



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**KEDİLERDE GÖRÜLEN RETROVİRUS
ENFEKSİYONLARININ (FIV, FeLV, FFV)
MOLEKÜLER OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Bahattin Taylan KOÇ

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU

ANKARA

2018

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEDİLERDE GÖRÜLEN RETROVİRUS
ENFEKSİYONLARININ (FIV, FeLV, FFV)
MOLEKÜLER OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Bahattin Taylan KOÇ

**VİROLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün

16L0239003 proje numarası ile desteklenmiştir

ANKARA

2018

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kedilerde Görülen Retrovirus Enfeksiyonlarının (FIV, FeLV, FFV) Moleküler Olarak Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Bahattin Taylan KOÇ

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Viroloji Anabilim Dalında Bahattin Taylan KOÇ tarafından hazırlanan

“Kedilerde Görülen Retrovirus Enfeksiyonlarının (FIV, FeLV, FFV) Moleküler Olarak Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır

İmza
Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.2. Amaç ve Kapsam	4
1.3. Feline Immunodeficiency Virus (FIV)	6
1.3.1. Etiyoloji	6
1.3.2. Retrovirus Replikasyon Siklusu	10
1.3.3. Epidemiyoloji	14
1.3.4. Patogenez/Klinik	16
1.3.5. Tanı	18
1.3.6. Desteleyici Tedavi	19
1.3.7. Korunma	19
1.4. Feline Leukemia Virus (FeLV)	20
1.4.1. Etiyoloji	20
1.4.2. Epidemiyoloji	22
1.4.3. Patogenez/Klinik	22
1.4.4. Tanı	24
1.4.5. Korunma	26
1.5. Feline Foamy Virus (FFV)	27
1.5.1. Etiyoloji	27
1.5.2. Epidemiyoloji	28
1.5.3. Patogenez/Klinik	28
1.5.4. Tanı	29
1.5.5. Korunma	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Gereç	31
2.1.2. Virus ve İnternal Kontroller	31
2.1.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler	31
2.1.4. Kitler	32
2.1.5. Cihazlar	32
2.2. Yöntem	33
2.2.1. Kan Numunelerinin Hazırlanması	33
2.2.2. Organ ve Asites Numunelerinin Hazırlanması	33
2.2.3. Viral Nükleik Asit İzolasyonu	34
2.2.4. Viral RNA'nın Reverz Transkripsiyonu (RT)	35
2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	36
2.2.5.1.FIV Tanısı ve Moleküler Karakterizasyonuna Yönelik PCR	36
2.2.5.2.FeLV tanısı ve moleküler karakterizasyonuna yönelik PCR	37

2.2.5.3.FFV tanısı ve moleküler karakterizasyonuna yönelik PCR	39
2.2.6. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi	40
2.2.7. Amplikonların Purifikasyonu	41
2.2.8. Dizin Analizi	42
2.2.9. Moleküler in silico analiz, Karakterizasyon ve Filogenetik Ağaç Oluşturulması	42
3. BULGULAR	44
3.1. FIV Tanısı ve Moleküler Karakterizasyon Sonuçları	44
3.2. FeLV tanısı ve moleküler karakterizasyonu	51
3.3. FFV tanısı ve moleküler karakterizasyonu	53
3.4. Elde Edilen Epidemiyolojik Veriler Ve İstatistiksel Analizleri	56
3.4.1. FIV için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu	59
3.4.2. enFeLV için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu	59
3.4.3. FFV için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu	60
3.4.4. Çoklu (Multi) Enfeksiyon için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu	61
4. TARTIŞMA	62
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
ÖZET	74
SUMMARY	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	86
Ek-1. Etik Kurul Raporu	86
Ek-2. GenBank Accession Numaraları	88
Ek-3. Feline Retrovirus pozitif bulunan kedilere ait özellikler	90
ÖZGEÇMİŞ	91

ÖNSÖZ

Parazitizm, büyük biyolojik fenomenlerin itici gücüdür. Genomdan ekosistem seviyesine, bir virus, nematod ya da bir parazit DNA'sı ile karşılaşmadan hayatını devam ettirebilen bir bağışıklık sistemi veya organizma yoktur. Her ne kadar bu parazitler, enfekte ettikleri organizmayı kendi yararlarına kullansalar da zamanla yavaş yavaş bu yapının deregülasyonuna sebep olurlar ve etkileri, uzun vadede bireylerin yaşamlarını sonlandırabilir.

Bu tez konusu; kedilerde aynı zamanda bir mikro parazit olan Retrovirusların (Feline Immunodeficiency Virus-FIV, Feline Leukemia Virus-FeLV, Feline Foamy Virus-FFV) ülkemizdeki kedilerde varlığı/yaygınlığı hakkındaki bilgilerin araştırılmasına yönelik olup; moleküler veriler ışığında sahada sirküle olan Retrovirus tipleri, virus-konakçı ilişkisi yönünden tekli veya birlikte bulunmasının klinik tabloya etkileri, enfekte kedilerdeki yaş, cinsiyet, Retrovirus dahili veya harici diğer enfeksiyonlar yönünden aşılı ve/veya aşısız olma durumları, klinik tablolu ve/veya sağlıklı görünümlü gibi kriterler göz önüne alınarak anılan olguların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı yönünden bir araştırmayı içermektedir.

