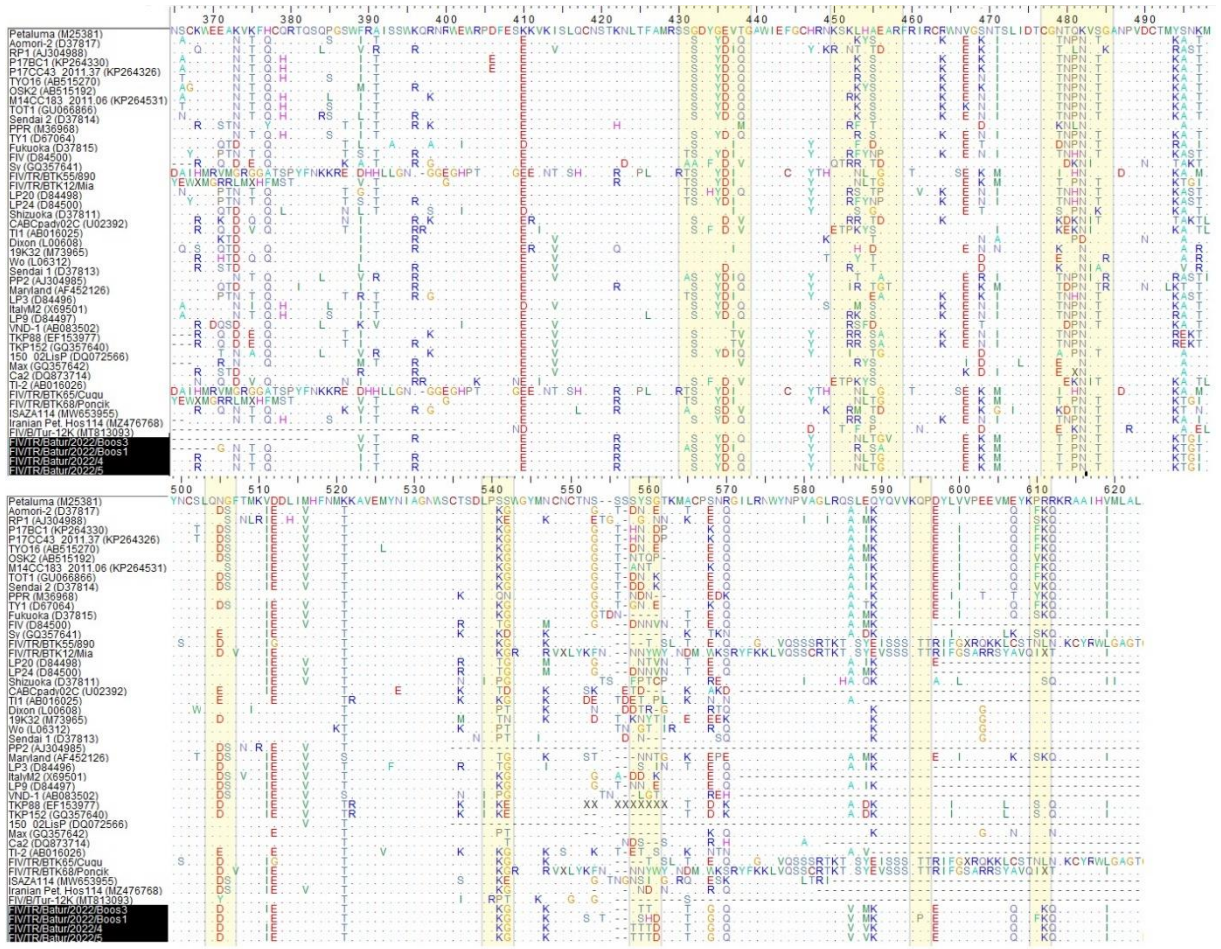
Bu algoritmalara göre FIV/TR/Batur/2022/Boos3 için 5 farklı algoritma ile yapılan rekombinasyon taramasında Sendai 1 (D37813) referans suşu “major parent” ve M14CC183_2011.06 (KP264531) referans suşu “minor parent” olarak saptanmıştır (Şekil.4).



Şekil 6. FIV/TR/Batur/2022/Boos1 için potansiyel rekombinant suşlar kırmızı ile işaretlenmiştir.

FIV/TR/Batur/2022/Boos1 sekansı için ise TR-D (HM639738) ve TYO16 (AB515096) suşları ata suş olarak saptanmıştır. (Şekil 5).

Amino asit ifadeleri incelendiğinde yeni sekanslar genel olarak referans B alt tiptekiler ile benzerlik göstermektedir (Şekil 6). Buna karşın FIV/TR/Batur/2022/Boos1 diğer sekanslardan dikkat çekecek düzeyde farklılık göstermektedir. 453R, 455S, 456A; 540R, 541P, 542T; 559S, 560 H, 561D değişimleri ön plana çıkmaktadır. Şekil 6’da sarı fon ile işaretli kısımlar farklılık yüksek gösteren alanlardır.



Şekil 7. Env geninin parsiyel V3-V5 domainin amino asit ifadelerinin karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Kedilerde enfeksiyona yol açan viral ajanlardan en önemlisi olan FIV, diğer dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de görülmektedir. Klinik belirti göstermeden seyretmesi ve bakım, besleme koşullarının yetersizliği durumunda prognozunun kötü seyretmesi, retroviruslar içinde FIV'in en tehlikeli ajanlardan biri olduğunu düşündürebilir. Ülkemizde kedilerde enfeksiyona yol açan hastalıkların varlığı bilinmektedir, bu enfeksiyonlar üzerine yapılan çalışmalar oldukça az ve elde edilen veriler oldukça sınırlıdır. Yapılan bu çalışmada, araştırılan ve seçimleri rastgele yapılan küçük bir grup kedide 4/70 (%6) FIV pozitif vaka bulunmuştur. Bu pozitif vakalardan PCR ile elde edilen sekanslarla vakaların doğruluğu kesinleştirilmiştir. Küçük bir grupta yakalanan bu pozitiflik yüzdesi daha büyük çalışmalarla araştırılırsa ülkemizdeki yaygınlığı net bir şekilde ortaya konulacaktır. FIV ilk kez 1986 yılında izole edildiğinden beridir kedilerde enfeksiyona yol açmaktadır, aşı çalışmaları devam etmekte olup henüz tüm alt tipleri kapsayan total bir aşı geliştirilememiştir (Pedersen ve diğerleri, 1987).

Yapılan çalışma sonucunda elde edilen sekansların tamamı ML filogenisine göre FIV alt tip B olarak saptanmıştır. Bu bilgi daha önceden elde edilen alt tiplerin coğrafik olarak gözlemlendiği bilgileriyle uyumlu çıkmıştır (Perharic ve diğerleri, 2016).

