



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİSİ ANA BİLİM DALI**

**YERLİ CANİNE PARVOVİRUS İZOLATLARININ
İDENTİFİKASYONU VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Doktora Tezi

HANNE NUR KURUÇAY

Danışman
Prof. Dr. SEMRA GÜMÜŞOVA

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİSİ ANA BİLİM DALI



**YERLİ CANİNE PARVOVİRUS İZOLATLARININ
İDENTİFİKASYONU VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

Doktora Tezi

Hanne Nur KURUÇAY

Danışman

Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.21.012 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

03/05/ 2023
Hanne Nur KURUÇAY

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : YERLİ CANİNE PARVOVİRUS İZOLATLARININ
İDENTİFİKASYONU VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 03.05.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 5

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

03 /05/ 2023
Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA

ÖZET

YERLİ CANİNE PARVOVİRUS İZOLATLARININ İDENTİFİKASYONU VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Hanne Nur KURUÇAY
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Veterinerlik Virolojisi Ana Bilim Dalı
Doktora, Mayıs/2023
Danışman: Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA

Şiddetli gastrointestinal sistem semptomları ile seyreden, oldukça bulaşıcı ve ölümcül bir enfeksiyona neden olan Canine Parvovirus tip-2 (CPV-2), ülkemizde ve dünyada özellikle genç yaştaki köpeklerde yaygın olarak görülmektedir. Karadeniz bölgesinde CPV-2 varlığının ilk kez araştırılması ve moleküler karakterizasyonun yapılması amacı ile planlanan bu tezde Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi kliniklerine kusma ve ishal şikayeti ile getirilen köpekler örneklendi. Bu amaçla CPV-2 şüpheli 45 adet köpekten alınan kan, dışkı, rektal swap ve doku örnekleri Real-Time PCR yöntemi ile incelendi ve test sonucunda 24 adet örnekte viral nükleik asit varlığı saptandı. Pozitif tespit edilen örneklerin Vero hücre hattında yapılan etken izolasyon çalışmalarında 8 adet örnekte virus izolasyonu gerçekleştirildi. Ayrıca Yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi ile 6 adet izolatın tüm genom sekans analizleri yaptırılarak izolatların CPV-2a varyantında olduğu tespit edildi ve hem ülkemizde hem de dünyada daha önce tespit edilen CPV-2 izolatları arasındaki yeri ortaya konuldu.

Anahtar Sözcükler: CPV-2, İzolasyon, Köpek, NGS, Real-Time PCR

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF NATIVE CANINE PARVOVIRUS ISOLATES

Hanne Nur KURUÇAY
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Veterinary Virology
Ph.D., May/2023
Supervisor: Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA

Canine Parvovirus type-2 (CPV-2) causes a highly contagious and fatal infection with severe gastrointestinal system symptoms commonly found in our country and worldwide, especially in young dogs. This thesis aims to investigate the presence of CPV-2 and to make its molecular characterization in the Black Sea region for the first time; for this purpose, dogs brought to the animal hospital of the Ondokuz Mayıs University Veterinary Faculty in Samsun city with complaints of vomiting and diarrhea were sampled. Consequently, blood, stool, rectal swap samples, and tissue samples were taken from 45 dogs suspected of CPV-2 and analyzed by Real-Time PCR test; the presence of viral nucleic acid was also detected in a total of 24 samples as a result of the test. Virus isolation for the causative agent was attempted on the Vero cell lines, and eight positive samples were isolated. In addition, whole genome sequence analyses of six isolates were performed with the New Generation Sequencing (NGS) method. It was determined that our isolates were classified with the CPV-2a genotype and placed among the previously detected CPV-2 isolates circulated locally and globally.

Keywords: CPV-2, Dog, Isolation, NGS, Real Time PCR

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve desteğiyle doktora eğitimimi tamamlamamı sağlayan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA'ya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Virolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri hocalarım Sayın Prof. Dr. Zafer YAZICI'ya, Sayın Prof. Dr. Harun ALBAYRAK'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Cüneyt TAMER'e, laboratuvar çalışmalarında emeği geçen çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. Bahadır MÜFTÜOĞLU'na, Araş. Gör. Seda GÖZEL'e, Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Viroloji laboratuvarında görev yapan Serdar YILDIRIM'a ve Hakan TÜTÜNCÜ'ye, teşekkür ederim. Tez sürecinde her zaman beni destekleyen, yanımda olan ve bugünlere gelmeme vesile olan annem Yasemin KURUÇAY'a, babam Hüseyin KURUÇAY'a ve kardeşlerim Meva Nur ÖZERDEM, Muhammed KURUÇAY, Ali Can KURUÇAY'a ayrıca sevgilerimi sunarım.

Bu çalışma, PYO.VET.1904.21.012 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

Hanne Nur KURUÇAY

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.2. Etiyoloji.....	2
1.3. Viral Replikasyon	3
1.4. Canine Parvovirus Tip 2 'nin Kökeni ve Evrimi	4
1.5. Epidemiyoloji.....	5
1.6. Risk Faktörleri ve Bulaşma.....	6
1.7. Patogenez	7
1.8. Klinik Belirtiler.....	8
1.9. Patolojik Değişiklikler ve Histopatoloji.....	9
1.10. Teşhis	10
1.10.1. Geleneksel Teşhis Yöntemleri	10
1.10.2. Moleküler Teşhis Yöntemleri	13
1.11. Tedavi.....	15
1.12. Koruma ve Kontrol	16
1.13. Amaç	18
2. MATERYAL VE METOD.....	19
2.1. Materyal	19
2.1.1. Örnekleme hayvanlar	19
2.1.2. DNA Ekstraksiyonu, Konvansiyonel PCR, Real-Time PCR Kiti, Primerler ve Prob	20
2.1.3. Hücre Kültürü.....	21
2.2. Metot.....	21
2.2.1. Örneklerin hazırlanması ve homejenizat oluşturulması	21
2.2.2. DNA Ekstraksiyonu	22
2.2.3. Real-Time PCR	23
2.2.4. Konvansiyonel PCR.....	23
2.2.5. Hücre Kültürü ve Virus İzolasyonu	24
2.2.6. Genom Analizi ve Filogenetik Ağaç Oluşturma	25
3. BULGULAR.....	26
3.1. Real-Time PCR Sonuçları.....	26
3.2. Virus İzolasyonu	27
3.3. Sekans Analizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları.....	28
4. TARTIŞMA.....	33
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	38
KAYNAKLAR	39
EKLER	46
Ek 1. TR.CPV.Samsun.01.....	46
Ek 2. TR.CPV.Samsun.02.....	49
Ek 3. TR.CPV.Samsun.03.....	52
Ek 4. TR.CPV.Samsun.04.....	55
Ek 5. TR.CPV.Samsun.05.....	58
Ek 6. TR.CPV.Samsun.06.....	61
ÖZ GEÇMİŞ.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Adenin
aa	: Amino asit
Asn	: Asparjin
Asp	: Aspartik Asit
ag	: Attogram
bç	: Baz çifti
BFPV	: Blue Fox Parvovirus
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
C	: Sitozin
CPE	: Sitopatik etki
CPV	: Canine parvovirus
CPV-2	: Canine parvovirus tip 2
CRFK	: Crandell Feline Kidney
CRP	: C-reaktif protein
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
ELISA	: Enzyme linked Immuno Sorbent Assay
F	: Forward
FBS	: Fötal Bovine Serum
fg	: Femtogram
FPV	: Feline Panleukopeni virus
G	: Guanin
Glu	: Glutamik Asit
HA	: Hemaglütinasyon
HI	: Hemaglütinasyon İnhibisyon
ICTV	: Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi
IEM	: Immun Elektron Mikroskop
IFAT	: Immunfloresan Antikor Testi
LAMP	: Loop-Mediated İsothermal Amplification
MDCK	: Madin-Darby Canine Kidney
MEGA	: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MEV	: Mink Enteritis Virus
NCBI	: National Central for Biotechnology Information

nt	: N�kleotid
ORF	: A�ık Okuma B�lgesi
PBS	: Phosphate Buffer Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
pH	: Power of Hydrogen
PNA	: Peptide Nucleic Acid
PSR	: Polymerase Spiral Reaction
QCM	: Quartz crystal microbalance
R	: Reverse
RBC	: Red Blood Cell
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	: Ribo Nükleik asit
RPA	: Recombinase Polymerase Amplification
RPV	: Rakun Parvovirus
rt-PCR	: Real Time Polymerase Chain Reaction
SAT	: Slide Aglütinasyon Testi
SIT	: Slide İnhibisyon Testi
T	: Timin
UTR	: Untranslated Region
UV	: Ultraviyole
Vero	: African Green Monkey

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Parvovirusun Genomik DNA'sı ve transkripsiyon stratejisi	3
Şekil 1.2. Canine Parvovirus Tip 2'de ki genetik ve antijenik değişiklikler	5
Şekil 1.3. CPV-2 varyantlarının VP2 426.amino asit pozisyonuna göre dünya çapındaki dağılımı. ...	6
Şekil 2.1. Vero hücre kültürü (40X).....	21
Şekil 3.1.Pozitif örneklerin Real Time PCR sonuçları	26
Şekil 3.2. Pozitif örneklerin CPE görüntüleri.....	28
Şekil 3.3. Hücre kültüründe üretilen örneklerin 1500 bç büyüklüğündeki konvansiyonel PCR görüntüleri	28
Şekil 3.4. Elde edilen pozitif örnekler ve genbank verileri ile oluşturulan filogenetik ağaç.	31



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Örneklenen Hayvanlara İlişkin Bilgiler	19
Tablo 2.2. Teşhiste kullanılan primer-prob'a ilişkin bilgiler	20
Tablo 2.3. Real Time PCR miks bileşenleri	23
Tablo 2.4. Konvansiyonel PCR miks bileşenleri.....	24
Tablo 3.1. Real-Time pozitif örneklerin dağılımı.....	26
Tablo 3.2. Real-Time pozitif örneklerin cinsiyete göre dağılımı	27
Tablo 3.3.Real-Time pozitif örneklerin yaş gruplarına göre dağılımı.....	27
Tablo 3.4. Real-Time pozitif örneklerin aşı durumlarına göre dağılımı.....	27
Tablo 3.5. Real-Time pozitif örneklerin klinik belirtilere göre dağılımı.....	27



1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Parvoviruslar karnivorlar, domuzlar ve çeşitli kemirgenler de dahil olmak üzere pek çok hayvan türünü enfekte eden enfeksiyöz ajanlardır (Hoelzer and Parrish, 2010). Köpeklerde tespit edilen parvoviruslar, canine parvovirus tip 1 (CPV-1) ve canine parvovirus tip 2 (CPV-2) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Canine parvovirusların (CPV) kökeni kesin olarak bilinmemekle birlikte, kedi panleukopeni virusunda (FPV) meydana gelen bir mutasyonla ortaya çıktığı ve köpeklerde enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir (Ohshima and Mochizuki, 2009). Canine minute virus olarak da bilinen CPV-1 ilk olarak 1967 yılında klinik olarak sağlıklı köpeklerin dışkı örneklerinde tespit edilmiş ve köpeklerin mide-bağırsak ve solunum yolu enfeksiyonlarının nedeni olarak gösterilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda virusun gebe hayvanlarda fetal ölümlere sebep olduğu da bildirilmiştir (Manteufel, 2008 ; Mochizuki, 2002). CPV-1'in ortaya çıkışından 10 yıl sonra viral genomunda meydana gelen bir mutasyonla CPV-1'den oldukça farklı bir varyant olan CPV-2 ortaya çıkmış ve pandemik boyutlarda salgınlara neden olmuştur. Hastalık, köpeklerde hemorajik enterit ve miyokardite sebep olan, oldukça bulaşıcı ve genellikle ölümlü sonuçlanan en önemli viral etkenlerden biri olarak tanımlanmıştır. CPV-2, tespit edildiği günden itibaren tüm dünyada yüksek morbidite (%100) ve %10'a varan mortalite oranları ile köpeklerin enterik patojeni olarak kabul edilmiştir (Black et al., 1979; Mazzaferro, 2020). CPV-2'nin ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra viral genomda gerçekleşen antijenik drift şeklindeki genetik değişiklikler ile CPV-2a ve CPV-2b olarak adlandırılan yeni varyantlar ortaya çıkmıştır. CPV-2a ve CPV-2b günümüzde farklı köpek popülasyonlarında dolaşan baskın varyantlardır ve dünya çapında orijinal CPV-2 virusunun yerini tamamen almıştır (Parrish et al., 1991). 2000 yılına gelindiğinde ise İtalya'da yeni bir antijenik varyant olan CPV-2c tespit edilmiş ve birçok ülkede de varlığı bildirilmiştir (Buonavoglia et al., 2001).

CPV-2, genellikle kusma ve ishal, 3 aylık yaştan küçük yavruarda miyokardit ve kalp yetmezliği ile karakterize iki klinik formda görülmektedir. Her yaştaki köpekleri etkileyebilmekle birlikte, şiddetli enfeksiyon en çok 6 hafta ile 6 ay arasındaki yavru köpeklerde görülmektedir. Melez ırkların saf ırklara göre daha dirençli olduğu bildirilse de tüm ırklar hastalığa duyarlıdır ancak Rottweiler, Doberman Pinschers, İngiliz Springer Spanieller, Amerikan Pit Bull Teriyerleri ve Alman Çoban Köpekleri CPV enteriti için daha yüksek risk ile rapor edilen safkan ırk köpeklerdir (Glickma et al.,

1985; Houston et al., 1996). CPV ile enfekte olmuş tüm köpekler mutlaka klinik belirti göstermeyebilir, ancak ateşli dönemde virusu dışkıyla yayabilir ve serum antikor titrelerinde önemli artışlar gösterebilirler (Stann et al.,1984).

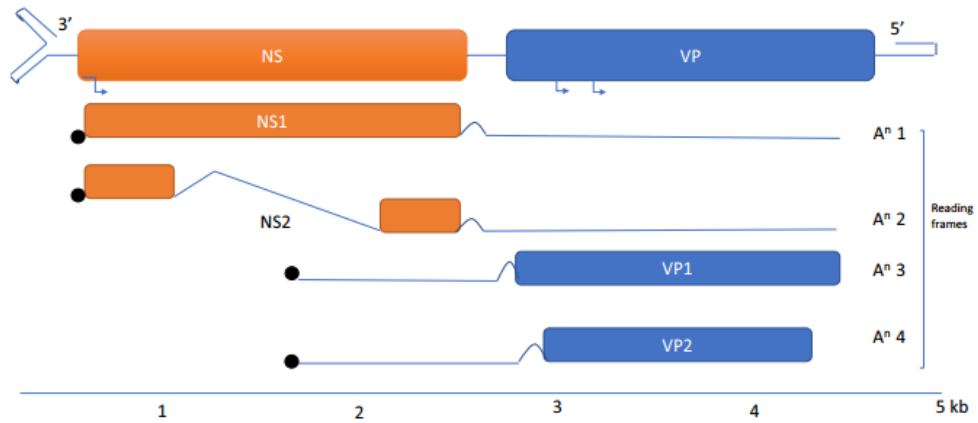
Parvoviruslar çevre şartlarına karşı oldukça dayanıklıdır. Virus pH ve sıcaklık değişimlerine, yağ eriticilere ve birçok dezenfektana karşı dirençli olduğu için dış ortamlarda uzun süre canlı kalabilir (Muzyczka and Berns, 2001). CPV-2 oldukça bulaşıcıdır ve köpekler arasında dışkının doğrudan veya dolaylı teması ile yayılmaktadır. Yıllar içinde, hastalığın hızlı ve kesin teşhisi için hem serolojik hem de moleküler bir dizi tanı testi geliştirilmiştir. Enfeksiyonun önlenmesi amacıyla hem inaktif hem de canlı zayıflatılmış CPV-2 aşılı geliştirilmiştir ancak aşılama sırasında maternal antikorların varlığı ve yeni varyantların ortaya çıkması nedeniyle aşı başarısızlıkları bildirilmiştir (Buonavoglia et al., 2001).

1.2. Etiyoloji

Parvoviridae ailesi omurgalı ve omurgasız konakçılarda enfeksiyona neden olan *Parvovirinae*, *Densovirinae* ve *Hamaparvovirinae* olmak üzere üç alt aileye ayrılmaktadır. *Parvovirinae* alt ailesi içerisinde *Amdoparvovirus*, *Artiparvovirus*, *Aveparvovirus*, *Bocaparvovirus*, *Copiparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Loriparvovirus*, *Tetraparvovirus* *Protoparvovirus* genusları yer almaktadır. CPV-2, *Parvoviridae* ailesinin *Parvovirinae* alt ailesinin *Protoparvovirus* genusu içerisinde yer almaktadır (ICTV, 2021). Virus zarfsız, ikosahedral simetrikli, 25nm çapında, negatif polariteli, tek iplikçikli, lineer DNA yapısındadır. Viral genomda iki açık okuma bölgesi (ORF) bulunmaktadır. Viral genom yaklaşık 5200 nükleotitten oluşur ve bu nükleotitler VP1, VP2 ve VP3 olmak üzere 3 yapısal, NS1 ve NS2 olmak üzere de 2 yapısal olmayan protein kodlamaktadır (Parrish, 1999). VP1, VP2 proteininin tamamını ve ek bir N-terminal bölge içermektedir. VP2, viral kapsidin %90'ını oluşturur ve konakçı proteazları vasıtasıyla VP3'e bölünür. Konakçı aralığı ve virus-konak etkileşiminde rol oynamaktadır. X ışını kristalografisi aracılığıyla, parvovirus kapsidinin VP1, VP2 ve VP3 proteinlerinin kombinasyonunun 60 kopyası tarafından oluşturulduğu bulunmuştur. Kapsid proteinleri kapsid yüzeyinin çoğunu oluşturmak üzere etkileşime giren esnek halkalara sahip 8 iplikli antiparalel β -barrel alanından oluşan yüksek oranda korunmuş merkezi çekirdeğe sahiptir (Decaro and Buonavoglia, 2012; Reed et al.,1988).

1.3. Viral Replikasyon

Canine parvovirus genomunun replikasyon mekanizması, döner saç tokası (Rolling-hairpin) replikasyonu olarak tanımlanmaktadır, oldukça karmaşıktır ve bazı ayrıntılar hala tam olarak anlaşılamamıştır. Viral replikasyon hücrenin çekirdeğinde gerçekleşir. Replikasyon sadece mitozun S fazından bulunan hücrelerde meydana gelir. Viral genom, her iki ucunda hairpin (saç tokası) yapıları oluşmasını sağlayan palindromik dizilere sahiptir. Bu yapılar DNA replikasyonunda görev alır ve viral DNA'nın yeni oluşan virionlar içinde paketlenmesini kolaylaştırır. Plazma zarındaki reseptör bağlanması ile duyarlı hücrelerde viral enfeksiyon başlar ve virionlar daha sonra endositoz yoluyla hücre içine alınır. Hücresel DNA polimerazlar, viral DNA'yı kopyalayarak çift sarmallı bir DNA ara ürünü oluşturur ve bu daha sonra viral mRNA'ların transkripsiyonu için bir şablon olarak kullanılır. Genomun 5' ucunda kodlanan mRNAlar, yapısal proteinlerin sentezini yönetir. Genomun 3' ucunda kodlanan, yapısal olmayan proteinlerden olan NS1 proteini, replikasyon sırasında viral DNA'nın 5' ucuna bağlanır, replikasyon ve DNA paketlenmesi sırasında bir sarmal görevi görür ve hücre döngüsünün G1 fazında hücre bölünme döngüsünün durmasına neden olarak hücresel DNA replikasyonuna müdahale eder. İki açık oluma çerçevesinde kodlanan NS2 proteini ise viral gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Fenner's Veterinary Virology, 2016).



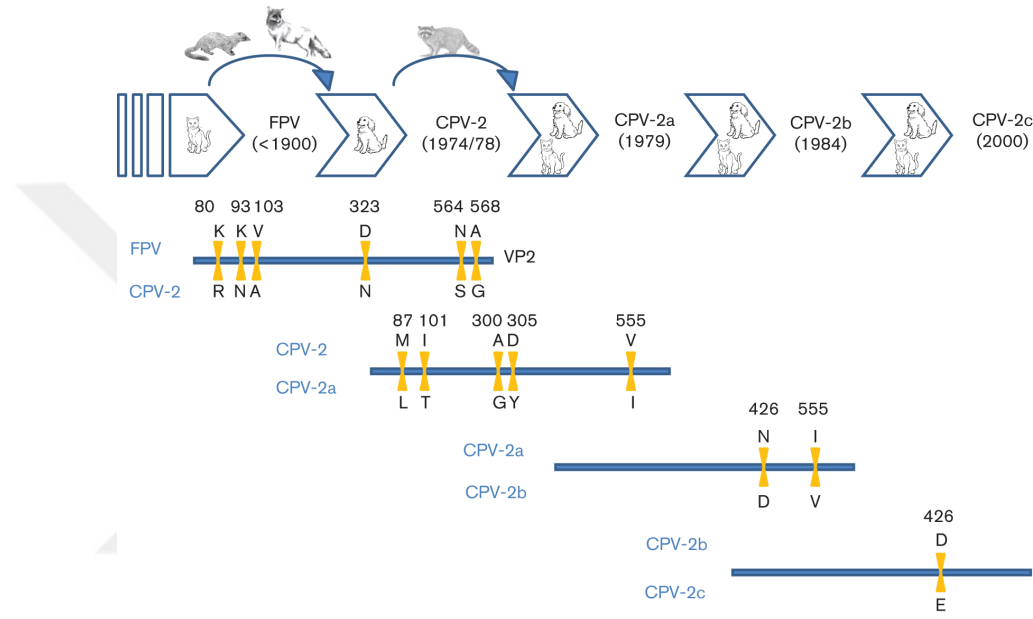
Şekil 1.1. Parvovirusun Genomik DNA'sı ve transkripsiyon stratejisi (Ndiana et al.,2021)

1.4. Canine Parvovirus Tip 2 'nin Kökeni ve Evrimi

CPV-2 ilk olarak 1977 yılında evcil köpeklerde gastroenterit ve miyokardit ile karakterize yeni bir virus olarak ortaya çıkmıştır. 1978 yılının başlarında Asya, Avustralya, Yeni Zelanda, Amerika ve Avrupa'ya kadar yayılmıştır (Parrish, 1999). Moleküler çalışmalar CPV-2'nin 1978 ve 1979 yıllarında köpeklerde küresel ölçekte yayılmasından birkaç yıl önce ortaya çıktığını göstermektedir (Shackelton et al., 2005). Filogenetik analizler CPV-2'nin, Feline panleukopeni virus (FPV), Mink enteritis virusu (MEV), rakun parvovirus (RPV) ve blue fox parvovirus (BFPV) gibi diğer viruslarla yakın ilişkili olup tek bir ortak atadan geldiğini göstermektedir (Truyen, 2006). CPV-2'nin FPV'de meydana gelen bir mutasyon sonucunda virusun köpek hücreleri üzerindeki CPV reseptörü olan transferrin reseptörünü bağlama yeteneği kazanması ile ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Truyen,1999). Bu mutasyonlar ile CPV-2 ile FPV arasında 6-7 amino asit (aa) değişikliği ortaya çıkmış ve bu değişiklikler VP2 geninde 3025, 3065, 3094, 3753, 4477 ve 4498.nükleotit pozisyonlarında meydana gelmiştir. Bu değişiklikler neticesinde virusun konak spektrumuna köpekler dahil olmuş ve aynı zamanda virus kedilerde replike olma yeteneğini kaybetmiştir. FPV ve CPV-2 arasında, VP2 proteini üzerindeki 93(Lys→Asn), 103(Val →Ala) ve 323.aa (Asp →Asn) değişiklikleri köpeklere adaptasyon ile (Chang et al., 1992; Truyen et al., 1995) ; 80 (Lys →Arg), 564(Asn →Ser) ve 568(Ala →Gly) aa değişiklikleri ise kedilerdeki çoğalma yeteneğinin kaybı ile ilişkilendirilmiştir (Truyen et al., 1994). CPV-2'nin ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra virusta meydana gelen antijenik ve genetik değişiklikler ile CPV-2a olarak adlandırılan yeni bir varyant ortaya çıkmış ve kısa bir süre içerisinde hızlı bir şekilde yayılarak orijinal virusun yerini almıştır (Parrish et al., 1988). Bu yeni varyant orijinal virustan 5-6 aa değişikliği içermektedir. Bu değişiklikler VP2 proteininde 87(Met→Leu), 101(Ile→Thr), 300(Ala→Gly), 305(Asp→Tyr) ve 555'te(Val→Ile) meydana gelmiştir. 87, 300 ve 305. aa değişiklikleri ile virus yeniden kedilerde replike olma yeteneği kazanmıştır. (Parrish et al., 1991; Truyen et al., 1996; Tsao et al., 1991). CPV-2a'nın ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra 1984 yılında Amerika'da CPV-2b ve ardından 2000 yılında İtalya'da CPV-2c olarak adlandırılan iki yeni varyant daha tespit edilmiştir (Buonavoglia et al., 2001; Parrish et al., 1991). CPV-2a, CPV-2b ve CPV-2c arasındaki antijenik değişiklikler 426.aa'te ortaya çıkmıştır. 426.aa CPV-2a'da Asparjin (Asn), CPV-2b'de Aspartik Asit (Asp) ve CPV-2c'de Glutamik Asit (Glu) olarak değişmiştir (Nandi and Kumar, 2010). Bu değişikliklere ek

olarak virusun VP2 proteininde 297.aa'te (Ser→Ala) meydana gelen bir mutasyon hem 2a hem de 2b varyantlarında tespit edilmiş ve bu varyantlar New CPV-2a ve New CPV-2b olarak isimlendirilmiştir (Martella et al., 2005; Ohshima et al., 2008).

