



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORTA ANADOLU BÖLGESİNDEKİ KÖPEKLERDE CANINE
HERPESVİRUS-1 SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

ASLIHAN MERVE ACER

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ İBRAHİM MERT POLAT

2022 – KIRIKKALE



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORTA ANADOLU BÖLGESİNDEKİ KÖPEKLERDE CANINE
HERPESVİRUS-1 SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

ASLIHAN MERVE ACER

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
2019/124 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ İBRAHİM MERT POLAT

2022 – KIRIKKALE

ÖZET

ORTA ANADOLU BÖLGESİNDEKİ KÖPEKLERDE CANINE HERPESVIRUS-1 SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr.Öğr.Üyesi İbrahim Mert POLAT

Ocak 2022, 48sayfa

Bu çalışmada; Orta Anadolu bölgesinde bulunan çeşitli ticari köpek üretim merkezlerindeki damızlık veya gebe köpeklerde infertiliteye neden olan Canine herpesvirus (CHV-1) seroprevalans çalışması yapılarak, bölgedeki durumunun araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya Orta Anadolu Bölgesi'ndeki çeşitli il ve ilçelerin ticari köpek üretim işletmelerinde barındırılan (Ankara: Haymana, Gölbaşı, Çubuk, Etimesgut, Yenimahalle. Eskişehir: Seyit Gazi. Çankırı: Eldivan.) Alman Çoban (n=13), Doberman (n=23), Rottweiller (n=31), Anadolu Çoban Köpeği (Akbaş n=3, Malaklı n=9, Kangal n=29), Labrador (n=2), Mallinois (n=2), Border Collie (n=1) ve Bernese Dağ Köpeği (n=1) ırklarından oluşan toplam 114 dahil edildi. Her bir köpekten ikişer adet antikoagulanlı (EDTA) tüpe toplanan örneklerden biri PCR (Polimerase Chain Reacsion) işlemi için moleküler incelenmiş diğeri ise ticari CHV-1 ELISA kiti ile serolojik değerlendirilmesi yapıldı ve bu sonuçlar karşılaştırıldı. Çalışmanın gerçekleştirildiği tüm işletmelerde Köpek Herpes Virüs-1 antikor düzeyleri 10 ng/mL'nin üzerinde tespit edildi. Antikor pozitif olguların reproduktif geçmişlerinde birçok patolojik bulgu olduğu belirlendi. Bu çalışma sonucunda ister dişi ister erkek olsun damızlıkta kullanılacak köpeklerin biz dizi jinekolojik muayenelere tabi tutulması ve özellikle de *Canine Herpes Virus-1* etkeninden ari hayvanların üretimde kullanılması gerektiği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Köpek Herpesvirus, İnfertilite, Köpek, Seroprevalans, PCR, ELISA

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE SEROPREVALENCE OF CANINE HERPESVIRUS-1 IN DOGS IN CENTRAL ANATOLIAN REGION

Kırıkkale University

Graduate School of Health Sciences

Department of Obstetrics and Gynecology

Supervisor: Associate Professor İbrahim Mert POLAT

January 2022, 48 pages

In this study; Canine herpesvirus (CHV-1) seroprevalence study, which causes infertility in breeding or pregnant dogs in various commercial dog breeding centers in the Central Anatolia region, was conducted to investigate the situation in the region. In the study carried out in commercial dog breeding enterprises in various provinces and districts in the Central Anatolia Region (Ankara: Haymana, Gölbaşı, Çubuk, Etimesgut, Yenimahalle. Eskişehir: Seyit Gazi. Çankırı: Eldivan.); German Shepherd (n=13), Doberman (n=23), Rottweiller (n=31), Anatolian Shepherd Dog (Akbaş n=3, Malaklı n=9, Kangal n=29), Labrador (n=2), Mallinois (n=2), Border Collie (n=1) and Bernese Mountain Dog (n=1), a total of 114 breeds were included. One of the samples collected from each dog in two anticoagulant (EDTA) tubes was analyzed molecularly for PCR (Polymerase Chain Reaction) process, and the other serological evaluation was made with the commercial CHV-1 ELISA kit and these results were compared. Canine Herpes Virus-1 antibody levels were found to be above 10 ng/mL in all establishments where the study was carried out. It was determined that there were many pathological findings in the reproductive history of antibody positive cases.

As a result of this study, it was thought that the dogs to be used in breeding, whether female or male, should be subjected to series of gynecological examinations and especially animals free from *Canine Herpes Virus-1* should be used in production.

Keywords: Canine Herpesvirus, Infertility, Canine, Seroprevalence, PCR, ELISA

TEŞEKKÜR

Tez çalışması sürecine başlamamın hemen ardından ortaya çıkan Covid-19 salgını, ülkemizde ve dünyada olduğu kadar benim hayatımda da ciddi değişikliklere yol açtı. Dezenfektan bağımlısı oldum, farklı kokularda kolonyaların hayatımdaki yeri arttı, en efektif ve her kıyafete uyan farklı maskelerim oldu, kayıplar verdim, verdik. Tüm bu olumsuz durumlar karşısında asla umudumu ve hayat enerjimi kaybetmedim çünkü insan olmak böyle bir şey sanıyorum.

Çalışmam boyunca, tüm bilgi birikimini ve deneyimlerini benimle paylaşan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Mert POLAT'a, materyal toplama sürecinde yanımda olup desteğini esirgemeyen çok sevgili meslektaşlarım Veteriner Hekim Barış ÜNDAŞ, Veteriner Hekim Esra KOCABAŞ ve Veteriner Hekim Gökberk SEVEN'e, PCR aşamalarında destek veren Ankara Sekans Hayvan Sağlığı Laboratuvarı ve Dr. Sepandar GARGARI'ye, ELISA analizlerinde benimle çalışıp uygun ve bilimsel verileri elde etmemi sağlayan sevgili meslektaşım Arş. Gör. Veteriner Hekim Ali ŞENOL'a, tüm maddi ve manevi destekleri için sevgili ailem; babam Erdal ACER, annem Nurcan ACER ve abim Asaf Atakan ACER'e, tez bitirme sürecimin en zorlu anlarında beni cesaretlendirip elimden tutan Kadir ARSLAN'a ve gerek lisans gerekse lisansüstü eğitim boyunca bilgi ve desteklerini esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı'ndaki saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Hasan Ceyhun MACUN, Prof. Dr. Hakan KALENDER, Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI ve Araştırma Görevlisi Dr. Taha Burak ELİFOĞLU'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------------|
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | xiii |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 1.1.Etiyoloji | 2 |
| 1.2.Hastalığın Prevalansı | 4 |
| 1.3.Patogenez ve Klinik Semptomlar | 5 |
| 1.3.1.Gebelik Sırasındaki Enfeksiyon | 7 |
| 1.3.2.Neonatal Süreçteki Enfeksiyon | 9 |
| 1.4.Köpeklerde Oluşturduğu Diğer Hastalıklar | 12 |
| 1.4.1.Respiratorik Enfeksiyon | 12 |
| 1.4.2.Vestibuler Enfeksiyon | 14 |
| 1.4.3.Genital Enfeksiyon | 16 |
| 1.4.4.Okuler Enfeksiyon | 17 |
| 1.5.Latentlik ve Reaktivasyon | 18 |
| 1.6.Teşhis | 19 |
| 1.7.Tedavi | 21 |
| 1.8.Aşılama ve Proflaksi | 21 |

| | |
|--|-----------|
| 1.9.Çalışmanın Amacı | 23 |
| 2. GEREÇ ve YÖNTEM | 24 |
| 2.1 PCR | 24 |
| 2.1.1. Örneklerin Hazırlanması | 24 |
| 2.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılacak Örneklerden Viral Dna Ekstraksiyonu | 25 |
| 2.1.3. Primer Çifti Ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu | 25 |
| 2.1.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi | 26 |
| 2.2. ELISA | 27 |
| 2.2.1. Test Kiti İle Canine Herpes Virus Belirlenmesi | 27 |
| 2.2.2. Standart Örneklerinin Hazırlanması | 27 |
| 2.2.3.Yıkama Solüsyonu Hazırlanması | 28 |
| 2.2.4. Kit Protokolü Uygulanması | 28 |
| 3. BULGULAR | 29 |
| 3.1. Serum Antikor Düzeyleri Ve Klinik Bulgular | 29 |
| 3.2. PCR Bulguları | 30 |
| 3.3. Damızlık Köpeklerde Antikorların Cinsiyete Göre Dağılımı | 30 |
| 3.4. Irk Dağılımı | 31 |
| 4.TARTIŞMA | 33 |
| 5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 36 |
| KAYNAKLAR | 37 |
| EKLER | |
| EK.1 Etik Kurul Onayı | 45 |
| EK.2 Ön Çalışma Formu | 46 |
| EK.3 Aydınlatılmış Onam Formu | 47 |
| ÖZGEÇMİŞ | 48 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| Çizelge | | Sayfa |
|--------------------|--|-----------|
| Çizelge 3.1 | Örneklerin alındığı ticari köpek işletmelerindeki köpek herpes virüsün ortalama antikor düzeyleri ve işletmelerdeki genel reproduktif sorunlar | 29 |
| Çizelge 3.2 | Örneklerin alındığı ticari köpek işletmelerindeki köpek herpes virüsün ortalama antikor düzeyleri ve ırklara göre dağılımı | 32 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil | | Sayfa |
|------------|---|-------|
| Şekil 1.1 | Herpesviral Replikasyon | 3 |
| Şekil 1.2 | CHV-1 patogenezi | 5 |
| Şekil 1.3 | CHV ile deneysel intravenöz enfeksiyondan 31 gün sonra hamile dişi köpekten sezaryen ile alınan yavrular. | 9 |
| Şekil 1.4 | Neonatal süreçteki enfeksiyon | 10 |
| Şekil 1.5 | Neonatal süreçteki enfeksiyon patolojisi. | 12 |
| Şekil 1.6 | Köpek yavrusu, köpek herpes virüsü 1 enfeksiyonu. | 13 |
| Şekil 1.7 | Vestibüler labirent (VL), vestibüler ganglion (VG) ve trigeminal ganglionda (TG) herpesvirüs-1 enfeksiyonunun dağılımının şematik gösterimi | 15 |
| Şekil 1.8 | CHV'lü dişi köpekte genital lezyonlar | 16 |
| Şekil 1.9 | İmmunsistemi baskılanmış lenfomalı bir köpekte CHV-1'in oluşturduğu göz enfeksiyonu | 17 |
| Şekil 1.10 | CHV ile aşılınmış 12 haftalık yavrudan herpesvirüs ile enfekte olmuş hücrelerin nazal konka epitelindeki odağı | 20 |
| Şekil 3.1 | Çalışmaya alınan damızlık köpek sayıları ve ortalama antikor düzeyleri | 30 |
| Şekil 3.3 | Cinsiyetlere göre serum antikor ortalaması | 31 |

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|----------------------------|------------------------------------|
| α | Alfa |
| μ | Mikron |
| % | Yüzde |
| °C | Santigrat Derece |
| > | Büyüktür |
| < | Küçüktür |
| \geq | Büyük Eşit |
| CHV-1 | Köpek Herpes Virusu |
| PCR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| ELISA | Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay |
| EDTA | Etilendiamin tetraasetik asit |
| DKC | Köpek Böbrek Hücresi |
| FHV-1 | Kedi Herpes Virus |
| CIRD | Köpek Enfeksiyöz Solunum Hastalığı |
| VNT | Viral Nötralizasyon Testi |
| CAV-2 | Köpek Adenovirus Tip-2 |
| CIV | Köpek Gribi |
| CCV | Köpek Korona Virus |
| CnPnV | Köpek Pneumavirus |
| VG | Vestibüler Ganglion |
| VL | Vestibüler Labirent |
| TG | Trigeminal Ganglion |
| SPF | Spesifik Patojen-Free |
| Na | Sodyum |
| mg | Miligram |

| | |
|-----------|------------|
| mL | Mililitre |
| kg | Kilogram |
| ng | Nanogram |
| l | Litre |
| nm | Nanometre |
| μl | Mikrolitre |
| M | Molar |



1.GİRİŞ

Yeni doğanlarda fetal hemorajik hastalık olarak da bilinen köpek herpes virüsü (CHV-1), yetişkin köpeklerde fertilitiyi etkileyen viral bir enfeksiyondur. CHV ile enfekte olmuş yetişkin köpekler genellikle herhangi bir semptom göstermezken, enfeksiyon yeni doğan yavrularda başlıca ölüm nedenleri arasındadır. Dünya genelinde yavru köpeklerin şiddetli viral enfeksiyonu (Fading Puppy Syndrome) olarak bilinir ve etkilenen yavrularda %100'e ulaşan mortalite ile seyrederek (Evermann J.F. ,2012).

Hastalığa, Herpes virüsünün *Alfaherpesvirus* alt grubunda bulunan, lipit çözücülere (eter ve kloroform gibi) ve çoğu dezenfektana karşı hassas, zarlı, çift iplikli linear bir DNA virüsü sebep olur (Dubovi ve Maclachlan 2010).

Dünyada, köpek popülasyonlarında görülen seroprevalans, bölgeye bağlı olarak %20-98 arasında değişmektedir (Krogenaes vd. 2012). Son zamanlarda yapılan çalışmalar incelendiğinde enfekte olmuş hayvanlar geçici olarak seronegatif duruma dönüştürebildiğinden, yapılan bazı seroprevalans çalışmalarından yeterli sonuçlar çıkarılamamaktadır (Greene, 2012).

Giderek hassaslaşan moleküler teşhisler; üst solunum yolu enfeksiyonu, oküler hastalık, veziküler vajinitis veya postitisi olan yetişkin köpeklerde ve klinik belirtileri olmayan köpeklerde hastalığın teşhisini kolaylaştırmıştır. Bu anlamda en sık kullanılan teşhis metodlarından birisi de PCR (Polymerase Chain Reaction) 'dır. Moleküler teşhis yanı sıra uygulanan serolojik teşhis metodları (IPMA, ELISA vb.) da hastalığı belirlenmesinde yardımcı olur (Greene, 2012).

Hastalığın spesifik bir tedavi prosedürü yoktur. Çeşitli ülkelerde hastalığa karşı gebelik döneminde 2-3 doz kullanılan subünite aşılardan varken, bu aşılardan da ülkemizde bulunmamaktadır.

1.1.Etiyoloji

Canine Herpes Virüs-1(CHV-1); *Herpesviridae* ailesinin *Alphaherpesviride* alt ailesinde *Varicellovirus* cinsi içinde yer alan, zarlı, çift iplikli bir DNA virüsüdür. (Dubovi ve Maclachlan 2010). Virüs diğer türler ile benzer özellikler taşımasına rağmen, üzerindeki spesifik reseptörler sayesinde sadece evcil köpekler ve Canidae ailesinde hastalık oluşturma özelliğine sahiptir. İmmunojenik olarak zayıf olan virüs, pH<5 ve >8 arasında ve eter,kloroform gibi lipid çözücüler ve çoğu dezenfektana karşı oldukça dayanıksızdır (Greene, 2012).