ML filogenisi genel olarak coğrafi bir sınıflandırmayı sağlamıştır, bu sınıflandırmaya göre çalışmamızda elde ettiğimiz sekanslar türk alt tipleri grubunda yer almaktadır ve önceki sekanslarla yüksek oranda benzerlik göstermiştir (Perheric ve diğerleri, 2016, Koç ve Oğuzoğlu, 2020). Tüm bunların ışığında FIV alt tiplerinin gerçekten coğrafik bir dağılıma sahip olduğunu düşünmekteyiz (Perheric ve diğerleri, 2016, Koç ve Oğuzoğlu, 2020). Tüm bunların ışığında FIV alt tiplerinin gerçekten coğrafik bir dağılıma sahip olduğu doğrudur.

Yapılan bu çalışmada rastgele seçilen ve klinik belirti göstermeyen 70 kediden 4 tanesinde bulunan pozitiflik, ülkemizdeki FIV varlığının aktif bir şekilde devam ettiğini göstermektedir. Dünyanın pek çok yerinde görülen FIV, dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde farklı alt tipleriyle varlığını devam ettirmektedir (Perharic ve diğerleri, 2016; Westman ve diğerleri, 2021).

Retrovirusler gerek çoğalma mekanizmaları ve latent enfeksiyon oluşturmalarıyla, gerekse mutasyona olan yatkınlıklarından dolayı FIV'e karşı yapılan aşı çalışmalarına zorluk çıkartmaktadırlar (Westman ve diğerleri, 2021). Alt tip sayısının fazla olması ve son yıllarda bu beş alt tipe ek olarak, Yeni Zellanda'da görülmeye başlanan UNV-Z ve Amerika Birleşik Devletleri'nde görülmeye başlanan alt tip F'de literatüre eklenmesiyle (Jimenez ve diğerleri,

2022; Koç ve diğerleri, 2018), FIV ile mücadele daha da zor bir hal almıştır. Bu kadar çok alt tip oluşmasının en önemli sebebi *env* genin V3-V5 bölgelerinde meydana gelen moleküler değişikliklerdir (Nishimura ve diğerleri, 1998; Vahlenkamp ve diğerleri, 1999). Meydana gelen bu mutasyonlara virusun replikasyon stratejisine bağlı olarak, en yatkın gen bölgesi olan V3-V5 gen bölgesidir ve bu bölge ML filogenetik ağacı için bir köken oluşturmaktadır (Endo ve diğerleri, 1997).

Viral hastalıkların tümünde olduğu gibi FIV ile mücadelede de aşılama çok önemli bir faktördür ancak günümüzde kullanılan aşılar tüm alt tiplere karşı koruma sağlayamamaktadır. FIV'e karşı 2004 yılından günümüze kadar kullanılan Fel-O-Vax® (FIV; Boehringer Ingelheim Animal Health) sadece alt tip A ve alt tip D'ye karşı aktif bir koruma sağlamaktadır (Cheang ve diğerleri, 2022). Bu aşının temelini oluşturan alt tip A, FIV-Petalaluma'dan, alt tip D ise FIV-Shizuka'dan köken almaktadır (Pu ve diğerleri, 2004). Alt tip B dünya genelinde yaygın olmasıyla birlikte, kullanılan Fel-O-Vax aşısının bu alt tip üzerinde bir koruyuculuğu mevcut değildir. Bu bilgiler doğrultusunda, 2010 yılında Dünya Küçük Hayvan Veteriner Hekimler Birliği (WSAVA) tarafından, Aşılama Yönergeleri listesinde, Fel-O-Vax® FIV aşısı "önerilmeyen aşı" olarak listeye alınmıştır (Westman ve diğerleri, 2021).

FIV'in dünya üzerindeki yaygınlığından dolayı FIV üzerine yapılan çalışmalar dünyanın her yerinde devam etmektedir, araştırmacılar kendi bölgesinde görülen alt tiplere yoğunlaşmaktadırlar. Özellikle alt tip B'nin pek çok bölgede görülmesi alt tip B için yapılan çalışmalara yoğunluk verilmesine sebep olmaktadır. FIV için yapılan çalışmalarda bu konuya en çok ilgi duyan ülkelerden bir tanesi de Avustralya'dır, ada ülkesi olması ve ada sınırları içerisinde FIV alt tip A'nın yaygın bir şekilde görünmesi bu bölgede yapılan çalışmalara yoğunluk kazandırmıştır. Piyasada kullanılan Fel-O-Vax FIV aşısına klinisyen hekimlerin erişmesi oldukça rahattır ve rutin aşılama programlarında tercihe bağlı olarak kullanılmaktadır. Avustralya diğer pek çok hastalıkla mücadele ettiği gibi FIV ile de sıkı bir şekilde mücadele etmektedir. Özellikle ülkeye evcil hayvanların girişine hiçbir şekilde izin vermeyerek yeni alt tiplerin görülmesinin önüne geçilmektedir. Bu ve bunun gibi pek çok önlemin dışında FIV üzerine önemli çalışmalar yapılmaktadır.

Son yıllarda ülke genelinde barınak, bakım evi ve dışarıda gezebilen evcil kediler üzerine yapılan çalışmalarda ülkede hala FIV pozitif hayvanlar olduğu raporlanmıştır. Ülke genelinde %15 oranında FIV enfekte kedi olduğu düşünülmektedir. Geçtiğimiz yıl ülke genelindeki barınaklarda yapılan çalışmalarda; barınaklarda rutin olarak hızlı test kitleriyle FIV taraması yapılmış olup, yapılan bu taramalardan pozitif çıkan kedilere sadece %35'lik bir oranda doğrulama testleri uygulandığı ve bu çalışmaya katılan barınak, bakım evi gibi alanların

%23,5'inde pozitif çıkan kedilerin ötenazi ile uyutulduğu ortaya çıkmıştır (Cheang ve diğerleri, 2022). Bu ve bunun gibi pek çok çalışma Avustralya'nın coğrafi avantajları doğrultusunda kazanmış oldukları avantajları kaybetmemek adına yaptıkları çalışmalardır. Sahip oldukları coğrafi avantajı korumak için genel prognoza bakılmaksızın ötenazi uygulaması etik değerler açısından tartışmalı bir konudur.

Dünyanın genelinde yaygın olan ve ülkemizde de görülen FIV alt tip B içinde pek çok farklı ülkede farklı çalışmalar yapılmaktadır. Brezilya'da, Andrade ve diğerleri tarafından (2022) yapılan aşı protatipi çalışmasında, FIV alt tip B'nin env gen bölgesinin V1-V3 bölgesini ifade eden, rekombinant viral vektör modifiye aşı virusu Ankara (MVA) kullanılarak FIV alt tip B için bir prototip oluşturulmuştur.