Toplamda 200 evcil kedinin Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu izni (No: 2015-17-192) ile örneklendiği bu araştırma kapsamında; FIV yönünden %10.5, FeLV yönünden %14, FFV yönünden %10 pozitiflik tespit edilmiş olup, tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün 16L0239003 proje numarası ile desteklenmiştir.

Doktora eğitimim boyunca Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarını kullanım izni veren ve akademik olarak her türlü desteğini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yılmaz AKÇA'ya, tez çalışmalarım dahil akademik hayata geçtiğim günden bu yana desteklerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Tuba Çiğdem OĞUZOĞLU'na, lisansüstü eğitimim

süresince yardımlarını esirgemeyen değerli Viroloji Anabilim Dalı üyeleri, Prof. Dr. Feray ALKAN'a, Prof. Dr. Aykut ÖZKUL'a, Prof. Dr. Seval BİLGE DAĞALP'e, Prof. Dr. Mehmet Taner KARAOĞLU'na; ayrıca tez izleme komitesi ve tez savunma sınavı jüri üyesi Prof. Dr. Hakan YARDIMCI'ya, tez savunma sınavı jüri üyesi olmakla beraber akademik hayata geçişte ve her türlü platformda desteğini esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet Tolga TAN'a, çalışmalarında çok değerli bilgilerinden ve katkılarından dolayı ve tez savunma sınavı jüri üyesi Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Veysel Soydal ATASEVEN'e ve tez çalışmamın istatistiksel değerlendirmesinde desteklerinden dolayı Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca doktora eğitimim boyunca beraber mesai paylaştığım ve akademik hayatta daha nice beraber aynı platformları paylaşacağımıza inandığım; başta Arş. Gör. Dr. Nüvit COŞKUN ve Arş. Gör. Dr. Fırat DOĞAN olmak üzere, Arş. Gör. Dr. Ayşe Zeynep AKKUTAY'a, Arş. Gör. Dr. İlke Karayel HACIOĞLU'na ve anabilim dalı tüm araştırma görevlileri ile lisansüstü öğrencilerine; ayrıca Mihrime TÜSÜZ olmak üzere anabilim dalımızın idari personeline teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi akademik süreçte de bana karşılıksız maddi manevi desteklerinden dolayı Babam Veteriner Hekim Hacı KOÇ'a ve Annem Ayşe Gönül KOÇ'a, kendi yoğun akademik çalışması yanı sıra bana her zaman varlığını hissettirip desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kardeşim Hande KOÇ'a

Ve son olarak herşeyden değerli, büyük fedakarlık göstererek kendi kariyerinden vazgeçen ve benim bu yolda sorunsuzca ilerlememi sağlayan, eşim Zerrin KOÇ'a; hayatın asıl anlamları olduğuna inandığım ve ister istemez bu süreçte ihmal ettiğim evlatlarım Ege KOÇ ve Talya KOÇ'a sabırları, destekleri ve sevgileri için sonsuz ve hiç bitmeyen teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ab	Antikor
Ag	Antijen
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Baz çifti, Base Pair
Ca	Kalsiyum
cDNA	Komplmenter Deoksiribo-Nükleik-Asit
CRFK	Crandell-Rees Feline Kidney
CXCR	Chemokin Receptor
DNA	Deoksiribo-Nükleik-Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Tri Fosfat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
enFeLV	Endojen Feline Leukemia Virus
env	Envelope (Zar) Proteini
ERV	Endojen Retrovirus
exFeLV	Ekzojen Feline Leukemia Virus
FeLV	Feline Leukemia Virus
FFV	Feline Foamy Virus
FIV	Feline Immunodeficiency Virus
gag	Group Spesific Antigen
gp	Glikoprotein
IL	İnterleukin
kb	Kilobaz
Mg	Magnezyum
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
ML	Maximum Likelihood
p	p-değeri
PBS	Phosphat Buffer Saline
PCR	Polimerase Chain Reaction

pro/pol	Protease/Poliprotein
RNA	Ribo-Nükleik-Asit
RT-PCR	Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction
TAE	Tris Asetat Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Taq	Thermus Aquaticus
TRIM	Tri-Partit Motif
UV	Ultra Viole
vif	Viral Enfektif Faktör



ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	FIV farklı alt tiplerine ait sitopatojenite durumu	8
Şekil 1.2.	FIV genomunun organizasyonu	9
Şekil 1.3.	FIV virionunun kesiti ve birimleri	10
Şekil 1.4.	Reverz transkripsiyon işleminin şematik görünümü	12
Şekil 1.5.	FIV alt tiplerinin dünyadaki yayılımı	15
Şekil 1.6.	enFeLV ve FeLV-B'nin yakınlığını gösteren matrix tablosu	22
Şekil 3.1.	FIV env V3-V5 bölgesine ait PCR görüntüsü	44
Şekil 3.2.	FIV <i>env</i> gen yönünden Maximum-Likelihood (ML) bazlı nükleotid benzerlik tablosu	46
Şekil 3.3.	FIV <i>gag</i> geni baz alınarak yapılan uzak ve yakın suşların gösterildiği matrix tablosu	47
Şekil 3.4.	FIV kısmi <i>env</i> gen bölgesi yönünden filogenetik ağaç	48
Şekil 3.5.	FIV kısmi <i>gag</i> (p24) baz alan filogeni analizi	49
Şekil 3.6.	FIV <i>vif</i> gen bölgesini baz alan filogeni analizi	50
Şekil 3.7.	en FeLV için ilk aşamada elde edilen pozitif PCR sonucu	51
Şekil 3.8.	enFeLV 3' LTR bazlı filogenisi	52
Şekil 3.9.	FFV – NC bölgesi yönelik PCR görüntüsü	53
Şekil 3.10.	FFV kısmi <i>gag</i> gen bölgesi yönünden filogenetik ağaç	54
Şekil 3.11.	FFV bet bölgesinin aminoasit düzeyinde farklılığının araştırılması	55
Şekil 3.12.	Çalışmada retrovirus enfeksiyonu pozitif çıkan kedi dağılımına ait diagram	56

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Kedi kökenli retroviruslar ve insan enfeksiyonlarındaki homologları	2
Çizelge 1.2.	Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV) Retroviridae	3
Çizelge 1.3.	Tanıda ABCD (European Advisory Board on Cat Diseases) hazırlanmış olduğu kılavuza göre hazırlanan diagram	25
Çizelge 2.1.	Reverse Transkriptaz Polimeraz Chain Reaksiyonu (RT-PCR) için mix hazırlanması	35
Çizelge 2.2.	RT-PCR uygulama protokolü	35
Çizelge 2.3.	FIV tanısı ve moleküler karakterizasyonu için kullanılan primer dizinleri	36
Çizelge 2.4.	FIV'a ait PCR analizinde kullanılan karışımın komponent miktarları	36
Çizelge 2.5.	FIV'a ait ilgili primerlere ait PCR döngü protokolleri	37
Çizelge 2.6.	FeLV tanısı ve moleküler karakterizasyonu için kullanılan primer dizinleri	38
Çizelge 2.7.	PCR analizinde kullanılan karışımın komponent miktarları	38
Çizelge 2.8.	İlgili primerlere ait PCR döngü protokolleri	38
Çizelge 2.9.	FFV tanısı ve moleküler karakterizasyonu için kullanılan primer dizinleri	39
Çizelge 2.10.	FFV'ye ait PCR analizinde kullanılan karışımın komponent miktarları	39
Çizelge 2.11.	FFV'ye ait ilgili primerlere ait PCR döngü protokolleri	40
Çizelge 3.1.	Risk faktörleri ve sonuçları gösteren çizelge	55
Çizelge 3.2.	FIV enfeksiyonun risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları	58
Çizelge 3.3.	enFeLV enfeksiyonun risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları	58

Çizelge 3.4.	FFV enfeksiyonunun risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları	59
Çizelge 3.5.	Çoklu enfeksiyonların risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları	60



1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Retroviruslar keşfedildiği günden bugüne; yapısı, genetik kompozisyonu, replikatif özellikleri ve birçok memeli türünü enfekte edebilmesi açısından kendine has özellikleri olan virus ailelerinin başında gelmektedir. Retroviruslar 7-12 kb büyüklüğünde linear, tek iplikçikli, segmentsiz, pozitif polariteli bir RNA genomuna sahip olup, bu yapıları onlara diğer virus ailelerinden farklı bir replikasyon stratejisi ile çoğalma imkanı tanımaktadır. Tez çalışmasında yer alan Feline Retrovirusların genomik büyüklükleri incelendiğinde ise; FIV ve FFV 10-12 kilobaz (kb), FeLV ise 8-10 kb'lık bir genoma sahip oldukları bildirilmiştir (ICTV 9th Report, 2011/Updated in 2017, Singapore, Erişim Tarihi: 4 Ocak 2018). Diğer pozitif iplikçikli RNA virusları mRNA'yı kalıp olarak kullanıp, transkripsiyon ve translasyonu direkt yapabilirken; Retroviral RNA, içerdiği *Reverz Transkriptaz* (RT) enzimi ile önce çift iplikçikli DNA'ya dönüşür ve oluşan viral DNA yine virus yapısındaki *İntegraz* (IN) enzimi ile konakçı genomuna entegre olmaktadır.