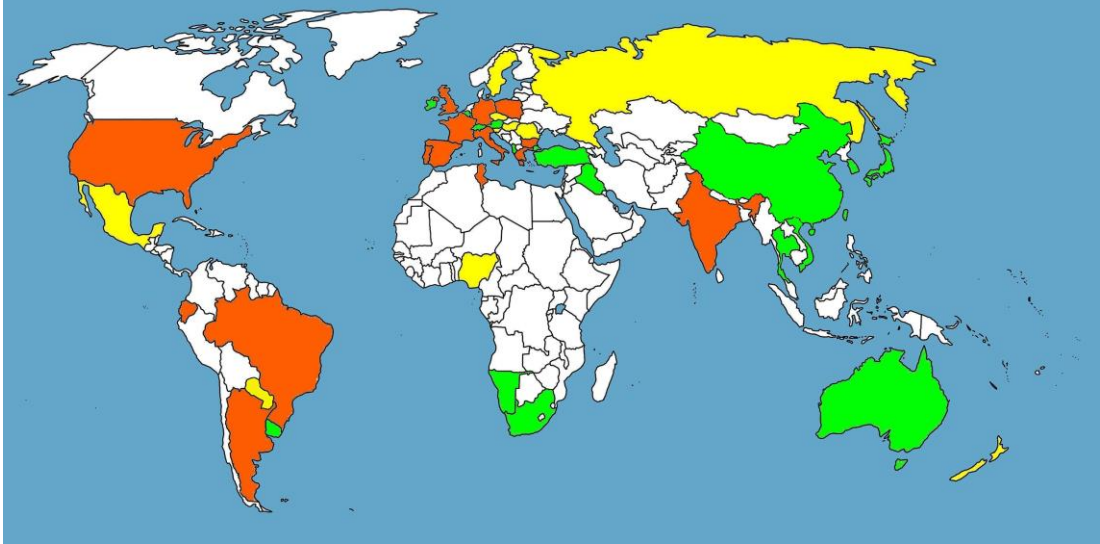
Günümüzde, üç antijenik varyant da dünya çapında köpek popülasyonlarında görülmüş ve farklı konakçıları enfekte ettiği tespit edilmiştir. Şu anda dolaşımda bulunan antijenik varyantlar, birçok ticari aşıda da halen kullanılan orijinal tip CPV-2'nin yerini tamamen almıştır (Decaro and Buonavoglia, 2012).



Şekil 1.2. Canine Parvovirus Tip 2'de ki genetik ve antijenik değişiklikler (Miranda and Thompson, 2016).

1.5. Epidemiyoloji

CPV-2, tespit edildiği günden itibaren hızlı bir şekilde yayılmış, Afrika, Asya, Avustralya, Amerika ve Avrupa'dan CPV-2 enfeksiyonu bildirimleri yapılmıştır. Günümüzde, CPV-2 varyantları 5 kıtaya yayılmış ve toplam 50 ülkede rapor edilmiştir. CPV-2a (VP2 426Asn) 37 ülkede, CPV-2b (VP2 426Asp) 31 ülkede ve CPV-2c (VP2 426Glu) 21 ülkede bildirilmiştir. Bu üç varyantın, başta Avrupa ve Güney Amerika ülkeleri olmak üzere 15 ülkede ortak bir şekilde dolaşımda olduğu tespit edilmiştir (Miranda and Thompson, 2016).



Şekil 1.3. CPV-2 varyantlarının VP2 426.amino asit pozisyonuna göre dünya çapındaki dağılımı. (Turuncu renkli yerler her üç varyantın varlığını, yeşil, üç varyanttan ikisinin varlığını, sarı ise üç CPV varyantından birinin varlığını göstermektedir) (Miranda and Thompson, 2016).

Epidemiyolojik çalışmalar CPV-2a'nın Avustralya, Avrupa ve çoğu Asya ülkesinde baskın varyant olduğunu göstermektedir (Chou et al., 2013; Meers et al., 2007; Timurkan ve Oğuzoğlu, 2015).

CPV-2b, dünyada oldukça yaygın görülen bir varyanttır ve İrlanda, Birleşik Krallık ve ABD'de baskın varyant olduğu bildirilmiştir (Decaro et al., 2007; Dogonyaro et al., 2013; Hong et al., 2007; McElligott et al., 2011; Nandi and Kumar, 2010; Soma et al., 2013).

CPV-2c İtalya'da tespit edildikten sonra kısa zamanda CPV-2b'nin yerini almıştır. Fransa, Portekiz ve Belçika'da yaygın olarak tespit edilmiştir. Avrupa'da yapılan epidemiyolojik çalışmalar CPV-2c'nin İtalya, Almanya ve İspanya'da baskın varyant olduğunu göstermiştir. Yapılan son epidemiyolojik çalışmalar CPV-2c'nin Asya, Güney Amerika, Kuzey Amerika ve Afrika'da baskın varyant haline geldiğini göstermiştir (Decaro et al., 2007; Decaro et al., 2011; Hao et al., 2022).

1.6. Risk Faktörleri ve Bulaşma

CPV-2 her yaş, cinsiyet ve ırktan köpeklere bulaşabilen bir enfeksiyondur. Yavru köpekler enfeksiyona daha duyarlıdır. Bu duyarlılık anneden alınan sistemik kolostrum düzeyi ile yakından ilişkilidir. Yavru köpekler, kolostrum ile antikorların büyük çoğunluğunu yaşamın ilk birkaç saatinde alırlar. Kolostrum önemli miktarda CPV-2 antikoru içerdiğinden, bağırsak enterositlerini kaplayarak veya CPV-2 partiküllerini

yakalayarak potansiyel olarak CPV-2'nin bağırsak replikasyonuna müdahale edebilir ve böylece bağırsak mukozasında virusun replikasyonunu önleyebilir. Kolostrumun koruma seviyesi içerdiği antikor miktarına ve yavru köpeklerin bireysel tüketimine bağlıdır. Dolayısıyla yetersiz düzeyde kolostrum tüketimi yavru köpekleri enfeksiyona yatkın hale getirmektedir. Bunların yanı sıra aşırı kalabalık ortamlar ve endoparazitler de CPV-2 enfeksiyonuna predispozisyon yaratan faktörlerdir (Mila et al., 2014; Prittie, 2004; Tuteja et al., 2022). İngiliz Springer, Rottweiler, Alman Çoban Köpeği, Doberman Pinscher, American Pit Bull teriyeri, Labrador retriever gibi bazı saf kan ırklar melez ırklara göre CPV-2 enfeksiyonuna daha yatkındır. Özellikle Rottweiler'lar ve Doberman Pinschers'lar da görülen kalıtsal immun yetmezlik ve Von Willebrand hastalığı CPV-2 enfeksiyonuna duyarlılığın nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Brunner, 1985). Yapılan tüm araştırmalar 6 aylıktan küçük köpeklerde CPV-2'ye karşı duyarlılığın arttığını göstermektedir. Erkek köpeklerde dişi köpeklere oranla hastalığın görülme sıklığı daha fazladır (Prittie, 2004).

CPV-2 enfeksiyonları enfekte dışkı veya kontamine yüzeyler (mama kapları, oyuncaklar, toprak, ayakkabılar, giysiler vb.) ile ağızdan temas yoluyla bulaşır. Hastalığın temel bulaş kaynağı enfekte köpeklerin dışkılarıdır. Dışkının yanı sıra köpeklerin yoğun olarak bulunduğu yerler; hayvan barınakları, parklar ve oyun alanları, evcil hayvan dükkanları ikincil bir enfeksiyon kaynağını oluşturmaktadır. Virus çevre şartlarına karşı çok dayanıklı ve dezenfektanlara karşı dirençlidir. Koşullar uygunsa dışkıyla kirlenmiş zeminde 5 ay veya daha uzun süre kalabilmektedir (Nandi and Kumar, 2010).

1.7. Patogenez

Parvoviruslar fekal-oral yol ile organizmaya girmektedir. Virus organizmaya girdikten sonra klinik belirtilerin ortaya çıkması yaklaşık 3-7 gün sürmektedir. CPV-2 özellikle hızlı bölünen genç hücreleri hedef almaktadır. Virus oral yolla alındıktan sonra ilk olarak orofarenkste ve lokal lenfoid dokularda viral replikasyon meydana gelir. Viremi, enfeksiyondan sonraki üç ila beşinci günlerde ortaya çıkar, bu süreçte dolaşımda önemli miktarda virus partikülü bulunur. Sonraki 3-4 gün içinde virus, akciğer, dalak, karaciğer, böbrekler, bağırsak kriptleri, kemik iliği, ve kalp miyositleri gibi hızlı bölünen hücreleri içeren organlara giderek buralarda büyük eozinofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri oluşturur (Nandi and Kumar, 2010). Yavru köpeklerde en fazla lenfoid dokular, bağırsak epiteli, kemik iliği ve kalp

etkilenir. Özellikle 2-3 haftalık seronegatif yavrularda virusun kalp kaslarında çoğalmasına bağlı olarak ölümcül miyokardit vakaları görülebilmektedir. Ancak günümüzde yavru köpeklerin çoğu anneden aldıkları maternal antikorlar (MDA) ile korunduğu için bu form nadir olarak görülür (Carr-Smith et al., 1997). Virus, enfekte lökositlerden yayıldıktan sonra bağırsak kriptlerinin germinal epiteline girer ve burada çoğalarak kan yoluyla bağırsak mukozasına ulaşır. Bağırsak epitel hücreleri, Lieberkuhn kriptlerinde olgunlaşır ve kriptlerin germinal epitelinden villuslara göç eder. Bu hücrelerin temel işlevi, besinlerin emilimine yardımcı olmaktır. Virus, Lieberkuhn kriptlerini enfekte ederek villöz çökmeye neden olur ve böylece bağırsağın emme kapasitesini sekteye uğratır. Enterosit döngüsünün bozulması bağırsak villuslarının körelmesine neden olur, bu da besinlerin malabsorpsiyonu ve enterik bakteriyel translokasyonun yanı sıra kusma ve hemorajik diyare gelişimine neden olur. Timustaki viral enfeksiyon, timik korteksin yıkımına sebep olur. Kemik iliğindeki lökosit öncüllerinin yıkımı ile birlikte bu bulgu, enfekte hayvanlarda lökopeni ile sonuçlanır. CPV-2 ile enfekte köpekler, bakterilerin neden olduğu ikincil enfeksiyonlara yatkındır. Villöz kollaps, enflamasyon ve nekroz, genellikle sepsis ile ilişkili olarak enterik mikrobiyal floranın bozulmasına neden olur. Enfekte köpeklerde, enfeksiyondan 4-7 gün sonra saptanabilir düzeyde virus saçılımı başlar (Mazzaferro, 2020; Ogbu et al., 2017; Tuteja et al., 2022).

1.8. Klinik Belirtiler

CPV-2 ile enfekte hayvanlarda görülen ilk klinik belirtiler spesifik değildir. Belirtiler genellikle enfeksiyonun 3 ile 5. günlerinde ortaya çıkmakta ve yaklaşık 5-7 gün sürmektedir. Enfekte hayvanlarda ilk belirtiler ateş, anoreksi ve depresyondur. Yavru köpeklerin büyük çoğunluğunda ilk belirtilerin görülmesinden sonraki 24-48 saat içinde kusma ve ishal gelişir. Dışkının rengi ve yoğunluğu enfeksiyonun şiddetine göre aşırı sıvı veya kanlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Gastrointestinal sistem yoluyla ortaya çıkan büyük sıvı ve protein kayıpları ciddi dehidratasyon ve hipovolemik şokla sonuçlanabilir (Macintire and Smith-Carr, 1997). Fiziksel muayenede mukozalarda solgunluk, kapillar dolum süresinde uzama, düşük nabız/hipotansiyon, ekstremitelerde soğuma, abdominal bölgede hassasiyet gibi belirtiler görülebilir. İnce barsaklarda invajinasyon şekillenebilir ve buna bağlı olarak abdominal palpasyonda ağrılı, sert, tübüler yumuşak doku kitlesi hissedilebilir (Mazzaferro, 2020). CPV-2 enfeksiyonu ile ilişkili en yaygın hematolojik bulgu lenfopenidir. Serum biyokimya

analizlerinde görülen anormallikler spesifik değildir ve şiddetli dehidrasyon ve doku hipoperfüzyonuna ek olarak prerenal azotemi ve hepatoselüler enzim değerlerinde yükselmeler tespit edilebilir. Gastrointestinal sistemde görülen sıvı ve protein kayıplarına bağlı olarak hipoalbuminemi ve yetersiz beslenme ve/veya altta yatan sepsis ile ilişkili hipoglisemi görülebilir (Pollock and Coyne, 1993). Klinik belirtilerin şiddeti ve hastalığın mortalite oranı hayvanın yaşına, maternal antikor titresine, aşı durumuna, sekonder enfeksiyonların varlığına ve maruz kalınan virus miktarına göre değişebilir. Bazı şiddetli enfeksiyonlarda virusun barsak mukozasına zarar vermesi ile sekonder bakteriyel enfeksiyonların gelişimi tespit edilmiş ve CPV-2 ile enfekte hayvanların akciğer ve karaciğerlerinden *Escherichia coli* izole edilmiştir. Ayrıca, salmonella, clostridium ve campylobacter türleri ile sekonder bakteriyel enfeksiyonların CPV enfeksiyonu ile ortaya çıktığı ve doğrudan septisemi ve/veya endotoksemi ile sonuçlanabileceği bildirilmiştir (Geetha, 2015; Mazzaferro, 2020). CPV'nin ikinci ve günümüzde nadiren görülen formu, 3 aylıktan küçük yavruları etkileyebilen kardiyak sendrom veya miyokardittir. Özellikle yavru hayvanlarda görülen bu formda solunum güçlüğü, akut kalp yetmezliği ve kardiyojenik şok nedeniyle ölümler tespit edilmiştir (Hayes et al., 1979).

1.9. Patolojik Değişiklikler ve Histopatoloji

Canine parvovirus enfeksiyonlarının makroskopik bulguları oldukça değişkendir ve spesifik değildir. Lezyonlar genellikle gastrointestinal sistemde jejunum ve ileumda görülür, duodenum ve kolon fazla etkilenmez. Etkilenen bölgeler hemorajiktir. Mezenterik lenf düğümlerinde büyüme ve ödem gözlenir. Hastalığın akut döneminde lenf nodüllerinin korteksinde multifokal peteşiyel kanamalar görülür. Genç köpeklerde timik kortikal nekroz ve atrofi sık görülen bulgulardandır. Miyokardit vakalarında, sol atriyum ve ventrikülde belirgin genişleme görülmektedir. Trakea ve bronşlarda beyaz köpüklü sıvı bulunabilir. Değişken derecelerde asit ve plevral efüzyonla birlikte pulmoner ödem ve karaciğerde pasif konjesyon görülmektedir (Robinson et al., 1980).

Enterik formda mikroskopik lezyonlar kript epitel hücrelerin nekrozunu içermektedir. Barsak lümenleri genişler ve nekrotik hücreler ile doludur. Villus ve lamina propria, kript epitellerinin kaybı ve villöz epitel hücrelerinin dökülmesine bağlı olarak çökebilir. Enfeksiyonun erken evrelerinde payer plaklarında ve mezenterik lenf nodlarının germinal merkezlerinde lenfositlerin nekrozu görülmektedir (Cooper et al., 1979).

1.10. Teşhis

Canine parvovirus enfeksiyonlarının teşhisi fiziksel muayene bulguları, klinik belirtiler, kan parametreleri, serum biyokimya analizleri ile dışkıda ve orofarengeal sürüntülerde CPV-2 antijenlerinin veya viral nükleik asitin aranmasına yönelik olarak gerçekleştirilebilir. CPV-2 enfeksiyonunun klinik belirtileri nonspesifiktir ve genellikle anoreksi, uyuşukluk, halsizlik, depresyon, mukoitten hemorajiğe kadar değişebilen kötü kokulu ishal, kusma, dehidratasyon ve ateş ile ilişkilendirilmiştir (Houston et al., 1996; Kalli et al., 2010).

Kan tablosunda, kemik iliği prekürsörlerinin ve lenfoid dokuların yıkıma bağlı olarak nötropeni ve lenfopeni CPV-2'de öne çıkan hematolojik bulgulardır. Bunların yanı sıra anemi, trombositopeni, pansitopeni, nötrofilik lökositoz ve monositoz da görülebilmektedir (Goddard et al., 2008; Sykes, 2014). Serum biyokimya analizlerinde spesifik olmamakla birlikte hipoproteinemi, hypoalbuminemi, hipoglisemi (veya hafif ila orta derecede hiperglisemi) görülmektedir. Son zamanlarda Akut faz proteinleri gibi invaziv olmayan belirteçlerin CPV-2'nin hastalık şiddetini ve prognozunu belirlemedeki performansı da ele alınmıştır. CPV-2 'li köpeklerde C-reaktif protein (CRP), haptoglobin ve seruloplazminin önemli ölçüde arttığı ve albumin konsantrasyonunun düştüğü tespit edilmesine rağmen, yalnızca CRP hastalığın şiddeti ve sonucu (hayatta kalma veya ölüm) ile ilişkilendirilmiştir (Mann et al., 1998; Mylonakis et al., 2016) (Kocaturk vd., 2010). Tüm bu klinik bulgular CPV-2'nin teşhisine yardımcı olmakla birlikte hastalığın kesin teşhisi Enzyme linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), elektron mikroskop, hemaglutinasyon, virus izolasyonu, floresan antikor, latex aglutinasyon gibi çeşitli test yöntemleri kullanılarak direkt viral antijenlerin veya viral DNA'nın tespit edilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Günümüzde virus tespitinde DNA tabanlı PCR yöntemleri en hassas ve spesifik testler olarak kabul edilmektedir (Lambe et al., 2016).

1.10.1. Geleneksel Teşhis Yöntemleri

Elektron Mikroskopi

Elektron mikroskop ile negatif boyama tekniği kullanılarak parvovirus virionları morfolojik olarak tespit edilebilmektedir. Testin duyarlılığını arttırmak ve daha spesifik olarak virüsü tanımlamak için CPV-2'ye özgü antikorlar ile immün elektron mikroskop (IEM) tekniği kullanılabilir. Bu yöntemin dezavantajı ise tespit için yüksek viral yük gerektirmesi ve oldukça pahalı olmasıdır (Schmitz et al., 2009).

Virus İzolasyonu

Hücre kültüründe virus izolasyonu tanı için altın standart yöntemdir. Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), Crandell Feline Kidney (CRFK) ve Afrika yeşil maymun böbrek (Vero) hücre hatları CPV-2'nin izolasyonunda sıklıkla kullanılan hücre hatlarıdır. CPV-2 bu hücrelerde ürerken hücrelerde yuvarlaklaşma ve inklüzyon cisimcikleri ile karakterize morfolojik değişiklikler oluşturabilmektedir (Lambe et al., 2016; Amthal, 2014; Yanni, 2012). Bunların dışında köpek tümör dokusundan köken alan A-72 hücre hattı CPV-2'nin izolasyonunda yüksek duyarlılık sağlamış ve ilk izolasyondan itibaren belirgin sitopatik etkiler oluşturmuştur. Ancak bu hücre hattı bilinmeyen bir tümör dokusundan köken aldığı için aşı üretiminde tercih edilmemelidir. Virus izolasyon yöntemi spesifik olmakla birlikte pahalı, zahmetli ve uzun inkubasyon süreleri gerektirdiği için oldukça zaman alıcıdır (Tuteja et al., 2022).

Hemaglütinasyon Testi (HA)

Hemaglütinasyon testi, CPV-2 teşhisinde kullanılan basit ve hızlı bir test yöntemidir. Test virus yüzey reseptörlerinin, özgün hayvan türlerine ait kırmızı kan hücrelerini (RBC) bağlayarak kümeleştirmesi ve çöktürmesi prensibine dayanmaktadır. Testte domuz, rhesus maymunu, keçi, kedi ve köpek eritrositleri kullanılabilir. Genellikle 96 kuyucuklu pleytlerde gerçekleştirilen testte, virus süspansiyonunun bir seri sulandırılması yapıp belirli miktardaki kırmızı kan hücreleri ile muamele edilir (Tuteja et al., 2022). Birçok örneğin hızlı tespitine imkan sağlayan hemaglütinasyon testinin sürekli eritrosit kaynağı gerektirmesi ve bazı CPV-2'lerin hemaglütinasyon aktivitesinin bulunmaması gibi nedenler kullanımını sınırlandırabilmektedir (Cavalli et al., 2001; Desario et al., 2005).

Slide inhibisyon-Slide aglütinasyon Testi (SIT-SAT)

Hemaglütinasyon testine benzer prensipte, CPV-2'nin hem antijen hemde antikor tespiti için SIT-SAT yöntemi olarak bilinen ikiz test tekniği geliştirilmiştir. Antikor tespiti için slide inhibisyon testi (SIT), antijen tespiti için slide aglütinasyon testi (SAT) geliştirilmiştir. SAT yöntemi, şüpheli örneğin seri olarak sulandırılması ve ardından virus yüzey reseptöründen oluşan sabit miktarda RBC ile inkübasyona bırakılması ile gerçekleştirilmektedir. Şüpheli örnekte bulunan virus partikülleri, RBC ile bağlanır ve gözle görülebilen bir ağ yapısı oluşturur. Slide inhibisyon testi, viral antikorların virusa bağlanma ve virusun RBC'ye bağlanmasını önleme prensibine dayanmaktadır. Test

duyarlı, uygun maliyetli ve kolay uygulanabilir olması gibi avantajlara sahiptir (Marulappa and Kapil, 2009).

İmmun Floresan Antikor Testi (IFAT)

IFAT ile CPV-2'ye özgü antikorlar, floresan boya ile etiketlenerek virusa özgü antijenler tespit edilir. Test direkt ve indirekt olarak iki farklı şekilde uygulanabilir. Direkt yöntemde aranan antijene spesifik etiketli antikorlar kullanırken indirekt yöntemde antijene ikincil antikor olarak tanımlanan anti-virus antikorları bağlanır. Test hassas ve güvenilir olmakla birlikte pahalı ve uzman personel gerektirmektedir (Lambe et al., 2016).

Lateks Aglütinasyon Testi

Lateks aglütinasyon testi vücut sıvılarından antijen veya antikor tespit etmek için kullanılan bir testtir. Bu testte, antikor kaplı lateks mikro boncuklar, CPV-2 antijeni ile aglütine edilebilir. Pozitif sonuç, mikro boncukların mikrobiyal antijen veya antikor ile kümelenmesi ile karakterize edilen aglütinasyon reaksiyonu ile tespit edilmektedir. (Bodeus et al., 1988).

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Enzim immunoassay yöntemi olarak bilinen ELISA testi hem antijen hem de antikor tespit etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir testtir. Test antijen ile antikor arasındaki etkileşime dayanmaktadır (Kumar et al., 2010). Şüpheli örneklerden CPV-2'nin tespitini yapmak amacıyla direkt ve indirekt olmak üzere çeşitli ELISA teknikleri geliştirilmiştir. Test temel olarak CPV'nin hemaglutinin proteininin farklı epitoplarını tanıyan ve aynı zamanda virüsü nötralize eden CPV'ye özgü fare monoklonal antikorlarının kullanımına dayanmaktadır. Direkt ELISA tekniği ile CPV-2 antijenleri tespit edilebilirken, indirekt ELISA tekniği ile köpek serumlarında CPV-2 antikorlarının varlığı ortaya konulabilmektedir. ELISA testi, hızlı sonuç veren ve oldukça yüksek duyarlılığa sahip bir test olması sebebiyle rutin teşhiste sıklıkla tercih edilmektedir (Rimmelzwaan et al., 1990).

İmmunokromotografi testi

İmmunokromotografi testi, herhangi bir cihaz gereksinimi olmadan saha ortamında da kullanılabilen test tekniğidir. Test, şerit şeklinde üretilen kromotografik kağıt üzerinde antijen-antikor komplekslerinin varlığına göre sonuç vermektedir. Antijen veya antikordan herhangi biri kromotografik kağıt üzerine sabitlenirken bir diğerrinin serbest kalması sağlanır, bu sırada oluşan antijen-antikor kompleksinin varlığına göre test sonucu yorumlanmaktadır (Costa et al., 2014). İmmunokromotografi testi, nispeten daha basit, hassas, hızlı sonuç veren bir test olması sebebiyle parvovirus enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılmakta ve her üç CPV-2 (CPV-2a-2b-2c) varyantını da tespit edebilmektedir (Ogbu et al., 2017).