FIV alt tip B için yapılan ilk çalışmalarda, spesifik antikorlarla hümoral bağışıklık oluşturmasına odaklanılmıştır. Ancak bu bakış açısının FIV için tamamen doğru olmadığı ortaya konulmuştur (Huisman ve diğerleri, 2004; Wang ve diğerleri). Yapılan çalışmalarda, sitotoksik T hücre yanıtının (CTL), hücrel bağışıklık oluşunda enfeksiyondan kısa bir süre sonra şekillenen akut fazdaki virus replikasyonunu kontrol etmek için gerekli olduğunu göstermiştir (Westman, 2019). Güçlü hücrel ve hümoral tepkileri indüklemek için, ilgili proteinleri majör doku uyumluluğu yoluyla endojen antijen işleme yollarına, kompleks I ve II'ye (MHC-I ve MHC-II) hedeflemek için özel antijen verme sistemleri gerekebilir (Andrade L. ve diğerleri, 2022). Bu çalışmada kullanılan rekombinant viral vektör teknolojisi, doğru bir yaklaşım sergilemektedir. Bu viral vektörler ifade edilen proteinlere karşı CTL tepkisini indükleme yeteneğine sahiptir (Huisman ve diğerleri, 2004).

Rekombinant vektör kullanımı pek çok avantaja sahiptir; bağışıklık kazandırılmış konakçının hücreleri içinde yüksek seviyelerde rekombinant antijen üretimi, vektörün proteinlerinin potansiyel adjuvan etkisi, özel soğutma ekipmanı olmadan depolamaya izin veren liyofilizasyon kapasitesi ve geniş çapta sadece hümoral değil aynı zamanda hücrel tepkileri de indükleme yeteneğine sahiptir (Roca ve diğerleri, 2004; Souza ve diğerleri, 2005). Yapılan bu çalışmada, daha düşük maliyette olmasından kaynaklı deney fareleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, aşı prototipinin fareler üzerinde hücrel ve hümoral bağışıklık tepkilerini aktive edebildiği gözlemlenmiştir. Geliştirilen bu prototipin liyofilizasyondan sonra biyolojik özelliklerin korunması ve en sık kullanılan test kitleri ile test edildiğinde aşılınmış hayvanlarda yanlış pozitif sonuçlar vermemesi en büyük avantajlarından. Çalışmanın sonucunda oluşturulmuş immunojenin klinik değerlendirmesini desteklemektedir (Andrade ve diğerleri, 2022).

Bu çalışmalar doğrultusunda dünyanın farklı yerlerinde FIV ile mücadelede farklı yöntemler ve yaklaşımlar izlendiği gözlemlenmektedir. Yapılan tüm çalışmalar aşılamanın öneminin FIV ile mücadelede ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır ve yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunun FIV alt tip B'ye karşı etkili bir aşı bulmaya yönelik olduğunu göstermektedir.

Rekombinasyon durumu FIV alt tip B için daha önceki yayınlanan literatür bilgilerinde bildirilmiştir (Bachman ve diğerler, 1997). Ancak ülkemizde daha önce sekans bilgileri paylaşılan sekanslar üzerinde rekombinasyon araştırılması yapılmamıştır. Bu tez çalışmasında in-silico olarak RDP4 programında 7 farklı algoritma kullanılarak yapılan rekombinasyon taraması sonucunda FIV/TR/Batur/2022/Boos3 ve FIV/TR/Batur/2022/Boos1 sekanslarında rekombinasyon sinyalleri alınmıştır (şekil 3, şekil 4 ve şekil 5).

RDP4 programında FIV/TR/Batur/2022/Boos3 için; RDP, GENECOV, Bootscan, MAXCHI, CHIMAERA, SISCAN ve 3SEQ metotları kullanılarak yapılan rekombinasyon taraması sonucunda, FIV/TR/Batur/2022/Boos3 sekansı için; GENECOV (G), Bootscan (B), MAXCHI(M), CHIMAERA(C) ve 3SEQ (T) algoritmalarında rekombinasyon sinyalleri alınmıştır (şekil 3 ve şekil 4).

Yapılan algoritmik taratmada FIV/TR/Batur/2022/Boos3 sekansı için Sendai 1 (D37813) referans suşu “major parent” olarak belirlenirken, M14CC183_2011.06 (KP26453) referans suşuysa “minör parent” olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak bu suşlar FIV/TR/Batur/2022/Boos3 suşuna köken teşkil eden ata suşlardır (Şekil 4).

Sendai 1 (D37813) suşunun FIV alt tip A grubunda olması ve FIV/TR/Batur/2022/Boos3 için “major parent suş” olması oldukça dikkat çeken bir durumdur. Bu durum FIV alt tip A ve FIV alt tip B suşları arasında bir rekombinasyonun varlığını işaret etmektedir. Bu olası rekombinasyonun ülkemiz coğrafyasında bir sirkülasyona girmiş olabileceğine dair kanıt niteliğinde olan bu çalışma, sonraki gelecek araştırmacılara bir kaynak niteliğinde olmalıdır ve bu alt tip A/B rekombinasyonunun varlığını bilinerek çalışmalarına yön vermelidirler.

Yine RPD4 programında FIV/TR/Batur/2022/Boos1 sekansı için; RDP, GENECOV, Bootscan, MAXCHI, CHIMAERA, SISCAN, ve 3SEQ metotları kullanılarak yapılan rekombinasyon taraması sonucunda, FIV/TR/Batur/2022/Boos1 sekansı için; GENECOV (G), Bootscan (B), SISCAN (S) ve 3SEQ (T) algoritmalarından rekombinasyon sinyalleri alınmıştır (Şekil 3 ve şekil 5).

Bu algoritmalar doğrultusunda, FIV/TR/Batur/2022/Boos1 sekansı için; TR-D (HM639738) suşu “major parent” suş olarak belirlenirken, TYO16 (AB515279) suşu “minör

parent” suş olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak FIV/TR/Batur/2022/Boos1 sekansı, TR-D ve TYO16 suşlarından köken almıştır.

Oğuzoğlu ve diğerleri tarafından (2010) yılında yapılan çalışmada, TR-D (HM639738) ülkemizde ilk kez FIV alt tip B'nin varlığı ortaya konmuştur, sekiz yaşındaki erkek bir kediye ait olan bu örnek literatür bilgisi için önemli bir kaynak olmuştur. Bu çalışmanın sonucunda TR-D ve elde edilen diğer suşlardan TR-MO aynı dalda ve alt tip B içindeki Türk alt tipleri grubu içerisinde yer almıştır. Yine aynı çalışmadan elde edilen TR-MÍ suşu ise alt tip E'ye komşu olarak bulunmuştur. Oğuzoğlu ve diğerleri (2010) yaptıkları bu çalışma sonucunda Türkiye'deki FIV alt tiplerinin dağılımları hakkında literatüre önemli katkılar sağlamışlardır. Edindikleri bilgiler, Yılmaz Tarafından (2000) yapılan prevalans çalışmalarıyla uygunluk göstermektedir.

FIV/TR/Batur/2022/Boos1 için minör parent olan TYO16 (AB515270) suşu ise, ilk kez Nakamura ve diğerleri tarafından (2010) Japonya'da yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda literatüre eklenmiştir.

TR-D ve TYO16 rekombinasyonları doğrultusunda FIV/TR/Batur/2022/Boos1 suşu ortaya çıkmış olabilir.