Retroviruslar; hem insan hem de hayvan sağlığı açısından büyük önem arz eden enfeksiyöz ajanlardır. Bu viruslardan en önemlisi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) 1984'te keşfedilmiş olmasına rağmen, günümüzde de insanları enfekte eden yaygın virusların başında gelmektedir. Veteriner hekimlik alanında, kedileri enfekte edebilen Retroviruslar arasında HIV'na benzerlik gösteren ve HIV çalışmalarında prototip olarak kullanılan *Feline Immunodeficiency Virus*'un (FIV) 1986 yılında Amerika'da ilk bildiri yapılmıştır (Pedersen, 1987). Kedileri enfekte eden diğer Retroviruslardan *Feline Leukemia Virus* 1964 yılında (Jarrett ve ark., 1964), *Feline Foamy Virus* 1969 yılında (Riggs ve ark., 1969) tanımlanmışlardır.

Bu tez; konusu itibariyle kedileri enfekte edebilen retrovirusları içermekte olup, bilimsel çalışmalarda insan retrovirusları ile ilişkilendirilmiş kedi kökenli bu retroviruslar çizelgede (Çizelge 1.1) belirtilmiştir.

Çizelge 1.1. Kedi kökenli retroviruslar ve insan enfeksiyonlarındaki homologları.

Kedi kökenli Retroviruslar	İnsan Homologları
Feline Leukemia Virus (FeLV)	Human T-Cell Leukemia Virus (HTLV)
Feline Immunodeficiency Virus (FIV-FAIDS)	Human Immunodeficiency Virus (HIV-AIDS)
Feline Foamy Virus (FFV)	Human Foamy Virus (HFV)

Morfolojik olarak zarlı ve ikozahedral simetriye sahip olan Retroviruslar, *gag* ve *envelope* gen bölgeleri yanısıra, kendine özgü enzimlerini sentezlemek için hayati öneme sahip bir genom bölgesi (*pol*) bulundurlar. Bu protein (*pol*) bölgenin içerdiği enzimler; virulensde görev alan reverz transkriptaz (*RT*), integraz (*IN*), proteaz (*PRO*) olarak açıklanmaktadır (Weiss ve ark., 2006). Günümüzde rekombine hale getirilmiş olan bu enzimler moleküler biyoteknoloji alanının çeşitli branşlarında; araştırma ve tanı amaçlı olarak da sıklıkla kullanılmaktadırlar. Bu doktora tez çalışmasında, kedi kökenli Retrovirusların moleküler karakterizasyonunda kullanılan *gag* ve *env* bölgelerinden köken alan primerler kullanılarak; Türkiye'deki evcil kedilerden elde edilen suşlar, dünyadaki hem cinsleri ile karşılaştırılmıştır. Böylelikle bu coğrafyaya ait suşların genetik yapıları ortaya konulmuştur.

Retroviruslar *Retroviridae* familyası altında 7 genusa ayrılmaktadır: *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Lentivirus* ve *Spumaviruslar* genuslarıdır (ICTV 9th Report, 2011/Updated in 2017, Singapore, Erişim Tarihi: 4 Ocak 2018). Bu genuslar içinde farklı türlerde enfeksiyon meydana getiren birçok Retrovirus bulunmaktadır. Feline kökenli olan ve tez çalışmasında da araştırılan Retroviruslar ve ait oldukları genuslar, aşağıdaki çizelgede (Çizelge 1.2.) taksonomik olarak sunulmuştur.

Çizelge 1.2. Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi (ICTV)'nin Temmuz 2017 de Singapur'da yapmış olduğu toplantı sonrası açıklanan genel retrovirus ve feline orijinli retrovirusların taksonomisi (ICTV 9th Report, 2011/Updated in 2017,Singapore, Erişim Tarihi: 4 Ocak 2018).

–Aile: <i>Retroviridae</i>
–Alt Aile: <i>Orthoretrovirinae</i>
–Genus: <i>Alpharetrovirus</i>
–Genus: <i>Betaretrovirus</i>
–Genus: <i>Deltaretrovirus</i>
–Genus: <i>Epsilonretrovirus</i>
–Genus: <i>Gammaretrovirus</i>
–Tür: <i>Feline leukemia virus (FeLV)</i>
–Genus: <i>Lentivirus</i>
–Tür: <i>Feline immunodeficiency virus (FIV)</i>
–Alt Aile: <i>Spumaretrovirinae</i>
–Genus: <i>Felisipumavirus</i>
–Tür: <i>Feline foamy virus (FFV)</i>