1.10.2. Moleküler Teşhis Yöntemleri

CPV-2'nin teşhisi için geliştirilen moleküler tabanlı testler direkt viral DNA'nın saptanmasına yönelik olarak tasarlanan, % 66-100 arasında değişen özgülüğe sahip oldukça hassas testlerdir (Tuteja et al., 2022).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, farklı kaynaklardan çeşitli patojenlerin tespit edilmesi ve miktarının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan bir in vitro sistemdir. PCR tabanlı testler spesifik primer çiftleri kullanarak viral DNA'yı tespit ettikleri için oldukça hassasdır. PCR ile CPV-2'nin teşhisi için korunmuş bölge olan VP2 gen bölgesine göre tasarlanan spesifik primer çiftleri kullanılarak gen amplifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem aynı zamanda farklı CPV-2 varyantlarının tespitine de olanak tanır. Zaman içerisinde Nested PCR ,touchdown PCR ve yalıtılmış izotermal PCR gibi farklı PCR metodları da geliştirilmiştir (Khatri et al., 2017). Nested PCR, iki çift primer kullanılarak daha spesifik sonuç almak için geliştirilmiş bir yöntemdir. Konvansiyonel PCR ile jel elektroforezde 10 femtogram (fg) viral partikül tespit edilirken Nested PCR ile 100 attogram (ag) kadar viral partikül tespit edilebilmektedir (Hirasawa et al., 1994).

Real-Time PCR

Real-Time PCR, hedef genin 1 saat veya daha kısa sürede tespit edilmesi için geliştirilmiş bir test yöntemidir. Test, şüpheli numunelerdeki CPV-2'nin tespiti için *TaqMan* prop teknolojisini kullanarak virusun kısa sürede ve kesin olarak tespitini yapmayı mümkün kılar. Konvansiyonel PCR'a göre çok daha kısa sürede sonuç vermektedir. Hem nitel hem de nicel analizler yapabilmekte ve jel elektroforeze gerek kalmadan sonuç vermektedir (Gonuguntla et al., 2016). Real-Time PCR teknolojisi ile

aynı zamanda her bir antijenik tipe karşı spesifik proplar kullanarak CPV-2 varyantları arasında ayırım yapabilmek de mümkündür. Ancak maliyeti yüksektir ve profesyonel anlamda laboratuvar gerektirmektedir (Decaro et al., 2006).

Döngü Aracılı İzotermal Amplifikasyon Testi (LAMP)

LAMP, DNA polimeraz enzimi ile dört primer seti kullanılarak viral DNA'nın amplifiye edilmesi prensibine dayanmaktadır. CPV-2'nin teşhisi için VP2 gen bölgesini amplifiye eden iki set iç ve dış primer kullanarak dışkı örneklerinde CPV-2 DNA'sı doğrudan saptanabilmektedir. Reaksiyon 60 dakika içinde tamamlanabilmektedir. LAMP testi, spesifiktir, hızlı sonuç verir ve uygun maliyetlidir ancak birden fazla primer setine ihtiyaç duyma ve yorumlama için uzman bilgisi gerektirme gibi sınırlamaları bulunmaktadır (Mukhopadhyay et al., 2012).

Polimeraz Spiral Reaksiyon (PSR)

PSR, DNA polimeraz enzimi ile sarmal bir DNA yapısının oluşturulması prensibine dayanmaktadır. PSR tekniğinde kullanılan primerler spiral benzeri bir amplikon yapmaya yardımcı olan eksojen dizilerden oluşur. Amplifikasyon yöntemi izotermal koşullar altında gerçekleştirilir, oldukça hızlı ve spesifiktir. Amplifikasyondan sonra sinyal yoğunluğu indirgeyici bir boya kullanılarak izlenebilmektedir (Liu et al., 2015). Gupta ve ark (2017) CPV-2'nin teşhisi için tasarladıkları PSR testinde testin hassasiyetini 5×10^{-6} ng DNA olarak tespit etmişler ve geleneksel PCR ile karşılaştırdıklarında 10 kat daha hassas olduğunu tespit etmişlerdir (Gupta et al., 2017).

Rekombinaz Polimeraz Amplifikasyon Testi (RPA)

RPA, oligonükleotid primerler kullanarak kompleks oluşturmak ve hedeflenen DNA'da homolog bir sekans ile bağlanmak için rekombinaz enzimi kullanan izotermal PCR testidir (Tuteja et al., 2022). RPA testi 3 temel protein ile gerçekleştirilmektedir. Bunlar; rekombinaz, tek sarmallı bağlanma proteini (SSB) ve DNA polimerazdır. SSB proteini, DNA'ya bağlanır, ortaya çıkan döngüyü stabilize eder ve primerler DNA polimeraz ile amplifikasyonu başlatır. CPV-2'nin spesifik teşhisi için bazik nükleotit analogu (tetrahidrofuran kalıntısı) içeren nfo probu (46-52 nükleotit uzunluğunda) kullanılarak RPA bazlı yanal akış şeridi (LFS-RPA) geliştirilmiştir. Kullanılan propların 5' uçları FAM ile işaretlidir. Amplikonlar anti-FAM altın konjugatları ve biyotin ligand molekülleri kullanılarak yanal akış şeridinde çıplak gözle tespit edilebilmektedir (Liu et al., 2018).

PCR-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP)

PCR-RFLP, restriksiyon enzimleri ile DNA'nın farklı büyüklükte parçalara ayrılarak jel elektroforezde görüntülenmesi tekniğidir. Bu teknikte öncelikle hedeflenen bölge PCR ile amplifiye edilir sonra RFLP işlemi gerçekleştirilir. Rsa-I ve Hph-I enzimleri kullanılarak CPV-2a ve CPV-2b'nin ayrımı, (Sakulwira et al., 2001) Pabs/Pabas ve Mbo II restriksiyon enzimi kullanılarak CPV-2b ve CPV-2c'nin ayrımı RFLP ile gerçekleştirilmiştir (More et al., 2012).

Peptit Nükleik Asit Testi (PNA)

PNA testi, CPV-2'nin antijenik olarak ayrımını yapabilmek için geliştirilmiştir. PNA testi, şeker ve fosfat yerine psödo peptit iskeletinden oluşan nükleik asit analogu kullanan oligonükleotit amplifikasyon yöntemidir. PNA oligonükleotitleri daha yüksek hibridizasyon özelliğine sahiptir ve hem biyolojik hem de kimyasal olarak daha karardır. CPV-2a, CPV-2b ve CPV-2c arasında ayırım yapabilen bir peptit nükleik asit dizisi geliştirilmiş ve %90.4 oranında özgül olduğu tespit edilmiştir (An et al., 2012).

Kuvars Kristal Mikro Terazisi (QCM)

QCM, antijen-antikor etkileşimleri ile ilişkili frekans değişikliklerini ölçmek için geliştirilmiş yeni bir cihazdır. QCM biyosensörü kuvars kristal rezonatörün frekansındaki değişikliği ölçerek birim alan başına kütle ölçmekte ve antijen-antikor etkileşimlerini saptamaktadır. CPV-2'nin teşhisi amacıyla yeni bir biyosensör geliştirilmiştir. Biyosensör, CPV-2'ye özgü antikorları altın kaplı bir kuvars yüzey üzerinde hareketsiz hale getirip bağlanması için ProLinkerTMB içermektedir. Antijen-antikor etkileşimlerinin neden olduğu kuvars kristal yüzeyindeki kütle değişikliği, frekansta ölçülebilir bir değişiklik oluşturmaktadır. QCM biyosensörü PCR ile karşılaştırıldığında %95.4 duyarlı ve %98 spesifik bulunmuştur (Kim et al., 2015).

1.11. Tedavi

CPV-2 enfeksiyonunun tedavisi büyük ölçüde destekleyicidir. Tedavinin en önemli amacı kaybedilen sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesidir. Tedavinin ana bileşenleri; sıvı tedavisi, antibiyotik tedavi, antiviral tedavi, antiemetik tedavi ve diyet yönetimini içermektedir (Mylonakis et al., 2016).

CPV-2 ile enfekte hayvanlarda hidrasyon ve onkotik desteğin sürdürülmesi, asit-baz, elektrolit dengenin düzeltilmesi son derece önemlidir. Bunun için tedavide

intravenöz yolla sıvı verilmesi altın standart yöntemdir. İlk tercih edilen sıvı, dengeli elektrolit çözeltileridir. Hipoalbuminemi ve hipoglisemiye bağlı olarak oluşan protein kayıpları için %6 hetastarch gibi sentetik kolloidler tercih edilmektedir (Prittie, 2004). CPV-2 ile enfekte köpeklerde serum potasyum seviyesi de kademeli olarak azalmakta ve hipokalemiye neden olmaktadır. Bu durumda sıvı tedavisine potasyum klorür de eklenmektedir. Özellikle küçük ırk köpeklerde görülen hipoglisemiye karşı serumlar dekstoz solüsyonları ile desteklenmektedir (Mylonakis et al., 2016). Parvoviral enteritli hayvanlarda hemorajik ishal ve mukozal bariyer hasarına bağlı olarak bakteriyel enfeksiyon şekillenebilmektedir. Bu durumla mücadelede ampisilin ve sefoksitin gibi β -laktam antibiyotikler ile gentamisin türevi antibiyotikler kullanılmaktadır (Judge, 2015). Şiddetli kusma durumlarında yaygın olarak klorpromazin ve metoklopramid gibi antiemetik ilaçlar kullanılabilir. Klorpromazin, beyindeki dopamin reseptörünü bloke ederek çalışan bir fenotiyazin türevidir. Metoklopramid, beyindeki kemoreseptör tetik bölgesini bloke eden ve gastrointestinal sistemin motilitesini arttıran dopamin antagonist antiemetiktir (Macintire, 2008).

Antiviral tedavide rekombinant kedi interferon- ω , oseltamivir ve asiklovir değerlendirilmiştir. İnterferon- ω ve asiklovir ile yapılan tedaviler olumlu sonuç vermiştir ancak oseltamivirin etkinliği ile ilgili kesin veriler bulunmamaktadır (Albaz et al., 2015; De Mari et al., 2003; Savigny and Macintire, 2010).

Şiddetli enfeksiyonlarda uzun süren anoreksi, protein kayıpları ve beslenme intoleransı görülmektedir. İştahı arttırmak ve kalori ihtiyacını karşılamak amacıyla oral yolla probiyotik, yağ asitleri, esansiyel amino asitleri içeren destek sıvıları verilmektedir. Bu besinler aynı zamanda gastrointestinal sistemin bütünlüğünün korunmasına da yardımcı olarak iyileşme hızını etkilemektedir (Tenne et al., 2016). Erken dönem enteral beslenmenin mukozal bütünlüğün korunmasına yardımcı olduğu ve bakteriyel translokasyon riskini azalttığı bildirilmiştir. Bu amaçla hazırlanan diyet formülasyonları nazogastrik, nazofarengeal sonda veya özafagostomi tüpü ile verilebilmektedir (Van Schoor and Schoeman, 2014).

1.12. Koruma ve Kontrol

Parvoviruslar oldukça bulaşıcı ajanlardır. Virus çevre şartlarına karşı çok dayanıklıdır ve her yerde bulunabilmektedir. Dışkıda ve toprakta bir yıldan uzun süre yaşayabilmektedir. Virusun dayanıklı doğası göz önüne alındığında virusa maruz kalan tüm yüzeylerin dezenfeksiyonu son derece önemlidir. Virus zarfsız yapıda olduğu için

1.13. Amaç

Türkiye’de CPV-2’nin varlığına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına rağmen Türkiye’nin Karadeniz Bölgesi’nden CPV-2’nin moleküler karakterizasyonuna yönelik bir çalışma daha önce bildirilmemiştir. Bu doktora tez çalışması ile Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi kliniklerine kusma ve ishal şikayeti ile getirilen köpeklerde CPV-2 varlığının araştırılması, etkenin izolasyonu ve genetik karakterizasyonun yapılması amaçlanmıştır. Böylece bölgede sirküle olan virus varyantı hakkında bilgi sahibi olunacak ve olası mutasyon bölgeleri tespit edilerek hem ülkemizdeki hem de dünyadaki canine parvoviruslar arasındaki yeri de ortaya konulacaktır.



2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Örneklenen hayvanlar

Çalışmamızda Ağustos-2020 ile Ağustos-2022 döneminde Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi kliniklerine kusma ve ishal şikayeti ile getirilen, aşıllı ve aşısız her yaş ve ırktaki köpeklerden kan, dışkı ve rektal swap örnekleri ile aynı sebeplerden ölen hayvanlara yapılan nekropsilerden alınan organ numuneleri toplanmıştır.

Tablo 2.1. Örneklenen Hayvanlara İlişkin Bilgiler

Örneklenen Hayvanlara İlişkin Bilgiler		Sayı
Örnek	Gaita	7
	Kan	23
	Rektal swap	7
	Organ (Barsak Parçası)	8
Cinsiyet	Dişi	17
	Erkek	28
Yaş	0-6 Ay	42
	6-12 Ay	3
Aşı Durumu	Aşıllı	2
	Aşısız	43
Klinik Belirti	Kusma ve ishal	31
	Hemorajik İshal	8
	Barsakta Hemoraji	6

2.1.2.DNA Ekstraksiyonu, Konvansiyonel PCR, Real-Time PCR Kiti, Primerler ve Prob

DNA ekstraksiyonu için, ticari olarak temin edilen ekstraksiyon kiti (Invitrogen Genomik DNA Ekstraksiyon kiti, Kat. No: K1820-02) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda kan, dışkı, swap ve organ numunelerinden viral nükleik asit ekstraksiyonu yapıldı.

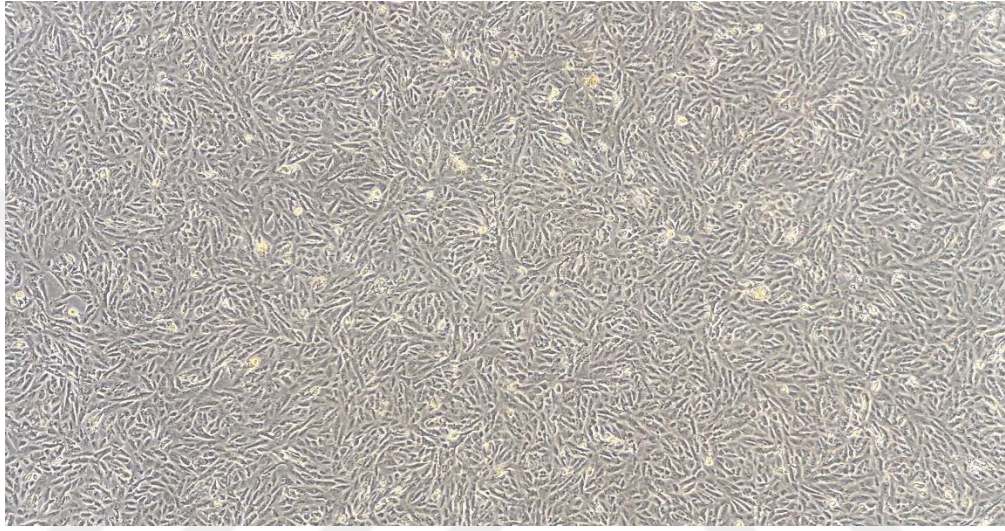
Real-Time PCR (rt-PCR) ve konvansiyonel PCR için, ticari olarak temin edilen PCR kitleri (Biorad iTaq Universal Probes One-Step kit, Kat. No: 1725141, Thermo SCIENTIFIC Taq DNA Polymerase kit, Kat. No: #EP0402) kullanılarak viral nükleik asit tespiti yapıldı. Real Time PCR reaksiyonunda Decaro ve ark.'ın (2005) CPV-2'nin VP2 genine göre tasarladıkları primer çiftleri ve probu ticari olarak dizdirilerek kullanıldı. Konvansiyonel PCR için Pereira ve ark. (2000) (Forward) ile Buonavoglia ve ark.'ın (2001) (Reverse) tasarladıkları primerler kullanıldı. Kullanılan primer ve prob dizilimine ilişkin bilgiler Tablo 2.2'de belirtilmiştir.

Tablo 2.2. Teşhiste kullanılan primer-prob'a ilişkin bilgiler

Yöntem	Primer	5' → 3' Dizilim	Amlikon Büyükülüğü	Referans
Real-Time PCR	CPV-2 Forward	AAACAGGAATTAATACTATACTA ATATATTTA	93 bç	(Decaro vd.2005)
	CPV-2 Reverse	AAATTTGACCATTGATGATAAA CT		
	CPV-2 Prob	FAM- TGGTCCTTTAACTGCATTAATA TAATGTACC- TAMRA		
	CPV-2Pabs (Forward)	GAAGAGTGGTTGTAAATAATT		
PCR	CPV- 2555rev (Reverse)	GGTGCTAGTTGATATGTAATAATA CA	1500 bç	(Pereira vd. 2000) (Buonavoglia vd.2001)

2.1.3. Hücre Kültürü

Virus izolasyonu için Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı hücre koleksiyonunda mevcut olan MDCK ve Vero hücre hattı kullanıldı. Virus izolasyonu amacıyla hücre hattında, % 1 antibiyotik (10000 IU/ml penisilin, 10 mg/ml streptomisin Gibco, Kat. No: 15140-122) ile % 10 fetal bovine serum (FBS) (Gibco, Kat. No: A4736201) içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Gibco, Ref: 41966-029) besiyeri kullanıldı.



Şekil 2.1. Vero hücre kültürü (40X)

2.2. Metot

2.2.1. Örneklerin hazırlanması ve homojenizat oluşturulması

CPV-2 şüpheli hayvanlardan alınan kan, gaita, rektal swap ve organ numuneleri viral nükleik asit tespiti ve virus izolasyonu yapmak amacıyla ön hazırlığa tabi tutuldu.

Kan örnekleri, antikoagulanlı tüplere alındıktan sonra +4 °C'de 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda dibe çöken kanın şekilli elemanları ile üstte kalan plazma kısmı arasında bulunan lökosit tabakası ince bir pipet yardımı ile alınarak 2 ml PBS (Phosphate Buffer Saline) (Gibco, Kat No: 14190-094) solüsyonu bulunan tüplere aktarıldı. Burada pipet ile karıştırılarak 3 kez yıkama işlemi yapıldı. Son yıkama işleminden sonra lökositler 1 ml PBS bulunan tüplere aktarıldı ve viral nükleik asit tespiti ile virus izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edildi.

Gaita örnekleri steril kaplara alındıktan sonra antibiyotik içeren PBS solüsyonu içerisinde sulandırılıp karıştırılarak homojen hale getirildi. Elde edilen homojenizat steril bir kaba süzülerek büyük partiküllerden arındırıldı. Süzülen örnekler +4 °C'de

3000 devirde, 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra üstteki sıvı kısım (süpernatant) viral nükleik asit tespiti ve virus izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C’de muhafaza edildi.

Rektal swap örnekleri steril swaplar ile alındıktan sonra 2 ml PBS solüsyonu içerisine konulup vorteks yardımıyla karıştırıldı. +4 °C’de 3000 devirde, 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant nükleik asit tespiti ve virus izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C’ye kaldırıldı.

Parvovirus şüphesiyle ölen hayvanlarda nekropsi işlemi yapıldıktan sonra alınan barsak parçaları ve lenf yumruları bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı ve bir tüpte toplandı, üzerine %1 oranında antibiyotik (Gibco, Cat. No: 15140-122, ABD) içeren PBS eklendi. Doku parçalayıcı cihaz (Qiagen, Kat No: 69989, Hilden, Almanya) yardımıyla homojenize hale getirildi. +4 °C’de 3000 devirde, 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar ayrıldı ve nükleik asit tespiti ve virus izolasyon çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C’ye kaldırıldı.

2.2.2. DNA Ekstraksiyonu

Ticari olarak temin edilen Invitrogen Genomik DNA Ekstraksiyon kiti, (Kat. No: K1820-02) kullanılarak, üretici firmanın talimatları doğrultusunda viral nükleik asit ekstraksiyonu yapıldı. Bu amaçla;

Homojenizat süpernatantlarından ve kan örneklerinden 200 µl alınarak 2 ml’lik tüplere konuldu. Tüplere 20 µl Proteinase K solüsyonu eklendi. Üzerine 20 µl RNase A solüsyonu eklenerek vorteks işlemi yapılarak karıştırıldı ve 2 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra 200 µl PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer ilave edilerek vorteks işlemi yapıldı ve 55°C de 10 dakika inkubasyona bırakıldı. İnkubasyonun ardından 200 µl %96 etil alkol eklenerek 5 saniye vorteks işlemi yapıldı. Bu içerikten 640 µl alınarak filtreli spin kolonlara aktarıldı. Spin kolon, santrifüj cihazıyla (Sigma 1-14 Mini Centrifuge, Almanya) 10000 rpm de 1 dk santrifüj edildi. Alt kısımdaki süzölmüş sıvı bulunan tüp atıldı. Spin kolonlar yeni boş tüplere yerleştirildi. Filtreli spin kolonlara 500 µl “Wash Buffer 1” eklendi ve 10000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. Alt kısımda bulunan tüp uzaklaştırıldı ve filtreli spin kolon yeni tüplerine yerleştirildi. 500 µl “Wash Buffer 2” eklendi ve bu kez 16000 rpm’de 3 dk santrifüj edildi. Bu aşamadan sonra altta bulunan tüp atıldı ve filtreli spin kolon, 1,5 ml’lik RNase ve DNase içermeyen yeni steril tüplere yerleştirildi. 70 µl PureLink Genomic Elution Buffer

eklendi ve 1 dakika oda ısısında inkube edilip 16000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Filtreli spin kolon atıldı. Altta kalan DNA içeren 1,5 ml’lik tüp alınarak PCR reaksiyonunda kullanılmak üzere -20 °C de muhafaza edildi.

2.2.3. Real-Time PCR

Real Time PCR için ticari olarak temin edilen Biorad, iTaq Universal Probes One-Step kiti kullanılarak mastermiks hazırlandı. PCR işlemi Biorad CFX Connect Real Time System (Biorad, North Carolina, ABD) cihazında gerçekleştirildi.

Tablo 2.3. Real Time PCR miks bileşenleri

Master Miks	Hacim
2X Master Mix	10 µl
Forward Primer (10µM)	1 µl
Reverse Primer (10µM)	1 µl
Probe (10µM)	0,5 µl
Distile Su	2.5 µl
DNA	5 µl
Toplam	20 µl

Tablo 2.3.’te belirtilen oranlarda PCR master miksi hazırlanıp 0,2 µl hacimli tüplere 15’er µl dağıtıldıktan sonra her tüpe 5’er µl örnek DNA’sı ve kontrol tüplerine pozitif ve negatif kontrol eklendi. Daha sonra kapakları kapatılarak Real-Time PCR cihazına yerleştirildi. Isıl koşullar 95°C’de 5 dakika ön denatürasyon, 95°C’de 15 saniye, 52°C’de 30 saniye, 72°C’de 1 dakika süreli program 39 döngü tekrarlanacak şekilde ayarlandı. Sonuçlar gerçek zamanlı olarak bilgisayar ekranında takip edildi.

2.2.4. Konvansiyonel PCR

Konvansiyonel PCR için ticari olarak temin edilen Thermo SCIENTIFIC Taq DNA Polymerase kiti kullanılarak PCR miksi hazırlandı. PCR işlemi Cleaver Scientific, GTC96S Thermal Cycler, cihazında yapıldı.

Tablo 2.4. Konvansiyonel PCR miks bileşenleri

Master Miks	Hacim
10X Taq Buffer	5µl
Forward Primer (10µM)	2 µl
Reverse Primer (10µM)	2 µl
dNTP mix (10mM)	1 µl
Taq DNA Polymerase	1 µl
Distile Su	34 µl
DNA	5 µl
Toplam	50 µl

PCR miksi her bir örnek için tablo 2.4'te belirtilen miktarlarda hazırlandı ve 0,2 ml hacimdeki PCR tüplerine 45'er µl paylaştırıldıktan sonra her tüpe 5'er µl örneğin DNA'sı eklendi. Pozitif ve negatif kontrollerde aynı şekilde eklendi. Kapakları kapatılan tüpler PCR cihazına (Cleaver Scientific, GTC96S Thermal Cycler) yerleştirildi. Reaksiyon; 94°C'de 6 dakika ön denatürasyon aşamasından sonra, 94°C'de 45 saniye, 50 °C'de 45 saniye, 72 °C'de 45 saniye'lik 40 döngü tekrarından sonra 72°C'de 10 dk süren son uzama bölümü ile tamamlandı. Reaksiyon bittikten sonra sonuçların değerlendirilmesi jel görüntüleme cihazında gerçekleştirildi.

Görüntüleme için öncelikle %1 yoğunlukta agaroz jel hazırlandı. Bu amaçla 100 gr Tris-asetik asit-EDTA (TAE) solüsyonu ile 1 gr agaroz erlen mayer içinde karıştırılıp mikrodalga fırında ısıtıldı. Mikrodalgadan alınıp soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra içine 0,5 µg/ml etidyum bromür ilave edildi ve jel tablasına dökülerek donması beklendi. PCR son ürününden 10 µl alınarak 6X boya (Thermo, 6x Loading Dye, Kat No: R0611) ile karıştırıldı. Bu karışım hazırlanan agaroz jel kuyucuklarına aktarıldı ve 40 dakika 80 Voltta yatay elektroforeze (Cleaver Scientific, CS-300V, İngiltere) tabi tutuldu. Elektroforez işlemi bittikten sonra transilluminator cihazında (Vilber lormat, Sigma, Almanya) UV ışık altında DNA bantları değerlendirildi.