Bu çalışmalar doğrultusunda, yapılan tez çalışmasında, üzerinde çalışılan 70 kediden (41 tanesi erkek-29 tanesi dişi) bulunan dört pozitifliğinde erkek kedi olması, daha önceki yapılan prevalans çalışmalarıyla uygunluk göstermiştir, yine F50 numune kodlu Sokak Kedisi-10 numunesinin dışındaki F23, F45 ve F50 numune kodlu kedilerin tamamının 2 yaşının üstünde olması ve kısırlaştırılmamış olması bu prevalans çalışmalarıyla uygunluk göstermektedir (Oğuzoğlu ve diğerleri 2010, Yılmaz ve diğerleri, 2000; Ravi ve diğerleri, 2010).

Bu bilgiler doğrultusunda, ülkemizde olası farklı FIV alt tiplerinin araştırılması büyük önem arz etmektedir, bu araştırmalar sonucunda ülkemiz alt tipleri için aşı çalışmaları gerçekleştirilebilir ve bu dünyada FIV için kullanılan aşılarda Türkiye'deki potansiyel koruma yüzdeleri hesaplanabilir. FIV için araştırmaların genişletilmesi bu bakımdan büyük bir öneme sahiptir.

Yapılan tez çalışması kapsamında, RPD4 programıyla yapılan *env* geninin parsiyel V3-V5 domainin amino asit ifadelerinin karşılaştırılması sonucunda FIV/TR/Batur/2022/Boos3 sekansında ortaya çıkan bazı değişiklikler göze çarpmaktadır. 455 sırada ifade edilen ve bulunan diğer FIV/TR/Batur/2022/4 ve FIV/TR/Batur/2022/5 suşlarıyla aynı şekilde yine Sendai 1 suşu ile aynı amino asit olan Treonin (T) farklılığı göze çarpmaktadır. 458 numaralı amino asit FIV/TR/Batur/2022/Boos3 suşunda diğer suşlardan farklı olarak Valin'nin (V)

varlığı göze çarpmaktadır. 558 numaralı amino asitte, FIV/TR/Batur/2022/4 ve FIV/TR/Batur/2022/5 olmasına rağmen FIV/TR/Batur/2022/Boos3'te T amino asiti kaybolmuştur, aynı numaralı bölge Sendai 1 suşunda da FIV/TR/Batur/2022/Boos3'te olduğu gibi boştur.

Yine yapılan tez çalışması kapsamında aynı programda yapılan, rekombinasyon taramasında FIV/TR/Batur/2022/Boos1 için göze çarpan amino asit değişiklikleri mevcuttur. 431 sırasında ifade edilen amino asit diğer suşlarda mevcut olmayan Alanin (A) varlığı dikkat çekmektedir. 431 numaralı amino asitte meydana gelen bu olay, Sendai 1 (D37813) suşunda, ISAZA114 (MW653955) suşunda ve SY1 (GQ357641) suşunda da görülmektedir. 437 sırada meydana gelen izolösin (I) eklenmesi dikkat çekmektedir, bu durum; VND-1(AB083502), LP3 (D84496), PP2 (AJ304985), FIV/TR/BTK68/Poncik, FIV/TR/BTK65/Cuqu, FIV/TR/BTK12/Mia, FIV/TR/BTK55/890, Sendai 1 (D37813), 19k32 (M73965), Shizuka (D37811), LP24 (D84500), LP20 (D84498), Fukuoka (D37815), TY1 (D67064) ve RP1 (AJ304988) suşları ile benzerlik göstermektedir. 453 numaralı amino asitte meydana gelen değişimde, bulunan suşlarda asparajin (N) olan bölge, FIV/TR/Batur/2022/Boos1'de arjinin (R) olarak görüntülenmektedir, IrianPetHos114 (MZ476768), TKP152 (GQ357640), TKP88 (EF153977), Maryland (AF452126), SY1 (GQ357641), TY1 (D67064) ve TYO16 (AB515270) suşlarında da aynı bölgede R'nin varlığı dikkat çekmektedir. 454 numaralı amino asit bölgesinde, FIV/TR/Batur/2022/Boos3, FIV/TR/Batur/2022/4 ve FIV/TR/Batur/2022/5 susşarında lösin'nin (L) varlığı dikkat çekerken FIV/TR/Batur/2022/Boos1'de aynı bölgede L görülmemektedir. 456 numaralı amino asit bölgesinde ise, bulunan diğer suşlarda glisin (G) olan bölge, FIV/TR/Batur/2022/Boos1'de alanin (A) olmuştur, TKP152 (GQ357640), TKP88 (EF153977) ve PP2 (AJ 304985) suşları içinde aynı değişim söz konusudur. 559 numaralı amino asit bölgesinde bulunan diğer suşlarda treonin (T) olan bölge FIV/TR/Batur/2022/Boos1'de serin (S) olmuştur, ISAZA114 (MW653955), Ca2 (DQ873714) ve LP3 (D844496) suşlarında da serinin varlığı gözlemlenmiştir. 595 numaralı amino asit bölgesine FIV/TR/Batur/2022/Boos1 suşunda prolin (P) eklendiği görüntülenmiştir. Son olarak 609 numaralı amino asit bölgesine FIV/TR/Batur/2022/Boos1 suşunda fenilalanin (F) eklendiği görülmüştür, aynı durum; TY1 (D67064), TOT1 (GU066868), M14CC183-2011.06 (KP264531), TYO16 (AB515270), PC17CC43-2011.37 (KP264326), P17BC1 (KP264330) ve Aomori-2 (D37817) suşlarında da görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tez çalışmasına göre sahipli kedilerin aşılama programına FIV hızlı test kitleri entegre edilip, düzenli klinik takibi yapılan evcil kedilerin FIV statüleri takip edilmelidir. Sahipsiz hayvan barınaklarına geçici ya da kalıcı olarak gelen tüm kedilerin piyasadaki hızlı test kitleriyle FIV statüsü araştırılmalı ve pozitif çıkan kedilerin, negatif olan kedilerle teması engellenmelidir. Bu alınacak küçük önlemler sayesinde klinik düzeyde FIV enfeksiyonu takip edilebilir ve gerekli önlemler alınabilir. Barınak ve bakım evlerinden sahiplenilen kedilere, ilk gün muayenesi uygulanmalı ve eğer sahiplenen kişinin evinde farklı ve FIV negatif bir kedi varsa ona göre bir sahiplendirilme programı izlenilmelidir. Gelişmiş ülkelerin hayvan seyahat ve barınak takip sistemleri, ülkemiz için uyarlanmalıdır, ülkeye giriş-çıkış yapmak isteyen bir kedi ya da köpekten kuduz titrasyon testi dışında bir belge istenmemektedir, bu da ülkemizde yeni alt tiplerin görülmesine yol açabilir. Bu durumun önüne geçmek adına ülke giriş çıkışlarında hayvanları daha geniş çaplı bir test prosedürü ile araştırılıp gerekli karantina uygulamaları gerçekleştirilmelidir.