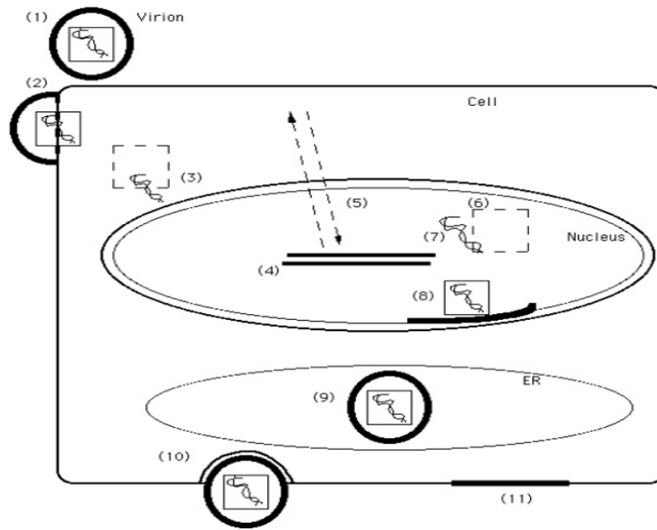
Carmichael ve Barnes (1969) yılında yaptıkları çalışmada köpek böbrek hücre kültüründe (DKC) virüsün üremesi için gereken ısının en uygun 35-36 °C olduğunu, ayrıca virüsün 56°C de inaktif hale geldiğini bildirmiştir. Virüsün üremesi için özellikle üst solunum yolları ve genital mukozanın en uygun ortam olduğu bildirilmiştir (Greene 2012). Şu ana kadar hastalık oluşumunda CHV-1 için sadece tek serotip tanımlanmıştır (Ronsse vd., 2004). CHV-1 diğer a-herpesviral virüsler gibi sitopatik etkiye sahip olup, genç veya immünsupresif hayvanlarda; doku nekrozu, lokalize ve generalize sistemik enfeksiyon oluşturur. Kurtulma ömür boyu latent enfeksiyon ile ilişkilidir. Enfeksiyon genellikle sinir gangliyonlarında lokalize olur (Greene,2012).

CHV-1'de hücre yüzeyine spesifik reseptörler tanımlanmıştır. Bu reseptörlerin antijenik benzerliği diğer a-herpes virüslerden olan İnsan Herpes Virüsü (HSV-1) değil, %51'lik bir benzerlikle Kedi Herpes Virüs'tür (FHV-1). Kedi-köpek herpes virüsler arasındaki antijenik ilişki polivalent veya monoklonal antikoları olan immünblotlarda doğrulanmıştır. Bu virüsler arasındaki bir değişik özellik ise onların D-glikoprotein hemaglütinleridir. Bu sayede hücre üzerindeki tutma yerleri selektiftir ve bu etkenin nasıl tür spesifik olduğunu kısmen açıklar. Etken özellikle bazı sinsityal hücre formlarında tipA intranükleer inklüzyon cisimcikleri oluşturur (Kramer JW.vd., 1991).

CHV-1 kedilerde bildirilmemesine rağmen, yapılan çalışmalarda distemper benzeri semptom gösteren yavru köpeklerden FHV-1 izole edilmiştir. Yavru köpeklere verilen yüksek doz FHV-1 (>10⁶), klinik hastalık ve histopatolojik değişikliklere sebep olmuştur.

Herpesvirüslerin çapraz enfeksiyonları ile ilgili çeşitli çalışmalar devam etse de , Springer I. vd. (2009)'nın yaptıkları çalışmada insan herpes virüsünün (HSV-1) nanopatojenik zincirinin beyin dokusuna enjekte edildiği bir köpekte patojenik değişiklik olmadan latent enfeksiyon şekillendirdiği bildirilmiştir.

CHV-1 viral replikasyonunu tıpkı diğer α -herpesvirüs ailesindeki virüslere benzer şekilde gerçekleştirmektedir. Viral replikasyon şeması aşağıdaki Şekil-1.1'de sunulmuştur (Anonim 1).



Şekil 1.1: Herpes viral replikasyon (Anonim 1)

Herpesviral replikasyon ile ilgili en kapsamlı araştırma HSV üzerinde yapılmıştır. Diğer herpesvirüslerin bazılarının diğerlerinden daha yavaş hızlarda olduğu gibi benzer yolları izlediğine inanılmaktadır. (1) HSV virion, zarflı glikoprotein (gC) ile konakçı hücreye, hücrel proteoglikanların heparan sülfat kısımları üzerine bağlanır. Viral gD'nin ikincil bir hücrel reseptöre bağlandığına inanılmaktadır.(2) Viral zarf, nükleokapsid sitoplazmaya girecek şekilde pH'tan bağımsız bir şekilde plazma membranına kaynaşır. gB, gD ve gH, bu fenomen için araşsal glikoproteinlerdir.(3) Kapsid, hücre iskeleti boyunca viral DNA'nın serbest bırakıldığı bir nükleer gözeneğe doğru hareket eder. Doğrusal genom çekirdeğe girer ve daireselleşir.(4) Çekirdeğe girdikten sonra, viral DNA, hücrel RNA polimeraz II tarafından mRNA'ya kopyalanır. Herpesvirüslerde viral gen ekspresyonu sıkı bir şekilde düzenlenir ve 3 kinetik ekspresyon sınıfına ayrılır.Bir tegument proteini 2 selüar proteini ile birleşir ve kompleks HSV'nin beş erken-erken (IE veya alfa) geninin transkripsiyonunu aktiveştirir. IE genleri genellikle düzenleyici proteinleri kodlar.Bir IE proteini, erken (E veya beta) genlerin transkripsiyonunu başlatır. Bu gen ürünleri, nükleotit havuzunu arttırmak ve viral replikasyon için gerekli enzimlerdir.* Son olarak, viral yapısal proteinlerin üretimi için geç (L veya gama) genler aktive edilir.(5) Çekirdeğe transkripsiyondan sonra, tüm mRNA transkriptleri sitoplazmada proteine çevrilir. Daha sonra, proteinler çekirdeğe gidebilir, sitoplazmada kalabilir veya membran çift tabakasının bir parçası olabilir.(6) Kapsid proteinleri çekirdekte boş kapsidler oluşturmak üzere birleşir.(7) Tam uzunluktaki viral DNA, nükleokapsidleri oluşturmak üzere paketlenir.(8) Nükleokapsidler, tegument ve glikosile zarf proteinlerinin bağlandığı nükleer zarın segmentleri ile ilişkilidir. Bu birliktelik nükleer zardan tomurcuklanarak kuşatmayı tetikler.(9) Zarflı virionlar endoplazmik retikulumda (ER) birikir.(10) Olgun virionlar ekzositoz tarafından salınır.(11) Virüse özgü proteinler, enfekte olmuş hücrelerin plazma zarında da bulunur.

1.2. Prevalans

Dünyada köpek popülasyonunda görülen prevalans bölgeye bağlı olarak değişmektedir. Krogenæs vd. tarafından yapılan çalışmada, Norveç'te proöstrus ve östrus döneminde, ortalama yaşı 4.2 olan 193 sağlıklı dişi köpekten alınan kan örneklerinin serolojik incelenmesi sonucunda; çalışmaya dahil edilen hiçbir köpeğin seronegatif olmadığı, bu köpeklerden %38.8'i zayıf seropozitif (titrasyon 80), %44.8'i seropozitif (160-320) ve %16.4'ü kuvvetli seropozitif (≥ 640) olarak bildirilmiştir.

Afyon ilinde yapılan bir barınak çalışmasında 94 köpeğin kan serum örnekleri CHV-1 antikorları yönünden indirekt ELISA ile test edilmiş ve 46'sının (%48.8) seropozitif olduğu bildirilmiştir (Gür ve Acar, 2007).

Nöthling vd. (2008) yılında Güney Afrika'nın Gauteng Eyaletindeki köpek üretim barınaklarında yapılan çalışmada, 38 çiftlikten toplamda 328 serum örneği toplanmış, toplanan serum örnekleri serum nötralizasyon testi (SNT) ve ELISA metodları kullanarak incelenmiştir. Toplam örneklerin SNT yoluyla incelenmesi sonucu 68 örnek (%21.5) CHV-1 seropozitif olarak bildirilmiştir. 68 pozitif örnekten 66'sı, 3 SNT negatif örnek ve 2 örnek daha toplamda 71 örnek (%21.6) ELISA seropozitif sonucu vermiştir. İnceleme sonucunda, çiftliklerdeki köpeklerin yaş (tüm denekler >1 yaş), cinsiyet ve koloni büyüklüğüne bakılmaksızın; 17 çiftlikte (toplam çiftliklerin %45'i) SNT yönünden en az 1 pozitif hayvan varken, 20 çiftlikte (toplam çiftliklerin %53'ü) ELISA yönünden en az 1 seropozitif hayvan olduğu bildirilmiştir.

Yeşilbağ vd. (2012) tarafından yapılan prevalans çalışmasında, 560 serum örneği incelenmiştir. Bu serumlardan 225 tanesi arşiv örnekleri (grup A), 95 örnek Balıkesir-Ayvalık Belediyesine ait bir köpek barınağı ve 240 örnek ise Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Küçük Hayvan kliniklerine gelen hastalardan (grup B), çeşitli anamnez bilgileri alınarak toplanmış, Grup B'deki hastaları, 2 aylıktan 15 yaşa kadar; 191 erkek ve 144 dişi köpek oluşturmuştur. Örnekler hem ELISA hem de Viral Nötralizasyon Testi (VNT) ile incelenmiştir. ELISA ile test edilenlerden %39.3'ü (n=217) CHV-1 seropozitifken, VNT ile test edilen örneklerin %29.4'ü (n=157) CHV-1 seropozitif olduğu bildirilmiştir.

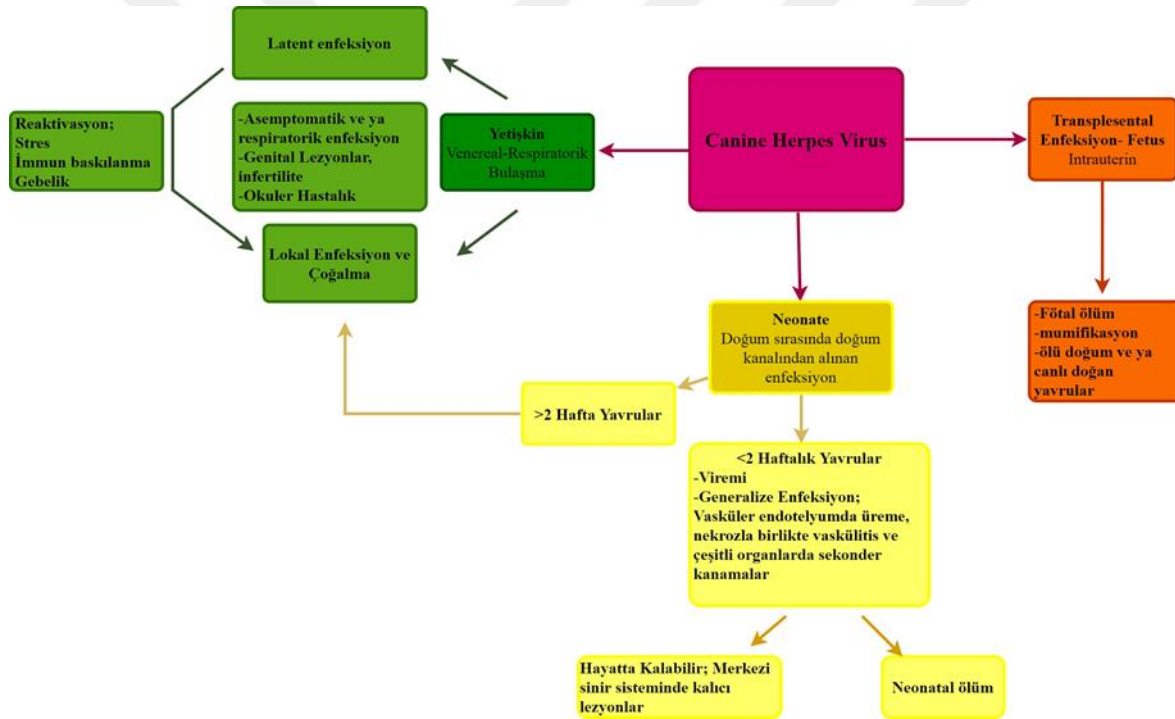
Musayeva vd. (2013) tarafından yapılan Litvanya seroprevalans çalışmasında, sahipli (n=73) ve sahipsiz (n=20) toplamda 93 köpek CHV-1 için incelendiğinde,

sahipli köpeklerin 8 tanesi (%10,9), sahihsiz köpeklerin ise 17'si (%85) ; toplamda incelenen köpeklerin %26,8'i CHV-1 seropozitif olarak bildirilmiştir.

1.3. Patogenez ve Klinik Semptomlar

Köpek herpes virüsü Avrupa'da yaygın bir enfeksiyondur, bazı ülkelerde yüksek seroprevalansı vardır (Krogenaes vd. 2012).

CHV-1 de enfeksiyonlar; hastanın yaşı, cinsiyeti, bağışıklık sistemine bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Patogenez ve klinik bulgular yeni doğan dönemi, hamilelik ve yetişkin köpekler için aşağıdaki Şekil-1.2.'de verilmiştir.



Şekil 1.2: Canine Herpes Virüs (CHV-1) patogenezini (Greece, 2012; Harrison 2013'ten modifiye edilmiştir).

Yeni doğanlarda fötal hemorajik hastalık olarak da bilinen CHV-1, yetişkin köpeklerde fertilitiyi etkileyen viral bir enfeksiyondur. CHV ile enfekte olmuş yetişkin köpekler genellikle herhangi bir semptom göstermezken, enfeksiyon yeni doğan yavrularda başlıca ölüm nedenleri arasındadır (Greece,2012).

Esas bulaşma özellikle aktif herpes virüs enfeksiyon sürecinde oronasal ve venerealdir. Enfekte gebelerde transplental bulaşma da söz konusudur. Yeni doğan yavrularda çoğunlukla enfekte dişinin doğum kanalından çıkarken veya enfekte vaginal ve nasal sekresyon ile temas sonucu meydana gelir (Greene,2012).

Yeni doğan yavrular, uterusdaki CHV-1 enfeksiyonunu, doğum kanalından geçişten, enfekte olmuş diğer yavrularla temastan, annenin oronazal sekresyonlarından veya fomitlerden (bu nadir olmasına rağmen) alabilirler. Bağışıklık yetersizliği veya bağışıklık sistemi baskılanmış konakçılarda sistemik hücre ile ilişkili viremi mümkündür. 1 haftadan küçük olduklarında deneysel olarak enfekte olmuş yeni doğan yavruları ölümcül generalize enfeksiyonlara özellikle duyarlıdır; enfeksiyon sırasında 2 haftadan daha büyük yavru köpekler nispeten dirençlidir ve genellikle hafif veya yetersiz klinik hastalık geliştirir (Greene,2012).