2.2.5. Hücre Kültürü ve Virus İzolasyonu

-80°C'de stoklanan MDCK ve Vero hücre kültürleri, içerisinde %20 Fötal sığır serumu ve %1 antibiyotik bulunan 5 ml DMEM hücre üretme vasatı ile 25 cm² yüzey alanına sahip hücre kültürü flasklarına çözüldü ve 37°C'ye ayarlı etüvlerde günlük takibi yapıldı. Hücreler flask tabanını kapladıktan sonra 1 flasktan 2 flask olacak şekilde

subkültüre edildi. 24 saat sonra flask yüzeyini %80 oranında kaplayan hücreler virus ekimi için ayrıldı.

PCR testi sonucunda CPV-2 yönünden pozitif tespit edilen örneklerin homojenizatlarından hazırlanan süpernatantlar 0,2 µm çapındaki membran filtrelerinden süzülerek steril edildi. Elde edilen süpernatant ekim için ayrılan hücrelere adsorbsiyonlu yöntemle inoküle edildi. Bu amaçla, hücrelerin içerisindeki vasat döküldü ardından flask hacminin %1'i olacak şekilde steril hale getirilen süpernatant eklendi ve 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından flasklara 5 ml DMEM besi yeri eklendi ve 37°C' lik %5 CO₂'li etüvlerde inkübasyona bırakıldı. Virus ekili hücreler her gün mikroskop altında sitopatik etki (CPE) yönünden takip edildi. Hücreler 5 günün sonunda -80°C'lik derin donduruculara kaldırıldı.

2.2.6. Genom Analizi ve Filogenetik Ağaç Oluşturma

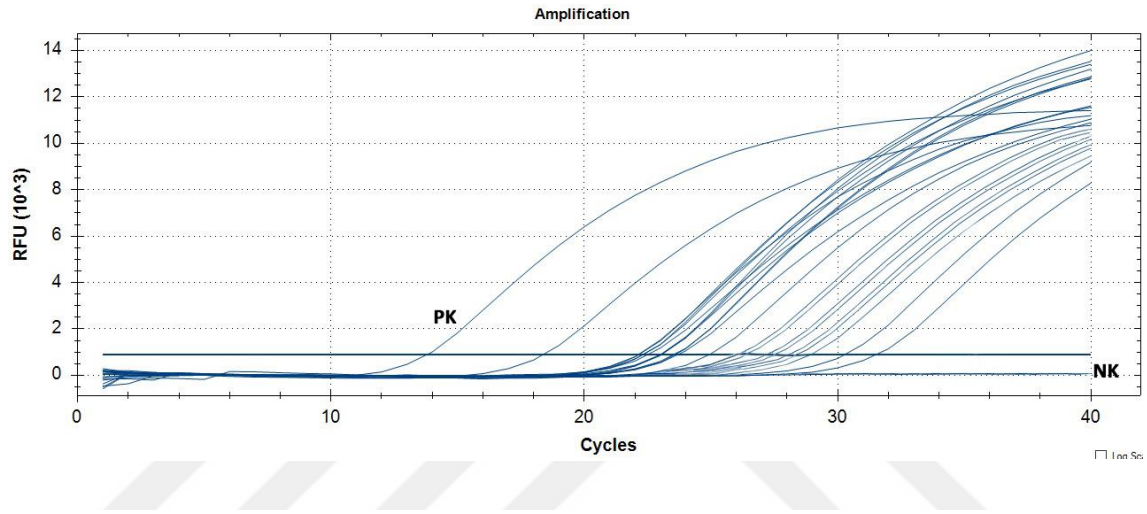
Çalışmada elde edilen izolatlardan 6 adedi (3 sitopatojen, 3 non-sitopatojen) için tüm genom sekans analizi yapılmak üzere hizmet alımı yapıldı. İzolatların sekas analizi Yeni Nesil Dizileme (NGS) Illumina/WGS metodu ile yapıldı. Elde edilen veriler genbankta bulunan referans sekans ve benzer sekans örnekleri ile karşılaştırıldı. Çoklu dizi hizalama, ClustalW algoritması ile MEGA 11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis-MEGA) programı kullanarak yapıldı. Konsensus verileri ve genbank dizileri için en iyi DNA/Protein modeli olarak Tamura-3 gama distributed (TN93+G) metodu seçildi ve filogenetik ağaç, MEGA11 programında 1000 tekrarlı bootstrap ile Neighbor-Joining (NJ) yöntemi kullanılarak oluşturuldu. Elde edilen veriler ile genbankta bulunan diğer veriler ve referans verilerinin protein ve nükleotid farklılıkları incelendi.

3. BULGULAR

3.1. Real-Time PCR Sonuçları

Çalışmada toplanan 45 adet örneğin DNA ekstraksiyonları yapıldıktan sonra tablo 2.3'te verilen master miks ve belirtilen ısıl koşullarda rt-PCR işlemi yapıldı. 24 adet örnek (%53.3) pozitif tespit edildi. Pozitif örneklere ilişkin veriler Şekil 3.1.'de belirtildi.

Şekil 3.1. Pozitif örneklerin Real Time PCR sonuçları (PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol)



Yapılan PCR testi sonucunda numune türüne göre pozitiflik dağılımı incelendiğinde gaita örneklerinin 6 adedi (% 85.7), kan örneklerinin 5 adedi (% 21.7), rektal swap örneklerinin 7 adedi (%100) ve organ örneklerinin 6 adedi (%75) pozitif tespit edildi (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Real-Time pozitif örneklerin dağılımı

Örnek	Sayı	PCR (+)	PCR(+) %
Gaita	7	6	85.7
Kan	23	5	21.7
Rektal swap	7	7	100
Organ (Barsak Parçası)	8	6	75
Toplam	45	24	53.3

Pozitif tespit edilen örneklerin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde 17 adet örneğin dişi (%100), 7 adedinin de (%25) erkek olduğu tespit edildi (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. Real-Time pozitif örneklerin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Sayı	PCR (+)	PCR(+) %
Dişi	17	17	100
Erkek	28	7	25

Pozitif tespit edilen 24 örneğin yaş grupları ve aşı durumları incelendiğinde 23 adet (%54.1)örneğin 0-6 ay, 1 adedinde (%33.3) 6-12 aylık olduğu tespit edilirken 22 adet (% %51.1) örneğin aşısız, 2 adet (%100) örneğin ise aşılı hayvanlara ait olduğu tespit edildi (Tablo 3.3, Tablo 3.4).

Tablo 3.3.Real-Time pozitif örneklerin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş	Sayı	PCR (+)	PCR(+) %
0-6 Ay	42	23	54.7
6-12 Ay	3	1	33.3

Tablo 3.4. Real-Time pozitif örneklerin aşı durumlarına göre dağılımı

Aşı Durumu	Sayı	PCR (+)	PCR(+) %
Aşılı	2	2	100
Aşısız	43	22	51.1

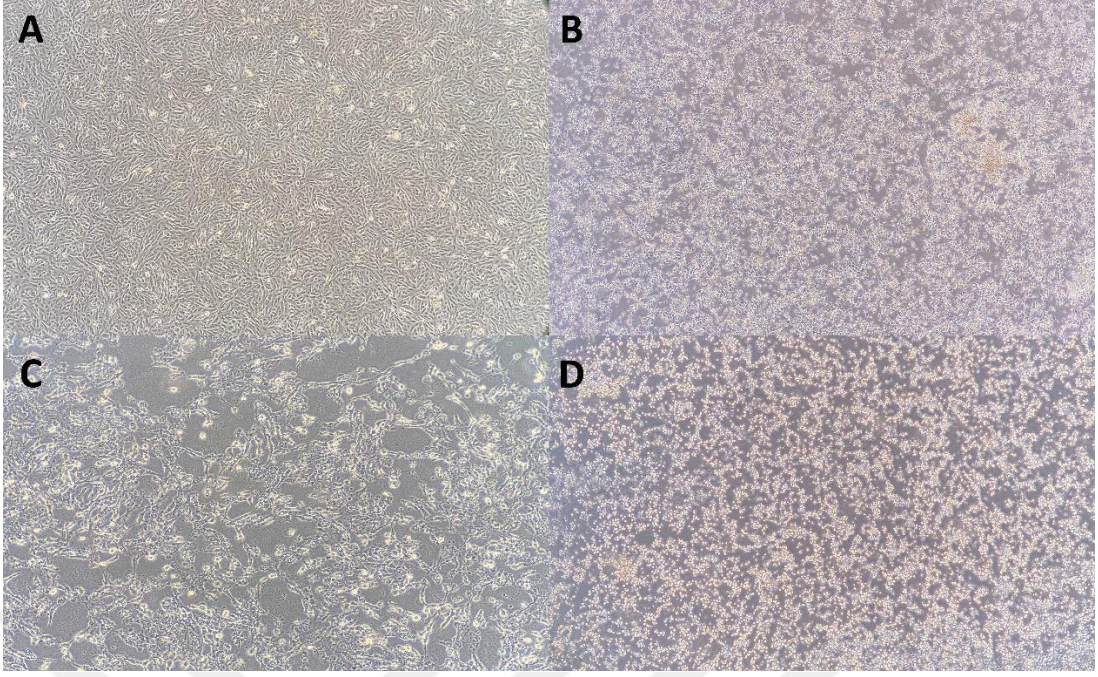
Son olarak pozitif olguların klinik belirtileri incelendiğinde 10 adet (%32.2) örnekte kusma ve ishal, 8 adet (%100) örnekte hemorajik ishal ve 6 adet (%100) örnekte barsakta hemoraji bulguları gözlemlendi (Tablo 3.5.).

Tablo 3.5. Real-Time pozitif örneklerin klinik belirtilere göre dağılımı

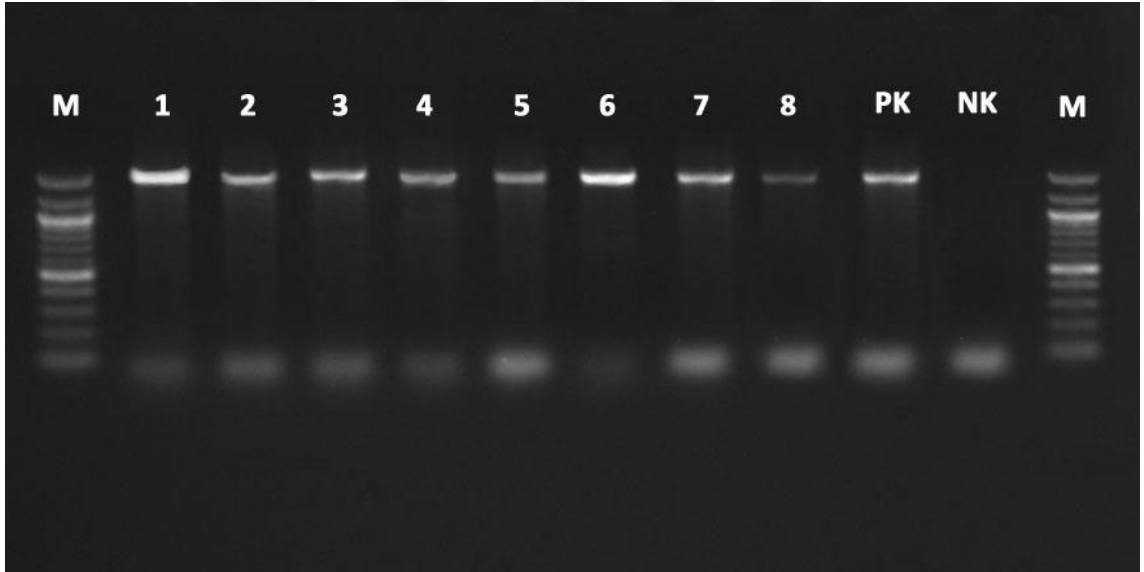
Klinik Belirti	Sayı	PCR (+)	PCR(+) %
Kusma ve ishal	31	10	32.2
Hemorajik İshal	8	8	100
Barsakta Hemoraji	6	6	100

3.2. Virus İzolasyonu

rt-PCR ile pozitif tespit edilen örneklerin MDCK hücre hattında yapılan izolasyon çalışması sonucunda pozitiflik tespit edilemedi . Vero hücre hattında yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda 8 adet örneğin 3 adedi hücrede CPE meydana getirerek ürerken 5 adedinin ise CPE oluşturmada üredığı belirlendi (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Pozitif örneklerin CPE görüntüleri (A: Vero hücre kontrol, B: TR.CPV.Samsun01, C: TR.CPV.Samsun03, D: TR.CPV.Samsun05)



Şekil 3.3. Hücre kültüründe üretilen örneklerin 1500 bp büyüklüğündeki konvansiyonel PCR görüntüleri (M: 100 bp'lik DNA Ladder, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol)

3.3. Sekans Analizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları

Pozitif tespit edilen ve hücre kültüründe izolasyonu yapılan örneklerden 6 adedi (3 adet sitopatojen ,3 adet non-sitopatojen örnek) seçilerek yeni nesil dizileme yöntemi ile tüm genom sekans analizleri yapıldı. Sekans analizi sonucunda elde edilen veriler MEGA 11 programı ile düzenlendi. NCBI BLAST programı kullanılarak genbankta yer alan CPV-2 verileri ile aralarındaki benzerlikler karşılaştırıldı. Sekans analizi yapılan

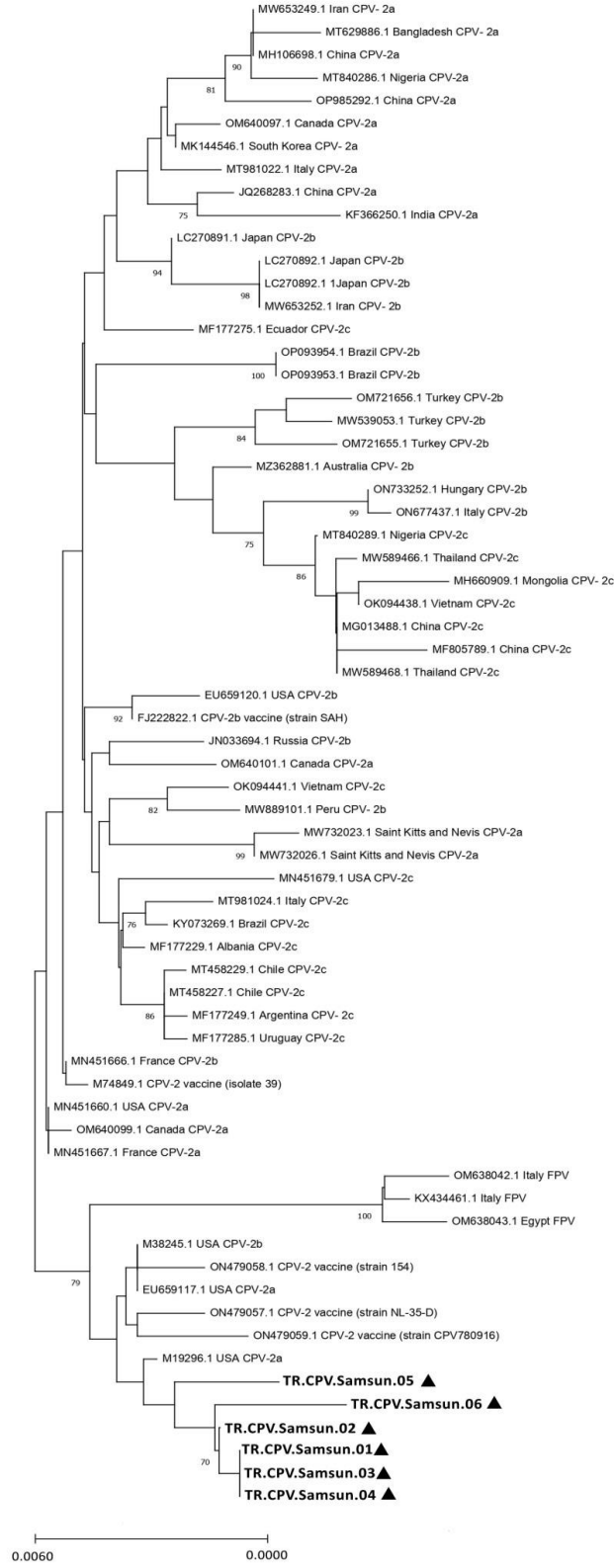
örneklerin CPV-2'nin hangi varyantına ait olduğu VP2 proteininin 426. amino asidine göre tespit edildi (Nandi & Kumar, 2010). Buna göre 426. pozisyonda bulunan asparagine (Asn) amino asiti örneklerin 2a varyantına ait olduğunu gösterdi. Analizi yapılan örneklerimiz ile genbankta yer alan, hem Türkiye'den hem de dünyanın farklı yerlerinden bildirilen CPV-2 dizinlerinden 60 adet seçilerek filogenetik ağaç oluşturuldu. Örneklerin değerlendirilmesi, çoklu hizalama yapıp hizalamanın dışında kalan alanlar kesilerek yapıldı.

BLAST analizi sonucunda izolatlarımızın %99.72 Amerika CPV-2a (M19296.1) %98.87 Çin CPV-2a (OP985292.1), %98.43 Brezilya CPV-2c (KY073269.1), %98.37 Amerika CPV-2b (M38245.1), %98.99 Japonya CPV-2b (LC270891.1), %98.93 İtalya FPV (KX434461.1) ve %98.87 İran CPV-2b (MW653252.1) dizileri ile benzer olduğu tespit edildi. Sekans analizi yapılan izolatlarımız TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.03, TR.CPV.Samsun.04, TR.CPV.Samsun.05, TR.CPV.Samsun.06 olarak isimlendirildi ve genbanka yüklenip sırasıyla OR066200, OR066201, OR066202, OR066203, OR066204 ve OR066205 olarak numaralandırıldı (Şekil 3.3).

Örneklerin diğer sekans verileriyle olan nükleotit farklılıkları incelendiğinde; NS1 ve NS2 proteinlerinde, TR.CPV.Samsun.04, TR.CPV.Samsun.05 ve TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatların 165(A→G), TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatın 237(G→A), TR.CPV.Samsun.02 numaralı izolatın 285(A→G), 315(T→C), 411(G→A), TR.Samsun.CPV.06 numaralı izolatın 499(T→C), TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatların 657(T→C), TR.CPV.Samsun.02 numaralı izolatın 867(G→A), TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatın 1377(T→C), TR.CPV.Samsun.02 numaralı izolatın 1631(A→T), 1634(A→T), 1674(A→G), TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatların 1745(T→C), TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatların 1747(G→A), TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatın 1790(T→C), TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatın 1800(G→A), tüm izolatların 1923(G→A), TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatların 1965(T→C) nükleotit pozisyonlarında baz değişiklikleri tespit edildi.

VP1 proteini üzerinde TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatların 4(G→C), TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.05 ve TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatların 48(A→G), TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.05 numaralı

izolatların 66(A→G) ve 67(G→A), TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.05 ve TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatların 75(A→G) nükleotit pozisyonlarında baz değişiklikleri tespit edildi. Son olarak VP2 proteini üzerinde ise, TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatın 18(T→A), TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatın 31(G→T), TR.CPV.Samsun.01 TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.03, TR.CPV.Samsun.04 ve TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatların 534(T→C), TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatın 546(T→C), tüm izolatlarda 732(T→C), TR.CPV.Samsun.01 TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.04 ve TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatların 756(A→G), TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatın 760(T→C), tüm izolatların 800(T→A), TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatın, 831(T→C), TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatın 948(A→G), 1041(G→A), TR.CPV.Samsun.02 ve TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatların 1099(T→G), TR.CPV.Samsun.06 numaralı izolatın 1335(T→C), 1516(T→C), 1659(T→C) ve TR.CPV.Samsun.03 ile TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatların 1752(T→C) nükleotit pozisyonlarında baz değişiklikleri tespit edildi.



Şekil 3.4. Elde edilen pozitif örnekler ve genbank verileri ile oluşturulan filogenetik ağaç. Ağaç oluşturulurken DNA/Protein modeli olarak Tamura-3 gama distrubuted (TN93+G) metodu,1000 tekrarlı bootstrap ile Neighbor-Joining (NJ) yöntemi kullanılmıştır. 70 ve üzeri bootstrap değerleri gösterilmiştir.

Amino asit değişiklikleri açısından incelendiğinde ise NS1 ve NS2 proteinlerinde TR.CPV.Samsun.02 numaralı izolatta 544.aa (Y→F), 545.aa (E→V), TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatlarda 582.aa (L→S), TR.CPV.Samsun.01, TR.CPV.Samsun.02, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04 numaralı izolatlarda, 583.aa (K→E), TR.CPV.Samsun.05 numaralı izolatta 597.aa (L→P), amino asit değişiklikleri gözlendi. VP1 proteini üzerinde, TR.CPV.Samsun.03 ve TR.CPV.Samsun.04'te 2.aa (A→P), TR.CPV.Samsun.02 ve TR.CPV.Samsun.05'te 23.aa (D→N) amino asit değişiklikleri gözlendi. Son olarak VP2 proteininde ise TR.CPV.Samsun.06'da 11.aa (G→C), tüm izolatlarda 267.aa(F→Y),TR.CPV.Samsun02 ve TR.CPV.Samsun.06'da 367.aa (Y→D) amino asit değişiklikleri gözlendi.

4. TARTIŞMA

Virusların yeni konakçılarda enfeksiyona neden olması, insanlar ve diğer hayvanlar için sürekli bir tehdit oluşturmaktadır. Çoğu zaman, yeni ortaya çıkan viruslar, farklı konakçılarda replikasyonu arttıran ve bulaşmayı kolaylaştıran adaptif mutasyonlar kazanır. Bununla birlikte, ilgili mutasyonların hangi oranda ortaya çıktığı, konakçı adaptasyonu, konak içi genetik çeşitliliği ve evrimsel ilişkisi tam olarak tanımlanamamıştır (Antia et al., 2003; Parrish et al., 2008). Canine parvoviruslar, birden fazla konakçı türünde ortaya çıkma ve türler arası bulaşmayla ilgili evrimsel engelleri aşan son derece başarılı viral patojenlerdir (Parrish, 1999).

CPV-2 ilk olarak 1970'lerin ortalarında köpeklerde bildirilmiş ve kısa bir süre içerisinde genetik değişikliğe uğrayarak CPV-2a tespit edilmiş ve ardından 2b/2c/new 2a/new2b olmak üzere antijenik ve genetik olarak farklı alt tipleri ortaya çıkmıştır (Buonavoglia et al., 2001; Parrish, 1999; Parrish et al., 1988). Varyantlar arasındaki antijenik ve genetik değişiklikler aynı zamanda konakçı aralıklarındaki değişiklikler ile de ilişkilendirilmiştir. Ortaya çıkışından kısa bir süre sonra hızla yayılarak neredeyse pandemik boyutlara ulaşmıştır. Günümüzde Dünya genelinde artık orijinal CPV-2'nin nadir olarak görüldüğü buna karşın 2a/2b/2c varyantlarının orijinal virusun yerini aldığı bildirilmiştir (Hoelzer and Parrish, 2010; Voorhees et al., 2019).

Parvoviruslar akut gastroenteritin ana nedenlerinden biridir ve virus nedenli enteritler dünya genelinde hem evcil hemde vahşi hayvanlar için büyük problem teşkil etmektedir. Enfeksiyon ancak erken ve agresif bir şekilde tedavi edildiğinde hayatta kalma oranları %80-95'e kadar çıkabilmektedir. Tedavi edilmeyen, CPV ile enfekte köpeklerin hayatta kalma oranları %9.1'e kadar düşebilmektedir (Goddard and Leisewitz, 2010; Prittie, 2004). CPV-2, özellikle genç yaştaki köpeklerde şiddetli enfeksiyona neden olsa da son yıllarda yetişkin köpeklerdeki vaka sayılarında da artışlar bildirilmiştir. Parvovirus enfeksiyonlarını kontrol altına almanın en önemli yolu etkili aşılama protokollerinin geliştirilmesi ile mümkün olmaktadır. Günümüzde hem canlı attenüe hemde inaktif CPV-2 aşılıları mevcuttur. Bu aşılılar hastalığı kontrol etmeye yardımcı olmakla birlikte, aşılanmış hayvanlarda dahi CPV-2 enfeksiyonları şekillenebilmektedir (Nandi et al., 2013). Mevcut aşılıların farklı CPV varyantları üzerindeki etkinliği ile ilgili birçok görüş farklılığı vardır. Bazı araştırmacılar mevcut aşılıların tüm CPV varyantlarına karşı etkili olduğunu düşünse de (Larson and Schultz, 2008; Spibey et al., 2008) bazıları aşılıların belirli bölgelerde hastalığın prevalansına

bağlı olarak 2a/2b/2c varyantları ile değiştirilmesi gerektiğini düşünmektedir (Decaro et al., 2007; Decaro et al., 2008).

CPV-2'nin farklı antijenik varyantları farklı ülkelerde değişen oranlarda yaygındır. Etkili aşılama çalışmaları ve kontrol önlemlerine rağmen Canine parvoviruslar 40 yılı aşkın bir süredir küresel boyutta varlığını sürdürmektedir (Miranda and Thompson, 2016).