En önemli yapısal değişim ise eşey hücrelerini enfekte edip, kedilerin nesilden nesile aktardığı ve konakçı genomuna entegre olup onunla evrimleşen endojen FeLV (enFeLV)'tur. Söz konusu enFeLV ilk defa 1986 yılında Soe ve ark. tarafından bildirilmiş ve günümüze kadar kedi sağlığı üzerine etkileri araştırılmıştır. Ancak açık ve net olarak bir etkisinden bahsedilememiştir. Bazı çalışmalarda mutasyona uğrama ve ekzojen varyant ile enfeksiyon sonucu süperenfeksiyon varsayımı yapılmıştır (Krunic ve ark., 2015). FFV ise keşfinden bu yana in vitro ortamlarda sitopatojenik etki gösterse de, in vivo şartlarda tek başına böyle bir etki sergilememesinden dolayı günümüzde klinik anlamda dikkat çekmeyen bir viral ajandır (Rethwilm ve Bodem, 2013 ve Riggs ve ark., 1969). Ancak bazı çalışmalarda hem immunsupressif etki, hem de kronik progressif arthritis klinik tablosu ile FFV ile ilişkilendirilmiştir (German, 2008 ve Pedersen, 1980).

Bu tez konusu; ülkemizdeki evcil kedilerde klinik/subklinik enfeksiyonlara neden olan immunsupressif Retrovirus enfeksiyonlarından FIV, FeLV ve FFV enfeksiyonlarının moleküler metotlarla araştırılmasına yönelik olup, elde edilen

bulgular örnekleme hayvanların yaş, cinsiyet, hastalık durumu, aşı/aşısız oluşları gibi çeşitli verileri ile istatistiksel olarak sorgulanmıştır. Örneklemeler; Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 14.10.2015 tarih ve 2015-17-192 (Ek-1) sayılı izni ile yapılmıştır.

1.2. Amaç ve Kapsam

Retroviruslar, RNA nükleik asidine sahip, içerdikleri reverz transkriptaz enzimi nedeniyle aynı zamanda DNA parçacıklarını da bulunduran, konakçı genomuna entegre olarak nesilden nesile aktarılma potansiyeli taşıyan, immunsupresif ve onkojenik virus ailelerinden olması sebebiyle Viroloji biliminin önemli etkenleri arasında sayılmaktadır (Weiss, 2006 ve O'brien ve ark., 2012).

Kedilerde enfeksiyona neden olan Retroviruslar olarak başlıca; Feline Immunodeficiency Virus (FIV), Feline Leukemia Virus (FeLV) ve Feline Foamy Virus (FFV) yer almaktadır. Feline Retroviruslar kedilerde meydana getirdiği direkt etkileri yanısıra, immunsupressif özelliklerinden dolayı hayvan sağlığını dolaylı olarak da etkileyen, sekonder enfeksiyöz ajanlara karşı organizmayı açık hale getiren ve yaşam süresini kısaltan ajanlar olarak, Veteriner Hekimler tarafından kedi sağlığı kapsamında göz önünde bulundurulması gereken önemli patojenlerdir.

FeLV ve FIV kedi sağlığı açısından sürekli gündemde olan viral ajanlar olup klinik ve virolojik anlamda dinamiklerdir. Özellikle FeLV kedi popülasyonları için 20-30 sene öncesine kadar ölümcül ve enfeksiyöz bir virus olarak tanımlanırken, gelişen tekniklerle klinik enfeksiyona neden olan etkenlerin eksojen viruslar olduğu, endojen virusların varlığının belirlenmesiyle de eksojen virusların yaygınlığının beklendiği kadar fazla olmadığı belirlenmiştir. (Anai ve ark., 2012; Hartmann, 2012 ve Krunic ve ark., 2015). Retrovirusların dinamik viruslar olması sebebiyle FFV enfeksiyonunun da ilerleyen yıllarda kediler arasında yaygın ve klinik görünümlü bir hastalığa dönüşme potansiyeli mevcuttur.

Ülkemizdeki kedilerde Retrovirus enfeksiyonlarının varlığı ve yaygınlığı hakkında yapılan çalışmalarda FIV ve FeLV enfeksiyonları az sayıdaki araştırmaya konu olmakla birlikte, FFV enfeksiyonunun varlığı açısından yapılmış bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu üç enfeksiyöz ajanın kedi popülasyonlarında birlikte görülmesine/araştırılmasına yönelik kapsamlı bir veri de bulunmamaktadır. Anılan bu sebeplerden ötürü, kedileri enfekte eden Retrovirusların ülkemizde varlığı ve yaygınlığının araştırılması önem arz etmektedir. Ayrıca, kedi kökenli Retrovirusların moleküler olarak identifiye edilmesi, bu suşların mevcut klinik durum ve patogenezi ile ilişkilendirilmesi de gerek duyulan veriler arasındadır. Filogenetik analizlerle hem coğrafik hem de yapısal anlamda söz konusu virusların sergilediği benzerlik ve farklılıkların ne kadar anlamlı olduğu da global olarak dikkat çeken bilimsel araştırma konularını oluşturmakta olup, bu tez çalışmasının kapsamında anılan bu konular irdelenmiştir.