Yaşlı köpeklerde virüs replikasyonu nazofarenks, genital sistem, bademcikler, retrofaringeal lenf düğümleri, bronşiyal lenf düğümleri, konjonktival dokular ve bazen de akciğerlerle sınırlıdır. Virüs, bademcikler, parotis tükürük bezi ve duyu gangliyonları gibi lenfoid dokular barındırabilir. Belirli bir köpek ya da canid türünün doğal bağışıklığı, herpesvirüs enfeksiyonlarına karşı korunmada önemli bir rol oynayabilir (Greene,2012).

Yetişkin Avrupa kırmızı tilkilerinde (*Vulpes vulpes*), deneysel intravenöz ve CHV-1 uygulanmasından sonra tüm tilkiler enfekte olmuş ve intravenöz CHV aşılması, deneysel olarak enfekte olmuş yetişkin köpeklerde gözlemlenenden çok daha şiddetli bir şekilde yetişkin tilkilerde klinik bir hastalığa neden olmuştur; ateş, uyuşukluk ve solunum yolu hastalığı gibi semptomlar geliştirmiştir. Enjeksiyonu takip eden günde 4 tilki ölmüş ve hayatta kalan tüm tilkiler serum anti-CHV antikorları geliştirmiştir. Kalan tilkilere oral CHV uygulaması yapılmış, enjeksiyondan sonraki 14 güne kadar tükürük ve genital sekresyonlarla CHV saçmış ve 14 gün sonunda kalan 6 tilkide iyileşme gözlemlenmiştir. Viral enfeksiyon serokonversiyon ile kanıtlandığı gibi olmasına rağmen, peroral dozlamadan sonra hiçbir klinik hastalık veya virüs yayılımı gözlenmemiştir (Reubel G. vd.,2001).

Herpes virüslerde tipik, klinik hastalıklardan iyileşme yaşam boyu gizli enfeksiyon ile ilişkilidir. Hastalık yetişkinlerde subkliniktir ancak genital lezyonlar, embriyonik rezorbsiyon, abort ve ölü doğum gibi fertilitate bozukluklarına yol açar.

Yavrularda ani ölümün yanı sıra ilk 2 haftalık süreci atlatanlarda; anoreksi, abdominal ağrı, dispne, ishal, nazal eksudat ve deride eritemlere rastlanır (Greene, 2012).

Deneysel çalışmalarda, aşılama yolunun virüsün vücuttaki yayılmasını ve doku lokalizasyonunu belirlemede de önemli olduğu gösterilmiştir. İntranazal olarak veya hem intranazal hem de intravenöz olarak CHV verilen köpeklerde nazal sekresyonlardan izole edilebilirken, intravajinal aşı yapılan köpeklerde hem nazal hem de vajinal sekresyonlardan izole edilebilmiştir. Aşılamadan iki ila 4 ay sonra, hayvanlara nekropsiler yapılmış ve CHV herhangi bir dokudan kültürülenememiştir. Bununla birlikte, PCR kullanılarak, aşılama yoluna bakılmaksızın trigeminal gangliyonlarda ve retrofaringeal lenf düğümlerinde CHV genomu bulunmuştur (Greene,2012).

Trigeminal ve lumbosakral gangliyonlar ve ilişkili lenf düğümleri içinde virüs, bu durgun dönemde nöronlarda veya intranükleer olarak lenfositlerde lokalize olur. Bunlar muhtemelen gecikme alanlarıdır ve tekrarlama, virüs replikasyonu ve solunum ve genital mukozadan dökülme ile sonuçlanır (Greene,2012).

1.3.1.Gebelik Sırasındaki Enfeksiyon

Hashimoto vd. (1983) latent formdaki virüsün tekrar aktifleşebileceğini ve fetüse transplental yolla bulaşabileceğini bildirmiştir. Diğer memeli türlerinde olduğu gibi *Herpesviridae* familyasındaki tüm virüslerin transplental geçişi olduğu bilinmektedir. Atlarda ve sığırlarda transplental bulaşma sonrası plentada nekrotize alanlar oluşmaktadır (Hashimoto 1979; Dubrovi ve Macellen 2010). Diğer memeliler ve köpeklerde ise gebeliğin durumu, enfeksiyonun hangi dönemde geçirildiğine bağlıdır.

Hashimoto vd. (1983) yaptıkları çalışmada gebe köpekleri gebeliğinin 30. ve 40. günlerinde intravenöz CHV-1 aşılması sonucu fetüsleri transplental olarak enfekte etmişlerdir. Enjeksiyon sonucunda yavrularda fetal ölüm, abort, mumifikasyon, erken doğum, ölü doğum ve canlı doğumlar bildirilmiş. 30. günde aşılanan gebe dişi bir köpekte sezaryen operasyonu ile gerçekleştirilen doğumda, bir batında doğan

yavruların 3'ünün hiç etkilenmediği 1 yavrunun mumifiye olduğu ve 1 yavrunun ölü doğduğu bildirilmiştir. Sağlıklı doğan 3 yavruda klinik herhangi bir bozukluk olmamış ve ilk 14 günlük süreci sorunsuzca atlattımlardır. Daha sonra yapılan postmortem çalışmada da hiçbir organdan virüs izolasyonu gerçekleştirilememiştir.

Ström Holst vd. (2012) yılında çeşitli ırklardaki gebe ve gebe olmayıp luteal evre sürecindeki köpeklerde yaptıkları çalışmada, CHV-1 varlığını incelemiştirler. Ortalama 4.1 yaşındaki dişilerin daha önceki doğumlarında CHV-1 kaynaklı kayıpları yoktu ve çalışma grubundaki hayvanlardan çiftleşme sonrası ilgili dönemlerde düzenli vajinal sitoloji ve progesteron kontrolleri yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen köpeklerden 2 tanesi CHV-1'e karşı aşılantı. Doğumları takip eden süreçte; toplamda 74 sağlıklı yavru doğmuş, biri aşılantı biri aşılantı gebe dişilerden ikisinde ultrason ile embriyonik ölüm tespit edilmiş, toplam 6 anneden 8 yavru ölü doğmuş ve 2 yavru da 8 haftalık süreçte ölmüştür. Çalışmaya dahil edilen tüm dişilerde CHV-1 antikor varlığı tespit edilmiş ve çeşitli günlerdeki titreleri kayıt altına alınmıştır. Antikor titrelerinde gebeliği veya luteal fazı etkileyecek tutarlı bir değişiklik gözlenememiştir. Embriyonik mortaliteye sahip dişilerde ise herhangi bir vajinal sitolojide CHV-1 varlığına rastlanamamış ayrıca antikor seviyeleri için zayıf ve orta pozitif olduğu belirtilmiştir. Ancak yapılan çalışma sonucu tüm dişilerin antikor pozitif olması ve gebeliğin çeşitli evrelerinde titrelerdeki artışlara rağmen, CHV-1'in gebelik üzerine olumsuz bir etkisi olmadığı ve ne embriyonik ölümlerin ne de diğer aşamalardaki yavru ölümlerinin CHV-1 dışındaki sebeplere bağlı olduğu bildirilmiştir.



Şekil 1.3: CHV-1 ile deneysel intravenöz enfeksiyondan 31 gün sonra hamile dişi köpekten sezaryen ile alınan yavrular. İki fetüs kısmen mumyalanmıştır. (Hashimoto A, Hirai K, Suzuki Y, vd.1983)

1.3.2. Neonatal Süreçteki Enfeksiyon

Köpeklerde neonatal dönem, doğumu takip eden 3 haftalık sürece karşılık gelir. Yeni doğanlar üzerine yapılan az sayıda çalışma vardır ve bu çalışmalara göre yaşamın ilk 8 haftalık süreci ölüm oranının en sık olduğu dönemdir, istatistiksel olarak bu oran %17-30 arasındadır (Van der Beek S. vd.1999).

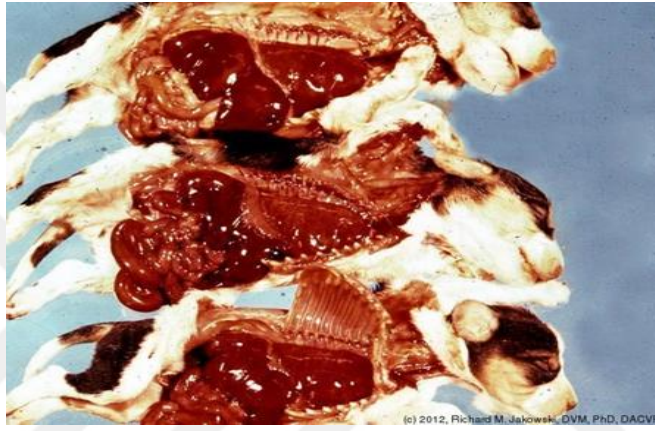
Yeni doğanlardaki yüksek mortalite; uzan doğum süreleri, anne-yavru ilişkisi problemleri, süt eksikliği, doğuştan gelen anormallikler ve diğer enfektif bozukluklar ile ilişkilidir (Hopper BJ vd., 2004).

Yavru köpekler, zayıf-gelişmemiş termoregülasyona bağlı olarak hipotermiye oldukça duyarlıdır. Periferik vazokontrüksiyon oluşturamazlar ve titreyerek düşük sıcaklığa tepki veremezler. Enerji gereksinimleri yüksektir ancak enerji rezervleri düşüktür. Olgunlaşmamış karaciğerleri enerji üretmede yetersizdir. Bu durum yeni doğanı hipoglisemiye yatkın hale getirir. Yeni doğanlar yetişkinlere göre daha yüksek vücut su yüzdesine sahiptir (%82) ve dehidrasyon riskini daha da arttıran şey

yüze/hacim oranına bağı olarak akciğerleri ve derileri yoluyla daha fazla su kaybına sahiptir (Blunden TS, 1998).

CHV-1'le enfekte yavrularda ölümün en sık görüldüğü dönem 0 -14 günlük süreçtir ve nedeni henüz gelişmemiş termoregülasyon ve bağışıklık yetersizliğidir.

Yeni doğan yavrular enfeksiyonu uterusda veya doğum kanalından geçerek alabilirler; ancak daha yaygın olarak, yavruların doğum anında kanaldan, enfekte olmuş yavrulardan veya temas halindeki diğerköpeklerden oronazal sekresyondan enfekte olduğundan şüphelenilmektedir (Rootwelt vd. 2009; Greene 2012).



Şekil 1.4 Neonatal süreçteki enfeksiyon. (Anonim 2)

Appel vd. (1969), enfeksiyon anında iki haftadan büyük yavruların virüsten nispeten etkilenmediğini ve enfeksiyonun genellikle üst solunum yollarındaki lokal enfeksiyonlarla ilişkili olduğunu belirtmiştir. Kuluçka süresi dört ila on gün arasında değişir ve etkilenen yavruların çoğu hastalık belirtileri ortaya çıktığında üç haftadan daha büyük değildir. Bu tip yavruların mortalitesi yüksektir ve hatta % 100'e kadar bir ölüm oranına ulaşabilmektedir (Decaro vd. 2008).

Klinik belirtiler anoreksiya, abdominal ağrı, inleme, opistotonus, burun akıntısı, hapsirme ve diare şeklindedir. Bununla birlikte, bazen yavrular belirgin bir semptom göstermeyebilirler (Carmichael vd. 1965; Poulet vd. 2001; Rootwelt vd. 2009).

Carmichael (1970), köpek yavrularının oronazal aşılmasından sonra virüs replikasyonunun birincil alanının burun epitelyumu ve bademcikler olduğunu bir

makalede özetlemiştir. Üç ila dört gün sonra, virüs kan dolaşımına girerek muhtemelen makrofajların alınması yoluyla lökositlerle ilişkili bir viremiye neden olur. Virüs kan yoluyla yayılır ve küçük kan damarlarını kaplayan vasküler endotelyumda replike olur ve böbrekler, adrenal bezler, karaciğer, dalak ve akciğerler de dahil olmak üzere çeşitli organlarda sekonder yaygın kanama ile nekrotizan vaskülitte yol açar (Poulet vd. 2001; Wright ve Cornwell 1968).

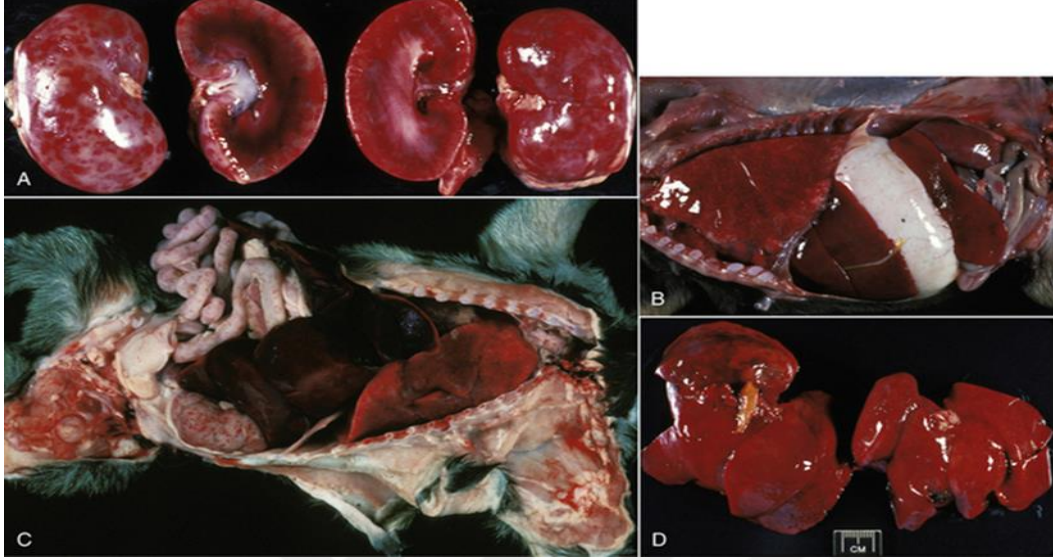
Percy vd. (1968) yaptıkları çalışmada yavrularının doğal olarak veya deneysel olarak CHV-1'e maruz kaldığı durumlarda vireminin ödem odakları, nöronal dejenerasyon ve retinanın nötrofil infiltrasyonu ile sonuçlandığını gösterdiler. Aynı çalışmada, CHV-1 beyni etkilemiş, muhtemelen trigeminal gangliyonlardan yayılarak süperatif olmayan bir meningoensefalite neden olmuştur.

Virüs, yaşamın üçüncü haftasına kadar, yeni doğan yavruların normal sıcaklık regülasyonunda bozulma gösterir. Rektal sıcaklık normalde yetişkin köpeklerin sıcaklığının 1-1.5 ° C altındadır, bu da CHV-1 replikasyonu için idealdir (Greene 2012). Sıcaklık düzenlemesinin zayıf gelişmiş bir bağışıklık sistemi ile birlikte yavruları CHV-1 enfeksiyonlarına karşı oldukça savunmasız hale getirdiği öne sürülmektedir (Carmichael vd. 1969; Carmichael 1970; Rootwelt vd. 2009).