Türkiye'de canine parvoviruslar ile ilgili ilk çalışma 1981 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada 1980-1981 yılları arasında, toplam 19 köpekte (18 yavru, 1 erişkin) CPV-2'nin makroskopik ve mikroskopik bulguları dikkate alınarak CPV-2 tespit edilmiştir (Berkin vd., 1981). Türkiye'de son yıllarda CPV-2'nin moleküler karakterizasyonuna yönelik çalışmalar da hız kazanmış ve farklı CPV-2 varyantları tespit edilmiştir. CPV-2'nin moleküler karakterizasyonuna yönelik ilk çalışma Yılmaz vd. (2005) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada Bursa ilindeki hemorajik enteritisli köpeklerden alınan örneklerin 21 adedinde CPV-2'nin varlığını tespit ederek, 9 adet örneğin CPV-2a ve 7 adet örneğin CPV-2b varyantında olduğu ortaya konulmuştur (Yılmaz vd., 2005). Ardından Yeşilbağ vd. (2007), 32 adet CPV-2 pozitif köpekte yaptıkları çalışmada 17 örneğin CPV-2a ve 10 örneğin CPV-2b varyantında olduğunu belirtmişlerdir (Yılmaz vd., 2007). Timurkan ve Oğuzoğlu (2015), 2009-2010 yılları arasında 25 adet CPV-2 pozitif köpekte yaptıkları çalışmada 17 adet CPV-2a ve 8 adet CPV-2b varyantlarının dolaşımında sirküle olduğunu bildirmişlerdir (Timurkan ve Oğuzoğlu, 2015). Ayrıca Mersin ilinde 20 adet gastroenteritisli köpek üzerinde yapılan bir çalışmada 7 adet köpeğin CPV-2b varyantında olduğu tespit edilmiştir (Dinçer, 2017). Van ilinde CPV-2'li köpeklerde yapılan bir çalışmada ise CPV-2a ve CPV-2b varyantlarının bölgede sirküle olduğu bildirilmiştir (Karapınar vd., 2018). Türkiye'nin Güneydoğu bölgesinde yapılan bir çalışmada da 18 adet CPV-2 pozitif köpekte 1 adet CPV-2a, 16 CPV-2b ve 1 CPV-2c varyantı tespit edilmiştir (Polat vd., 2019). Ankara'da 5 adet CPV-2 pozitif köpek üzerinde yapılan bir çalışmada CPV-2b varyantının varlığı saptanmıştır (Akkutay Yoldar ve Koc, 2020). Burdur yöresinde ise 35 adet CPV-2 şüpheli köpekte farklı PCR teknikleri ile yapılan başka bir çalışmada CPV-2a, CPV-2b ve CPV-2c varyantlarının varlığı bildirilmiştir (Hasırcıoğlu ve Aslım, 2022). Abaylı vd. (2022) Ankara, Elazığ, Kocaeli ve Kayseri illerinden topladıkları örnekler ile yaptıkları çalışmada CPV-2b'nin varlığını ortaya koymuşlardır (Abaylı vd., 2022). Temizkan ve Temizkan (2023), 2020-2022 yılları arasında Türkiye'nin farklı bölgelerinden topladıkları örneklerde yaptıkları

çalışmada CPV-2a ,CPV-2b ve CPV-2c varyantlarının dolaşımında sirküle olduğunu bildirmişlerdir (Temizkan ve Temizkan, 2023).Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 630 tilki dışkısı örneğinde CPV-2'nin varlığının araştırıldığı çalışmada ise 2 adet örnekte pozitiflik tespit edilmiş ve yapılan sekans analizi sonucunda örneklerin CPV-2b varyantına ait olduğu bildirilmiştir (Kurucay vd., 2023).

Çalışmamızın örnekleme aşaması 2020-2022 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine kusma ve ishal şüphesiyle getirilen köpekler ile aynı sebeplerden ölen köpekler ile yapılmış ve toplamda 45 adet şüpheli örnek toplanmıştır. Toplanan örneklerle yapılan rt-PCR testi sonucunda 24 adet örnek CPV-2 yönünden pozitif tespit edilmiş ve 8 adet örneğin Vero hücre kültüründe izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen izolatlardan 6 adedinin NGS yöntemi ile tüm genom sekans analizi yapıp, izolatların CPV-2a varyantında olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen örneklerin BLAST analizinde %99.72 Amerika %98.87 Çin,%98.43 Brezilya, %98.99 Japonya, %98.93 İtalya ve %98.87 İran'da bildirilen sekans verileriyle benzer olduğu bulunmuştur. İzolatların kendi aralarında ise %99 oranında benzerlik tespit edilmiştir. Yapılan filogenetik analiz sonucunda CPV-2a, CPV-2b ve CPV-2c varyantlarının ağaç üzerinde birbirlerine yakın olarak yer aldığı görülmektedir. Bu durumun, varyantların ayırımında tek bir amino asit değişikliğinin referans alınmasının bir sonucu olduğu görüşündeyiz.

CPV-2'nin majör kapsid proteini olan VP2, virusun konakçı aralığı ve patojenik potansiyelinden sorumludur (Decaro and Buonavoglia, 2012). VP2 proteini üzerindeki amino asit değişiklikleri incelendiğinde CPV-2'yi FPV'den ayıran 80(K→R), 93(K→N), 564(N→S), 568(A→G) amino asitlerde meydana gelen evrensel mutasyonlar izolatlarımızda tespit edilmiştir. Orijinal CPV-2'nin CPV-2a/2b/2c varyantlarından ayırımında 426.amino asit pozisyonu dikkate alınmaktadır (Nandi and Kumar, 2010). Elde ettiğimiz sekans verilerinin amino asit pozisyonları incelendiğinde 426.pozisyonunda asparagine (Asn) amino asitinin varlığı CPV-2a varyantına işaret etmektedir. Buna karşın CPV-2a/2b/2c varyantlarının tamamında ortak olan 87(M→L), 101(I→T), 300(A→G), 305(D→Y) amino asit ikameleri izolatlarımızın hiçbirinde tespit edilememiş ve izolatlarımızın bu bölgedeki amino asit pozisyonları orijinal CPV-2 ile aynı bulunmuştur. Günümüzde orijinal CPV-2'nin artık dolaşımında nadiren bulunduğu ve CPV-2a/2b/2c/new2a/new2b varyantlarının artık dünya genelinde sirküle olduğu bilgisinden yola çıkarak izolatlarımızda geriye dönük mutasyon şekillendiği

düşüncesi akla gelmektedir. Özellikle CPV-2a varyantında tespit edilen 555(V→I) aa. değişikliğinin izolatlarımızda olmaması, bu bölgede orijinal CPV-2 ve diğer CPV-2 varyantlarında olduğu gibi 555V aa.'nin yer alması düşüncemizi destekler niteliktedir. Ayrıca virusun antijenitesinde rolü olduğu düşünülen ve birçok CPV2a/2b/2c varyantında da bildirilen 440(T→A) aa değişikliği de izolatlarımızda tespit edilememiştir (Timurkan ve Oğuzoğlu; Zhou et al., 2017). Tüm aa. değişikliklerinden farklı olarak VP2 proteini üzerinde 11(G→C), 267(F→Y) ve 367(Y→D) olmak üzere 3 aa değişikliği tespit edilmiştir. Bu değişikliklerden 11(G→C) ve 367(Y→D)'nin virülens üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığı veya yeni bir varyant özelliği olup olmayacağı ile ilgili henüz bir bilgi bulunmamaktadır. 267(F→Y) aa değişikliğinin ise, 324(Y→I) ve 440(T→A) aa değişiklikleri ile birlikte bulunduğu durumda aşı başarısızlıkları ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Zhou et al., 2017). Ancak yalnızca 267(F→Y)'nin rolü ile ilgili bir bilgi bulunmamaktadır.

Türkiye'de CPV-2'ye karşı inaktif ve modifiye canlı aşılar kullanılmaktadır. Bu aşılar CPV-2 ve CPV-2b varyantlarını içermektedir. Türkiye'de ve Dünya'da daha önceden yapılmış olan çalışmalarda aşıli hayvanlarda CPV-2'nin varlığı tespit edilmiştir (Hasırcıoğlu, 2022; Mittal, 2014; Yip et al., 2020). Çalışmamızda pozitif tespit ettiğimiz örnekler arasında 2 hayvanın aşıli olması aşılarda etkinliği ile ilgili sorunları bir kez daha akla getirmektedir. Aşıların etkinliği, yavrudaki maternal antikor seviyesi, uygulanan aşı suşu ve uygulama protokülüne göre farklı nedenlere bağlı olarak değişebilmektedir. Bu anlamda, aşılanmanın doğru zamanda yapılmasının maternal antikorlar ile ilgili oluşabilecek riskleri en aza indireceğini ve aşı suşlarının dolaşımında sirküle olan virus varyantına göre seçilmesi ile aşı başarısızlıklarının önüne geçilebileceğini düşünmekteyiz.

Yaptığımız çalışmada pozitif tespit edilen olguların cinsiyetleri incelediğinde dişi köpeklerde hastalığın görülme oranının erkek köpeklere göre yüksek olduğu tespit edildi. Buna karşın yapılan çalışmaların bir kısmında hastalığın cinsiyete göre görülme oranında anlamlı bir fark görülmediği (Castro et al., 2007; Zhao et al., 2016; Mech et al., 2008) bir kısmında ise erkek hayvanlarda daha yüksek oranda görüldüğü tespit edilmiştir (Kalli et al., 2010; Aktaş vd., 2011; Hasırcıoğlu ve Aslım).

Çalışmamızda pozitif tespit edilen örnek materyallerinin dağılımı incelendiğinde rektal swap ve gaita örneklerinde pozitiflik oranının kan ve doku örneklerine göre daha yüksek olduğu görüldü. Benzer sonuçlar Segev et al., (2022), Karapınar vd., (2018) ve

Gargari (2015)'nin çalışmalarında da görülmüştür. Bu çalışmalarda da rektal swap ve gaita örneklerinin kan örneklerine göre daha yüksek oranda pozitif bulunduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca CPV-2'nin özellikle 6 aylıktan küçük köpeklerde yüksek oranda enfeksiyon oluşturduğu bilgisi göz önüne alındığında (Cubel and Garcia, 2000; Aktaş vd., 2011; Pandya et al.,2017) rnekleme yapılan hayvanlarda CPV-2 yönünden pozitif tespit edilen vakaların 0-6 ay arasındaki yavrularda görülmüş olması CPV-2 ile ilgili bilgilerimizi destekler niteliktedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Canine Parvoviruslar tespit edildiği günden günümüze kadar hem evcil hemde yabani hayvanlar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Virusun çevresel şartlara dayanıklılığı, viral genomunda sıklıkla meydana gelen genetik ve antijenik değişiklikler ve türler arası bulaşma yeteneği enfeksiyonun kontrol edilmesini zorlaştırmaktadır. Virusun hızlı evrimi aynı zamanda daha tehlikeli olabilen antijenik varyantların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Hastalığı kontrol etmenin en güvenli yolu aşılama değildir. Ancak virusun sürekli mutasyona uğraması ile ortaya çıkan yeni varyantlar mevcut aşılamanın etkinliğini düşürmektedir.

Bir enfeksiyonla mücadelede en önemli noktalar, virusun öncelikle kökenini anlayabilmek, dolaşımda sirküle olan suşları ortaya çıkarmak ve enfeksiyonun bölgedeki durumu hakkında bilgi sahibi olabilmektir. Bu anlamda yaptığımız tez çalışması Samsun ilinde enfeksiyonun epidemiyolojisi ve sirküle olan virusun genomik özelliklerini ortaya koyması açısından önem taşımaktadır. Bu çalışma ile aynı zamanda tespit ettiğimiz virusların Türkiye’de ve Dünya’da bildirilen diğer izolatlar ile farklılıkları da ortaya konulmuştur.

Tüm bu verilerden yola çıkarak CPV-2 enfeksiyonu ile etkili bir mücadele için dolaşımda sirküle olan varyantların tespit edilmesi, bunun için de epidemiyolojik çalışmaların periyodik olarak devam ettirilmesi, mevcut aşı suşlarının güncel varyantlarla değiştirilmesi ve aşılama politikasının revize edilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abayli, H., Aslan, O., Tumer, K. C., Can-Sahna, K., & Tonbak, S. (2022). Predominance and first complete genomic characterization of canine parvovirus 2b in Turkey. *Archives of virology*, 167(9), 1831-1840.
- Akkutay Yoldar, A., & Koc, B. (2020). Phylogenetic analysis of canine parvoviruses from Turkey. *Medycyna Weterynaryjna-Veterinary Medicine-Science and Practice*, 76(1).
- Aktaş, M.S., Özkanlar, Y., & Kırbaş, A. (2011). Erzurum ve Çevresinden Kliniğe Getirilen Sahipli Köpeklerde Parvoviral Enteritisin Risk Faktörleri Üzerine Bir Araştırma. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 6(1), 1-8.
- Albaz, A., Sayed-Ahmed, M., Younis, E., & Khodier, M. (2015). Investigation of the antiviral effect of acyclovir on canine parvovirus infection. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 2, 36-39.
- Amthal, A.F. (2014) Molecular Characterization of Canine Parvovirus-2 in Egypt, in Department of Virology-Faculty of Veterinary Medicine. Doctoral Dissertation. Cairo University, Egypt. 2014.
- An, D.-J., Jeong, W., Jeoung, H.-Y., Lee, M.-H., Park, J.-Y., Lim, J.-A., & Park, B.-K. (2012). Peptide nucleic acid-based (PNA) array for the antigenic discrimination of canine parvovirus. *Research in veterinary science*, 93(1), 515-519.
- Antia, R., Regoes, R. R., Koella, J. C., & Bergstrom, C. T. (2003). The role of evolution in the emergence of infectious diseases. *Nature*, 426(6967), 658-661.
- Berkin, Ş., Milli, Ü., & Urman, H.(1981). Türkiye'de Köpeklerde Parvoviral Enteritisler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 28(01.04).
- Black, J.W., Holscher, M.A., Powell, H. S., & Byerly, C. S. (1979). Parvoviral enteritis and panleukopenia in dogs. VM/SAC. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician (USA)*.
- Bodeus, M., Cambiaso, C., Surleraux, M., & Burtonboy, G. (1988). A latex agglutination test for the detection of canine parvovirus and corresponding antibodies. *Journal of virological methods*, 19(1), 1-12.
- Buonavoglia, C., Martella, V., Pratelli, A., Tempesta, M., Cavalli, A., Buonavoglia, D., Bozzo, G., Elia, G., Decaro, N., & Carmichael, L. (2001). Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *Journal of General Virology*, 82(12), 3021-3025.
- Carr-Smith, S., Macintire, D., & Swango, L. (1997). Canine parvovirus: Part 1. Pathogenesis and vaccination. *Comp Continuing Educ Pract Vet*, 19, 125-133.
- Castro, T.X., Miranda, S.C., Labarthe, N.V., Silva, L.E., & Cubel Garcia, R.C.N. (2007). Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*, 59, 333-339.
- Cavalli, A., Bozzo, G., Decaro, N., Tinelli, A., Aliberti, A., & Buonavoglia, D. (2001). Characterization of a canine parvovirus strain isolated from an adult dog. *The new microbiologica*, 24(3), 239-242.
- Cavalli, A., Marinaro, M., Desario, C., Corrente, M., Camero, M., & Buonavoglia, C. (2018). In vitro virucidal activity of sodium hypochlorite against canine parvovirus type 2. *Epidemiology & Infection*, 146(15), 2010-2013.

- Chang, S. F., Sgro, J. Y., & Parrish, C. R. (1992). Multiple amino acids in the capsid structure of canine parvovirus coordinately determine the canine host range and specific antigenic and hemagglutination properties. *Journal of virology*, 66(12), 6858-6867.
- Chou, S.J., Lin, H.T., Wu, J.T., Yang, W.C., & Chan, K. W. (2013). Genotyping of canine parvovirus type 2 VP2 gene in southern Taiwan in 2011. *Taiwan Vet J*, 39(2), 81-92.
- Cooper, B., Carmichael, L., Appel, M., & Greisen, H. (1979). Canine viral enteritis. II. Morphologic lesions in naturally occurring parvovirus infection. *The Cornell Veterinarian*, 69(3), 134-144.
- Costa, M., Veigas, B., Jacob, J., Santos, D., Gomes, J., Baptista, P., Martins, R., Inácio, J., & Fortunato, E. (2014). A low cost, safe, disposable, rapid and self-sustainable paper-based platform for diagnostic testing: lab-on-paper. *Nanotechnology*, 25(9), 094006.
- Cubel Garcia, R.D. C.N., Pinto, A.M.V., Costa, A.D.P., Maciel, B.M., Oliveira, L.D.H.D.S., Nascimento, J.P.D., Santos, A.O.D., Castro, M.C.N., Willi, L.M.V., & Labarthe, N.V. (2000). Canine parvovirus infection in puppies with gastroenteritis in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil from 1995 to 1997. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 37, 132-135.
- Day, M. J., Horzinek, M., Schultz, R., & Squires, R. (2016). WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *The Journal of small animal practice*, 57(1), E1.
- De Mari, K., Maynard, L., Eun, H., & Lebreux, B. (2003). Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled field trial. *Veterinary Record*, 152(4), 105-108.
- Decaro, N., & Buonavoglia, C. (2012). Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.007>
- Decaro, N., Buonavoglia, C., & Barrs, V. R. (2020). Canine parvovirus vaccination and immunisation failures: Are we far from disease eradication? *Veterinary Microbiology*, 247, 108760. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108760>
- Decaro, N., Desario, C., Addie, D. D., Martella, V., Vieira, M. J., Elia, G., Zicola, A., Davis, C., Thompson, G., & Thiry, E. (2007). Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 13(8), 1222.
- Decaro, N., Desario, C., Elia, G., Martella, V., Mari, V., Lavazza, A., Nardi, M., & Buonavoglia, C. (2008). Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *Microbiologica-Quarterly Journal of Microbiological Sciences*, 31(1), 125-130.
- Decaro, N., Elia, G., Desario, C., Roperto, S., Martella, V., Campolo, M., Lorusso, A., Cavalli, A., & Buonavoglia, C. (2006). A minor groove binder probe real-time PCR assay for discrimination between type 2-based vaccines and field strains of canine parvovirus. *Journal of virological methods*, 136(1-2), 65-70.
- Desario, C., Decaro, N., Campolo, M., Cavalli, A., Cirone, F., Elia, G., Martella, V., Lorusso, E., Camero, M., & Buonavoglia, C. (2005). Canine parvovirus infection: which diagnostic test for virus? *Journal of virological methods*, 126(1-2), 179-185.
- Dinçer, E. (2017). Molecular characterization and phylogenetic analysis of canine parvovirus 2 in dogs, Mersin Province, Turkey. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28(2), 96-100.
- Dogonyaro, B.B., Bosman, A.M., Sibeko, K.P., Venter, E.H., & van Vuuren, M. (2013). Genetic analysis of the VP2-encoding gene of canine parvovirus strains from Africa. *Veterinary microbiology*, 165(3-4), 460-465.

- Gargari, S. (2015). Gastroenteritis semptomlu köpeklerde canine parvovirus tip 2'nin tespiti ve moleküler karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yayınlanmamış Doktora Tezi, Ankara, 2015.
- Geetha, M. (2015). Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvoviral infection—a mini review. *International Journal of Scientific Engineering and Applied Science (IJSEAS)*, 1(9), 21-27.
- Glickman, L.T., Domanski, L.M., Patronek, G.J., & Visintainer, F. (1985). Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *J Am Vet Med Assoc*, 187(6), 589-594.
- Goddard, A., & Leisewitz, A. L. (2010). Canine parvovirus. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(6), 1041-1053.
- Goddard, A., Leisewitz, A., Christopher, M. M., Duncan, N., & Becker, P. (2008). Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(2), 309-316.
- Gonuguntla, H., Surendra, K., Rana, S., Ponnanna, N., Subramanian, B., Sharma, G., & Srinivasan, V. (2016). Detection and typing of CPV with real-time PCR and mini sequencing. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 4(4), 187-194.
- Gupta, V., Chakravarti, S., Chander, V., Majumder, S., Bhat, S. A., Gupta, V. K., & Nandi, S. (2017). Polymerase spiral reaction (PSR): a novel, visual isothermal amplification method for detection of canine parvovirus 2 genomic DNA. *Archives of virology*, 162(7), 1995-2001. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3321-5>
- Hao, X., Li, Y., Xiao, X., Chen, B., Zhou, P., & Li, S. (2022). The Changes in Canine Parvovirus Variants over the Years. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11540.
- Hasırcıoğlu, S., & Aslım, H. P. (2022). Comparative Detection of Canine Parvovirus by Differential PCR, Conventional PCR and Nested PCR tests: Detecting Antigenic Variants by Differential PCR. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(2), 254-259.
- Hayes, M., Russel, R., Mueller, R., & Lewis, R. (1979). Myocarditis in young dogs associated with a parvovirus-like agent. *The Canadian Veterinary Journal*, 20(5), 126.
- Hirasawa, T., Kaneshige, T., & Mikazuki, K. (1994). Sensitive detection of canine parvovirus DNA by the nested polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 41(1-2), 135-145.
- Hoelzer, K., & Parrish, C. R. (2010). The emergence of parvoviruses of carnivores. *Veterinary Research*, 41(6), 39. <https://doi.org/10.1051/vetres/2010011>
- Houston, D., Ribble, C., & Head, L. (1996). Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208(4), 542-546.
- Judge, P. (2015). Management of the patient with canine parvovirus enteritis. *Vet Educ*, 21, 5-11.
- Kalli, I., Leontides, L. S., Mylonakis, M. E., Adamama-Moraitou, K., Rallis, T., & Koutinas, A. F. (2010). Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research in veterinary science*, 89(2), 174-178.
- Karapınar, Z., Dinçer, E., & Özkan, C. (2018). The investigation and phylogenetic analysis of canine parvovirus 2 infection from blood and rectal swab samples from dogs in Van Province, Turkey. *Van Veterinary Journal*, 29(2), 83-86.
- Khatri, R., Poonam, Mohan, H., Minakshi, & Cs, P. (2017). Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Canine Parvovirus Disease in Dogs: A Mini Review.

- Kim, Y. K., Lim, S.-I., Choi, S., Cho, I.-S., Park, E.-H., & An, D.-J. (2015). A novel assay for detecting canine parvovirus using a quartz crystal microbalance biosensor. *Journal of virological methods*, 219, 23-27.
- Kocaturk, M., Martinez, S., Eralp, O., Tvarijonaviciute, A., Ceron, J., & Yilmaz, Z. (2010). Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice*, 51(9), 478-483.
- Kumar, M., Nandi, S., & Chidri, S. (2010). Development of a polyclonal antibody-based AC-ELISA and its comparison with PCR for diagnosis of canine parvovirus infection. *Virologica Sinica*, 25(5), 352-360.
- Lambe, U., Guray, M., Bansal, N., Kumar, P., Joshi, V. G., Khatri, R., Mohan, H., Pundir, C., Khurana, S. K., & Prasad, G. (2016). Canine Parvovirus-an insight into diagnostic aspect. *Journal of Experimental Biology*, 4, 3S.
- Larson, L. J., & Schultz, R. (2008). Do two current canine parvovirus type 2 and 2b vaccines provide protection against the new type 2c variant? *Veterinary Therapeutics*, 9(2), 94.
- Liu, L., Wang, J., Geng, Y., Wang, J., Li, R., Shi, R., & Yuan, W. (2018). Equipment-free recombinase polymerase amplification assay using body heat for visual and rapid point-of-need detection of canine parvovirus 2. *Molecular and cellular probes*, 39, 41-46.
- Liu, W., Dong, D., Yang, Z., Zou, D., Chen, Z., Yuan, J., & Huang, L. (2015). Polymerase Spiral Reaction (PSR): A novel isothermal nucleic acid amplification method. *Scientific reports*, 5(1), 1-8.
- Macintire, D. (2008). Treatment of severe parvoviral enteritis. Proceedings of the CVC Veterinary Conference, Kansas City,
- Macintire, D. K., & Smith-Carr, S. (1997). Canine parvovirus. II. Clinical signs, diagnosis, and treatment. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*.
- Mann, F., Boon, G., Wagner-Mann, C., Ruben, D., & Harrington, D. (1998). Ionized and total magnesium concentrations in blood from dogs with naturally acquired parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212(9), 1398-1401.
- Manteufel, J., & Truyen, U. (2008). Animal bocaviruses: a brief review. *Intervirology*, 51(5), 328-334.
- Martella, V., Decaro, N., Elia, G., & Buonavoglia, C. (2005). Surveillance activity for canine parvovirus in Italy. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 52(7-8), 312-315.
- Marulappa, S. Y., & Kapil, S. (2009). Simple tests for rapid detection of canine parvovirus antigen and canine parvovirus-specific antibodies. *Clinical and vaccine immunology*, 16(1), 127-131.
- Mazzaferro, E. M. (2020). Update on Canine Parvoviral Enteritis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 50(6), 1307-1325.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.07.008>
- McElligott, S., Collins, P.J., Sleator, R.D., Martella, V., Decaro, N., Buonavoglia, C., & O'Shea, H. (2011). Detection and genetic characterization of canine parvoviruses and coronaviruses in southern Ireland. *Archives of virology*, 156, 495-503.
- Mech, L.D., Goyal, S.M., Paul, W.J., & Newton, W.E. (2008). Demographic effects of canine parvovirus on a free-ranging wolf population over 30 years. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(4), 824-836.