Dünya genelinde FIV üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça fazladır, bu çalışmalar karakterizasyondan aşı üretimine kadar geniş çaplıdır. Ülkemizde yapılan çalışmalar oldukça yakın tarihli olup bu çalışmalar sadece virusun tespiti ve suşunun belirlenmesinden ileriye gidememektedir. Tez kapsamında yapılan in-silico analizler, ülkede sirküle olan FIV alt tip A virusu ile rekombinasyon sonucu ortaya çıkan muhtemel B alt tipine ait yeni suşun, gelecek araştırmalara farklı bir bakış açısı sağlayacaktır.

Son yıllarda evde beslenen kedilerin sayısal olarak artmış olması, bununla beraber ülke genelinde sahipsiz diye nitelendirilen kedilerin sokak hayvanlarının kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve bu sokak hayvanlarının herhangi bir kontrole tabi tutulmaması maalesef ülke genelindeki virus sirkülasyonunu arttırmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda sokak hayvanlarına, sadece FIV enfeksiyonu için değil, viral açıdan tüm enfeksiyonların takibi yapılmalıdır.

Son yıllarda artış gösteren sahipsiz kedilerin, popülasyonunda erkek kediler arası kavgaların yaşanması çok olasıdır. Bu kavgalar neticesinde olası FIV yayılımı gerçekleşebilir. Bu yayılımın önüne geçmek adına sahipsiz hayvanlara kısırlaştırılma yapılmalıdır. Belediyelerin ilgili birimlerinde görevli veteriner hekimlerin bu durumlar için daha sıkı özen göstermeleri gerekmektedir.

Yapılan tez çalışmasında elde edilen FIV alt tip A ülkemiz sınırları içinde ilk defa rekombinasyon sinyali vermiştir, buna göre ülkemizde FIV alt tip A görülme ihtimali yok

değildir. Bu alt tipin varlığı geniş bir çalışmayla araştırılıp kesin olarak bir sonuca ulaştırılmalıdır. Akademik olarak oldukça iyi bir noktada olan ülkemizde, alt yapısı mümkün olan laboratuvarlarda en kısa sürede, FIV alt tip B için aşı çalışmaları başlatılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Acevedo-Jiménez, G. E., Silva R. E., Alanso-Morales R. A., Cordova-Ponce R., Ramirez-Alvarez A. (2022). Detection and genetic characterization of feline retroviruses in domestic cats with different clinical signs and hematological alterations. *Archives of Virology*, 168(1). doi: 10.1007/s00705-022-05627-z.
- Andrade, L. A. F., Versinai A. F., Barbosa-Stancioil E. F., Reis J. K. P., Reis J. G. A. C., Fonseca F. G. (2022). Developing a feline immunodeficiency virus subtype B vaccine prototype using a recombinant MVA vector. *Vaccines*, 10(10), 1717. doi: 10.3390/vaccines10101717.
- Arai, M., Darman, J., Lewis, A., Yamamoto, J. K. (2000). The use of human hematopoietic growth factors (rhGM-CSF and rhEPO) as a supportive therapy for FIV-infected cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77(1–2), 71–92. [https://doi.org/10.1016/s0165-2427\(00\)00232-4](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(00)00232-4)
- Azadian, A., Gunn-Moore D. A. (2020). Naturally FIV-infected cats exhibit a higher risk of age-related visuospatial working memory impairment compared with cats without FIV disease. *Journal of veterinary behavior: clinical applications and research: official journal of: Australian Veterinary Behaviour Interest Group, International Working Dog Breeding Association*, 32–36. doi: 10.1016/j.jveb.2020.07.001.
- Bachmann, M. H., Mathiason-Dubard C., Learn G. H., Rodrigo A. G., Sodora D. L., Mazzetti P., Hoover E. A., Mullins J. I. (1997). Genetic diversity of feline immunodeficiency virus: dual infection, recombination, and distinct evolutionary rates among envelope sequence clades. *Journal of Virology*, 4241–4253. doi: 0.1128/JVI.71.6.4241-4253.1997.
- Baydar E., Eröksüz Y., Timurkan M. Ö, Eröksüz H. (2014). Feline Infectious Peritonitis with Distinct Ocular Involvement in A Cat in Turkey *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*.

- Bayraktar, E. (2020). Molecular detection and clinical aspects of feline Herpesvirus-1, feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats in Istanbul, turkey. *Pakistan Veterinary Journal*, 40(02), 249–252.
- Beatty, J. A., Willett, B. J., Gault, E. A., & Jarrett, O. (1996). A longitudinal study of feline immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes in experimentally infected cats, using antigen-specific induction. *Journal of Virology*, 70, 6199–6206.
- Bęczkowski, P. M., & Beatty, J. A. (2022). Feline immunodeficiency virus. *Advances in Small Animal Care*, 3(1), 145–159. <https://doi.org/10.1016/j.yasa.2022.05.007>
- Bęczkowski, P. M., Hughes, J., Biek, R., Litster, A., Willett, B. J., Hosie, M. J. (2014). Feline immunodeficiency virus (FIV) env recombinants are common in natural infections. *Retrovirology*, 11(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s12977-014-0080->
- Belgard, S., Truyen U., Christophe J. C., Suauter-Louis C., Hartmann K. (2010). Relevance of feline calicivirus, feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, feline herpesvirus and Bartonella henselae in cats with chronic gingivostomatitis. *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 123(9–10), 369–376.
- Bienzle, D., Reggeti, F., Wen, X., Little, S., Hobson, J., Kruth, S. (2004). The variability of serological and molecular diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *Can Vet Journal*, 45, 753–757.
- By, D. J., Hockley, Wood R. D., Garret A. D. (1988). Electron Microscopy and Photography Section and 2Division of Virology. *National Institute for Biological Standards and Control Blanche Lane*.
- Callanan, J. J., Jones, B. A., Irvine, J., Willett, B. J., McCandlish, I. A., Jarrett, O. (1996). Histologic classification and immunophenotype of lymphosarcomas in cats with naturally and experimentally acquired feline immunodeficiency virus infections. *Veterinary Pathology*, 33(3), 264–272. <https://doi.org/10.1177/030098589603300302>
- Carlton, C., Norris J. N., Hall E., Ward M. P., Blank S., Gilmore S., Dabydaan A., Tran V., Westman M. E., (2022). Clinicopathological and epidemiological findings in pet cats

naturally infected with feline immunodeficiency virus (FIV) in Australia. *Viruses*, 14(10), 2177. doi: 10.3390/v14102177.

Cheang A., Westman M. E., Green J. (2022). Evaluation of a Point-of-Care Feline Immunodeficiency Virus (FIV) Test Kit (RapidSTATTM FIV) to Determine the FIV Status of FIV-Vaccinated and FIV invaccinated Pet Cats in Australia. *Veterinary Science*, 9(11), 618.

Crawford, P. C., Levy, J. K. (2007). New challenges for the diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Clinic North America Small Animal Practice*, 37, 335–350.