Seropozitif dişi köpeklerin serumu ve kolostrumunda CHV-1'e karşı antikorların üreme bozuklukları riskini azalttığı ve yavruları ölümcül sistemik enfeksiyon geliştirmekten koruduğu var sayılmaktadır (Carmichael 1970; Poulet vd.2001). Seronegatif dişi köpeklerde veya düşük düzeyde immünoglobulin içeren dişi köpeklerden emzirilen yavrular muhtemelen ölümcül hastalığı geliştirebilir. Yüksek düzeyde immünoglobulin ile seropozitif dişiler tarafından emzirilen köpek yavruları enfekte olur, ancak klinik hastalık ve orofaringeal bölgeden geri kazanılan sınırlı virüs yoktur (Carmichael 1970; Huxsoll ve Hemelt 1970).

Enfekte dişi köpeklerin serumunda koruyucu antikorların varlığı ile, hastalıklı yavruları doğuran doğal olarak enfekte olmuş dişilerin genellikle sonraki gebeliklerde sağlıklı yavrular doğuracağı varsayılmaktadır (Huxsoll & Hemelt 1970; Evermann vd.2011). CHV-1 ile genel enfeksiyondan sağ kurtulan köpek yavrularının sentral sinir sistemi, gözler, akciğerler ve böbreklerde lezyonlar olması muhtemeldir (Percy vd.

1971; Percy vd. 1968) ve yetişkin olarak nörolojik belirtiler veya körlük gelişebilir (Percy vd. 1971; Greene 2012).



Şekil 1.5: Neonatal süreçteki enfeksiyon patolojisi. (Anonim 3).

A, 12 günlük mastif köpek yavrusu böbreklerden CHV-1 izole edildi. Makroskopik; herpetik nefrite tipik olan (ancak patognomonik olmayan) subkapsüler hemorajik odakları içerir. Kesim bölümünde beyaz ve kırmızı kortikal çizgiler belirgindir; hemorajik bir medulla ortadadır. B, Serosanguineous pleura sıvısında tarif edilen multifokal pembe ve kırmızı plevral beneklenme mevcut. Histopatolojik incelemede; pulmoner nekroz ve bronkopnömoni.

C, aynı köpek yavrusu ince bağırsak serozal peteşi. Histopatoloji, CHV-1 enfeksiyonu ile uyumlu enterosit nekrozunu tanımladı. D, Karaciğer düzgün sıkılık. Histopatoloji, akut hepatik pıhtılaşma nekrozunun dağınık çoklu odakları; canlı hepatositlerde herpes viral inklüzyonlarına özgü eozinofilik intranükleer cisimcikler görülmüştür

1.4. Köpeklerde Oluşturduğu Diğer Hastalıklar

1.4.1. Respiratorik Enfeksiyon

CHV-1, bir solunum yolu hastalığı enfeksiyöz trakeobronşit (ITB) olarak da bilinen 'Barınak Öksürüğü' ile ilişkilendirilmiştir. Virüs üst solunum yollarının epitel

dokusunda gözlenir ve hafif rinit ve farenjit klinik semptom olarak göze çarpar (Appel vd.,1969).

Klinik olarak hasta hayvanlarda güçlü bir öksürük ile karakterizedir. Trachea ve akciğerlerden alınan numunelerde CHV-1 ve ona eşlik eden diğer ajanlar (Canine Parainfluenza Virüs ve Bordetella brobchiseptica) kolayca tespit edilmiştir (Erles vd.,2004; Evermann vd.,2011).

Köpeklerde, oronazal mukoza ayrıca trigeminal sinir dallarının viral replikasyonu ve enfeksiyonu ile en önemli giriş portalıdır (Miyoshi vd. 1999).

CHV enfeksiyonlarının hastalık sonuçları yaşa bağlıdır. 1 aylıktan küçük köpek yavrularında, CHV ile doğal ve deneysel enfeksiyon oldukça ölümcüldür. Yavruların doğal maruziyeti, virüs içeren materyalin yutulması veya solunması ile oluşur. Birincil replikasyon yerleri burun mukozası, farinks ve bademciktir. Virüsün sistemik yayılımı, hücreye bağlı viremi ile artar (Wright N.G.,1970; Thompson H. vd., 1972).



Şekil 1.6: Yavru köpeklerde köpek herpes virüsü 1 enfeksiyonu. Akciğerde yaygın kollaps ve nekrotizan interstisyel pnömoniye düşündürülen çok sayıda küçük soluk odaklara sahiptir (Anonim 4).

Trakeobronşit belirtileri, doğal olarak enfekte olmuş köpeklerden izole edilen CHV ile deneysel aşılamanın ardından ortaya çıkmaktadır (Appel M.,1987; Gaskell R.,1999)

Üst solunum yolunda 5-12 haftalık yavruların deneysel enfeksiyonu, hafif rinit ve farenjit ve virüs replikasyonuna neden olmuştur. Her ne kadar CHV üst solunum yolu hastalığı olan köpeklerden izole edilmiş olsa da, “köpek barınak öksürüğü” üremesi nadiren bildirilmiştir. Thompson vd. (1972) 12 haftalık köpeklerin aerosol maruziyetinin nekrotizan rinit, bronkeointerstisyel pnömoni ve multifokal alveoler nekroza neden olduğunu bildirmiştir. CHV, immün sistemi baskılanmış köpekleri enfekte ettiğinde daha ciddi hastalık ortaya çıkabilmektedir (Malone,2010).

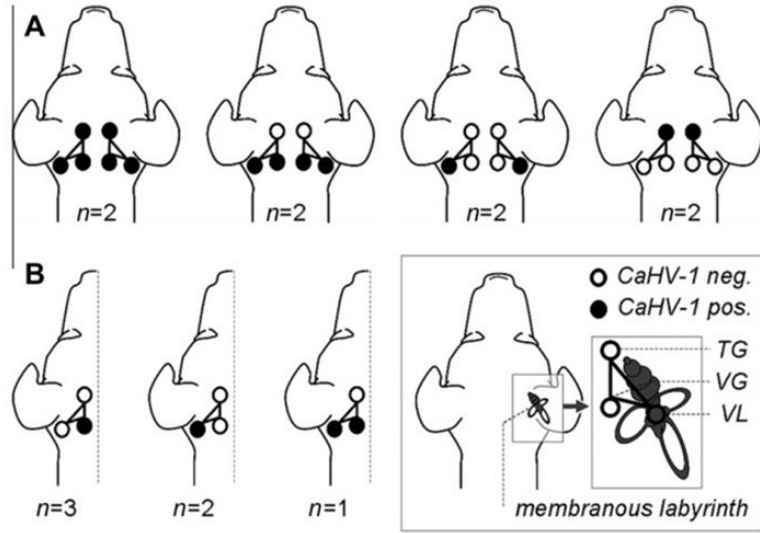
Köpek bulaşıcı solunum hastalığı (CIRD) en yaygın olarak kurtarma merkezlerinde, yatılı kulübeler ve veteriner hastanelerinde görülmektedir. Etkilenen köpeklerin çoğunun sınırlı süreli kuru öksürüğü vardır. Komplike vakalarda bronkopnömoni görülür ve ölümcül olabilir. Birden fazla bulaşıcı ajan, köpek parainfluenza virüsü ve Bordetella bronchiseptica gibi, CIRD'nin indüklenmesinde rol oynayabilir. Köpek distemper ve köpek adenovirüs tip 2 (CAV-2), CIRD ile ilişkilendirilmiştir, ancak kısmen etkili aşılardan dolayı rutin olarak tespit edilmemiştir ve popülasyon bağışıklığı oldukça yüksektir. Köpek gribi (CIV), köpek koronavirüsü (CCV) ve son zamanlarda köpek pneumovirüs (CnPnV), bu hastalık sendromuna katkıda bulunan bileşenleridir (Erles K. vd.,2005; Renshaw R. vd.,2011).

Kawakami vd. (2010), yetişkin köpeklerde ölümle birlikte Japonya'da bulaşıcı trakeobronşit salgını tanımladılar. Salgın sırasında tespit edilen tek patojen CHV idi. Moleküler testler, virülans karakteristikleri ile önceden test edilmiş CHV suşlarından sadece biraz daha yüksek olan tek bir suşun dahil olduğu sonucuna yol açtı.

1.4.2. Vestibular Enfeksiyon

İnsanlarda, vestibüler iç kulak bölmelerinde çeşitli herpes virüsler tespit edilmiştir ve Ramsay Hunt Sendromu, iyi huylu paroksizmal pozisyonel vertigo, vestibüler nörit ve Ménière hastalığında vestibüler disfonksiyona neden olduğu düşünülmektedir (Ohtani vd. 2006; Gacek, 2008). Parzefall vd. (2010) yaptıkları çalışmada, kedi herpesvirüs-1 (FHV-1) DNA'sı kedilerin vestibüler gangliyonunda (VG) tespit etmiş, ancak vestibüler hastalık belirtileri ile ilişki gözlemleyememiştir. Bunun akabinde Parzefall vd. (2011) köpek vestibüler hastalığında CHV-1 enfeksiyonunun olası rolünü

araştırmak için, PCR kullanarak herpes virüs DNA'sı için rastgele seçilen 52 köpeğin (26 erkek, 26 dişi) VG ve vestibüler labirent (VL)'ini taramış, doku örnekleri toplanmış ve yapılan PCR analizleri sonucu CHV-1 DNA, 52 köpeğin sırasıyla %17 ve %19'unun VL'sinde tek taraflı veya iki taraflı olarak saptanmıştır. Trigeminal gangliyonlar (TG) incelendiğinde ise 33 köpekten 4'ünde (% 12) bölgede bilateral enfeksiyon gözlemlenmiştir. Enfeksiyonlar şekilde şematize edilmiştir.



Şekil 1.7: Vestibüler labirent (VL), vestibüler ganglion (VG) ve trigeminal gangliyonunda (TG) herpesvirüs-1 enfeksiyonunun dağılımının şematik gösterimi; (A) bilateral enfeksiyon (B) unilateral enfeksiyon. (B. Parzefall vd. 2011)

Vestibüler bulguları olan üç köpeğin VL ve / veya VG'sinde CHV-1 DNA'sı tespit edilmesine rağmen, klinik bulgularda intra-kraniyal neoplaziye veya diğer CHV-1 enfeksiyon belirtileri gözlemlenmemiştir. VL enfeksiyonu bulunan 14 köpekten 11'inde klinik vestibüler hastalık belirtileri görülmemiştir ve geri kalan üç hayvanda vestibüler disfonksiyon diğer nedenlere bağlanmıştır. Bununla birlikte, CHV-1 enfeksiyonunun nörolojik bulgulara olası katkısı, vestibüler kompartmanların CHV-1 enfeksiyonunun hedefi olup olmadığını netleştirmek için gelecekteki araştırmaların temelini oluşturmaktadır. Ayrıca, bu yapıların klinik olarak doğrulanmış periferik vestibüler hastalığı olan köpeklerde virüsün varlığı açısından incelenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir (Parzefall vd., 2011).

1.4.3.Genital Enfeksiyon

CHV-1, üst solunum yollarının ve dış cinsel organların mukoza zarında çoğalır. Lenfoid nodüller ve peteşiyal kanamalar, intragenital olarak aşılandığında penis ve prepus ve vajinada bildirilmiştir (Hill & Maré 1974). Genital lezyonlar virüsün çiftleşme sırasında bulaşmasına neden olabilir. Bununla birlikte, dişi köpeklerdeki genital lezyonların doğum sırasında yavrulara bulaşma riski olarak en önemli olduğuna inanılmaktadır (Hill ve Maré 1974; Rootwelt vd. 2009).

Herpesvirüsler köpek genital sisteminin papuloveziküler lezyonlarından izole edilmiştir; bu tür lezyonlar daha önce enfekte olmuş dişilerde tekrarlayan ataklar şeklinde görülebilmektedir. Genital sistem enfeksiyonu genellikle asemptomatik veya hiperplastik lenfoid foliküllerle vajinal hiperemi ile sınırlı görünmektedir (Burr P.D. vd.1996; Grenee 2012).



Şekil 1.8: CHV'lü dişi köpekte genital lezyonlar; vezikülasyon, hiperemi ve submukozal kanama (Anonim 5).

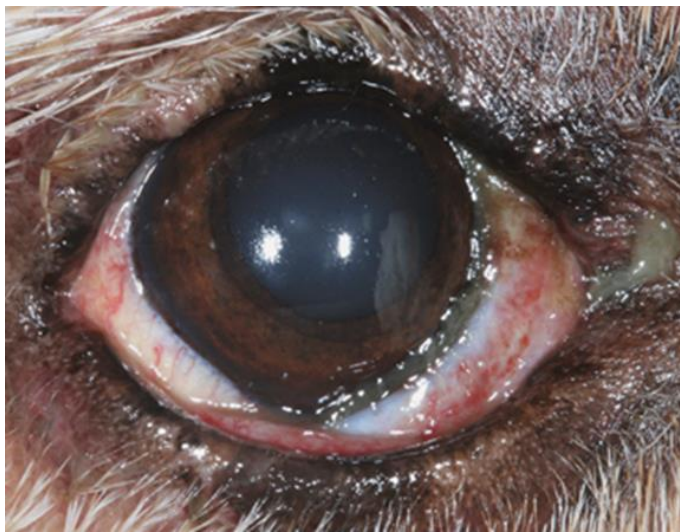
1.4.4. Okuler Enfeksiyon

Yeni doğan yavrualarda CHV-1 enfeksiyonlarının neden olduğu retina lezyonları bildirilmiş (Percy vd., 1968) ancak bunun tersi bir görüş ile virüsün yetişkin köpeklerde oküler lezyonların kornea, konjonktiva ve göz kapağı ile sınırlı olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Evermann vd., 2011).

Percy vd. (1971) 4 yavru Beagle ırkı ve 31 günlük bir Malamut ırkı köpek yavrusu üzerinde deneysel intraperitoneal inokülasyon sonucu yapılan histolojik incelemede, mikroskopik olarak periferik retinal displazi alanları gözlenmiştir. Odaklar çoğunlukla farklılaşmamış retinal hücrelerden oluşmuştur ve retina ve korneanın diğer alanları histolojik olarak normal değerlendirilmiştir.

Ledbetter vd. (2009) tarafından deneysel olarak 8 köpekte yaptıkları topikal oküler inokülasyon sonucunda tüm köpeklerde bilateral konjonktivit şekillenmiştir. 8 ay sonra prednizolon ile reaktifleştirilen virüs, tekrardan konjonktivit lezyonları oluşturmuştur ayrıca köpeklerin birinde de süperfisial korneal ülserasyon görülmüştür.

Malone vd. (2010) tarafından yapılan vaka bildirisinde de lenfadenomegali yüzünden bağışıklık sistemi baskılanmış 8 yaşındaki Golden ırkı bir köpekte CHV-1'in sebep olduğu akut konjonktivit ve bulbar konjonktiva içinde hafif multifokal kanama bildirilmiştir.



Şekil 1.9: Bağışıklık sistemi baskılanmış lenfomalı bir köpekte CHV-1'in oluşturduğu göz enfeksiyonu (E.K Malone. vd. 2010)

1.5.Latentlik ve Reaktivasyon

Reaktivasyon sürecinin düzensiz olarak değiştiği bilinmekle beraber özellikle stres, gebelik ve immünsupresif ilaçların kullanımının buna etkisi olduğu düşünülmektedir (Greene 2012).