Günümüzde pet hayvancılığının giderek artan yaygınlığı; Alem: *Animalia*, Şube: *Chordata*, Sınıf: *Mammalia*, Takım: *Carnivora*, Aile: *Felidae*, Cins: *Felis*, Tür: *Felis catus*/*Felis silvestris catus* olarak sınıflandırılan kedilerin, evde beslenmesini ve sahiplenilmesini sağlamış olup, yaşam kalitesini direkt etkileyen Feline kökenli Retroviral enfeksiyonların araştırılması gerekliliğini de beraberinde getirmiştir. Bu önem kapsamında Feline retroviruslar üzerine yapılan bu moleküler çalışma, ülkemiz adına bazı retroviral ajanlar yönünden ilk tespitlerin de bulunduğu sonuçların elde edilmesine olanak sağlamıştır.

Birbirinden farklı üç genusta yer alan FI-, FeL- ve FF-Virusları; tıpkı farklı genoslarda yer almaları gibi replikasyon, patogenezi, konakçı ile etkileşim ve klinik görünümünde de bazı farklılıklar göstermektedir. Bu bölümde tez konusu olarak araştırılan kedi kökenli Retrovirus enfeksiyonlarından üçü hakkında genel bilgiler sunulmuştur.

1.3. Feline Immunodeficiency Virus (FIV)

1.3.1. Etiyoloji

Feline Immunodeficiency Virus (FIV) *Orthoretrovirinae* alt ailesi ve *Lentivirus* genusu içinde yer almaktadır. Evcil ve vahşi kedi türlerinin en yaygın immunsupresif viral etkenlerindedir. Özellikle insanlardaki *Acquired Immunodeficiency Virus* (AIDS) hastalığı etkeni *Human Immunodeficiency Virus* (HIV)'a benzemesinden ötürü ve şimdiye kadar yapılan çalışmalara göre zoonoz karakterde olmayışı nedeniyle HIV enfeksiyonunun patogenezi mekanizması çalışmalarında "prototip" virus olarak tercih edilmektedir (Asquith ve ark., 2014; 2015; Bienzle, 2014; Eckstrand ve ark., 2017, Hosie ve ark., 2017; Meeker ve Hudson, 2017 ve Policicchio ve ark., 2016).

FIV ilk olarak; Pedersen tarafından 1986'da Amerika'da tespit edilmiştir (Pedersen, 1987 ve Kenyon ve Lever, 2011). Pedersen ve ark. (1987), virusun kedi T-lenfositlerine yüksek affinite göstermesi ve özellikle bu hücreleri etkilemesinden dolayı virusa ilk olarak "Feline T-Lenfotropik Virus" ismini vermiştir. Ancak zaman içerisinde hem moleküler hem de patogenezi olarak HIV'una benzerliği ortaya konmuş ve FIV adını alarak ve kedilerde meydana getirdiği hastalığa da *Feline Acquired Immunodeficiency Syndrome* (FAIDS) adı verilmiştir (Kenyon ve Lever, 2011). FIV'ın, yapılan paleovirolojik çalışmalar sonucunda yaklaşık 3 milyon yıl önce Afrika'da vahşi *felidae*'ler arasında ortaya çıktığı ve Orta Doğu üzerinden tüm dünyaya yayıldığı varsayılmaktadır. Bu yayılımın evcilleştirme ile daha da hızlandığı düşünülmektedir (Pecon-Slattery ve ark., 2008). Evcil kedilerde yüksek patojeniteye sahip olan FIV'nun, yıllarca süre gelen virus-konakçı ilişkisine bağlı olarak günümüzde vahşi kediler arasında asemptomatik ya da çok hafif klinik bulgulu seyrettiği de tespit edilmiştir. Ancak bu durumun söz konusu ilişki sonrası ortaya çıkıp çıkmadığı ya da başka etmenlerin tekil veya çoğul olarak etkisi/etkileri olup olmadığı halen aydınlatılamamış araştırma konularıdır (Pecon-Slattery ve ark., 2008 ve Troyer ve ark., 2008).