De Cramer, K. G. M., Stylianides, E., van Vuuren, M. (2011). Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, 149(1–2), doi: 10.1016/j.vetmic.2010.11.004.

De Mari, K., Maynard, L., Sanquer, A., Lebreux, B., Eun, H. M. (2004). Therapeutic effects of recombinant feline interferon-omega on feline leukemia virus (FeLV)- infected and FeLV/feline immunodeficiency virus (FIV)-coinfected symptomatic cats. *Journal of Veterinary Intern Medicine*, 18, 477–482.

Erol, N., Pasalı S,. (2013). An Investigation of the Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) Infections in Cats in Western Turkey. *Acta Scientiae Veterinariae* 41: 1166.

Frankenfeld, J., Meili T., Meli M. L., Riond B., Helfer A. K., Bönzli E., Pineroli B., Hofmann-Lehmann R. (2019). Decreased sensitivity of the serological detection of feline immunodeficiency virus infection potentially due to imported genetic variants. *Viruses*, 11(8), 697. doi: 10.3390/v11080697.

Goff, S. P. (2001). *Fields virology*. Knipe, M. D., Howley D. M. (ed), Retrovirus içinde (6. Baskı, ss-1424-1474) Amerika: Wolters Kluwer.

Halecker, S., Krabben L., Kristiansen Y., Krüger L., Möller L., Becher D., ... Denner J. (2022). Rare isolation of human-tropic recombinant porcine endogenous retroviruses PERV-A/C

from Göttingen minipigs. *Virology Journal*, 19(1), 30. doi: 10.1186/s12985-022-01742-0.

Hartmann, K. (1998) Feline immunodeficiency virus infection: an overview. *Veterinary Journal* 155(2), 123–137. doi: 10.1016/s1090-0233(98)80008-7.

Hartmann, K., Möstl K., Lloret A., Thiry E., Addie D. D., Belak S., ... Hosie M. J. (2022) Vaccination of immunocompromised cats. *Viruses*, 14(5), 923. doi: 10.3390/v14050923.

Hockley, D. J., Wood R. D., Jacobs J. P., Garrett A. J., (1988). Electron microscopy of human immunodeficiency virus. *The Journal of general virology*, 69 (Pt 10)(10), 2455–2469. doi: 10.1099/0022-1317-69-10-2455.

Hosie, M. J., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., ... Horzinek, M. C. (2009). Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(7), 594–604. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.05.008>

Hurley, K. F., Sykes, J. E. (2003). Update on feline calicivirus: new trends. *The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, 33(4), 759–772. doi: 10.1016/s0195-5616(03)00025-1.

Junghans, R. P., Boone, L. R., Skalka, A. M. (1982). Products of reverse transcription in avian retrovirus analyzed by electron microscopy. *Journal of Virology*, 43(2), 544–554. doi: 10.1128/JVI.43.2.544-554.1982.

Koç B. T., Akkutay-Yoldar Z., Ülgenalp O., Oğuzoğlu T. Ç. (2018). A statistical assessment study on Feline Infectious Peritonitis (FIP) and Feline Panleukopenia Virus (FPV). *Advances in Bioscience and Biotechnology* 36-38.

Koç, B. T., Oğuzoğlu, T. Ç. (2020). A phylogenetic study of Feline Immunodeficiency Virus (FIV) among domestic cats in Turkey. *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases*, 73(101544), 101544. doi: 10.1016/j.cimid.2020.101544.

Kokkinaki, K. G., Saridomichelakis M. N., Leontides L., Mylonakis M. E., Konstandinitis A. O., Steiner J. M., ... Xenulis P. G. (2021). A prospective epidemiological, clinical, and clinicopathologic study of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus

infection in 435 cats from Greece. *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases*, 78(101687), 101687. doi: 10.1016/j.cimid.2021.101687.

Kusuhara, H., Hohdatsu T., Okumura M., Sato K., Suzuki Y., Motokawa K., ... Koyama H. (2005). Dual-subtype vaccine (Fel-O-Vax FIV) protects cats against contact challenge with heterologous subtype B FIV infected cats. *Veterinary Microbiology*, 108(3–4), 155–165. doi: 10.1016/j.vetmic.2005.02.014.

Levy, J., Richards, J., Edwards, D., Elston, T., Hartmann, K., Rodan, I., Thayer, V., Tompkins, M., Wolf, A. (2003). 2001 Report of the American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine Advisory Panel on feline retrovirus testing and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5(1), 3–10.

Litster, A. L. (2014). Transmission of feline immunodeficiency virus (FIV) among cohabiting cats in two cat rescue shelters. *The Veterinary Journal*, 201, 184–188.

Liu, L. (2014). Fields Virology, 6th Edition. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 59(4), 613–613. doi: 10.1093/cid/ciu346.

Luciw, P. A., Leung, N. J. (1992). Mechanisms of retrovirus replication. *The Retroviridae* 159–298.

Lutz, H., Arnold, P., Hübscher, U., Egberink, H., Pedersen, N., Horzinek, M. C. (1988). Specificity assessment of feline T-lymphotropic Lentivirus serology. *Journal Veerinary. Medicine. Infection Disases Veterinary Public Health*, 35(1–10), 773–778. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1988.tb00559.x>

Lutz, M., Steiner A. R., Cattori V., Hoffman-Lehmann R., Lutz H., Kipar A., Meli M. L. (2020). FCoV viral sequences of systemically infected healthy cats lack gene mutations previously linked to the development of FIP. *Pathogens*, 9(8), 603. doi: 10.3390/pathogens9080603.

Macdonald, K., Levy, J. K., Tucker, S. J. (2004). Effects of passive transfer of immunity on results of diagnostic tests for antibodies against feline immunodeficiency virus in kit- tens born to vaccinated queens. *Journal America Veterinary Medicine Association*, 225, 1554–1557.

- Mótyán, J. A., Kassay N., Matuz K., Tozser J. (2022). Different mutation tolerance of Lentiviral (HIV-1) and deltaretroviral (BLV and HTLV) protease precursors. *Viruses*, 14(9), 1888. doi: 10.3390/v14091888.
- Murphy B. (2017). *Fenner's veterinary virology*. MacLachlan, N. J., Dubovi E. J. (ed), Retroviridae içinde (6. Baskı, ss-270-297) Amerika: Elsevier.
- Muz, D., Can H., Karakavuk M., Döşkaya M., Özdemir H. G., Döşkaya A. D., ... Muz M. N. (2021). The molecular and serological investigation of Feline immunodeficiency virus and Feline leukemia virus in stray cats of Western Turkey. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 78(101688), 101688. doi: 10.1016/j.cimid.2021.101688.
- Nakamura Y., Nakamura Y., Ura Y., Ura A., Hirata M., Sakuma M., Sakata Y., ... Endo Y. (2010). An updated nation-wide epidemiological survey of feline immunodeficiency virus (FIV) infection in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 72(8), 1051–1056. doi: 10.1292/jvms.09-0574.
- Nishimura, Y., Pang G. H., Endo Y., Mizuno T., Momoi Y., Watari T., Tsujimoto H., Hasegawa A. (1998). Genetic heterogeneity of env gene of feline immunodeficiency virus obtained from multiple districts in Japan. *Virus research*, 57(1), 101–112. doi: 10.1016/s0168-1702(98)00085-9.
- Oğuzoğlu, T. C., Timurkan M. Ö., Muz D., Kudu A., Numanbayraktaroğlu B., Sadak S., Burgu İ. (2010). First molecular characterization of feline immunodeficiency virus in Turkey. *Archives of virology*, 155(11), 1877–1881. doi: 10.1007/s00705-010-0830-x.
- Oğuzoğlu T. Ç., Muz D., Timurkan M.O., Maral N., Gurcan S. (2013). Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Parvovirus (FPV) among domestic cats in Prevalences of Feline Coronavirus (FCoV). *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*
- Pedersen, N. C., Ho, E. W., Brown, M. L. (1987). Isolation of a T- lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. *Science*, 235, 790–793.