Latent durumdaki CHV-1'in reaktivasyonunun daha önceden virüsün neden olduğu reproduktif bozuklukları olan dişi köpeklerde prednizolon kullanılması ile gerçekleştiği bildirilmiştir.5 gün boyunca kullanılan yüksek doz prednizolon (600mg) 5 dişiden 4'ünde reaktivasyona sebep olmuştur (Okuda vd., 1993).

İlk enfeksiyon sonrası oluşan reaktivasyondaki viral dökülmeninse, ilk enfeksiyondaki yayılma hızının tersine yalnızca birkaç gün sürdüğü yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Ronsse vd., 2005). Ronsse vd. (2005) yaptıkları çalışmada bir reproduktif süreç içerisindeki 27 dişi köpeği reaktivasyon ve spesifik antikor tespiti için incelemiştir. Başlangıçta tümü seronegatif olan köpeklerden bazılarında çalışma sırasında serokonversiyon meydana gelmiştir. Ayrıca doğurganlığı azalan ve üreme bozuklukları meydana gelen dişilerde iki tip antikor belirlenmiştir.

Herpes virüsler yaşam boyu süren gizli enfeksiyonlara neden olurlar. (Roizmann B. vd.,1992) Diğer birçok DNA virüsünde olduğu gibi, herpes virüsler "kalıcı bir yaşam stratejisi" sürdürürler (Villarreal LP. vd.,2000). Üretken enfeksiyon ve antiviral yanıtın ilk dönemini takiben, virüs konaktan tamamen temizlenmez. A-herpes virüslerin yerleşimi tipik olarak duyu gangliyonlarda görülür; bununla birlikte, virüsler latent enfeksiyon sırasında lenfositlerde de tespit edilmiştir (Chester PM. vd., 1997).

Viral DNA'nın hücre içi rezidansına ek olarak, herpes virüsler ayrıca virüse karşı konakçı enflamatuar yanıtı değiştirmekten sorumlu olan virokinleri eksprese eder. Virokinler, hem kemokinler hem de kemokin antagonistleri olarak işlev görür ve enflamatuar hücrelerin dinamiklerini modüle eder. (Peter R. Morrese, 2004)

CHV-1, konakçılara iyi adapte olup, çoğu maruz kalan köpekte hafif seyirli bir hastalığa veya ömür boyu latent enfeksiyona neden olur (Anvik JO,1991). CHV-1'in, doğal enfekte köpeklerde çeşitli dokularda kaldığı gösterilmiştir. Bu hayvanların enfeksiyonun yaşandığı yaş bilinmesine rağmen; doku lokalizasyonu üzerinde yaşa bağlı etkiler belirlenmemiştir. PCR ile viral DNA amplifikasyonu sonucu; trigeminal

gangliyonlar, lumbosakral gangliyonlar, tonsillar doku, parotis tükürük bezi ve karaciğerde virüs tespit etmiştir (Burr PD vd. 1996).

1.6. Teşhis

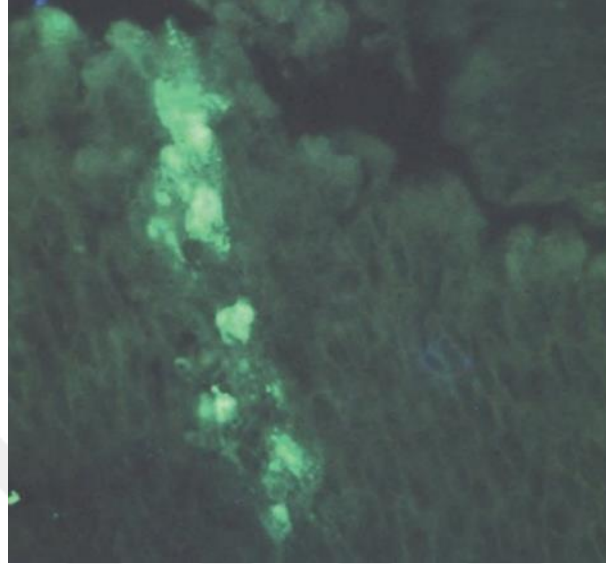
Giderek hassaslaşan moleküler teşhisler; üst solunum yolu enfeksiyonu, oküler hastalık, veziküler vajinit veya posititi olan yetişkin köpeklerde ve klinik belirtileri olmayan köpeklerde hastalığın teşhisini kolaylaştırmıştır. Bu anlamda en sık kullanılan teşhis metodlarından birisi de PCR (Polymerase Chain Reaction) 'dır. Moleküler teşhis yanı sıra uygulanan serolojik teşhis metotları (IPMA, ELISA vb.) da hastalığı belirlenmesinde yardımcı olur. (Greene, 2012)

Yeni doğan yavrularda CHV enfeksiyonunun belirlenmesi genellikle klinik öykü, fizik muayene ve etkilenen yavrularda görülen karakteristik patolojik değişikliklerden elde edilen bilgilere bağlıdır. Hematolojik ve biyokimyasal anormallikler belirsizdir, ancak belirgin trombositopeni görülebilir. Alanin amino transferaz aktivitesinde belirgin bir artış, enfekte olmuş yeni doğanlarda bulunabilir (Greene,2012).

CHV, akut sistemik enfeksiyondan ölen yavruların birkaç parankimal organından izole edilebilir, ancak en yaygın olarak adrenal bezlerden, böbreklerden, akciğerlerden, dalaktan, lenf düğümlerinden ve karaciğerden elde edilir. İyileşmiş veya daha yaşlı hayvanlarda, CHV büyümesi genellikle oral mukoza, üst solunum yolu ve dış genital organlarla sınırlıdır (Greene,2012).

CHV sadece köpek kökenli hücrelerde, özellikle köpek böbrek hücrelerinde 35 ° C ile 37 ° C' lik uygun sıcaklık aralığında büyür. Enfekte hücreler, nekrotik hücrelerle çevrili berrak plaklar bırakır. Plak oluşumu en iyi şekilde, katmanların agar veya metilselüloz gibi yarı katı ortamlarla kaplanmasıyla gözlenir. Plak morfolojisi virüs patojenitesinin bir belirteci olarak kullanılmıştır. CHV Cowdry tip A intranükleer inklüzyonlar üretir, en iyi Bouin'in sıvısında bulunan dokularda ortaya çıkar (Greene, 2012). Floresan antikor teknikleri, elektron mikroskopisi ve PCR, dokulardaki ve hücre kültürlerindeki CHV'yi saptamak için kullanılabilir. PCR, asemptomatik

köpeklerde latent herpes virüs enfeksiyonlarının yaygın olduğunu göstermiştir (Burr vd. 1996).



Şekil 1.10:CHV ile aşılanmış 12 haftalık yavrudan herpesvirüs ile enfekte olmuş hücrelerin nazal konka epitelindeki odağı (floresan antikor yöntemi, $\times 125$). (Appel MJG, Menegus M, Parsonson IM. vd. 1969.)

CHV antikorları için kullanılan serolojik testler, sitopatojenisitede veya plak oluşumunda azalmaya dayanan virüs nötralizasyon testlerine dayanmaktadır. Enzime bağlı bir immünosorban testi ve hemaglutinasyon inhibisyon testi de geliştirilmiştir. Nötralize edici antikorlar, enfeksiyondan sonra artar ve sadece 1 ila 2 ay boyunca yüksek kalabilir; düşük titreler en az 2 yıl boyunca tespit edilebilir. Seropozitiflik, sadece aktif enfeksiyonu değil maruziyeti de gösterir, ancak gizli enfeksiyon varsayılabilir. Serolojik testler standart olmadığı için laboratuvarlar arasında pozitif sonuçların düzeyi ve prevalansında farklılıklar beklenebilir (Greene, 2012).

1.7.Tedavi

Yetişkin köpeklerde solunum, oküler ve genital hastalıklar için semptomatik tedavi önerilmektedir (Evermann vd.,2011). Asiklovir gibi antiviral ilaçlardan fayda sağlanmıştır (Kimberlin vd., 2001). CHV-1 ile enfekte yeni doğan yavruların asiklovir ile başarılı tedavisi Davidson vd. (2003) tarafından vaka raporunda tarif edilmiştir. Ancak Richardson (2000)'a göre asiklovir doz aşımında köpeklerde toksisite belirtileri göstermektedir. CHV-1 için farmakokinetik, biyoyararlanım ve etkili doz bilinmediği için neonatal tedavisinde anti-herpes viral ilaçların kullanılmadan önce daha fazla araştırılmaya ihtiyacı vardır (Evermann vd.,2011).

Seropozitif köpeklerden elde edilen 1-2 ml immün serumun intraperitoneal enjeksiyonu ile epizootik atak azaltılabileceği düşünülmektedir (Greene 2012).

Carmichael vd. (1969) profilaktik amaçlı çevresel sıcaklığı yükselterek yavrularda hastalığın seyrini değiştirmişlerdir. Tamamlanmamış bir termoregülasyon ve subnormal vücut sıcaklığına sahip olan yavru için, çevre sıcaklığındaki artış vücut sıcaklığının doğrudan yükselmesini sağlamıştır ve hastalığın seyrini olumlu yönde etkilemiştir.

Süt ve diğer memeli salgılarında bulunan demir bağlayıcı bir protein olan laktoferrin, CHV'nin hücre kültüründe replikasyonunu inhibe eder. Laktoferrin, virüsün peroral bulaşmasından şüphelenildiğinde, klinik olarak sağlıklı yavruları korumak için ampirik olarak oral olarak uygulanabilir. Laktoferrin, topikal olarak da diğer mukozal viral enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılmıştır (Greene 2012).

1.8.Aşılama ve Profilaksi

Hastalığın spesifik bir tedavi prosedürü olmadığı gibi ülkemizde hali hazırda kullanılan ticari aşısı da bulunmamaktadır. Ancak Avrupa'da üretilen ve özellikle gebelik döneminde kullanılan ticari EUROCAN (Eurican® Herpes 205, Merial, France) aşısı bulunmaktadır.

Aşı, inaktive edilmiş CHV-1'in spesifik bir yüzey proteinini (gB- glikoprotein) içermektedir. Aşılamada başarılı bir nötralize edici antikor seviyesi sağlamak için, aşı iki kez gebe dişilerde subkutan olarak uygulanır. İlk aşılama östrusta veya çiftleşmeden yedi ila on gün sonra, ikinci aşılama da doğumdan bir ila iki hafta önce yapılmalıdır. Aşılama, yaşamın ilk 12-36 saati içinde kolostrum ve süttten, yavrulara pasif maternal bağışıklık sağlar (EMEA 2002).

Ticari EUROCAN aşısının prospektüs çalışmasında, aşılanmış dişi köpeklerde üreme performansı üzerinde olumsuz etkisinin olmadığı belirtilmiştir. 171 aşılanmış dişi ve 95 yalancı gebelik ile tedavi edilen kontrolün, farklı ırk ve yaşların ve farklı CHV durumuna sahip köpeklerin sonuçlarına dayanmaktadır. Gruplar arasındaki homojenlik, dişilerin yaşı ve büyüklüğü açısından kontrol edilmiştir. Dikkate alınan üreme parametreleri gebelik oranı, doğan (canlı ve ölü) ve süttten kesilmiş yavru sayısıdır. Aşı gebe köpeklere uygulandığında, spesifik üreme parametreleri üzerinde saptanabilir bir olumsuz etkinin olmadığını doğrulanmıştır. Yukarıda belirtilen noktalara ek olarak, spesifik patojen-free (SPF) köpeklerinde, gözle görülür yan etkileri olmadığı belirtilmiştir. Düşük veya hiç antikor titresini olmayan 50'den fazla dişi köpek, üreme üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmadan saha çalışmalarında aşılanmıştır. Bağışıklık olmasa bile gebe köpeklerde kullanım güvenliği de dahil olmak üzere, ürünün güvenliğine ilişkin yeterli kanıt sağladığı sonucuna varılmıştır (Anonim 6).

1.9. Çalışmanın Amacı

Sunulan tez çalışmasında, ülkemizde ve dünyada yüksek insidensle seyreden Köpek Herpes Virüsün (CHV-1), Orta Anadolu bölgesinde çeşitli illerde bulunan ticari köpek üretim tesislerinde oluşturduğu reproduktif kayıpları ve bu kayıplar sonucu oluşabilecek ekonomik tehlikelerin değerlendirilmesi adına seroprevalans incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, bu tez çalışması ile birçok evcil memeli hayvan türünde olduğu gibi köpeklerde de hem reproduktif hem de birçok hayati organ üzerine olan olumsuz etkileri olan ve sıklıkla latent seyreden bu hastalığın varlığın ortaya konması sonucu; çalışmanın gerçekleştirildiği ticari köpek işletmelerinde korunma ve eradikasyon programları hakkında da çalışmalar yapılması amaçlanmıştır.



2.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; prospektif bir çalışma olarak yürütüldü. Çalışmaya Orta Anadolu Bölgesi'ndeki çeşitli il ve ilçelerin ticari köpek üretim işletmelerinde barındırılan (Ankara: İncek, Haymana, Gölbaşı, Çubuk, Etimesgut, Yenimahalle, Batıkent. Eskişehir: Seyit Gazi. Çankırı: Eldivan.) Alman Çoban (n=12), Doberman (n=23), Rottweiller (n=31), Anadolu Çoban Köpeği (Akbaş n=3, Malaklı n=9, Kangal n=29), Labrador (n=2), Mallinois (n=2), Border Collie (n=1), Bernese Dağ Köpeği (n=1) ve Sable Alman Kurdu (n=1) ırklarından oluşan toplam 114 dahil edildi.

Çalışmanın materyalini özellikle reproduktif geçmişinde sorunları olan, çeşitli yaş (ort=3,44) ve ırklardaki köpeklerden alınan kan numuneleri oluşturdu. Her köpekten iki adet antikoagulanlı (EDTA) tüpe toplanan kan örneklerinden biri PCR işlemi için moleküler incelendi diğeri ise ticari CHV-1 ELISA kiti ile serolojik değerlendirmesi yapıldı ve bu sonuçlar karşılaştırıldı.

Çalışma, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2019/124 numaralı proje ile desteklendi. Çalışma izni, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2019/06 sayılı toplantısı ve 32 numaralı karar yazısı ile gerçekleştirildi. Çalışma süresince hastaların anamnez bilgileri EK-2'deki ön çalışma formu dâhilinde raporlandı, istatistiksel veriler Microsoft Excel ile kayıt altında tutuldu. Çalışmaya katılan ticari köpek üretim çiftlikleri sahipleri tarafından EK-3'deki 'Aydınlatılmış Onam Formu' imzalatıldı ve çalışmaya katılan köpekler hakkında çalışma sonucu bireysel olarak raporlandırıldı.