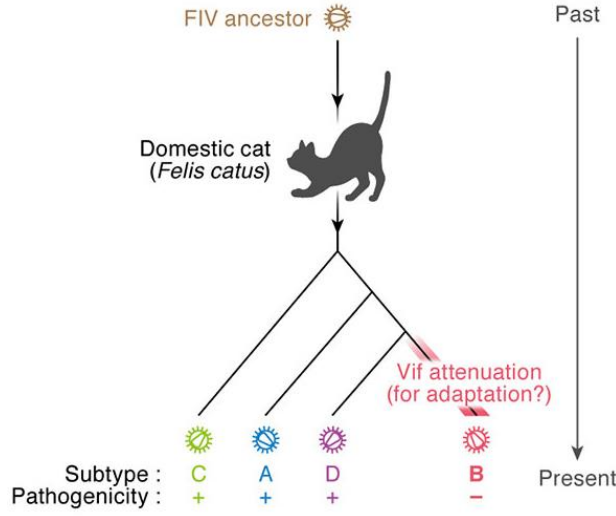
FIV genom büyüklüğü; suşlar arasında farklılık göstermekle beraber, yaklaşık 9400 baz çiftidir (Miyazawa ve ark., 1994). FIV genomik yapısında; diğer Retroviruslar gibi *gag*, *pro/pol*, *env* genlerini barındırmaktadır. Bunun yanısıra virus kendine özgü aksesuar genlere de sahiptir ve bu aksesuar genler sayesinde virusun antijenik özellikleri artmaktadır (Miyazawa ve ark., 1994). FIV aksesuar genlerine örnek olarak; *orfA* (Transkripsiyon faktörü) ve *vif* (virus infectivity factor; hücresel A3 (APOBEC3G) restriksiyon proteinine karşı) genleri verilebilir. Dünyada yapılan araştırmalarda kullanılan ve tez çalışmasında da araştırılması hedeflenen temel gen bölgeleri ise şunlardır (Kenyon ve Lever, 2011 ve Miyazawa ve ark., 1994):

- ¹*gag*: group-specific antigen (kapsid protein p24)
- ¹*pro/pol*: protease, Reverse Transcriptase (RT), Integrase (IN), RNase H
- ² *env*: envelope (viral protein gp120; transmembran protein (TM) gp41 kodlanır)

Bu temel genlerin yanısıra *vif* geni son yıllarda dikkatleri üzerine çekmiştir. Özellikle direkt patojenite üzerine etkili olması ve hücrel bir takım antiviral proteinler (APOBECs, TRIMs vs.) ile etkileşime girerek onları nötralize etmesinden dolayı; hem moleküler hem de patogeneze çalışmalarının önemli bir etmeni olmuştur. *vif* geninin ekspresyonunun, virusun replikasyon gücü ile de bağlantılı olduğu belirtilmektedir (Yoshikawa ve ark, 2017; Zielonka ve ark., 2010 ve Zielonka ve ark., 2011). *Vif* geninin yanısıra, *orfA* geni de replikasyon için hayati öneme sahip konumdadır. *orfA*, 77 adet multifonksiyonel amino asit kodlamaktadır ki; bu aminoasitler HIV'nun patogenezinde (hücre siklusunu yönetmek, hücre içi reseptör ifadeleri, nörovirulans etki gibi) görev alan *tat*, *vpr*, *vpx*, *nef* gibi aksesuar genlerin yaptığı görevleri; FIV patogenezinde üstlenmektedir (Troyer ve ark., 2013).

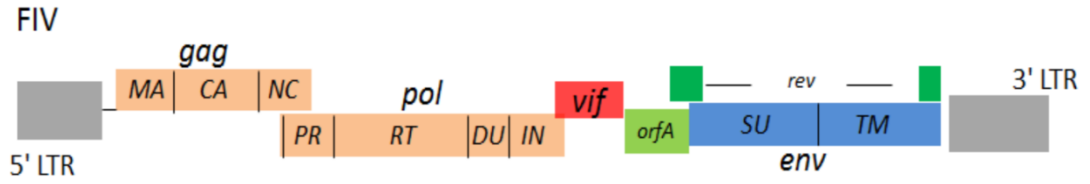
¹ Bu gen bölgeleri mutasyon en az geçiren ve genel anlamda korunmuş gen bölgeleridir. Kodlanan proteinler virulans ve tanıda önemlidir.

² gp120 ve gp41 FIV alt tiplerinin farklılığından sorumlu başlıca genlerdir.



Şekil 1.1. FIV farklı alt tiplerine ait sitopatojenite durumu. Geçmişten günümüze A, D, C alt tiplerinde sitopatojenite durumu devam ederken B alt tipinde sitopatojenite de gerileme olması söz konusudur. Bu, vif geninin attenüasyona uğramasının durumdan sorumlu olup olmadığı bakımından tam olarak belli değildir