- Meers, J., Kyaw Tanner, M., Bensink, Z., & Zwiijnenberg, R. (2007). Genetic analysis of canine parvovirus from dogs in Australia. *Australian veterinary journal*, 85(10), 392-396.
- Mia, M. M., & Hasan, M. (2021). Update on Canine Parvovirus Infection: A Review from the Literature. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*, 7(1). <https://doi.org/10.17582/journal.vsr/2021.7.2.92.100>
- Miranda, C., & Thompson, G. (2016). Canine parvovirus: the worldwide occurrence of antigenic variants. *Journal of General Virology*, 97(9), 2043-2057. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000540>
- Mochizuki, M., Hashimoto, M., Hajima, T., Takiguchi, M., Hashimoto, A., Une, Y., Roerink, F., Ohshima, T., Parrish, C.R., & Carmichael, L.E. (2002). Virologic and serologic identification of minute virus of canines (canine parvovirus type 1) from dogs in Japan. *Journal of clinical microbiology*, 40(11), 3993-3999
- More, G. D., Jhala, M., & Joshi, C. (2012). Genotyping of canine parvovirus by PCR and RFLP. *International Journal of advanced Biological Research*, 2(2), 246-248.
- Mukhopadhyay, H., Amsaveni, S., Matta, S., Antony, P., Thanislass, J., & Pillai, R. (2012). Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of canine parvovirus DNA directly in faecal specimens. *Letters in applied microbiology*, 55(3), 202-209.
- Muzyczka, N.A.K.B., & Berns, K. I. (2001). Parvoviridae: the viruses and their replication. *Fields virology*, 2, 2327-2359.
- Mylonakis, M. E., Kalli, I., & Rallis, T. S. (2016). Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 7, 91.
- Nandi, S., & Kumar, M. (2010). Canine Parvovirus: Current Perspective. *Indian Journal of Virology*, 21(1), 31-44. <https://doi.org/10.1007/s13337-010-0007-y>
- Nandi, S., Kumar, M., Mohapatra, T. K., & Ravishankar, C. (2013). Emergence of canine parvovirus-2 variants and its impact on vaccination. *World Applied Sciences Journal*, 23(10), 1366-1376.
- Ogbu, K., Anene, B., Nweze, N., Okoro, J., DANLADI, M., & Ochai, S. (2017). Canine Parvovirus: A Review. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENCE AND APPLIED RESEARCH (ISSN: 2504-9070)*, 2(2), 74-95.
- Ohshima, T., Hisaka, M., Kawakami, K., Kishi, M., Tohya, Y., & Mochizuki, M. (2008). Chronological analysis of canine parvovirus type 2 isolates in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(8), 769-775.
- Pandya, M.S., Sharma, K.K., Kalyani, H.I., & Sakhare, S.P. (2017). Study on host predisposing factors and diagnostic tests for canine parvovirus (CPV-2) infection in dogs. *Journal of Animal Research*, 7(5), 897-902.
- Parrish, C. R. (1999). Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, 69(1-2), 29-40.
- Parrish, C. R., Aquadro, C. F., Strassheim, M., Evermann, J., Sgro, J., & Mohammed, H. (1991). Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *Journal of virology*, 65(12), 6544-6552.
- Parrish, C. R., Have, P., Foreyt, W. J., Evermann, J. F., Senda, M., & Carmichael, L. E. (1988). The global spread and replacement of canine parvovirus strains. *Journal of General Virology*, 69(5), 1111-1116.
- Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. M., Park, E.-C., Burke, D. S., Calisher, C. H., Laughlin, C. A., Saif, L. J., & Daszak, P. (2008). Cross-species virus transmission and

- the emergence of new epidemic diseases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(3), 457-470.
- Polat, P.F., Şahan, A., Aksoy, G., Timurkan, M. O. & Dinçer, E. (2019). Molecular and restriction fragment length polymorphism analysis of canine parvovirus 2 (CPV-2) in dogs in southeast Anatolia, Turkey. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 86(1), 1-8.
- Pollock, R. V., & Coyne, M. J. (1993). Canine parvovirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 23(3), 555-568.
- Pratelli, A., Cavalli, A., Normanno, G., De Palma, M., Pastorelli, G., Martella, V., & Buonavoglia, C. (2000). Immunization of pups with maternally derived antibodies to canine parvovirus (CPV) using a modified-live variant (CPV-2b). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 47(4), 273-276.
- Prittie, J. (2004). Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 14(3), 167-176.
- Reed, A.P., Jones, E.V., & Miller, T. J. (1988). Nucleotide sequence and genome organization of canine parvovirus. *Journal of virology*, 62(1), 266-276.
- Rimmelzwaan, G., Juntti, N., Klingeborn, B., Groen, J., UytdeHaag, F., & Osterhaus, A. (1990). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays based on monoclonal antibodies for the serology and antigen detection in canine parvovirus infections. *Veterinary Quarterly*, 12(1), 14-20.
- Robinson, W., Huxtable, C., & Pass, D. (1980). Canine parvoviral myocarditis: a morphologic description of the natural disease. *Veterinary pathology*, 17(3), 282-293.
- Sakulwira, K., Oraveerakul, K., & Poovorawan, Y. (2001). Detection and genotyping of canine parvovirus in enteritic dogs by PCR and RFLP. *Sci Asian*, 27, 143-147.
- Savigny, M. R., & Macintire, D. K. (2010). Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 20(1), 132-142.
- Segev, G., Yaaran, T., Maurice, S., & Baneth, G. (2022). Effect of sampling site on the diagnosis of canine parvovirus infection in dogs using polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 36(2), 591-598.
- Schmitz, S., Coenen, C., Matthias, K., Heinz-Jürgen, T., & Neiger, R. (2009). Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21(3), 344-345.
- Shackelton, L. A., Parrish, C. R., Truyen, U., & Holmes, E. C. (2005). High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(2), 379-384.
- Soma, T., Taharaguchi, S., Ohinata, T., Ishii, H., & Hara, M. (2013). Analysis of the VP2 protein gene of canine parvovirus strains from affected dogs in Japan. *Research in veterinary science*, 94(2), 368-371.
- Spibey, N., Greenwood, N., Sutton, D., Chalmers, W., & Tarpey, I. (2008). Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Veterinary Microbiology*, 128(1-2), 48-55.
- Stann, S.E., DiGiacomo, R.F., Giddens Jr, W.E., & Evermann, J.F. (1984). Clinical and pathologic features of parvoviral diarrhea in pound-source dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(6), 651-655.
- Sykes, J. E. (2014). Canine parvovirus infections and other viral enteritides. *Canine and feline infectious diseases*, 141.

- Temizkan, M.C., & Temizkan, S.S. (2023). Canine Parvovirus in Turkey: First Whole-Genome Sequences, Strain Distribution, and Prevalence. *Viruses*, 15(4), 957.
- Tenne, R., Sullivan, L. A., Contreras, E. T., Olea-Popelka, F., Twedt, D. C., Fankhauser, J., Mastrianna, L., & Lappin, M. R. (2016). Palatability and clinical effects of an oral recuperation fluid during the recovery of dogs with suspected parvoviral enteritis. *Topics in companion animal medicine*, 31(2), 68-72.
- Timurkan, M., & Oğuzoğlu, T. (2015). Molecular characterization of canine parvovirus (CPV) infection in dogs in Turkey. *Vet Ital*, 51(1), 39-44.
- Truyen, U. (2006). Evolution of canine parvovirus—a need for new vaccines? *Veterinary Microbiology*, 117(1), 9-13.
- Truyen, U., Agbandje, M., & Parrish, C. R. (1994). Characterization of the feline host range and a specific epitope of feline panleukopenia virus. *Virology*, 200(2), 494-503.
- Truyen, U., EVERMANN, J. F., VIELER, E., & PARRISH, C. R. (1996). Evolution of canine parvovirus involved loss and gain of feline host range. *Virology*, 215(2), 186-189.
- Truyen, U., Gruenberg, A., Chang, S.-F., Obermaier, B., Veijalainen, P., & Parrish, C. R. (1995). Evolution of the feline-subgroup parvoviruses and the control of canine host range in vivo. *Journal of virology*, 69(8), 4702-4710.
- Tsao, J., Chapman, M. S., Agbandje, M., Keller, W., Smith, K., Wu, H., Luo, M., Smith, T. J., Rossmann, M. G., & Compans, R. W. (1991). The three-dimensional structure of canine parvovirus and its functional implications. *Science*, 251(5000), 1456-1464.
- Tuteja, D., Banu, K., & Mondal, B. (2022). Canine parvovirology-a brief updated review on structural biology, occurrence, pathogenesis, clinical diagnosis, treatment and prevention. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 101765.
- Van Schoor, M., & Schoeman, J. P. (2014). Early enteral nutrition in puppies with parvovirus enteritis. *The Veterinary Nurse*, 5(8), 434-440.
- Voorhees, I. E., Lee, H., Allison, A. B., Lopez-Astacio, R., Goodman, L. B., Oyesola, O. O., Omobowale, O., Fagbohun, O., Dubovi, E. J., & Hafenstein, S. L. (2019). Limited intrahost diversity and background evolution accompany 40 years of canine parvovirus host adaptation and spread. *Journal of virology*, 94(1), e01162-01119.
- Yanni, M.I. (2012) Isolation and Characterization of Canine Parvovirus-2 in Egypt in Department of Virology-Faculty of Veterinary Medicine. Doctoral Dissertation, Cairo University, Egypt. 2012.
- Yilmaz, K. Y. Z., Özkul, A., & Pratelli, A. (2007). Aetiological role of viruses in puppies with diarrhoea. *The Veterinary Record*, 161, 169-170.
- Yilmaz, Z., Pratelli, A., & Torun, S. (2005). Distribution of antigen types of canine parvovirus type 2 in dogs with hemorrhagic enteritis in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29(4), 1073-1076.
- Yip, H.Y.E., Peaston, A., Woolford, L., Khuu, S.J., Wallace, G., Kumar, R.S., & Hemmatzadeh, F. (2020). Diagnostic challenges in canine parvovirus 2c in vaccine failure cases. *Viruses*, 12(9), 980.
- Zhao, Z., Liu, H., Ding, K., Peng, C., Xue, Q., Yu, Z., & Xue, Y. (2016). Occurrence of canine parvovirus in dogs from Henan province of China in 2009–2014. *BMC Veterinary Research*, 12, 1-8.
- Zhou, P., Zeng, W., Zhang, X., & Li, S. (2017). The genetic evolution of canine parvovirus—A new perspective. *PloS one*, 12(3), e0175035.

EKLER

Ek 1. TR.CPV.Samsun.01 (Genbank No: OR066200)

ATTCTTTAGAACCAACTGACCAAGTTCACGTACGTATGACGTGATGACCCGC
TGCGCGCGCTGCCTACGGCAGTCACACGTCATACGTACGCTCCTTGGTCAGT
TGGTTCTAAAGAATGATAGGCGGTTTGTGTGTTTAACTTGGGCGGGAAAA
GGTGGCGGGCTAATTGTGGGCGTGGTTAAAGGTATAAAAGACAAACCATAG
ACCGTTACTGACATTGCTTCTTGTCTTTGACAGAGTGAACCTCTCTTACTCT
GACTAACCAACCATGTCTGGCAACCAGTATACTGAGGAAGTTATGGAGGGA
GTAAATTGGTTAAAGAAACATGCAGAAAATGAAGCATTTCGTTTGTTTTAA
AATGTGACAACGTCCAATAAATGGAAAGGATGTTTCGCTGGAACAATA
CCAAACCAATTCAAATGAAGAACTAACATCTTTAATTAGAGGAGCACAAA
CAGCAATGGATCAAACCGAAGAAGAAGAAATGGACTGGGAATCGGAAGTT
GATAGTCTCGCCAAAAAGCAAGTACAACTTTTGATGCATTAATTAATAAAA
TGTCTTTTTGAAGTCTTTGTTTCTAAAAATATAGAACCAAATGAATGTGTTT
GGTTTATTCAACATGAATGGGGAAAAGATCAAGGCTGGCATTGTCATGTTTT
ACTTCATAGTAAGAACTTACAACAAGCAACTGGTAAATGGCTACGCAGACA
AATGAATATGTATTGGAGTAGATGGTTGGTGACTCTTTGTTTCGGTAAACTTA
ACACCAACTGAAAAGATTAAGCTCAGAGAAATTGCAGAAGATAGTGAATG
GGTGACTATATTAACATACAGACATAAGCAAACAAAAAAGACTATGTAA
AATGGTTCATTTTGGAAATATGATAGCATATTACTTTTTAACAAAGAAAAAA
ATCGTCCACATGACAAAAGAAAGTGGCTATTTTTTAAGTACTGATTCTGGTT
GGAAATTTAACTTTATGAAGTATCAAGACAGACAAATTGTCAGCACACTTT
ACACTGAACAAATGAAACCAGAAACCGTTGAAACCACAGTGACGACAGCA
CAGGAAACAAAGCGCGGGAGAATTCAAATAAAAAGGAAGTGTCAATCAA
ATGTACTTTGCGGGACTTGGTTAGTAAAAGAGTAACATCACCTGAAGACTG
GATGATGTTACAACCAGATAGTTATATTGAAATGATGGCACAACCAGGAGG
TGAAAATCTTTTAAAAAATACACTTGAAATTTGTACTTTGACTTTAGCAAGA
ACAAAAACAGCATTTGAATTAATACTTGAAAAAGCAGATAATACTAACTA
ACTAACTTTGATCTTGCAAATTCTAGAACATGTCAAATTTTTAGAAATGCACG
GATGGAATTGGATTAAAGTTTGTACGCTATAGCATGTGTTTTAAATAGACA
AGGTGGTAAAAGAAATACAGTTCTTTTTTCATGGACCAGCAAGTACAGGAAA
ATCTATCATTGCTCAAGCCATAGCACAAAGCTGTGGGTAATGTTGGTTGTTAT
AATGCAGCAAATGTAAATTTCCATTTAATGACTGTACCAATAAAAATTTAA

TTTGGATTGAAGAAGCTGGTAACTTTGGTCAACAAGTTAATCAATTTAAAGC
AATTTGTTCTGGACAAACAATTAGAATTGATCAAAAAGGTAAAGGAAGTAA
GCAAATTGAACCAACTCCAGTAATTATGACAATAATGAAAATATAACAAT
TGTGAGAATTGGATGTGAAGAAAGACCTGAACATACACAACCAATAAGAG
ACAGAATGTTGAACATTAAGTTAGTATGTAAGCTTCCAGGAGACTTTGGTTT
GGTTGATAAAGAAGAATGGCCTTTAATATGTGCATGGTTAGTTAAACATGG
TTATGAATCAACCATGGCTAACTATACACATCATTGGGGAAAAGTACCAGA
ATGGGATGAAAAGTGGGCGGAGCCTAAAATACAAGAAGGTATAAATTCACC
AGGTTGCAAAGACTCAAAGACGCAAGCGGCAAGCAATCCTCAGAGTCAAG
ACCAAGTTCTAACTCCTCTGACTCCGGACGTAGTGGACCTTGCACTGGAACC
GTGGAGTACTCCAGATACGCCTATTGCAGAACTGCAAATCAACAATCAAA
CCAAGTTGGCGTTACTCACAAGACGTGCAAGCGAGTCCAACGTGGTCCGA
AATAGAGGCAGACCTGAGAGCCATCTTTACCTCTGAACAATTGGAAGAAGA
TTTTCGAGACGACTTGGATTAAGGTACGATGGCACCTCCGGCAAAGAGAGC
CAGGAGAGGTAAGGGTGTGTTAGTAAAGTGGGGGGAGGGGAAAGATTTAA
TAACTTAACTAAGTATGTGTTTTTTTATAGGACTTGTGCCTCCAGGTTATAA
ATATCTTGGGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACTAACCTTC
TGACGCCGCTGCAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGCTCT
GGTAAAAACCCATACTTATATTTCTCGCCAGCAGATCAACGCTTTATAGATC
AACTAAGGACGCTAAAGATTGGGGGGGGAAAATAGGACATTATTTTTTTA
GAGCTAAAAAGGCAATTGCTCCAGTATTAAGTACACACCAGATCATCCAT
CAACATCAAGACCAACAAAACCAACTAAAAGAAGTAAACCACCACCTCATA
TTTTCATCAATCTTGCAAAAAAAAAAAAAAGCCGGTGCAGGACAAGTAAAAA
GAGACAATCTTGACCAATGAGTGATGGAGCAGTTCAACCAGACGGTGGTC
AACCTGCTGTCAGAAATGAAAGAGCTACAGGATCTGGGAACGGGTCTGGAG
GCGGGGGTGGTGGTGGTTCTGGGGGTGTGGGGATTTCTACGGGTACTTTCA
ATAATCAGACGGAATTTAAATTTTTGGAAAACGGATGGGTGGAAATCACAG
CAAAGTCAAGCAGACTTGTACATTTAAATATGCCAGAAAGTGAAAATTATA
GAAGAGTGGTTGTAAATAATATGGATAAACTGCAGTTAACGGAAACATGG
CTTTAGATGATATTCATGCACAAATTGTAACACCTTGGTCATTGGTTGATGC
AAATGCTTGGGGAGTTTGGTTTAATCCAGGAGATTGGCAACTAATTGTTAAT
ACTATGAGTGAGTTGCATTTAGTTAGTTTTGAACAAGAAATTTTAAATGTTG
TTTTAAAGACTGTTTCAGAATCTGCTACTCAGCCACCAACTAAAGTTTATAA
TAATGATTTAACTGCATCATTGATGGTTGCATTAGACAGTAATAATACTATG

CCATTTACTCCAGCAGCTATGAGATCTGAGACATTGGGTTTTTATCCATGGA
AACCAACCATAACCAACTCCATGGAGATATTATTTTCAATGGGATAGAACATT
AATACCATCTCATACTGGAAGTAGTGGCACACCAACAAATATATACCATGG
TACAGATCCAGATGATGTTCAATTTTACACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTG
CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAGGAACATTTTATTTTGATT
GTAAACCATGTAGACTAACACATACATGGCAAACAAATAGAGCATTGGGCT
TACCACCATTTCTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG
TGATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTAACCTCAAATGGGAAA
TACAACTATATTACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTAT
AGTGCACCATATTATTCTTTTGAGGCGTCTACACAAGGGCCATTTAAAACAC
CTATTGCAGCAGGACGGGGGGGAGCGCAAACATATGAAAATCAAGCAGCA
GATGGTGATCCAAGATATGCATTTGGTAGACAACATGGTCAAAAACTACC
ACAACAGGAGAAACACCTGAGAGATTTACATATATAGCACATCAAGATACA
GGAAGATATCCAGAAGGAGATTGGATTCAAAATATTAACCTTTAACCTTCCT
GTAACGAATGATAATGTATTGCTACCAACAGATCCAATTGGAGGTAAAACA
GGAATTAACCTATACTAATATATTTAATACTTATGGTCCTTTAACTGCATTAA
ATAATGTACCACCAGTTTATCCAAATGGTCAAATTTGGGATAAAGAATTTGA
TACTGACTTAAAACCAAGACTTCATGTAAATGCACCATTTGTTTGTCAAAT
AATTGTCCTGGTCAATTATTTGTAAAAGTTGCGCCTAATTTAACAAATGAAT
ATGATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTT
TTGGTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAACTAAGAGCCTCTCATACT
TGGAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATG
TACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAG
CACCTAGAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTTATGTTTATTACATA
TCAACTAGCACCTAGAAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTTATGT
TTATTACATATTATTTTAAGATTAATTAATACAGCATAGAAATATTGTACT
TGTAATTGATATAGGATTTAGAAGTTTGTTATATGGTATACAATAACTGTAA
GAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTTAGATGGTATAC
AATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTT
ATATGGTATACAATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTA
GTAGTTTGTTTTTATAAAATGTATTGTAAACCATTAATGTATGTTGTTATGGTG
TGGGTGGTTGGTTGGTTTGCCCTTAGAATATGTTAAGGACCAAAAAAATCA
ATAAAAGACATTTAAACTAAATGGCCTCGTATACTGTCTATAAGGTGAAC
TAACCTTACCATAAGTATCAATCTTTGCGCCCTAATTTAACAAATGAATATG

ATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTTTTTG
GTGGAAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACTTG
GAATCCAATTCAACAAATGAGTATCAATGTAGATAACCAATTTAACTATGT
ACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAGC
ACCTAGAAAATTATATTAACATACTTACT

Ek 2. TR.CPV.Samsun.02 (Genbank No: OR066201)

ATTCTTTAGAACCAACTGACCAAGTTCACGTACGTATGACGTGATGACGCGC
TGCGCGCGCTGCCTACGGCAGTCACACGTCATACGTACGCTCCTTGGTCAGT
TGGTTCTAAAGAATGATAGGCGGTTTGTGTGTTTAAACTTGGGCGGGAAAA
GGTGGCGGGCTAATTGTGGGCGTGGTTAAAGGTATAAAAGACAAACCATAG
ACCGTTACTGACATTGCTTCTTGTCTTTGACAGAGTGAACCTCTCTTACTCT
GACTAACCAACCATGTCTGGCAACCAGTATACTGAGGAAGTTATGGAGGGA
GTAAATTGGTTAAAGAAACATGCAGAAAATGAAGCATTTCGTTTGTTTTTA
AATGTGACAACGTCCAATAAATGGAAAGGATGTTGCTGGAACAACCTATA
CCAAACCAATTCAAAATGAAGAACTAACATCTTTAATTAGAGGAGCACAAA
CAGCAATGGATCAAACCGAAGAAGAAGAAATGGACTGGGAATCGGAAGTT
GATAGTCTCGCCAAAAAGCAAGTACAACTTTTGATGCATTGATTAAAAAA
TGTCTTTTTGAAGTCTTTGTCTCTAAAAATATAGAACCAAATGAATGTGTTT
GGTTTATTCAACATGAATGGGGAAAAGATCAAGGCTGGCATTGTCATGTTTT
ACTTCATAGTAAAACTTACAACAAGCAACTGGTAAATGGCTACGCAGACA
AATGAATATGTATTGGAGTAGATGGTTGGTGACTCTTTGTTTCGGTAAACTTA
ACACCAACTGAAAAGATTAAGCTCAGAGAAATTGCAGAAGATAGTGAATG
GGTGACTATATTAACATACAGACATAAGCAAACAAAAAAGACTATGTAA
AATGGTTCATTTTGGAATATGATAGCATATTACTTTTTAACAAAGAAAAAA
ATTGTCCACATGACAAAAGAAAGTGGCTATTTTTTAAGTACTGATTCTGGTT
GGAAATTTAACTTTTATGAAGTATCAAGACAGACAAATTGTCAGCACACTTT
ACACTGAACAAATGAAACCAGAAACCGTTGAAACCACAGTGACGACAGCA
CAGGAAACAAAGCGCGGGAGAATTCAAATAAAAAGGAAGTGTCAATCAA
ATGTACTTTACGGGACTTGGTTAGTAAAAGAGTAACATCACCTGAAGACTG
GATGATGTTACAACCAGATAGTTATATTGAAATGATGGCACAACCAGGAGG
TGAAAATCTTTTAAAAAATACACTTGAAATTTGTACTTTGACTTTAGCAAGA
ACAAAAACAGCATTTGAATTAATACTTGAAAAAGCAGATAATACTAAACTA

ACTAACTTTGATCTTGCAAATTCTAGAACATGTCAAATTTTTAGAAATGCACG
GATGGAATTGGATTAAAGTTTGTACGCTATAGCATGTGTTTTAAATAGACA
AGGTGGTAAAAGAAATACAGTTCTTTTTTCATGGACCAGCAAGTACAGGAAA
ATCTATCATTGCTCAAGCCATAGCACAAGCTGTGGGTAATGTTGGTTGTTAT
AATGCAGCAAATGTAAATTTTCCATTTAATGACTGTACCAATAAAAATTTAA
TTTGGATTGAAGAAGCTGGTAACTTTGGTCAACAAGTTAATCAATTTAAAGC
AATTTGTTCTGGACAAACAATTAGAATTGATCAAAAAGGTAAAGGAAGTAA
GCAAATTGAACCAACTCCAGTAATTATGACAATAATGAAAATATAACAAT
TGTGAGAATTGGATGTGAAGAAAGACCTGAACATACACAACCAATAAGAG
ACAGAATGTTGAACATTAAGTTAGTATGTAAGCTTCCAGGAGACTTTGGTTT
GGTTGATAAAGAAGAATGGCCTTTAATATGTGCATGGTTAGTTAAACATGG
TTTTGTATCAACCATGGCTAACTATACACATCATTGGGGAAAAGTGCCAGA
ATGGGATGAAAACCTGGGCGGAGCCTAAAATACAAGAAGGTATAAATTCACC
AGGTTGCAAAGACTTAAAGACACAAGCGGCAAGCAATCCTCAGAGTCAAG
ACCAAGTTCTAACTCCTCTGACTCCGGACGTAGTGGACCTTGCACTGGAACC
GTGGAGTACTCCAGATACGCCTATTGCAGAACTGCAAATCAACAATCAAA
CCAACCTTGGCGTTACTCACAAAGACGTGCAAGCGAGTCCAACGTGGTCCGA
AATAGAGGCAGACCTGAGAGCCATCTTTACTTCTGAACAATTGGAAGAAGA
TTTTCGAGACGACTTGGATTAAGGTACGATGGCACCTCCGGCAAAGAGAGC
CAGGAGAGGTAAGGGTGTGTTAGTGAAGTGGGGGGAGGGGAAGAATTTAA
TGACTTAACTAAGTATGTGTTTTTTTATAGGACTTGTGCCTCCAGGTTATAA
ATATCTTGGGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACTAACCCTTC
TGACGCCGCTGCAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGCTCT
GGTAAAAACCCATACTTATATTTCTCGCCAGCAGATCAACGCTTTATAGATC
AACTAAGGACGCTAAAGATTGGGGGGGGAAAATAGGACATTATTTTTTTA
GAGCTAAAAAGGCAATTGCTCCAGTATTAAGTATGATACACCAGATCATCCAT
CAACATCAAGACCAACAAAACCAACTAAAAGAAGTAAACCACCACCTCATA
TTTTCATCAATCTTGCAAAAAAAAAAAAAAGCCGGTGCAGGACAAGTAAAAA
GAGACAATCTTGACCAATGAGTGATGGAGCAGTTCAACCAGACGGTGGTC
AACCTGCTGTCAGAAATGAAAGAGCTACAGGATCTGGGAACGGGTCTGGAG
GCGGGGGTGGTGGTGGTTCTGGGGGTGTGGGGATTTCTACGGGTACTTTCA
ATAATCAGACGGAATTTAAATTTTTGGAAAACGGATGGGTGGAAATCACAG
CAAACCTCAAGCAGACTTGTACATTTAAATATGCCAGAAAGTAAAATTATA
GAAGAGTGGTTGTAAATAATATGGATAAAACTGCAGTTAACGGAAACATGG