2.1. PCR-YÖNTEMİ

2.1.1. Örneklerin hazırlanması

Canin herpes virüs hayvanlardan alınan örnekler, viral nükleik asit tespiti için ön hazırlığa tabi tutuldu. Tam kan için antikoagulanlı (EDTA-etilen diamine tetraasetik asit) tüplere alınan kanlar laboratuvarında 2500 devirde 10 dakika santrifüje tabi tutuldu. Tüp içinde tabakalanan kan hücrelerinden lökosit tabakası bir pastör pipeti ile çekildi, süspansiyon edildi. Elde edilen lökosit süspansiyonu yine viral nükleik asit tespiti için işleme alındı.

2.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonun (PCR)'da Kullanılacak Örneklerden Viral DNA Ekstraksiyonu

Viral nükleik asit varlığını tespit etmek için yapılacak PCR'da kullanılmak üzere ön hazırlığı yapılan tanı materyallerine konvansiyonel yöntem ile DNA ekstraksiyonu yapıldı.

Bu amaçla;

- Analizi yapılacak örnekten 325 µl bir ependorf tüpe alındı.
- Üzerine eşit hacimde (325 µl) solüsyon D ilave edildi ve 15 saniye vortekslendi.
- Karışım üzerine 325 µl alkali fenol ve 325 µl kloroform/izoamil alkol (24:1) konuldu ve 15 saniye vortekslendi.
- Karışım 12000 devirde 10 dakika santrifüje edildi.
- Santrifüj sonunda 700 µl süpernatant yeni bir ependorf tüpüne aktarıldı ve üzerine 700 µl izopropil alkol eklendi.
- 3 M Na asetattan 1:10 oranında (140µl) karışımın üzerine eklendi ve 10 saniye vortekslendi.
- Karışım 1 saat -80°C'de bekletildi .
- Süre sonunda oda derecesinde çözüldü ve 12000 devirde 10 dakika santrifüje edildi.
- Üsteki sıvı çekildi ve pelet, 300 µl %70 Etanol ile yıkandı ve tekrar 12000 devirde 2-3 dakika santrifüje tabi tutuldu.
- Etanol çekildikten sonra, 37 °C'de kurutulan pelete 20µL distile su eklendi.

2.1.3. Primer çifti ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, laboratuvarında ön hazırlığı yapılan örneklerle ait ekstratlardaki olası viral nükleik asidin, laboratuvar ortamında primer denilen sentetik oligonükleotid diziler yardımıyla çoğaltılması işlemidir. Çalışmada konvansiyonel PCR yöntemi ile CHV-1 nükleik asit tespiti amacıyla kullanılan reagent'lar ve kullanılan cihazlar ile ilgili bilgiler aşağıda sunuldu.

- ABT H.S. DNA Taq Polymerase, Atlasbiyoteknoloji, Türkiye
- DNA Ladder, 100-3000 bp, Atlasbiyoteknoloji, Türkiye
- Termal Cyclers TC – 3000, Techne, UK
- Jel Görüntüleme Sistemi 100, Kodak, Japonya

Konvansiyonel PCR tekniğinde (Burr, P vd. 1996)'nın Gb genine yönelik olarak bildirdikleri primer çifti kullanıldı. Primer dizinleri

CHV1 f: 5'- CAG GAC TAT TGG ACT TAT AGT -3'

CHV1 r: 5'- TTG CAA TGC CCC TCA TAA TT-3' şeklindedir. Pozitif olarak değerlendirilen örneklerden elde edilen PCR ürünü 120 bp olmalıdır.

PCR aşamaları ve bu aşamalarda uygulanacak derece (°C)/süre değerleri aşağıda sunulmuştur:

- 1- Başlangıç denatürasyonu 95°C'de 10 dakika
- 2- Denatürasyon 94°C'de 30 saniye
- 3- Annealing (bağlanma) 50°C'de 60 saniye 35 siklus
- 4- Extension (uzama) 72°C'de 30 saniye
- 5- Final extension 70°C'de 5 dakika

2.1.4.PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrez

Amplikonların jelde görüntülenmesi amacıyla, %1'lik agaroz (Prona, EU) 0,5X TAE, (Tris Asetat- Ethylene Diamine Tetra Acetic acid) solüsyonu içerisinde çözüldü ve mikrodalga fırınında kaynatıldı. Uygun sıcaklık değerine gelmesinden sonra üzerine 0,5µg/ml konsantrasyonundaki ethidium bromide (Sigma, ABD) ilave edilerek tarağı yerleştirilmiş jel taşıyıcısına döküldü. Yaklaşık 40 dakika sonra soğuyan agarozdaki taraklar çıkarılıp, jel taşıyıcısı elektroforez tankına yerleştirildi. PCR ürünleri 6X yükleme boyası (6x Loading Dye, Fermentas, Litvanya) ile pipete edilerek kuyucuklara yüklendi. Spesifik ürünün belirlenmesi için 1µl 100-3000 bp'lik DNA merdiveni, her iki baştaki kuyucuklara yüklendi. 0,5×TAE solüsyonu içerisindeki jelle 80 mAmp elektrik akımı, 45 dakika uygulanarak DNA göçü sağlandı ve jel görüntüleme sistemi (Kodak, Gel Logic 100, ABD) kullanılarak PCR sonrasında gel değerlendirmeye alındı.

2.2.ELISA

2.2.1.Test Kiti ile Canine Herpes Virüs Belirlenmesi

Çalışma kapsamında köpeklerden toplanan kan serumlarında Canine Herpes Virüs (CHV-1) seviyesinin belirlenmesi için ticari olarak satın alınan ELİSA test kiti ve Thermo Multiskan GO plate okuyucu kullanıldı.

Kitin içeriği;

- Standart solüsyonu
- Standart seyreltici
- Streptavidin-HRP enzim
- Durdurma solüsyonu
- Substrat A solüsyonu
- Substrat B solüsyonu
- Konsantre yıkama solüsyonu
- CHV-1 antikoru

Ölçüm, ELISA test kiti çalışma protokolüne göre yapıldı ve sırası ile aşağıdaki adımlar izlendi.

2.2.2. Standart Örneklerinin Hazırlanması

Kit içeriğinden konsantre (3200 ng/l) halde çıkan standart solüsyonu protokole uygun olarak dilüe edildi. Dilüsyon işlemi sonunda beş farklı konsantrasyonda (1600 ng/l, 800 ng/l, 400 ng/l, 200 ng/l, 100 ng/l) standart örnekleri hazırlandı.

2.2.3.Yıkama Solüsyonunun Hazırlanması

Kit içeriğinden 25x'lik konsantrasyonda çıkan yıkama solüsyonu 500 ml steril ultra saf su ile karıştırılarak 1x'lik konsantrasyona getirildi ve ışık almayan dolapta saklandı.

2.2.4. Kit Protokolünün Uygulanması

1- +4 °C'de muhafaza edilen ELISA kit ile -20 °C'de muhafaza edilen serum örnekleri oda ısısına getirildi.

2-Kit içeriğinden çıkan ELISA plate üzerinde standart, numune ve blank kuyucukları belirlendi.

3-Standart kuyucuklarına 50 µl'lik hacimde hazırlanan beş farklı konsantrasyondaki standart örneklerinden eklendi.

4-Numune kuyucuklarına 40 µl'lik hacimde çalışma kapsamında toplanan serum örneklerinden ve 10 µl'lik hacimde CHV-1 antikorundan eklendi.

5-Hem standart hem de numune kuyucuklarına 50 µl'lik hacimde Streptavidin-HRP enzim eklendi ve 37 °C'de 60 dakika boyunca etüv cihazında (Memmert UN-110) inkübe edildi.

6-İnkübasyon bitiminde yıkama işlemi uygulandı ve beş kez tekrar edilen bu işlem için kuyucuklara 350 µl yıkama solüsyonu eklendi. Yıkama solüsyonu eklendikten sonra 1 dakika beklendi ve sonra işlem tekrarlandı.

7-Yıkama işlemi sonrası blank kuyucukları dahil her kuyucuğa 50 µl subsrat A ve 50 µl subsrat B solüsyonlarından eklendi.

8- 37 °C'de 10 dakika boyunca etüv cihazında (Memmert UN-110) inkübe edildi.

9-İnkübasyon bitiminde kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. (Kuyucuklardaki renk maviden sarıya dönüyor)

10-Thermo Multiskan GO plate reader cihazı ile 450 nm dalga boyunda ölçüm gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

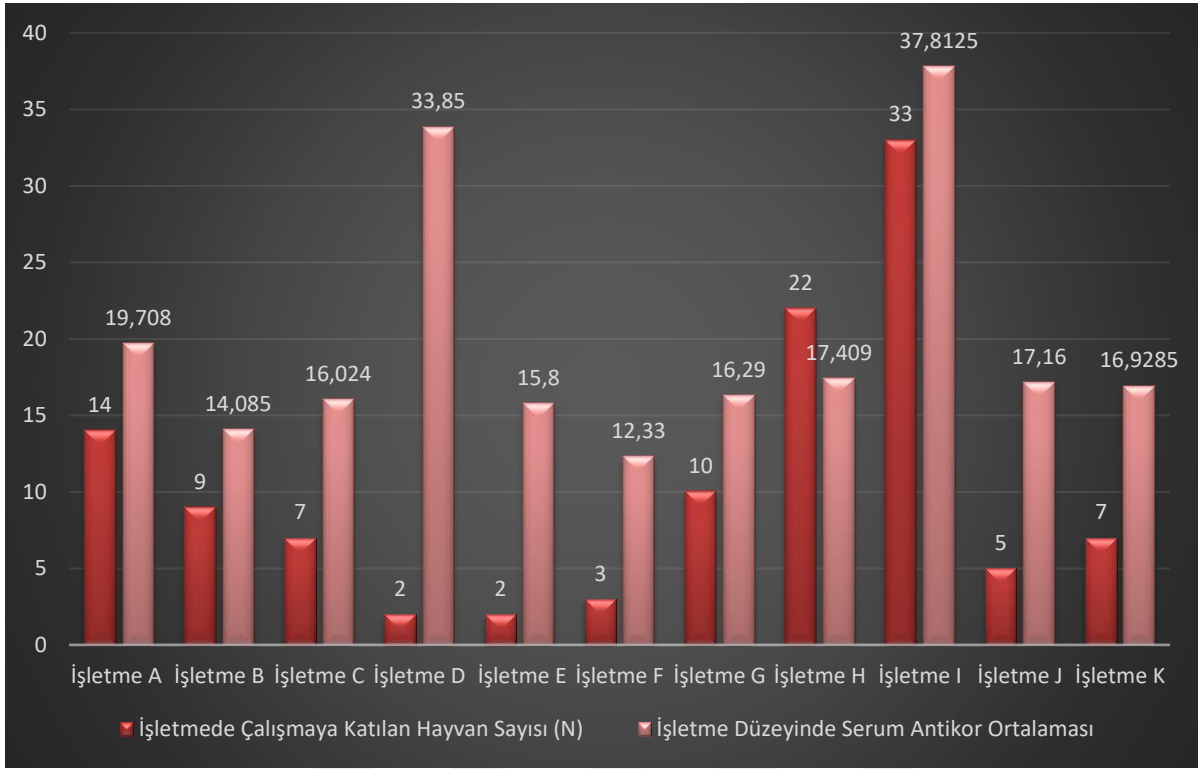
3.1. Serum Antikor Düzeyleri ve Klinik Bulgular

Örneklerin alındığı ticari köpek işletmelerindeki köpek herpes virüsün ortalama antikor düzeyleri ve işletmelerdeki genel reproduktif sorunlar tablo 3.1 de sunulmuştur. Antikor düzeyleri tüm işletmelerde 10 ng/mL'nin üzerinde tespit edilmiştir. Çalışmanın yapıldığı tüm işletmelerde reproduktif geçmişinde çeşitli sorunlar görülen damızlıklarda viral antikorlar pozitif olarak belirlenmiştir. Örneklemin yapıldığı hayvanlar ve ortalama antikor düzeyleri şekil 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Örneklerin alındığı ticari köpek işletmelerindeki köpek herpes virüsün ortalama antikor düzeyleri ve işletmelerdeki genel reproduktif sorunlar

| İŞLETME | SERUM ANTİKOR DÜZEYİ (ng/mL) | n | POPÜLASYON GEÇMİŞİ |
|---------|------------------------------|----|--|
| A | 19,70 | 14 | Vaginal akıntı |
| B | 14,08 | 9 | Vaginal akıntı |
| C | 16,02 | 7 | Yavru kaybı |
| D | 33,85 | 2 | Ölü doğum ve Yavru kaybı |
| E | 15,80 | 2 | Solunum sorunu ve neonatal ölüm |
| F | 12,33 | 3 | Yavrularda göz akıntısı ve solunum problemleri |
| G | 16,29 | 10 | Ölü doğum ve Yavru kaybı |
| H | 17,40 | 22 | Ölü doğum ve Yavru kaybı |
| I | 37,81 | 33 | Ölü doğum, vaginal lezyonlar |
| J | 17,16 | 5 | Solunum problemleri |
| K | 16,92 | 7 | Yavru kaybı |

Şekil 3.1. Çalışmaya alınan damızlık köpek sayıları ve ortalama antikor düzeyleri.



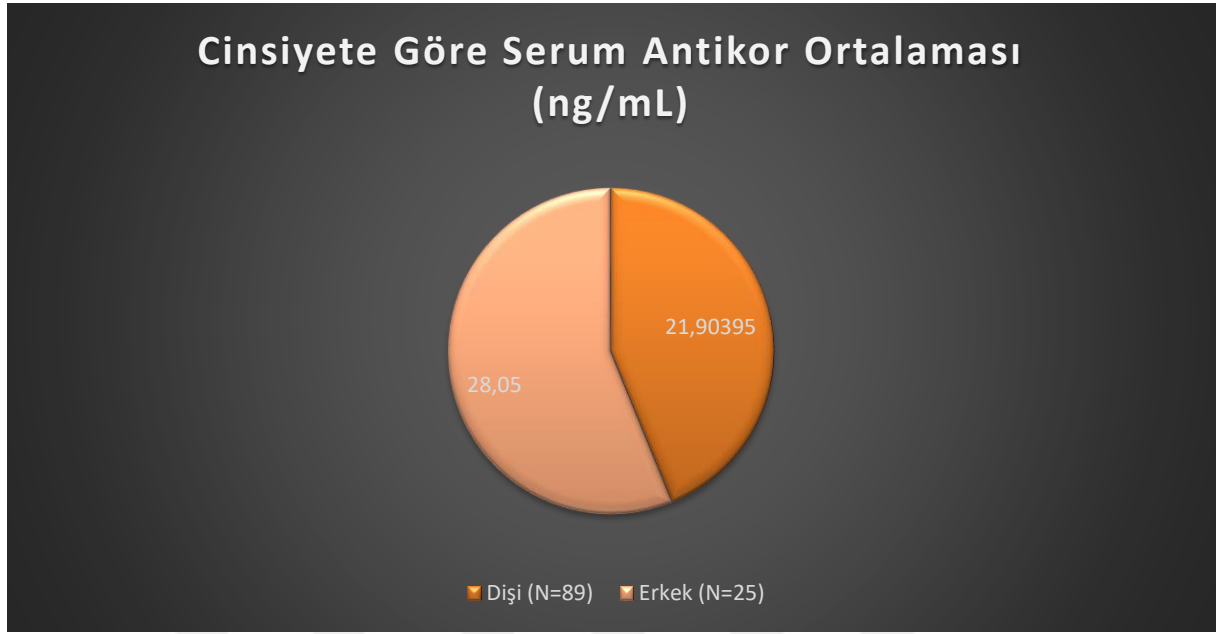
3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bulguları

Çalışmanın gerçekleştirildiği dönemde aktif bir hastalık tablosunun olmaması ve enfeksiyonun latent seyretmesi sonucu PCR testlerinde antijenik bir yapıya rastlanılmadı.