- Pennisi, M G., Hartmann, K., Addie, D D. (2015). Blood trans- fusion transfusion in cats ABCD guidelines for minimis- ing risks of infectious iatrogenic complications. *J Feline Med Surg*, 17, 588–593.
- 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.
- Perharić, M., Bidin M., Staresina V., Turk N., Stritof Z., ... Barbic L. (2016). Phylogenetic characterisation of feline immunodeficiency virus in naturally infected cats in Croatia indicates additional heterogeneity of subtype B in Europe. *Archives of virology*, 161(9), 2567–2573. doi: 10.1007/s00705-016-2928-2.
- Petersen, J. D., Lu J., Fitzgerald W., Zhou F., Blank P. S., Matthies D., Zimmerberg J. (2022). Unique aggregation of Retroviral particles pseudotyped with the Delta variant SARS-CoV-2 spike protein. *Viruses*, 14(5), 1024. doi: 10.3390/v14051024.
- Phillips, K., Arai, M., Tanabe, T. (2005). FIV-infected cats respond to shortterm rHuG-CSF treatment which results in anti-GCSF neutralizing antibody production that inactivates drug activity. *Vet Immunol Immunopa-Thol*, 108, 357–371.
- Phillips, T. (2020). *Clinic small animal internal medicine*. Bruyette D. (ed.), Feline İmmunodeficiency Virus içinde (1. Baskı, ss-883-887) Amerika: john Wiley and sons.
- Poli, A., Falcone, M. L., Bigalli, L., Massi, C., Hofmann-Lehmann, R., Lombardi, S., Bendinelli, M., Lutz, H. (1995). Circulating immune complexes and analysis of renal immune deposits in feline immunodeficiency virus-infected cats. *Clinical and Experimental Immunology*, 101(2), 254–258. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1995.tb08347.x>
- Pu, R., Coleman J. K., Martin M. M., Noon-Song E. N., Zwijnenberg R., Yamamoto J. K. (2005). Dual-subtype FIV vaccine (Fel-O-Vax FIV) protection against a heterologous subtype B FIV isolate. *Journal of Feline Medicine And Surgery*, 7(1), 65–70. doi: 10.1016/j.jfms.2004.08.005.

- Ryan, G., Grimes, T., Brankin, B., Mabruk, M. J., Hosie, M. J., Jarrett, O., Callanan, J. J. (2005). Neuropathology associated with feline immunodeficiency virus infection highlights prominent lymphocyte trafficking through both the blood-brain and blood-choroid plexus barriers. *Journal Neurovirol*, *11*, 337–345.
- Saiki, R., Gelfand, D., Stoffel, S., Scharf, S., Higuchi, R., Horn, G., Mullis, K., Erlich, H. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science (New York, N.Y.)*, *239*(4839), 487–491.
- Schwartz, A. M., Mccrackin, M. A., Schinazi, R. F. (2014). Anti-viral efficacy of nine nucleoside reverse transcriptase inhibitors against feline immunodeficiency virus in feline peripheral blood mononuclear cells. *American journal Veterinary*, *75*, 273–281.
- Shelton, G. H., Grant, C. K., Linenberg, M. L., Abkowitz, J. L. (1990). Severe neutropenia associated with griseofulvin in cats with FIV infection. *Journals Veterinary Intern Medicine*, *4*, 317–319.
- Shelton, G. H., Grant, C. K., Cotter, S. M., Gardner, M. B., Hardy, W. D., Jr, & DiGiacomo, R. F. (1990). Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infections and their relationships to lymphoid malignancies in cats: a retrospective study. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *3*(6), 623–630.
- Stiles, J. (2014). Ocular manifestations of feline viral diseases. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, *201*(2), 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.11.018>
- Sukura, A., Salminen, T., Lindberg, L. A. (1992). A survey of FIV antibodies and FeLV antigens in free-roaming cats in the capital area of Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *33*(1), 9–14. doi: 10.1186/bf03546930.
- Tan, M. T. (2021). Veteriner Viroloji Hayvanların Virolojik Hastalıkları. K. Yeşilbağ (Ed.), *Retroviridae içinde* (1. baskı ss.,129-152). Malatya: Medipres.
- Tenorio, A. P., Franti, C. E., Madewell, B. R., Pedersen, N. C. (1991). Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukemia viruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *29*(1–2), 1–14. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(91\)90048-h](https://doi.org/10.1016/0165-2427(91)90048-h)

- Uhl, E. W., Heayon-Jones T. G., Pu R., Yamamoto J. K. (2002). FIV vaccine development and its importance to veterinary and human medicine: a review. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 90(3–4), 113–132. doi: 10.1016/s0165-2427(02)00227-1.
- Weaver, C. C., Burgess, S. C., Nelson, P. D., Wilkinson, M., Ryan, P. L., Nail, C. A., Kelly-Quagliana, K. A., May, M. L., Reeves, R. K., Boyle, C. R., Coats, K. S. (2005). Placental immunopathology and pregnancy failure in the FIV-infected cat. *Placenta*, 26(2–3), 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.04.013>
- Westman, M., Yang D., Green J., Norris J., Malik R., Parr J. A., ... Miller C. (2021). Antibody responses in cats following primary and annual vaccination against feline immunodeficiency virus (FIV) with an inactivated whole-virus vaccine (Fel-O-Vax® FIV). *Viruses*, 13(3), 470. doi: 10.3390/v13030470.
- Westman, M. E., Coggins S. J., van Dorsselar M., Norris J. M., Squieres R. A., Thompson M., Malik R. (2022). Feline immunodeficiency virus (FIV) infection in domestic pet cats in Australia and New Zealand: Guidelines for diagnosis, prevention and management. *Australian Veterinary Journal*, 100(8), 345–359. doi: 10.1111/avj.13166.
- Woo, J. C., Dean, G. A., Lavoy, A., Clark, R., Moore, P. F. (1999). Investigation of recombinant human insulin-like growth factor type I in thymus regeneration in the acute stage of experimental FIV infection in juvenile cats. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 15(15), 1377–1388.
- Yilmaz, H., Ilgaz, A., Bishop, S. A. (1995). Clinical and serological investigations on feline immunodeficiency virus infections in cats in Istanbul. *Turkey Journal Info*, 9
- Yilmaz, H., Ilgaz, A., Harbour, D. A. (2000). Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2(1), 69–70.
- Yeşilbağ, K., (2017). *Genel viroloji* (2.Baskı) Bursa:Medyay
- Zheng, J., Wei Y., Han G. Z. (2022). The diversity and evolution of retroviruses: Perspectives from viral ‘fossils’. *Virologica sinica*, 37(1), 11–18. doi: 10.1016/j.virs.2022.01.019.