CTTTAGATGATATTCATGCACAAATTGTAACACCTTGGTCATTGGTTGATGC
AAATGCTTGGGGAGTTTGGTTTAATCCAGGAGATTGGCAACTAATTGTTAAT
ACTATGAGTGAGTTGCATTTAGTTAGTTTTGAACAAGAAATTTTAAATGTTG
TTTTAAAGACTGTTTCAGAATCTGCTACTCAGCCACCAACTAAAGTTTATAA
TAATGATTTAACTGCATCATTGATGGTTGCATTAGACAGTAATAATACTATG
CCATTTACTCCAGCAGCTATGAGATCTGAGACATTGGGTTTTTATCCATGGA
AACCAACCATAACCAACTCCATGGAGATATTATTTTCAATGGGATAGAACATT
AATACCATCTCATACTGGAAGTAGTGGCACACCAACAAATATATACCATGG
TACAGATCCAGATGATGTTCAATTTTACACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTG
CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAGGAACATTTTATTTTGATT
GTAAACCATGTAGACTAACACATACATGGCAAACAAATAGAGCATTGGGCT
TACCACCATTTCTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG
TGATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTAACCTCAAATGGGAAA
TACAACTATATTACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTAT
AGTGCACCATATTATTCTTTTGAGGCGTCTACACAAGGGCCATTTAAAACAC
CTATTGCAGCAGGACGGGGGGGAGCGCAAACAGATGAAAATCAAGCAGCA
GATGGTGATCCAAGATATGCATTTGGTAGACAACATGGTCAAAAACTACC
ACAACAGGAGAAACACCTGAGAGATTTACATATATAGCACATCAAGATACA
GGAAGATATCCAGAAGGAGATTGGATTCAAATATTAACCTTTAACCTTCCT
GTAACGAATGATAATGTATTGCTACCAACAGATCCAATTGGAGGTAAAACA
GGAATTAACCTATACTAATATATTTAATACTTATGGTCCTTTAACTGCATTAA
ATAATGTACCACCAGTTTATCCAAATGGTCAAATTTGGGATAAAGAATTTGA
TACTGACTTAAAACCAAGACTTCATGTAAATGCACCATTTGTTTGTCAAAT
AATTGTCCTGGTCAATTATTTGTAAAAGTTGCGCCTAATTTAACAAATGAAT
ATGATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTT
TTGGTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAACTAAGAGCCTCTCATACT
TGGAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATG
TACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAG
CACCTAGAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTTATGTTTATTACATA
TCAACTAGCACCTAGAAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTTATGT
TTATTACATATTATTTTAAGATTAATTAAATACAGCATAGAAATATTGTACT
TGTATTTGATATAGGATTTAGAAGTTTGTTAGATGGTATACAATAACTGTAA
GAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTTAGATGGTATAC
AATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTT

ATATGGTATACAATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTA
GTAGTTTGTGTTTATAAAATGTATTGTAAACCATTAATGTATGTTGTTATGGTG
TGGGTGGTTGGTTGGTTTGGCCCTTAGAATATGTTAAGGACCAAAAAAATCA
ATAAAAGACATTTAAAACATAATGGCCTCGTATACTGTCTATAAGGTGAAC
TAACCTTACCATAAGTATCAATCTTTGCGCCATAATTTAACAAATGAATATG
ATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTTTTG
GTGGAAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAACTAAGAGCCTCTCATACTTG
GAATCCAATTCAACAAATGAGTATCAATGTAGATAACCAATTTAACTATGT
ACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAGC
ACCTAGAAAATTATATTAACATACTTACT

Ek 3. TR.CPV.Samsun.03 (Genbank No: OR066202)

ATTCTTTAGAACCAACTGACCAAGTTCACGTACGTATGACGTGATGACGCGC
TGCGCGCGCTGCCTACGGCAGTCACACGTCATACGTACGCTCCTTGGTCAGT
TGGTTCTAAAGAATGATAGGCGGTTTGTGTGTTTAACTTGGGCGGGAAAA
GGTGGCGGGCTAATTGTGGGCGTGGTTAAAGGTATAAAAGACAAACCATAG
ACCGTTACTGACATTCGCTTCTTGTCTTTGACAGAGTGAACCTCTCTTACTCT
GACTAACCAACCATGTCTGGCAACCAGTATACTGAGGAAGTTATGGAGGGA
GTAAATTGGTTAAAGAAACATGCAGAAAATGAAGCATTTTCGTTTGTGTTTTA
AATGTGACAACGTCCAATAATGGAAAGGATGTTTCGCTGGAACAATACTATA
CCAAACCAATTCAAAATGAAGAACTAACATCTTTAATTAGAGGAGCACAAA
CAGCAATGGATCAAACCGAAGAAGAAGAAATGGACTGGGAATCGGAAGTT
GATAGTCTCGCCAAAAAGCAAGTACAACTTTTGATGCATTAATTAAAAAA
TGTCTTTTTGAAGTCTTTGTTTCTAAAAATATAGAACCAATGAATGTGTTT
GGTTTATTCAACATGAATGGGGAAAAGATCAAGGCTGGCATTGTCATGTTTT
ACTTCATAGTAAGAACTTACAACAAGCAACTGGTAAATGGCTACGCAGACA
AATGAATATGTATTGGAGTAGATGGTTGGTGACTCTTTGTTTCGGTAAACTTA
ACACCAACTGAAAAGATTAAGCTCAGAGAAATTGCAGAAGATAGTGAATG
GGTGACTATATTAACATACAGACATAAGCAAACAAAAAAGACTATGTAA
AATGGTTCATTTTGGAAATATGATAGCATATTACTTTTTAACAAAGAAAAAA
ATCGTCCACATGACAAAAGAAAGTGGCTATTTTTTAAGTACTGATTCTGGTT
GGAAATTTAACTTTATGAAGTATCAAGACAGACAAATTGTCAGCACACTTT
ACACTGAACAAATGAAACCAGAAACCGTTGAAACCACAGTGACGACAGCA

CAGGAAACAAAGCGCGGGAGAATTCAAACATAAAAAGGAAGTGTCAATCAA
ATGTACTTTGCGGGACTTGGTTAGTAAAAGAGTAACATCACCTGAAGACTG
GATGATGTTACAACCAGATAGTTATATTGAAATGATGGCACAACCAGGAGG
TGAAAATCTTTTAAAAAATACACTTGAAATTTGTACTTTGACTTTAGCAAGA
ACAAAAACAGCATTTGAATTAATACTTGAAAAAGCAGATAATACTAAACTA
ACTAACTTTGATCTTGCAAATTCTAGAACATGTCAAATTTTTAGAAATGCACG
GATGGAATTGGATTAAAGTTTGTACGCTATAGCATGTGTTTTAAATAGACA
AGGTGGTAAAAGAAATACAGTTCTTTTTTCATGGACCAGCAAGTACAGGAAA
ATCTATCATTGCTCAAGCCATAGCACAAGCTGTGGGTAATGTTGGTTGTTAT
AATGCAGCAAATGTAAATTTTCCATTTAATGACTGTACCAATAAAAAATTTAA
TTTGGATTGAAGAAGCTGGTAACTTTGGTCAACAAGTTAATCAATTTAAAGC
AATTTGTTCTGGACAAACAATTAGAATTGATCAAAAAGGTAAAGGAAGTAA
GCAAATTGAACCAACTCCAGTAATTATGACAATAATGAAAATATAACAAT
TGTGAGAATTGGATGTGAAGAAAGACCTGAACATACACAACCAATAAGAG
ACAGAATGTTGAACATTAAGTTAGTATGTAAGCTTCCAGGAGACTTTGGTTT
GGTTGATAAAGAAGAATGGCCTTTAATATGTGCATGGTTAGTTAAACATGG
TTATGAATCAACCATGGCTAACTATACACATCATTGGGGAAAAGTACCAGA
ATGGGATGAAAACCTGGGCGGAGCCTAAAATACAAGAAGGTATAAATTCACC
AGTTTGCAAAGACTCAAAGACGCAAGCGGCAAGCAATCCTCAGAGTCAAG
ACCAAGTTCTAACTCCTCTGACTCCGGACGTAGTGGACCTTGCACTGGAACC
GTGGAGTACTCCAGATACGCCTATTGCAGAACTGCAAATCAACAATCAAA
CCAACCTTGGCGTTACTCACAAAGACGTGCAAGCGAGTCCAACGTGGTCCGA
AATAGAGGCAGACCTGAGAGCCATCTTTACCTCTGAACAATTGGAAGAAGA
TTTTCGAGACGACTTGGATTAAAGGTACGATGCCACCTCCGGCAAAGAGAGC
CAGGAGAGGTAAGGGTGTGTTAGTAAAGTGGGGGGAGGGGAAAGATTTAA
TAACTTAACTAAGTATGTGTTTTTTTATAGGACTTGTGCCTCAGGTTATAA
ATATCTTGGGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACTAACCCTTC
TGACGCCGCTGCAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGCTCT
GGTAAAAACCCATACTTATATTTCTCGCCAGCAGATCAACGCTTTATAGATC
AACTAAGGACGCTAAAGATTGGGGGGGGAAAATAGGACATTATTTTTTTA
GAGCTAAAAAGGCAATTGCTCCAGTATTAAGTATGATACACCAGATCATCCAT
CAACATCAAGACCAACAAAACCAACTAAAAGAAGTAAACCACCACCTCATA
TTTTTCATCAATCTTGCAAAAAAAAAAAAAAGCCGGTGCAGGACAAGTAAAAA
GAGACAATCTTGCACCAATGAGTGATGGAGCAGTTCAACCAGACGGTGGTC

AACCTGCTGTCAGAAATGAAAGAGCTACAGGATCTGGGAACGGGTCTGGAG
GCGGGGGTGGTGGTGGTTCTGGGGGTGTGGGGATTTCTACGGGTACTTTCA
ATAATCAGACGGAATTTAAATTTTTGGAAAACGGATGGGTGGAAATCACAG
CAAACCTCAAGCAGACTTGTACATTTAAATATGCCAGAAAGTGAAAATTATA
GAAGAGTGGTTGTAAATAATATGGATAAAACTGCAGTTAACGGAAACATGG
CTTTAGATGATATTCATGCACAAATTGTAACACCTTGGTCATTGGTTGATGC
AAATGCTTGGGGAGTTTGGTTTAATCCAGGAGATTGGCAACTAATTGTTAAT
ACTATGAGTGAGTTGCATTTAGTTAGTTTTGAACAAGAAATTTTTAATGTTG
TTTTAAAGACTGTTTCAGAATCTGCTACTCAGCCACCAACTAAAGTTTATAA
TAATGATTTAACTGCATCATTGATGGTTGCATTAGACAGTAATAATACTATG
CCATTTACTCCAGCAGCTATGAGATCTGAGACATTGGGTTTTTATCCATGGA
AACCAACCATAACCAACTCCATGGAGATATTATTTTCAATGGGATAGAACATT
AATACCATCTCATACTGGAAGTAGTGGCACACCAACAAATATATACCATGG
TACAGATCCAGATGATGTTCAATTTTACACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTG
CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAGGAACATTTTATTTTGATT
GTAAACCATGTAGACTAACACATACATGGCAAACAAATAGAGCATTGGGCT
TACCACCATTTCTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG
TGATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTAACCTCAAATGGGAAA
TACAAACTATATTACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTAT
AGTGCACCATATTATTCTTTTGAGGCGTCTACACAAGGGCCATTTAAACAC
CTATTGCAGCAGGACGGGGGGGAGCGCAAACATATGAAAATCAAGCAGCA
GATGGTGATCCAAGATATGCATTTGGTAGACAACATGGTCAAAAAACTACC
ACAACAGGAGAAACACCTGAGAGATTTACATATATAGCACATCAAGATACA
GGAAGATATCCAGAAGGAGATTGGATTCAAAATATTAACCTTAACCTTCCT
GTAACGAATGATAATGTATTGCTACCAACAGATCCAATTGGAGGTAAAACA
GGAATTAACCTATACTAATATATTTAATACTTATGGTCCTTTAACTGCATTAA
ATAATGTACCACCAGTTTATCCAAATGGTCAAATTTGGGATAAAGAATTTGA
TACTGACTTAAAACCAAGACTTCATGTAAATGCACCATTTGTTTGTCAAAT
AATTGTCCTGGTCAATTATTTGTAAAAGTTGCGCCTAATTTAACAAATGAAT
ATGATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTT
TTGGTGGAAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACT
TGGAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATG
TACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAG
CACCTAGAAAATTATACTAACATACTTACTATGGTTTTTATGTTTATTAAAT

ATCAACTAGCACCTAGAAAAATTATACTAACATACTTACTATGGTTTTTTATG
 TTTATTACATATTATTTTAAGATTAATTAAATACAGCATAGAAATATTGTAC
 TTGTATTTGATATAGGATTTAGAAGTTTGTATATGGTATACAATAACTGTA
 AGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTGTTTTATGAAATAC
 AATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTG
 ATATGGTATACAATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTA
 GTAGTTTGTGTTTTATAAAATGTATTGTAAACCATTAAATGTATGTTGTTATGGTG
 TGGGTGGTTGGTTGGTTTGGCCCTTAGAATATGTTAAGGACCAAAAAAATCA
 ATAAAAGACATTTAAAACTAAATGGCCTCGTATACTGTCTATAAGGTGAAC
 TAACCTTACCATAAGTATCAATCTTTGCGCCCTAATTTAACAAATGAATATG
 ATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTTTTG
 GTGGAAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACTTG
 GAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATGTA
 CCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAGCA
 CCTAGAAAATTATACTAACATCCCTAGA

Ek 4. TR.CPV.Samsun.04 (Genbank No: OR066203)

ATTCTTTAGAACCAACTGACCAAGTTCACGTACGTATGACGTGATGACCCGC
 TGC GCGCGCTGCCTACGGCAGTCACACGTCATACGTACGCTCCTTGGTCAGT
 TGGTTCTAAAGAATGATAGGCGGTTTGTGTGTTTAAACTTGGGCGGGAAAA
 GGTGGCGGGCTAATTGTGGGCGTGGTTAAAGGTATAAAAGACAAACCATAG
 ACCGTTACTGACATTGCTTCTTGTCTTTGACAGAGTGAACCTCTCTTACTCT
 GACTAACCAACCATGTCTGGCAACCAGTATACTGAGGAAGTTATGGAGGGA
 GTAAATTGGTTAAAGAAACATGCAGAAAATGAAGCATTTTCGTTTGTGTTTTA
 AATGTGACAACGTCCAATAAATGGAAGGATGTTTCGCTGGAACAACCTATA
 CCAAACCAATTCAAAATGAAGAGCTAACATCTTTAATTAGAGGAGCACAAA
 CAGCAATGGATCAAACCGAAGAAGAAGAAATGGACTGGGAATCAGAAGTT
 GATAGTCTCGCCAAAAAGCAAGTACAAACTTTTGATGCATTAATTAAAAAA
 TGTCTTTTTGAAGTCTTTGTTTCTAAAAATATAGAACCAAATGAATGTGTTT
 GGTATTATTCAACATGAATGGGGAAAAGATCAAGGCTGGCATTGTCATGTTTT
 ACTTCATAGTAAGAACTTACAACAAGCAACTGGTAAATGGCTACGCAGACA
 AATGAATATGTATTGGAGTAGATGGTTGGTGACTCTTTGTTTCGGTAAACTTA
 ACACCAACTGAAAAGATTAAGCTCAGAGAAATTGCAGAAGATAGTGAATG
 GGTGACTATATTAACATACAGACATAAGCAAACAAAAAAGACTATGTAA

AATGGTTCATTTTGGAAATATGATAGCATATTACTTTTAAACAAAGAAAAA
ATCGTCCACATGACAAAAGAAAGTGGCTATTTTTTAAGTACTGATTCTGGTT
GGAAATTTAACTTTATGAAGTATCAAGACAGACAAATTGTCAGCACACTTT
ACACTGAACAAATGAAACCAGAAACCGTTGAAACCACAGTGACGACAGCA
CAGGAAACAAAGCGCGGGAGAATTCAAACATAAAAGGAAGTGTCAATCAA
ATGTACTTTGCGGGACTTGGTTAGTAAAAGAGTAACATCACCTGAAGACTG
GATGATGTTACAACCAGATAGTTATATTGAAATGATGGCACAACCAGGAGG
TGAAAATCTTTTAAAAAATACACTTGAAATTTGTACTTTGACTTTAGCAAGA
ACAAAAACAGCATTTGAATTAATACTTGAAAAAGCAGATAATACTAACTA
ACTAACTTTGATCTTGCAAATTCTAGAACATGTCAAATTTTTAGAAATGCACG
GATGGAATTGGATTAAAGTTTGTACGCTATAGCATGTGTTTTAAATAGACA
AGGTGGTAAAAGAAATACAGTTCTTTTTCATGGACCAGCAAGTACAGGAAA
ATCTATCATTGCTCAAGCCATAGCACAAGCTGTGGGTAATGTTGGTTGTTAT
AATGCAGCAAATGTAAATTTTCCATTTAATGACTGTACCAATAAAAAATTTAA
TTTGGATTGAAGAAGCTGGTAACTTTGGTCAACAAGTTAATCAATTTAAAGC
AATTTGTTCTGGACAAACAATTAGAATTGATCAAAAAGGTAAAGGAAGTAA
GCAAATTGAACCAACTCCAGTAATTATGACAACTAATGAAAATATAACAAT
TGTGAGAATTGGATGTGAAGAAAGACCTGAACATACACAACCAATAAGAG
ACAGAATGTTGAACATTAAGTTAGTATGTAAGCTTCCAGGAGACTTTGGTTT
GGTTGATAAAGAAGAATGGCCTTTAATATGTGCATGGTTAGTTAAACATGG
TTATGAATCAACCATGGCTAACTATACACATCATTGGGGAAAAGTACCAGA
ATGGGATGAAAACCTGGGCGGAGCCTAAAATACAAGAAGGTATAAATTCACC
AGGTTGCAAAGACTCAAAGACGCAAGCGGCAAGCAATCCTCAGAGTCAAG
ACCAAGTTCTAACTCCTCTAACTCCGGACGTAGTGGACCTTGCACTGGAACC
GTGGAGTACTCCAGATACGCCTATTGCAGAACTGCAAATCAACAATCAAA
CCAACCTTGGCGTTACTCACAAAGACGTGCAAGCGAGTCCAACGTGGTCCGA
AATAGAGGCAGACCTGAGAGCCATCTTTACCTCTGAACAATTGGAAGAAGA
TTTTCGAGACGACTTGGATTAAGGTACGATGCCACCTCCGGCAAAGAGAGC
CAGGAGAGGTAAGGGTGTGTTAGTAAAGTGGGGGGAGGGGAAAGATTTAA
TAACTTAACTAAGTATGTGTTTTTTTATAGGACTTGTGCCTCCAGGTTATAA
ATATCTTGGGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACTAACCTTC
TGACGCCGCTGCAAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGCTCT
GGTAAAAACCCATACTTATATTTCTCGCCAGCAGATCAACGCTTTATAGATC
AACTAAGGACGCTAAAGATTGGGGGGGAAATAGGACATTATTTTTTTA

GAGCTAAAAAGGCAATTGCTCCAGTATTAAGTACACCAGATCATCCAT
CAACATCAAGACCAACAAAACCAACTAAAAGAAGTAAACCACCACCTCATA
TTTTCATCAATCTTGCAAAAAAAAAAAAAAGCCGGTGCAGGACAAGTAAAAA
GAGACAATCTTGACCAATGAGTGATGGAGCAGTTCAACCAGACGGTGGTC
AACCTGCTGTCAGAAATGAAAGAGCTACAGGATCTGGGAACGGGTCTGGAG
GCGGGGGTGGTGGTGGTTCTGGGGGTGTGGGGATTTCTACGGGTACTTTCA
ATAATCAGACGGAATTTAAATTTTTGGAAAACGGATGGGTGGAAATCACAG
CAAACCTCAAGCAGACTTGTACATTTAAATATGCCAGAAAGTGAAAATTATA
GAAGAGTGGTTGTAAATAATATGGATAAAACTGCAGTTAACGGAAACATGG
CTTTAGATGATATTCATGCACAAATTGTAACACCTTGGTCATTGGTTGATGC
AAATGCTTGGGGAGTTTGGTTTAATCCAGGAGATTGGCAACTAATTGTTAAT
ACTATGAGTGAGTTGCATTTAGTTAGTTTTGAACAAGAAATTTTAAATGTTG
TTTTAAAGACTGTTTCAGAACTCTGCTACTCAGCCACCAACTAAAGTTTATAA
TAATGATTTAACTGCATCATTGATGGTTGCATTAGACAGTAATAATACTATG
CCATTTACTCCAGCAGCTATGAGATCTGAGACATTGGGTTTTTATCCATGGA
AACCAACCATAACCAACTCCATGGAGATATTATTTTCAATGGGATAGAACATT
AATACCATCTCATACTGGAAGTAGTGGCACACCAACAAATATATACCATGG
TACAGATCCAGATGATGTTCAATTTTACACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTG
CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAGGAACATTTTATTTTGATT
GTAAACCATGTAGACTAACACATACATGGCAAACAAATAGAGCATTGGGCT
TACCACCATTTCTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG
TGATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTAACCTCAAATGGGAAA
TACAACTATATTACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTAT
AGTGCACCATATTATTCTTTTGAGGCGTCTACACAAGGGCCATTTAAAACAC
CTATTGCAGCAGGACGGGGGGGAGCGCAAACATATGAAAATCAAGCAGCA
GATGGTGATCCAAGATATGCATTTGGTAGACAACATGGTCAAAAAACTACC
ACAACAGGAGAAACACCTGAGAGATTTACATATATAGCACATCAAGATACA
GGAAGATATCCAGAAGGAGATTGGATTCAAAATATTAACTTTAACCTTCCT
GTAACGAATGATAATGTATTGCTACCAACAGATCCAATTGGAGGTAAAACA
GGAATTAACCTATACTAATATATTTAATACTTATGGTCCTTTAACTGCATTAA
ATAATGTACCACCAGTTTATCCAAATGGTCAAATTTGGGATAAAGAATTTGA
TACTGACTTAAAACCAAGACTTCATGTAAATGCACCATTTGTTTGTCAAAT
AATTGTCCTGGTCAATTATTTGTAAAAGTTGCGCCTAATTTAACAAATGAAT
ATGATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTT

TTGGTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACT
 TGGAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATG
 TACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAG
 CACCTAGAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTTATGTTTATTACATA
 TCAACTAGCACCTAGAAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTTATGT
 TTATTACATATTATTTTAAGATTAATTAATACAGCATAGAAATATTGTACT
 TGTACTTGATATAGGATTTAGAAGTTTGTTAGATGGTATACAATAACTGTAA
 GAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTTTTATAAAATGCA
 TTAAGTGTAAAATATAGTAGAACATTTATATCATATTTAGAAGGTTTGTTAT
 ATGGTATACAATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGT
 AGTTTGTTTTATAAAATGTATTGTAAACCATTAATGTATGTTGTTATGGTGTG
 GGTGGTTGGTTGGTTTGCCCTTAGAATATGTTAAGGACCAAAAAAATCAAT
 AAAAGACATTTAAAACTAAATGGCCTCGTATACTGTCTATAAGGTGAACTA
 ACCTTACCATAAGTATCAATCTTTGCGAAATAATTTAACAAATGAATATGAT
 CCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTTTTGGT
 GGAAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACTTGGA
 ATCCAATTCAACAAATGAGTATCAATGTAGATAACCAATTTAACTATGTACC
 AAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCCACTAGCACC
 TAGAAAATTAAATTAACATCTCTAGA

Ek 5. TR.CPV.Samsun.05 (Genbank No: OR066204)