3.3. Damızlık Köpeklerde antikorların cinsiyete göre dağılımı

Damızlık olarak kullanılan ve geçmişinde çeşitli reproduktif sorunları olan köpeklerin cinsiyet ve antikor dağılımları şekil 3.3’de sunuldu. Ölü doğum ve yavru kayıplarının yaygın olduğu işletmelerdeki dişilerin antikor düzeyleri erkeklere göre daha yüksek ölçüldü.

Şekil 3.3: Cinsiyetlere göre serum antikor ortalaması



3.4. Irk Dağılımı

Çalışmanın yapıldığı İç Anadolu bölgesinde ticari köpek üretimi amacıyla büyük ırk köpeklerin daha yaygın olarak kullanıldığı, Rottweiller ve Anadolu Çoban Köpekleri'nin üretim amaçlı baskın ırk olduğu belirlendi. Ayrıca, çalışmaya katılan ırklar içindeki sayılar değerlendirildiğinde, Kangal ırkı köpeklerde canine herpes virüs-1 antikor miktarının tüm ırklara göre daha fazla olarak ölçüldü.

Çizelge 3.4 Örneklerin alındığı ticari köpek işletmelerindeki köpek herpes virüsün ortalama antikor düzeyleri ve ırklara göre dağılımı

| IRKLAR | n | SERUM ANTİKOR ORTALAMASI (ng/mL) |
|---|---|--|
| DOBERMAN | 23 | 18,52 |
| ALMAN ÇOBAN KÖPEĞİ | 13 | 16,10 |
| LABRADOR | 2 | 15,50 |
| BORDER COLLIE | 1 | 11,20 |
| BERNESEE DAĞ ÇOBAN KÖPEĞİ | 1 | 19,30 |
| MALINOIS | 2 | 11,15 |
| ROTWEILLER | 31 | 16,27 |
| ANADOLU ÇOBAN KÖPEĞİ (KANGAL n ₁ , MALAKLI n ₂ , AKBAŞ n ₃) | n ₁ : 31 n ₂ : 7 n ₃ : 3 | n ₁ : 37,00 n ₂ : 16,92 n ₃ : 32,13 |

4. TARTIŞMA

Köpek herpes virüs, intrauterin dönemden geriatrik döneme kadar her yaştaki köpekleri etkileyen bir etkindir. Elli yılı aşkın bir süre önce tanımlanan bu virüs başta yetişkin köpeklerde olmak üzere şiddetli solunum ve genital sistem hastalıklarına yol açar. Virüs, yavrularda da “fetal hemorajik hastalık” olarak tanımlanır yüksek mortalite ile seyreder. Virüsü taşıyan yetişkinlerdeki hastalık tablosu genellikle subklinikdir ve akut evre bireysel immünite ile aşıldıktan sonra latent hale geçer (Davidson vd 2003). Hastalığın latent olması özellikle gebelikte yavrulara geçişin önemli bir sonucudur. Başta gebelik olmak üzere, immünitinin düştüğü her türlü stres ve hastalık durumlarında etken reaktif olarak hastalık tablosunu oluşturur (Ledbetter vd 2009).

Köpek herpes virüs-1 ilişkili enfeksiyonların gelişmesinde birçok faktör rol oynamaktadır. Etkenin virülensi ve konakçının bireysel immünitesi her ne kadar tüm viral hastalıklarda olduğu gibi başlıca faktör olsa da; çevresel şartlar ve köpeklerin yaşam refahı hastalığın bulaşması ve klinik şiddetini arttırmaktadır. Köpek herpes virüs-1 zayıf karakterli bir antijenik yapıya sahiptir (Ledbetter 1970). Bu nedenle de hastalığa maruziyet süresince gelişen immünolojik yanıt zayıf olmaktadır. Ayrıca, hastalık süresince oluşan antikorlar uzun ömürlü değildir ve etkene karşı etkili cevap oluşturulamamaktadır. Virüs, başta genital sistem olmak üzere klinik ya da subklinik hastalık tablosunu atlatan hayvanlarda çeşitli organlarda latent halde yaşamını sürdürür. Bu durumda özellikle ticari köpek yetiştiriciliği yapılan kalabalık işletmelerde hastalığın elimine edilememesinin önemi bir nedenidir (Ronsse vd 2005).

Hastalığın mortalitesi yeni doğanlarda %100'e kadar çıkabilmektedir (Davidson vd 2003). Bu yüksek mortalite, yeni doğanlardaki maternal antikor düzeyi; doğum sırasında hastalığın maternal olarak bulaşması, neonatlardaki termoregülasyon mekanizmasının yeterince gelişmemiş olması ve düşük vücut sıcaklığının virüs için uygun bir ortam olması gibi nedenlere bağlıdır. Çalışmada köpek işletmelerinin birçoğunda yavru kayıplarının olması ve yeni doğanlarda solunum problemlerinin görülmesi, aynı batında doğan tüm kardeşlerin enfekte olarak doğması hastalığın bulaşıcılığını ve mortalitesini ortaya koymaktadır (Kimberlin vd 2001).

Latent seyreden Köpek Canine Herpesvirus-1 kortikosteroid uygulamaları ya da immünitinin düştüğü her türlü durumda tekrar replike olarak hastalık tablosu oluşturabilmektedir. Hastalığa ilişkin antikorlar uzun süre yüksek titrede seyretmez, bu yüzden serum nötralizasyon metodu ile çalışılan örneklerde düşük pozitif reaksiyon elde edilmiştir. Bu nedenle de antikor varlığının tespitinde konvansiyonel yöntemler yerine doğrudan antikor miktarının ölçüldüğü ELISA yöntemi geliştirilmiştir (Ledbetter vd 2009). Köpek herpes virüs-1 antikorlarının araştırıldığı bir çalışmada kan örnekleri hem ELISA hem de virüs nötralizasyon yöntemi ile değerlendirilmiş; ELISA yönteminde % 26.2 seropozitiflik bulunurken, virüs nötralizasyon testinde %5 gibi oldukça düşük pozitivite elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında da İç Anadolu bölgesindeki ticari köpek işletmelerinde köpek herpes virüs-1 antikor varlığını ve seropozitivitesini ortaya koymak amacıyla ELISA yöntemi kullanılmıştır. ELISA yöntemi ile seroprevalans tespitinde dünyada enfeksiyonun yaygın olduğu, özellikle köpek çiftliklerinde bulaşmanın kolayca şekillenmesine bağlı olarak çok yüksek seroprevalans değerleri belirlenmiştir. Bu çalışmada da iç Anadolu bölgesindeki damızlık köpeklerde oldukça yüksek seropozitiflik elde edilmiştir.

Köpek herpes virüs seropozitivitesinin cinsiyete ve ırka bağlı olarak değiştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Türkiye’de yapılan bir çalışmada erkek köpeklerin dişi köpeklere oranla etkene daha duyarlı oldukları görülmüştür. Bunun aksi yönde bulgular elde edilen çalışmalarda bulunmaktadır. Nöthling vd. (2008) seropozitiflik oranını dişilerde %23.8 erkeklerde %17.4, Yeşilbağ vd. (2012) ise seropozitiflik oranını dişilerde %46.8, erkeklerde ise %44.7 olarak bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada, seropozitif dişi sayısı, erkek sayısından oldukça yüksek bulundu. Dişilerdeki antikor miktarının erkeklere oranda yüksek olmasının damızlık dişi köpeklerdeki etkenin gebelikle birlikte tekrar reaktive olarak replike olması nedeniyle olabileceği düşünüldü. Çalışma süresince klinik olarak hasta damızlık hayvan belirlenememesi hastalığın bölgedeki işletmelerde latent olarak seyrettiği yönünde bir kanı oluşturdu. Bir çalışmada Kangal ırkı köpeklerdeki seropozitiflik oranı %41.8 (23/55) olarak bildirilmiştir.(Yeşilbag, vd 2012) Bu çalışmada, hem seropozitiflik hem de antikor seviyeleri değerlendirildiğinde Kangal ırkı köpeklerin; hastalığa daha duyarlı olduğu tespit edildi. Ayrıca, seropozitif annelerden doğan yavrularda da hastalığın klinik bulgularının şiddetli olduğu ve bu yavrularda mortalitenin yüksek olduğu belirlendi.

Gebelik, tüm memelilerde olduğu gibi köpeklerde de önemli bir stres faktörüdür. Gebe köpeklerde T-baskılayıcı hücrelerden salınan bazı faktörler maternal immüniteyi düşürmektedir. Herpes virüs pozitif annelerde; erken embriyonik ölüm, rezorpsiyon, abort veya ölü doğumlar gibi gebeliğin her döneminde bireysel immüniteye bağlı olan reproduktif patolojiler gelişebilmektedir. Abort veya ölü doğumla sonuçlanan gebeliklerde, gebeler hastalığı ortama saçmaya devam ederler. Vertikal bulaşma sonucunda da diğer damızlıklar da potansiyel enfekte hale gelirler.

Çalışmanın gerçekleştirildiği işletmelerde anılan tüm bu reproduktif problemler bulunmaktaydı. Bireysel olarak da geçmişinde ölü doğum yapmış bazı dişilerin son çiftleşmelerinde gebe kalmadığı bulguları gözlemlendi. İşletmelerde çiftleştirmelerin ve gebelik takiplerinin düzenli olarak yapılmadığı ve özellikle çiftleştirmede kullanılan bazı erkeklerin farklı şehirlere nakledildiği belirlendi. Bu nedenle, özellikle enfeksiyonun bulaştırılması ve bölgesel ya da bölgele arası yayılmasında damızlık erkek köpeklerin ve köpek üreticilerinin önemli bir kaynak olduğu düşünüldü.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan bu tez çalışmasının bulguları ışığında çalışmanın gerçekleştirildiği tüm damızlık köpek yetiştiriciliği yapılan işletmelerden Köpek Herpes Virüs-1 tespit edilmiştir. Hastalığın latent seyretmesi, embriyo implantasyonundan doğum sürecine kadar tüm gebelik aşamalarında çeşitli patolojik etkilerinin olması nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi bu virüsün Orta Anadolu bölgesinde de önemli kayıplara neden olduğunu ortaya koyuldu. Ayrıca, hastalığın sadece gebelik ve erken embriyonik dönemle ilişkinin olmaması; hatta yeni doğan enfekte yavrularda da yüksek mortalite ile seyretmesi; kontrolsüz üretim yapan çiftliklerin büyük bir problemidir. Bu çalışma sonucunda ister dişi ister erkek olsun damızlıkta kullanılacak köpeklerin biz dizi jinekolojik muayenelere tabi tutulması ve özellikle de *Herpes Virus-1* etkeninden arı hayvanların üretimde kullanılması gerektiği düşünüldü.

KAYNAKLAR

American Journal of Veterinary Research. Vol. 35, pp. 669-672.

Anonim 1: Herpes Virüs viral DNA replikasyon şeması: Erişilebilir link:(<https://web.stanford.edu/group/virus/1999/inesicle/replication.html>) Erişim tarihi: 13.01.2022 Saat: 14:51

Anonim 2: Alchetron Free Social Encyclopedia for the World Erişilebilir link: (<https://alchetron.com/Canine-herpesvirus>) Erişim tarihi: 12.01.2022 Saat: 22:55

Anonim 3: Erişilebilir link: (<https://veteriankey.com/canine-herpesvirus-infection/>) Erişim tarihi: 11.01.2022 Erişim saati: 21:52

Anonim 4: Erişilebilir link: ([https://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616\(11\)00156-2/references](https://www.vetsmall.theclinics.com/article/S0195-5616(11)00156-2/references)) Erişim tarihi: 13.01.2022 Erişim saati: 15:34

Anonim 5: Erişilebilir Link: (<https://www.semanticscholar.org/paper/Reproductive-Effects-of-Canine-Herpesvirus-Morresey/d812d7e08c484ddcbaca0d11c54e61246a0caa59/figure/0>) Erişim tarihi: 12.01.2022 Erişim saati:19:43

Anonim 6: Erişim linki: (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/eurican-herpes-205-epar-product-information_en.pdf) Erişim tarihi: 13.01.2022 Erişim saati: 17:52

Anvik JO: Clinical considerations of canine herpesvirus infection. Vet Med 86(4):394-403, 1991.

Appel M. Canine herpesvirus. In Virus infections of carnivores. Philadelphia: Elsevier; 1987. p. 5–15. 48

Appel MJG, Menegus M, Parsonson IM, et al. 1969. Spesifik c-patojensiz köpeklerde köpek herpesvirüsünün patogenezi: 5-12 haftalık yavrular. Am J Vet Res 30: 2067-2073.)

Appel, J. G., M. Menegus, M. I. M. Parsonson & L. E. Carmichael (1969): Pathogenesis of canine herpesvirus in specific-pathogen-free dogs: 5- to 12-Week-Old Pups. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 30, pp. 2067-2073.

B. Ström Holst, M Hagberg Gustavsson, M. Grapperon-Mathis, I Lilliehöök, A Johannisson, M. Isaksson, A.Lindhe and E Axner; Canine Herpesvirus During Pregnancy and Non-Pregnant Luteal Phase *Reprod Dom Anim* 47 (Suppl. 6), 362–365 (2012); doi: 10.1111/rda.12099 ISSN 0936–6768

Birgit Parzefall ,Andrea Fischer , Andreas Blutke , Wolfgang Schmahl , Kaspar Matiasek,2011 Naturally-occurring canine herpesvirus-1 infection of the vestibular labyrinth and ganglion of dogs *The Veterinary Journal* 189 (2011) 100–102

Burr PD, Campbell MEM, Nicolson L, et al. 1996. Detection of canine herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 53:227-237. PUBMED Abstract

Burr, P. D., Campbell, M. E. M., Nicolson, L., & Onions, D. E. (1996). Detection of Canine Herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 53(3-4), 227–237. doi:10.1016/s0378-1135(96)01227-8

Carmichael LE, Squire RA, Krook L. Clinical and pathologic features of a fatal viral Disease of newborn puppies. *Am J Vet Res* 1965; 26: 803-814. 46

Carmichael, L. E (1970): Herpesvirus canis: Aspects of pathogenesis and immune response. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. Vol. 156, pp. 1714-1721. 41

Carmichael, L. E., & F. D. Barnes (1969): Effect of temperature on growth of canine herpesvirus in canine kidney cell and macrophage cultures. *Journal of Infectious Diseases*. Vol. 120, pp. 664-668.

Carmichael, L. E., F. D. Barnes & D. H. Percy (1969): Temperature as a factor of resistance of young puppies to canine herpesvirus. *Journal of Infectious Diseases*. Vol. 120, pp. 669-678.