EKLER

Ek 1. Toplanan numunelerimize ait yaş, cinsiyet, fertilitite ve kod bilgileri.

Numune Kodu	Kedini Adı	Cinsiyet	Yaş	Fertilitite	PCR SONUCU
F1	Mars	Erkek	1 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F2	Sokak Kedisi 1	Dişi	3 Yaş	Kısır	NEGATİF
F3	Yuppy	Erkek	4 Yaş	Kısır	NEGATİF
F4	Karaböcek	Erkek	9 Yaş	Kısır	POZİTİF
F5	Sokak Kedisi 2	Dişi	7 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F6	Sokak Kedisi 3	Erkek	8 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F7	Bahm	Erkek	1 Yaş	Kısır	NEGATİF
F8	Minibar	Erkek	1,5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F9	Gofret	Erkek	3 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F10	Sokak Kedisi 4	Erkek	6 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F11	Mars	Erkek	1 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F12	Lina	Dişi	5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F13	Köpük	Dişi	1 Yaş	Kısır	NEGATİF
F14	Marvin	Erkek	12 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F15	Karaböcek	Erkek	9 Yaş	Kısır	NEGATİF
F16	Bambam	Erkek	5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F17	Mercan	Dişi	10 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F18	Sokak Kedisi 5	Erkek	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F19	Minnoş	Dişi	2,5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F20	Çorap	Dişi	4 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F21	Sokak Kedisi 6	Erkek	6 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F22	Berlin	Erkek	3,5 Yaş	Kısır	NEGATİF
F23	Kral	Erkek	2 Yaş	Kısır Değil	POZİTİF
F24	Agusto	Erkek	1,5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F25	Lilya	Dişi	1,5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F26	Mia	Dişi	8 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F27	Lili	Dişi	6 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F28	Fatoş	Dişi	4 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F29	Sokak Kedisi 7	Erkek	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F30	Robin	Erkek	2,5 Yaş	Kısır	NEGATİF
F31	Köfte	Dişi	1 Yaş	Kısır	NEGATİF
F32	Ares	Erkek	2 Yaş	Kısır	NEGATİF
F33	Paj	Erkek	8 Yaş	Kısır	NEGATİF
F34	Bozyakalı	Dişi	3 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F35	Sokak Kedisi 8	Erkek	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F36	Solcay	Erkek	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF

F37	Duman	Erkek	5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F38	Duman	Dişi	8 Yaş	Kısır	NEGATİF
F39	Çıtır	Dişi	3 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F40	Paşa	Erkek	11 Aylık	Kısır	NEGATİF
F41	Hamduş	Erkek	1 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F42	Fındık	Dişi	8 Yaş	Kısır	NEGATİF
F43	Leo	Erkek	6 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F44	Fındık	Dişi	5 Yaş	Kısır	NEGATİF
F45	Yakışıklı	Erkek	3 Yaş	Kısır Değil	POZİTİF
F46	Minik	Erkek	7 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F47	Sokak Kedisi 9	Dişi	8 Yaş	Kısır	NEGATİF
F48	Bıyıklı	Dişi	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F49	Sakız	Dişi	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F50	Sokak Kedisi 10	Erkek	9 Aylık	Kısır Değil	POZİTİF
F51	Cadı	Dişi	4 Yaş	Kısır	NEGATİF
F52	Şurup	Dişi	2 Yaş	Kısır	NEGATİF
F53	Sokak Kedisi 11	Erkek	4 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F54	Kırpık	Erkek	12 Yaş	Kısır	NEGATİF
F55	Sokak Kedisi 12	Erkek	5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F56	Tekir	Dişi	15 Yaş	Kısır	NEGATİF
F57	Sokak Kedisi 13	Dişi	1 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F58	Maviş	Erkek	2,5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F59	Tomiko	Dişi	1 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F60	Gırgır	Erkek	15 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F61	Sokak Kedisi 14	Dişi	1,5 Yaş	Kısır	NEGATİF
F62	Ramses	Erkek	19 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F63	Lokum	Erkek	12 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F64	Sokak Kedisi 15	Erkek	1,5 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F65	Minik	Erkek	11 Aylık	Kısır	NEGATİF
F66	Gece	Dişi	4 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F67	Bicik	Dişi	18 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F68	Luna	Dişi	6 Aylık	Kısır Değil	NEGATİF
F69	Puf	Erkek	8 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF
F70	Sokak Kedisi 16	Dişi	2 Yaş	Kısır Değil	NEGATİF

Ek 2. AYDIN ADÜ-HAYDEK KARARI



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HAYDEK)



Aydın, 23/12/2021

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı XII. Oturum
Sayı : 64583101/2021/173
Proje Başlığı : Feline immunodeficiency virus (FIV)'ün "env" gen bölgesi bazlı filogenetik analizi ve *in-silico* karakterizasyonu.
Proje Yürütücüsü : M. Tolga TAN
Proje Ekibi : B. Taylan KOÇ, Baturalp SARSILMAZ
Hayvan Çalışması : Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:
İnsan embriyosu ve fütusu kullanılması
İnsan embriyosu ve fütusu dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BILGIN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder
ÜSTÜNDAĞ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Öğr.Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER
ORYAŞIN Sor. Vet. Hek.
Üye

Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Feline immunodeficiency virus (FIV)’UN “Env” gen bölgesi bazlı filogenetik analizi ve in-silico karakterizasyonu” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki 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.

Baturalp SARSILMAZ

.../.../2023

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : SARSILMAZ, Baturalp

Uyruk : T.C.

Doğumyerivetarihi : İstanbul / 06.02.1994

Telefon : 0 535 616 16 19

E-posta : baturalpsarsilmaz94@gmail.com

Yabancı dil : İngilizce-İspanyolca

ORCID no: : 0000-0002-3467-1000

EĞİTİM

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

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
Haziran 2018	Antalya İlgi Veteriner Kliniği	Stj. Vet. Hekim
Eylül 2019 Mart 2020	Antalya Hayvan Hastanesi	Veteriner Hekim
Ağuston 2020 Nisan 2021	Kökekuba Veteriner Polikliniği	Veteriner Hekim

AKADEMİK YAYINLAR

1. PROJELER

Feline immunodeficiency virus (FIV)'un "env" gen bölgesi bazlı filogenetik analizi ve in-silico karakterizasyonu