ATTCTTTAGAACCAACTGACCAAGTTCACGTACGTATGACGTGATGACCCGC
 TGC GCGCGCTGCCTACGGCAGTCACACGTCATACGTACGCTCCTTGGTCAGT
 TGGTTCTAAAGAATGATAGGCGGTTTGTGTGTTTAACTTGGGCGGGAAAA
 GGTGGCGGGCTAATTGTGGGCGTGGTTAAAGGTATAAAAGACAAACCATAG
 ACCGTTACTGACATTCGCTTCTTGTCTTTGACAGAGTGAACCTCTCTTACTCT
 GACTAACCAACCATGTCTGGCAACCAGTATACTGAGGAAGTTATGGAGGGA
 GTAAATTGGTTAAAGAAACATGCAGAAAATGAAGCATTTTCGTTTGTTTTTA
 AATGTGACAACGTCCAATAATGGAAGGATGTTTCGCTGGAACAATACTATA
 CCAAACCAATTCAAAATGAAGAGCTAACATCTTTAATTAGAGGAGCACAAA
 CAGCAATGGATCAAACCGAAGAAGAAGAAATGGACTGGGAATCGGAAGTT
 GATAGTCTCGCCAAAAAGCAAGTACAACTTTTGATGCATTAATTAAAAAA
 TGTCTTTTTGAAGTCTTTGTTTCTAAAAATATAGAACCAATGAATGTGTTT
 GGTTTATTCAACATGAATGGGGAAAAGATCAAGGCTGGCATTGTCATGTTTT

ACTTCATAGTAAGAACTTACAACAAGCAACTGGTAAATGGCTACGCAGACA
AATGAATATGTATTGGAGTAGATGGTTGGTGACTCTTTGTTTCGGTAAACTTA
ACACCAACTGAAAAGATTAAGCTCAGAGAAATTGCAGAAGATAGTGAATG
GGTGACTATATTAACATACAGACATAAGCAAACAAAAAAGACTATGTAA
AATGGTTCATTTTGGAAATATGATAGCATATTACTTTTTTAACAAAGAAAAA
ATTGTCCACATGACAAAAGAAAGTGGCTATTTTTTAAGTACTGATTCTGGTT
GGAAATTTAACTTTATGAAGTATCAAGACAGACAAATTGTCAGCACACTTT
ACACTGAACAAATGAAACCAGAAACCGTTGAAACCACAGTGACGACAGCA
CAGGAAACAAAGCGCGGGAGAATTCAAACATAAAAAGGAAGTGTCAATCAA
ATGTACTTTGCGGGACTTGGTTAGTAAAAGAGTAACATCACCTGAAGACTG
GATGATGTTACAACCAGATAGTTATATTGAAATGATGGCACAACCAGGAGG
TGAAAATCTTTTAAAAAATACACTTGAAATTTGTACTTTGACTTTAGCAAGA
ACAAAAACAGCATTTGAATTAATACTTGAAAAAGCAGATAATACTAAACTA
ACTAACTTTGATCTTGCAAATTCTAGAACATGTCAAATTTTTAGAAATGCACG
GATGGAATTGGATTAAAGTTTGTACGCTATAGCATGTGTTTTAAATAGACA
AGGTGGTAAAAGAAATACAGTTCTTTTTCATGGACCAGCAAGTACAGGAAA
ATCTATCATTGCTCAAGCCATAGCACAAGCTGTGGGTAATGTTGGTTGTTAT
AATGCAGCAAATGTAAATTTTCCATTTAATGACTGTACCAATAAAAATTTAA
TTTGGATTGAAGAAGCTGGTAACTTTGGTCAACAAGTTAATCAATTTAAAGC
AATTTGTTCTGGACAAACAATTAGAATTGATCAAAAAGGTAAAGGAAGTAA
GCAAATTGAACCAACTCCAGTAATTATGACAATAATGAAAATATAACAAT
TGTGAGAATTGGATGTGAAGAAAGACCTGAACATACACAACCAATAAGAG
ACAGAATGTTGAACATTAAGTTAGTATGTAAGCTTCCAGGAGACTTTGGTTT
GGTTGATAAAGAAGAATGGCCTTTAATATGTGCATGGTTAGTTAAACATGG
TTATGAATCAACCATGGCTAACTATACACATCATTGGGGAAAAGTACCAGA
ATGGGATGAAAACCTGGGCGGAGCCTAAAATACAAGAAGGTATAAATTCACC
AGGTTGCAAAGACTTAGAGACGCAAGCGGCAAGCAATCCTCAGAGTCAAG
ACCAAGTTCCAACCTCCTCTGACTCCGGACGTAGTGGACCTTGCACTGGAACC
GTGGAGTACTCCAGATACGCCTATTGCAGAACTGCAAATCAACAATCAAA
CCAACCTTGGCGTTACTCACAAAGACGTGCAAGCGAGTCCAACGTGGTCCGA
AATAGAGGCAGACCTGAGAGCCATCTTTACTTCTGAACAATTGGAAGAAGA
TTTTCGAGACGACTTGGATTAAAGGTACGATGGCACCTCCGGCAAAGAGAGC
CAGGAGAGGTAAGGGTGTGTTAGTGAAGTGGGGGGAGGGGAAGAATTTAA
TGACTTAACTAAGTATGTGTTTTTTTATAGGACTTGTGCCTCCAGGTTATAA

ATATCTTGGGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACTAACCCCTTC
TGACGCCGCTGCAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGCTCT
GGTAAAAACCCATACTTATATTTCTCGCCAGCAGATCAACGCTTTATAGATC
AAACTAAGGACGCTAAAGATTGGGGGGGGAAAATAGGACATTATTTTTTTTA
GAGCTAAAAAGGCAATTGCTCCAGTATTAAGTACACACCAGATCATCCAT
CAACATCAAGACCAACAAAACCAACTAAAAGAAGTAAACCACCACCTCATA
TTTTCATCAATCTTGCAAAAAAAAAAAAAAGCCGGTGCAGGACAAGTAAAAA
GAGACAATCTTGACCAATGAGTGATGGAGCAGTACAACCAGACGGTGGTC
AACCTGCTGTCAGAAATGAAAGAGCTACAGGATCTGGGAACGGGTCTGGAG
GCGGGGGTGGTGGTGGTTCTGGGGGTGTGGGGATTTCTACGGGTACTTTCA
ATAATCAGACGGAATTTAAATTTTTGGAAAACGGATGGGTGGAAATCACAG
CAAACCTCAAGCAGACTTGTACATTTAAATATGCCAGAAAGTGAAAATTATA
GAAGAGTGGTTGTAAATAATATGGATAAACTGCAGTTAACGGAAACATGG
CTTTAGATGATATTCATGCACAAATTGTAACACCTTGGTCATTGGTTGATGC
AAATGCTTGGGGAGTTTGGTTTAATCCAGGAGATTGGCAACTAATTGTTAAT
ACTATGAGTGAGTTGCATTTAGTTAGTTTTGAACAAGAAATTTTTAATGTTG
TTTTAAAGACTGTTTCAGAATCTGCTACTCAGCCACCAACTAAAGTTTATAA
TAATGATTTAACTGCATCATTGATGGTTGCATTAGATAGTAATAATACCATG
CCATTTACTCCAGCAGCTATGAGATCTGAGACATTGGGTTTTTATCCATGGA
AACCAACCATAACCAACTCCATGGAGATATTATTTTCAATGGGATAGAACATT
AATACCATCTCATACTGGAAGTAGTGGCACACCAACAAATATATACCATGG
TACAGATCCAGATGATGTTCAATTTTACACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTA
CACCTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAGGAACATTTTATTTTGATT
GTAAACCATGTAGACTAACACACACATGGCAAACAAATAGAGCATTGGGCT
TACCACCATTTCTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG
TGATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTAACCAATGGGAAA
TACAACTATATTACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTAT
AGTGCACCATATTATTCTTTTGAGGCGTCTACACAAGGGCCATTTAAAACAC
CTATTGCAGCAGGACGGGGGGGAGCGCAAACATATGAAAATCAAGCAGCA
GATGGTGATCCAAGATATGCATTTGGTAGACAACATGGTCAAAAACTACC
ACAACAGGAGAAACACCTGAGAGATTTACATATATAGCACATCAAGATACA
GGAAGATATCCAGAAGGAGATTGGATTCAAAATATTAACTTTAACCTTCCT
GTAACGAATGATAATGTATTGCTACCAACAGATCCAATTGGAGGTAAAACA
GGAATTAACCTATACTAATATATTTAATACTTATGGTCCTTTAACTGCATTAA

ATAATGTACCACCAGTTTATCCAAATGGTCAAATTTGGGATAAAGAATTTGA
 TACTGACTTAAAACCAAGACTTCATGTAAATGCACCATTTGTTTGTCAAAT
 AATTGTCCTGGTCAATTATTTGTAAAAGTTGCGCCTAATTTAACAAATGAAT
 ATGATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTT
 TTGGTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACT
 TGGAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATG
 TACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAG
 CACCTAGAAAATTATACTAACATACTTACTATGGTTTTTATGTTTATTACATA
 TCAACTAGCACCTAGAAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTATGT
 TTATTACATATTATTTTAAGATTAATTAAATACAGCATAGAAATATTGTACT
 TGTATTTGATATAGGATTTAGAAGTTTGTTAGATGGTATACAATAACTGTAA
 GAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTTAGATGGTATAC
 AATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTT
 ATATGGTATACAATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTA
 GTAGTTTGTTTTATAAAATGTATTGTAAACCATTAATGTATGTTGTTATGGTG
 TGGGTGGTTGGTTGGTTTGCCCTTAGAATATGTTAAGGACCAAAAAAATCA
 ATAAAAGACATTTAAAATAAATGGCCTCGTATACTGTCTATAAGGTGAAC
 TAACCTTACCATAAGTATCAATCTTTGCGCCCTAATTTAACAAATGAATATG
 ATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTTACTCAGATTTTTG
 GTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACTTG
 GAATCCAATTCAACAAATGAGTATTAATGTAGATAACCAATTTAACTATGTA
 CCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAGCA
 CCTAGAAAATTATACTAACATACTTACT

Ek 6. TR.CPV.Samsun.06 (Genbank No: OR066205)

ATTCTTTAGAACCAACAAACCAATTCACGTACGTATGACGTGATGACCCG
 CTGCGCGCGCTGCCTACGGCAGTCACACATCATACGTACGCTCCTTGGTCAG
 TTGGTTCTAAAGAATGATAGGCGGTTTGTGTGTTTAACTTGGGCGGGAAA
 AGGTGGCGGGCTAATTGTGGGCGTGTTAAAGGTATAAAAGACAAACCATA
 GACCGTTACTGACATTCGCTTCTTGTCTTTGACAGAGTGAACCTCTCTTACTC
 TGAATAACCAACCATGTCTGGCAACCAGTATACTGAGGAAGTTATGGAGGG
 AGTAAATTGGTTAAAGAAACATGCAGAAAATGAAGCATTTTCGTTTGTTTTT
 AAATGTGACAACGTCCAATAAATGGAAAGGATGTTTCGCTGGAACAACAT
 ACCAAACCAATTCAAAATGAAGAGCTAACATCTTTAATTAGAGGAGCACAA

ACAGCAATGGATCAAACCGAAGAAGAAGAAATGGACTGGGAATCGGAAGT
TGATAGTCTCGCCAAAAAGCAAGTACAACTTTTGATGCATTAATTA
ATGTCTTTTTGAAGTCTTTGTTTCTAAAAATATAGAACCAAATGAATGTGTT
TGGTTTATTCAACATGAATGGGGAAAAGATCAAGGCTGGCATTGTCATGTTT
TACTTCATAGTAAGAACTTACAACAAGCAACTGGTAAATGGCTACGCAGAC
AAATGAATATGTATTGGAGTAGATGGTTGGTGACTCTTTGTTCCGGTAAACCT
AACACCAACTGAAAAGATTAAGCTCAGAGAAATTGCAGAAGATAGTGAAT
GGGTGACTATATTAACATACAGACATAAGCAAACAAAAAAGACTATGTTA
AAATGGTTCATTTTGGAATATGATAGCATATTACTTTTTAACAAAGAAAAA
AATTGTCCACATGACAAAAGAAAGTGGCTATTTTTTAAGTACTGATTCTGGT
TGGAAATTTAACTTTATGAAGTATCAAGACAGACAAATTGTCAGCACACTTT
ACACTGAACAAATGAAACCAGAAACCGTTGAAACCACAGTGACGACAGCA
CAGGAAACAAAGCGCGGGAGAATTCAAACCTAAAAAGGAAGTGTCAATCAA
ATGTACTTTGCGGGACTTGGTTAGTAAAAGAGTAACATCACCTGAAGACTG
GATGATGTTACAACCAGATAGTTATATTGAAATGATGGCACAACCAGGAGG
TGAAAATCTTTTAAAAAATACACTTGAAATTTGTACTTTGACTTTAGCAAGA
ACAAAAACAGCATTTGAATTAATACTTGAAAAAGCAGATAATACTAACTA
ACTAACTTTGATCTTGCAAATTCTAGAACATGTCAAATTTTTAGAAATGCACG
GATGGAATTGGATTAAAGTTTGTACGCTATAGCATGTGTTTTAAATAGACA
AGGTGGTAAAAGAAATACAGTTCTTTTTTCATGGACCAGCAAGTACAGGAAA
ATCTATCATTGCTCAAGCCATAGCACAAGCTGTGGGTAATGTTGGTTGTTAT
AATGCAGCAAATGTAAATTTTCCATTTAATGACTGTACCAATAAAAAATTTAA
TTTGGATTGAAGAAGCTGGTAACTTTGGTCAACAAGTTAATCAATTTAAAGC
AATCTGTTCTGGACAAACAATTAGAATTGATCAAAAAGGTAAAGGAAGTAA
GCAAATTGAACCAACTCCAGTAATTATGACAATAATGAAAATATAACAAT
TGTGAGAATTGGATGTGAAGAAAGACCTGAACATACACAACCAATAAGAG
ACAGAATGTTGAACATTAAGTTAGTATGTAAGCTTCCAGGAGACTTTGGTTT
GGTTGATAAAGAAGAATGGCCTTTAATATGTGCATGGTTAGTTAAACATGG
TTATGAATCAACCATGGCTAACTATACACATCATTGGGGAAAAGTACCAGA
ATGGGATGAAAACCTGGGCGGAGCCTAAAATACAAGAAGGTATAAATTCACC
AGGTTGCAAAGACTTAAAGACACAAGCGGCAAGCAATCCTCAGAGTCAAG
ACCAAGTTCTAACTCCTCTGACTCCGGACGTAGTGGACCTTGCACTGGAACC
GTGGAGTACTCCAGATACGCCTATTGCAGAACTGCAAATCAACAATCAAA
CCAACCTTGGCGTTACTCACAAAGACGTGCAAGCGAGTCCAACGTGGTCCGA

AATAGAGGCAGACCTGAGAGCCATCTTTACTTCTGAACAATTGGAAGAAGA
TTTTTCGAGACGACTTGGATTAAGGTACGATGGCACCTCCGGCAAAGAGAGC
CAGGAGAGGTAAGGGTGTGTTAGTAAAGTGGGGGGAGGGGAAAGATTTAA
TGACTIONACTAAGTATGTGTTTTTTTTATAGGACTTGTGCCTCCAGGTTATAA
ATATCTTGGGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACTAACCTTC
TGACGCCGCTGCAAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGCTCT
GGTAAAAACCCATACTTATATTTCTCGCCAGCAGATCAACGCTTTATAGATC
AAACTAAGGACGCTAAAGATTGGGGGGGGGAAAATAGGACATTATTTTTTTA
GAGCTAAAAAGGCAATTGCTCCAGTATTAAGTATACACCAGATCATCCAT
CAACATCAAGACCAACAAAACCAACTAAAAGAAGTAAACCACCACCTCATA
TTTTTCATCAATCTTGCAAAAAAAAAAAAAAGCCGGTGCAGGACAAGTAAAAA
GAGACAATCTTGCACCAATGAGTGATGGAGCAGTTCAACCAGACGGTTGTC
AACCTGCTGTCAGAAATGAAAGAGCTACAGGATCTGGGAACGGGTCTGGAG
GCGGGGGTGGTGGTGGTTCTGGGGGTGTGGGGATTTCTACGGGTACTTTCA
ATAATCAGACGGAATTTAAATTTTTTGGAACCGGATGGGTGGAAATCACAG
CAAACCTCAAGCAGACTTGTACATTTAAATATGCCAGAAAGTGAAAATTATA
GAAGAGTGGTTGTAAATAATATGGATAAAACTGCAGTTAACGGAAACATGG
CTTTAGATGATATTCATGCACAAATTGTAACACCTTGGTCATTGGTTGATGC
AAATGCTTGGGGAGTTTGGTTTAATCCAGGAGATTGGCAACTAATTGTTAAT
ACTATGAGTGAGTTGCATTTAGTTAGTTTTGAACAAGAAATTTTTAATGTTG
TTTTAAAGACTGTTTCAGAATCTGCTACTCAGCCACCAACTAAAGTTTATAA
TAATGATTTAACTGCATCATTGATGGTTGCATTAGACAGTAATAATACTATG
CCATTTACTCCAGCAGCTATGAGATCTGAGACATTGGGTTTTTATCCATGGA
AACCAACCATAACCAACTCCATGGAGATATTATTTTCAATGGGATAGAACATT
AATACCATCTCATACTGGAAGTGGTGGCACACCAACAAATATATACCATGG
TACAGATCCAGATGATGTTCAATTTTACACTATTGAAAATTCTGTGCCAGTG
CACTTACTAAGAACAGGTGATGAATTTGCTACAGGAACATTTTATTTTGATT
GTAAACCATGTAGACTAACACATACATGGCAAACAAATAGAGCATTGGGCT
TACCACCATTTCTAAATTCTTTGCCTCAATCTGAAGGAGCTACTAACTTTGG
TGATATAGGAGTTCAACAAGATAAAAGACGTGGTGTGACTCAAATGGGAAA
TACAACTATATTACTGAAGCTACTATTATGAGACCAGCTGAGGTTGGTTAT
AGTGCACCATATTATTCTTTTGAGGCATCTACACAAGGGCCATTTAAAACAC
CTATTGCAGCAGGACGGGGGGGAGCGCAAACAGATGAAAATCAAGCAGCA
GATGGTGATCCAAGATATGCATTTGGTAGACAACATGGTCAAAAAACTACC

ACAACAGGAGAAACACCTGAGAGATTTACATATATAGCACATCAAGATACA
GGAAGATATCCAGAAGGAGATTGGATTCAAAATATTAACCTTTAACCTTCCT
GTAACGAATGATAATGTATTGCTACCAACAGATCCAATTGGAGGTAAAACA
GGAATTAACCTATACCAATATATTTAATACTTATGGTCCTTTAACTGCATTAA
ATAATGTACCACCAGTTTATCCAAATGGTCAAATTTGGGATAAAGAATTTGA
TACTGACTTAAAACCAAGACTTCATGTAAATGCACCATTTGTTTGTCAAAAT
AATTGTCCTGGTCAATTATTTGTAAAAGTTGCGCCTAATCTAACAAATGAAT
ATGATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTACTCAGATTT
TTGGTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACT
TGGAATCCAATTCAACAAATGAGTATCAATGTAGATAACCAATTTAACTAT
GTACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTA
GCACCTAGAAAATTATATTAACATACTTACTATGGTTTTTATGTTTTTTTAAT
TTCCACTACCACCTGGAAAAATTAAATTAAAAAACTTACTATGGTTTTTATG
TTTATTACATATTATTTTAAGATTAATTAATAACAGCATAGAAATATTGTAC
GCGTATTTGATATAGGATTTAGAAGTTTGTTAGATGGTATACAATACCTGTA
AGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTAGTAGGTTTGTTATATGATATA
AAATAACTGTAAGAAGTAGTAGAACATTTATATCATAGTTAGTAGGTTTGTT
ATATGGTATACAATAACTGTAAGAAATAGAAGAACATTTAGATCATAGTTA
GTAGTTTGTTTTATAAAATGTATTGTAAACCATTAATGTATGTTGTTATGGTG
TGGGTGGTTGGTTGGTTTGCCCTTAGAATATGTTAAGGACCAAAAAAATCA
ATAAAAGACATTTAAAACTAAATGGCCTCGTATACTGTCTATAAGGTGAAC
TAACCTTACCATCAGTATCAATCGTTGCGCCCTAATTTAACAAATGAATATG
ATCCTGATGCATCTGCTAATATGTCAAGAATTGTAACCTACTCAGATTTTTG
GTGGAAGGTAAATTAGTATTTAAAGCTAAACTAAGAGCCTCTCATACTTG
GAATCCAATTCAACAAATGAGTATCAATGTAGATAACCAATTTAACTATGT
ACCAAGTAATATTGGAGGTATGAAAATTGTATATGAAAAATCTCAACTAGC
ACCTAGAAAATTATATTAACATCTCTAGA

ÖZ GEÇMİŞ

Hanne Nur KURUÇAY, Amasya Alptekin Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden 30.05.2018 tarihinde mezun oldu. 19.07.2018 yılında OMÜ Veteriner Fakültesi Viroloji Ana Bilim Dalı Doktora programına girdi. Mezuniyetinden bu yana Araştırma Görevlisi olarak görev yapan H.K iyi/orta derecede İngilizce bilmektedir (YÖKDİL:75, 2022).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0001-5157-2090

Yayınlar:

1. Kurucay HN, Tamer C, Muftuoglu B, Elhaq AE, Gozel S, Cicek Y, Demirtaş S, Ozan E, Albayrak H, Gumusova S, Yazıcı Z First isolation and molecular characterization of canine parvovirus-type 2b (CPV-2b) from red foxes (*Vulpes vulpes*) living in the wild habitat of Turkey, *Virology Journal*, 20, 1, 2 / 2023
2. Kadi H, Kurucay HN, Elhag AE, Dogan F, Yildirim S, Tutuncu H, Muftuoglu B, Tamer C, Gumusova S, Yazici Z, Mesquita JR, Albayrak H A one year extensive molecular survey on SARS-CoV-2 in companion animal of Turkey shows a lack of evidence for viral circulation in pet dogs and cats, *Veterinary and Animal Science*, 19, 1, 3 / 2023
3. Taskin MH, Tamer C, Muftuoglu B, Ozan E, Kilic SS, Akkoyunlu GK, Kurucay HN, Albayrak H, Igde M, Mesquita JR, Elhag AE, Gumusova S, Yazici Z The first serological detection of West Nile virus infection among residents living in northern Turkey, *Journal of Vector Borne Disease*, 12 / 2022
4. Taskin MH, Kurucay HN, Kadi H, Tamer C, Ozan E, Muftuoglu B, Albayrak H, Gumusova S, Igde M, Elhag AE, Yazıcı Z Infectivity and Replication Inhibition Effect of 5-Fluorouracil on Herpes Simplex Virus Type-1 Associated with Mutations in Thymidine Kinase Gene, *Farmacia*, 70, 6, 12 / 2022, 10.31925/farmacia.2022.6.14
5. Tamer C, Benkaroun J, Kurucay HN, Albayrak H, Weidmann M. Development of a Recombinase Polymerase Amplification Assay for Viral Hemorrhagic Septicemia Virus, *Journal of Fish Diseases*, 5, 4 / 2022,

6. Muftuoglu B, Kurucay HN, Elhag AE, Yildirim S, Cicek Y, Tamer C, Ozan E, Sahna KC, Yildirim Y, Albayrak H, Gumusova S, Yazici Z A serosurvey for Bovine respirovirus 3 in Turkish domestic ruminants: The first comparison study of A and C genotypes, *Veterinary Medicine and Science*, 6 / 2021
7. Albayrak H, Sahindokuyucu I, Muftuoglu B, Tamer C, Kadi H, Ozan E, Yilmaz O, Kilic H, Kurucay HN, Coven F, Gumusova S, Yazici Z, Elhaq AE Sentinel serosurveillance of backyard hens proved West Nile virus circulation in the western provinces of Turkey, *Veterinary Medicine and Science*, 6 / 2021
8. Ozan E, Muftuoglu B, Sahindokuyucu I, Kurucay HN, Inal S, Kuruca N, Elhag AE, Karaca E, Tamer C, Gumusova S, Albayrak H, Barry G, Gulbahar MY, Yazici Z Marek's disease virus in vaccinated poultry flocks in Turkey: its first isolation with molecular characterization, *Archives of Virology*, 1 / 2021, 10.1007/s00705-020-049436
9. Albayrak H, Tamer C, Ozan E, Muftuoglu B, Kadi H, Dogan F, Akman A, Cagırgan AA, Eisa AA, Kurucay HN, Gumusova S, Yazici Z Molecular identification and phylogeny of bovine herpesvirus-1(BoHV-1) from cattle associated with respiratory disorders and death in Turkey, *Medycyna Weterynaryjna*, 76, 6, 6 / 2020
10. Yazici Z, Ozan E, Tamer C, Muftuoglu B, Barry G, Kurucay HN, Elhag AE, Cagırgan AA, Gumusova S, Albayrak H Circulation of Indigenous Bovine Respiratory Syncytial Virus Strains in Turkish Cattle: The First Isolation and Molecular Characterization, *Animals*, 10, 9, 9 / 2020

Derleme

1. Kurucay HN, Gümüşova S. Feline İnfeksiyöz Peritonitise Genel Bakış ve Antiviral Yaklaşımlar, 3, 1, 9 / 2021