Chesters PM, Allsop R, Purewal A, et al: Detection of latency-associated transcripts of equid herpesvirus 1 in equine leukocytes but not in trigeminal ganglia. *J Virol* 71(5):3437-3443, 1997.

Davidson, A. P., S. A. Grundy & J. E. Foley (2003): Successful medical management of neonatal canine herpesvirus: a case report. *Communication in Theriogenology*. Vol. 1, pp. 1-5

Decaro N., V. Martella & C. Buonavoglia (2008): Canine Adenovirus and Herpesvirus. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*. Vol. 38, pp. 799-814.

Dubovi, E. J. & J. N. Maclachlan (2010): *Fenner's Veterinary Virology*. 4 ed. Elsevier Inc, Boston, pp. 179 – 195.

E.K. Malone, E.C. Ledbetter, K.M. Rassnick, S.G. Kim, D. Russell (2010) : Disseminated Canine Herpesvirus-1 Infection in an Immunocompromised Adult Dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine* Volume 24, Issue 4, July/August 2010 Pages 965-968

Erles K, Brownlie J. (2005): Investigation into the causes of canine infectious respiratory disease: antibody responses to canine respiratory coronavirus and canine herpesvirus in two kennelled dog populations. *Arch Virol* 2005;150:1493–504

Erles K, Dubovi EJ, Brooks HW, Brownlie J. (2004): Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. *J Clin Micro* 2004;42:4524–9.

Evermann, J. F., E. C. Ledbetter & R. E. Maes, (2011): Canine reproductive, respiratory, and ocular diseases due to canine herpesvirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Vol. 41, pp. 1097-1120.

Gacek, R.R., 2008. Evidence for a viral neuropathy in recurrent vertigo. *Journal for Oto-rhino-laryngology and its Related Specialities* 70, 6–14.

Gaskell R, Willoughby K. Herpesviruses of carnivores. *Vet Micro* 1999; 69:73–88.

Greene, C. E. (2012). Canine Herpesvirus Infection. In: Greene C. E. Infectious Diseases of the Dog and Cat. 4rd ed. Saunders, pp. 48-54.

GÜR Sibel , ACAR Abuzer (2007): Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi : 21 (1): 37 – 40 <http://www.fusabil.org>

Hashimoto, A. K. Hirai, T. Yamaguchi & Y. Fujimoto (1982): Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. American Journal of Veterinary Research. Vol. 43, pp. 844-850.

Hashimoto, A. K. Hirai, Y. Suzuki & Y. Fujimoto (1983): Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation. American Journal of Veterinary Research. Vol. 44, pp. 610-14.

Hashimoto, A., K. Hirai, K. Okada & Y. Fujimoto (1979): Pathology of the placenta and newborn pups with suspected intrauterine infection of canine herpesvirus. American Journal of Veterinary Research. Vol. 40, pp. 1236-1240.

Hill, H. & C. J. Maré (1974): Genital disease in dogs caused by canine herpesvirus.

Huxsoll, D. L & I. E. Hemelt (1970): Clinical observation of canine herpesvirus. Journal of the American Veterinary Medical Association. Vol. 156, pp. 1706 – 1713.

J.O. Nöthling ,D. Hüsey , D. Steckler a, M. Ackermann ;Seroprevalence of canine herpesvirus in breeding kennels in the Gauteng Province of South Africa, Theriogenology 69 (2008) 276–282

Kadir Yesilbağ, Ebru Yalçın,Pelin Tuncer,Zeki Yılmaz: Research in Veterinary Science K. Yesilbağ et al. / Research in Veterinary Science 92 (2012) 36–39

Kawakami K, Ogawa H, Maeda K, et al. Nosocomial outbreak of serious infectious tracheobronchitis (kennel cough) caused by canine herpesvirus infection. J Clin Micro 2010;48:1176–81.

Kimberlin, D., W. Lin, C. Jacobs, R. F. Dwight, A. P. Corey, L. Gruber, W. C. Rathore, M. Bradley, J. S. Diaz, P.S Kumar, M. Arvin, A. M. Gutierrez, K. Shelton, M.

Kraft S, Evermann JF, McKeirnan AJ, et al: The role of neonatal canine herpesvirus infection in mixed infections in older dogs. *Compend Contin Educ Pract Vet* 8(10):688-696, 1986.

Kramer JW, Evermann JF, Leathers CW, et al. 1991. Experimental infection of two dogs with a canine isolate of feline herpesvirus type 1. *Vet Pathol* 28:338-340.

Kristina Musayeva, Jakov Sengaut, Saulius Petkevicius ,Alvydas Malakauskas, Gediminas Gerulis, Algirdas Salomskas', SEROPREVALENCE OF CANINE HERPES VIRUS IN LITHUANIAN DOG POPULATION ISSN 1392-2130. *VETERINARIJA IR ZOOTECHNIKA (Ke/Afec^ZooQ. T. 61 (83). 2013*

Krogenæs, A., V. Rootwelt, S. Larsen, E. K. Sjøberg, B. Akselsen, T. M. Skår, S. S. Myhre, L. H. M. Renström, B. Klingeborn & A. Lund (2012): A serological study of canine herpes virus-1 infection in the Norwegian adult dog population. *Theriogenology*. Vol. 78, pp. 153-158.

Ledbetter, E. C. (2013). Canine herpesvirus-1 ocular diseases of mature dogs. *New Zealand Veterinary Journal*, 61(4), 193–201. doi:10.1080/00480169.2013.768151
MSD Manuel; By Kate E. Creevy, DVM, MS, DACVIM, College of Veterinary Medicine, University of Georgia

Ledbetter, E. C., S. G. Kim, E. J. Dubovi & R. C. Bicalho (2009): Experimental reactivation of latent canine herpesvirus-1 and induction of recurrent ocular disease in adult dogs. *Veterinary Microbiology*. Vol. 138, pp. 98-105.

Love, D. N., & Huxtable, C. R. (1976). Naturally-occurring neonatal canine herpesvirus infection. *The Veterinary Record*, 99(25-26), 501-503.

Miyoshi, M., Ishii, Y., Takiguchi, M., Takada, A., Yasuda, J., Hashimoto, A., Okazaki, K., Kida, H., 1999. Detection of canine herpesvirus DNA in the ganglionic neurons and the lymph node lymphocytes of latently infected dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 61, 375–379. 47

Ohtani, F., Furuta, Y., Aizawa, H., Fukuda, S., 2006. Varicella-zoster virus load and cochleovestibular symptoms in Ramsay Hunt syndrome. *The Annals of Otolology, Rhinology, and Laryngology* 115, 233–238.

Okuda, Y., K. Ishida. A, Hashimoto, T. Yanaguchi. H. Fukushi, K. Hirai & L. E. Carmichael (1993): Virus reactivation in bitches with a medical history of 43 herpesvirus infection. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 54, pp. 551-554.

Parzefall, B., Schmahl, W., Fischer, A., Blutke, A., Truyen, U., Matiasek, K., (2010). Evidence of feline herpesvirus-1 DNA in the vestibular ganglion of domestic cats. *The Veterinary Journal* 184, 371–372.

Percy, D. H., H. J. Olander & L. E. Carmichael (1968): Encephalitis in the newborn pup due to a canine herpesvirus. *Veterinary Pathology*. Vol. 5, pp. 135-45.

Percy, D. H., L. E. Carmichael, D. M. Albert, J. M. King & A. M. Jonas (1971): Lesions in puppies surviving infection with canine herpesvirus. *Veterinary Pathology*. Vol. 8, pp. 37-53.

Poulet. H., M. Guigal, M. Soulier, V. Leroy, J. Fayet & G. Minke (2001): Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Veterinary Record*, Vol. 148, pp. 691-695.

Renshaw R, Laverack M, Zylich N, et al. (2011): Genomic analysis of a pneumovirus isolated from dogs with acute respiratory disease. *Vet Micro* 2011;150:88–95.

Reubel GH, Ramos RA, Hickman MA, et al (1993): Detection of active and latent feline herpesvirus 1 infections using the polymerase chain reaction. *Arch Virol* 132(3-4):409-420, 1993. review. *Norsk Veterinærtidsskrift*. Vol. 121, pp. 339-347.

Richardson, J. A. (2000): Accidental ingestion of Acyclovir in dogs: 105 reports. *Veterinary and Human Toxicology*. Vol. 42, pp. 370-371

Roizmann B, Desrosiers RC, Fleckenstein B, et al (1992): The family Herpesviridae: An update. The Herpesvirus Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol* 123(3-4):425-449, 1992. 45

Ronsse, V., J. Verstegen, E. Thirty, K. Onclin, C. Aeberlé, S. Brunet & H. Poulet (2005): Canine herpesvirus-1(CHV-1): Clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. *Theriogenology* Vol. 64, pp. 61-74.

Ronsse, V., J. Verstegen, K. Onclin, F. Farnir & H. Poulet (2004): Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1 (CHV-1). *Theriogenology*. Vol. 61, pp. 619-636

Ronsse, V., Verstegen, J., Thiry, E., Onclin, K., Aeberlé, C., Brunet, S., & Poulet, H. (2005). Canine herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. *Theriogenology*, 64(1), 61–74.

Rootwelt, V., A. Lund & A. Krogenæs (2009): Herpes virus infection in the dog – A review. *Norsk Veterinærtidsskrift*. Vol. 121, pp. 339-347.

Sandra L Springer, Charles H Vite, Ara C Polesky, Santosh Kesari, Nigel W Fraser, John H Wolfe (2009): Infection and establishment of latency in the dog brain after direct inoculation of a nonpathogenic strain of herpes simplex virus-1, Pages 149-154

Thompson H, Wright NG, Cornwell HJ. (1972): Canine herpesvirus respiratory infection. *Res Vet Sci* 1972;13:123–6.

Villarreal LP, Defilippis VR, Gottlieb KA (2000) : Acute and persistent viral life strategies and their relationship to emerging diseases. *Virology* 272(1)2.

Weiner, L. B. Sleasman, J. W. Mureguía de Sierra, T. Weller, S. Soon, S-J. Kiell, J. Lakeman, F. & R. J. Whitley (2001): Safety and efficacy of high-Dose intravenous acyclovir in the management of neonatal herpes simplex virus infections. *PEDIATRICS*. Vol. 108 pp. 230-238.

Wright NG, Cornwell JC. (1970) The susceptibility of six-week of puppies to canine herpesvirus. *J Small Anim Pract*;10:699–74.

Wright, N. G. & H. J. C. Cornwell (1968): Experimental herpes virus infection in young puppies. *Research in Veterinary Science*. Vol. 9, pp. 295-299. 44.

EK 1. ETİK KURUL ONAYI



Toplantı Tarihi : 19.06.2019
Toplantı Sayısı : 2019/06
Karar No : 32

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

1) Projenin Başlığı:

Orta Anadolu Bölgesindeki Köpeklerde Canine Herpesvirus-1 Seroprevalansının Araştırılması

2) Proje Yöneticisi:

Unvan, Adı, Soyadı : Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Mert POLAT
Anabilim Dalı : Veteriner Doğum ve Jinekoloji
Fakülte/Enstitü : Veteriner Fakültesi
Üniversite/Kurum : Kırıkkale Üniversitesi
Cep Telefonu : 0532 343 2277
İş Telefonu : 0318 3574242-6064
E-Mail Adresi : vethekmert@gmail.com
Yazışma Adresi : Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası var/ yok
Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası yıl/sayı /

3) Yardımcı Araştırmacılar:

| Sayı | Araştırmacının |
|------|---|
| 1) | Unvanı, Adı ve Soyadı: Aslihan Merve ACER Projedeki görevi: Araştırmacı Görev yeri: Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adres: Ertuğrul Gazi Mah. Seyhan Sok. 21/10 İç Cebeci Çankaya Ankara E-Mail Adresi: aslihanmerveacer@gmail.com Telefon numarası: 05535431967 |
| 2) | Unvanı, Adı ve Soyadı: Araş. Gör. Taha Burak ELİFOĞLU Projedeki görevi: Araştırmacı Görev yeri: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Adres: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı E-Mail Adresi: tburakelifoglu@gmail.com Telefon numarası: 05312520091 |
| 3) | Unvanı, Adı ve Soyadı: Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI Projedeki görevi: Araştırmacı Görev yeri: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Adres: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı E-Mail Adresi: ilknurpiryagci@gmail.com |

EK 2. ÖN ÇALIŞMA FORMU

Köpek Bilgileri

Adı:

İrk:

Doğum Tarihi- Yaş:

Cinsiyet : F M

Sahibinin Adı:

Adres:

Vücut Kondisyon Skoru: 1- 3- 5- 7- 9

CHV-1 aşılması var/yok:

Daha önce çiftleşti mi:

Yavruları oldu mu? / Evetse kaç kere / Her doğumda kaçar tane:

Yavruların durumu: ölü/zayıf/hasta/normal

Üreme için girişimde bulunuldu mu? Hayır, doğal aşım/ Evet, suni tohumlama

Önceden geçirilen ve üremeyi etkileyen hastalık tablosu var mı? (metrit, mastit, foliküler kist, vajinal prolaps- hiperplazi, pyometra, vajinit vb.)

Doğum kontrol yapılıyor mu?

Kortizon tedavisi?

Seyahat sıklığı nedir?

Yarışmalara- şovlara katılımı?

EK 3. AYINLATILMIŞ ONAM FORMU

Proje Başlığı: Orta Anadolu Bölgesindeki Köpeklerde Canine Herpesvirus-1 Seroprevalansının Araştırılması

Ben, aşağıda imzası bulunan..... sahibi olduğumırkındaki, köpeklerden; “Orta Anadolu Bölgesindeki Köpeklerde Canine Herpesvirus-1 Seroprevalansının Araştırılması” isimli yüksek lisans tez projesi amacıyla kan numuneleri toplanmasına kendi rızam ile dahil olduğumu belirtirim.

Araştırmacılar, yukarıda belirtilen projenin amacını, proje ile ilgili tüm uygulama prosedürünü, projeden elde edilecek verilerin eğitim amaçlı olarak kullanılabileceğini ve bilimsel makale olarak yayımlanabileceğini detaylı olarak tarafıma bildirmişlerdir.

Araştırmacılar, çalışma sonunda elde edilecek sonuçlar hakkında tarafıma da ayrıntılı bilgi verileceğini ve işletmemin isminin herhangi bir makale, kongre, tebliğ ve seminer vb. bilimsel veya sosyal ortamlarda kesinlikle geçirilmeyeceğini de taahhüt etmişlerdir.

Bu çalışmaya katılırken hiçbir şekilde finansal destek talep etmeyeceğimi, araştırmacılar tarafından kendi isteğim ile herhangi bir zamanda projeden çıkabileceğimin tarafıma bildirildiğini ve yasal olarak reşit olduğumu teyit ve beyan eder, yasal olarak izin verdiğimi belirtirim.

İşletme Sahibinin;

ADI SOYADI

İMZA

TARİH

ARAŞTIRMACILAR

ADI SOYADI

İMZA

TARİH

Vet. Hekim Aslıhan Merve ACER

Dr. Öğr. Üyesi İ. Mert POLAT