Yakın zamana kadar moleküler çalışmalarda çok fazla irdelenmeyen *vif* bölgesi son zamanlarda konakçı hücre ile yakın ilişkisi olmasından ötürü öne çıkmıştır. Bu bölge de olabilecek bir mutasyon virusun çok farklı bir şekilde ifade olmasına, alt tip değişikliğine, enfeksiyözite gücünün değişimine, klinik görünümde farklılık ortaya çıkmasına neden olabilir. Buna ilişkin olarak yeni yapılan bir araştırmada (Yoshikawa ve ark., 2017) *vif* moleküler yapısı araştırılmış ve farklı alt tipler de farklılık içerip içermediği sorgulanmıştır. Araştırmacılar tarafından ortaya atılan hipotezde; konakçı hücreyi antiviral proteini olan A3 replikasyon aşamasında *vif* ifadesini engelleyerek degradesyona uğratmakta ve oluşan yeni virion partiküllerinde *vif* gen bölgesinin nötralize olmasından ötürü bazı virion partiküllerinde bulunmadığı, bazılarında da gen bölgesi bulunsa bile eksprese olamadığı belirtilmiştir. Bu durumun da hastalığın enfeksiyözitesi, prognozu ve klinik durumu ile direkt alakalı olduğu vurgulanmıştır. Hipotez kapsamında bazı FIV alt tiplerinin A3 etkisiyle hücreyi replikasyon aşamasında *vif* gen bölgesinin ekspresyonunun engellenerek degrade olması sonucunda oluşan yeni virion partiküllerinin *vif* gen bölgesinin bulunmadığına/eksprese olamadığına ve buna bağlı olarak virusun yeni konaklarda subklinik enfeksiyon aşamasında kalmasına yol açtığı vurgulanmıştır (Şekil 1.1).



Şekil 1.2. FIV genomunun organizasyonu (Zhang ve ark. 2018 yayınından uyarlanmıştır.)

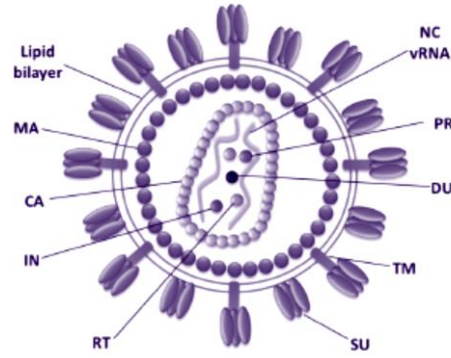
FIV provirus genomunun uç kısımlarında “Long Terminal Repeats (LTRs)” bölgeleri bulunur. LTR; U3 (unique 3’ end), R (repeat) ve U5 (unique 5’ end) kodlanmayan gen bölgelerini içerir (Şekil 1.2). U3 bölgesi enfekte hücrelerde viral gen ifadesinin düzenlenmesinde yer alan promotor ve güçlendirici elementleri barındırmaktadır (Miyazawa ve ark., 1994).

FIV’nun moleküler olarak yapısı incelendiğinde tipik lentivirus yapısıyla karşılaşılmaktadır. FIV, sferikal yapıda olup 120 nm çapında çift kopyalı tek iplikçikli RNA genomuna sahiptir (Kenyon ve Lever, 2011).

Yukarda da belirtildiği gibi üç ana retroviral gene sahiptir, bunlar yapısal *gag*, enzimatik *pol* ve zarf *env* genleridir. *Gag* proteini, nükleokapsid NC (p7), matrix MA (p17) ve kapsit CA (p24) yapılarını bünyesinde bulundurur (Kenyon ve Lever, 2011).

Virusun iç bölgesi viral RNA’yı çevreleyen p24 proteininden ibarettir ve nükleokapsid proteinin zinc-finger motiflerine bağlanır (Elder ve ark., 1992). MA proteini ise dış yüzeyi oluşturur ve lipid zara komşudur. Protease PR (p13), reverse transcriptase RT (p51), integrase IN (p31) ve deoxyuridine pyrophosphatase DU (p14) viral kapsit içinde yer alır ve *pol*’un enzimatik ürünleridir. (Talbot ve ark., 1989).

RT enzimi viral RNA’dan DNA oluşmasını sağlar ve konakçıda replikasyonu kolaylaştırır. Integrase -IN ise replikasyon sırasında oluşan proviral DNA konakçı hücre genomundaki DNA’una integrasyonundan sorumludur. (Goff, 1990).



Şekil. 1.3. FIV vironunun kesiti ve birimleri. (Lecollinet ve Richardson, 2008)'dan uyarlanmıştır.

FIV dahil tüm lentivirüslerde en önemli gen bölgesi envelope (*env*) gen bölgesidir. Çünkü bu gen bölgesi konakçı hücreyle birebir bağlantıya geçen ayrıca konakçı sistemlerde immunitiyi uyaran önemli proteinler sentez eder. Bu bağlamda karşılıklı etkileşimleri de oldukça yüksek seviyededir. Bu yüzden FIV zaman içerisinde mutasyona uğrayarak farklı konformasyonlara dönüşmüş ve *env* bazlı moleküler alt gruplara ayrılmıştır. Bu olay için *env* poliprotein prekürsörleri granüllü endoplazmik retikulumda üretilir ve glikozillenir (Leonard ve ark, 1990). Daha sonra söz konusu *env* prekürsörü ayrılır, nihayetinde yüzey-(SU) ve transmembran-(TM) alt birimleri ortaya çıkar (Şekil 1.3). Bu iki glikoprotein özellikle virus penetrasyonu ve replikasyonunda önemlidir. SU glikoproteini direkt hücre yüzeyinde CD134 ve CXCR4 kemokin reseptörü ile bağlantı kurarak penetrasyonda ilk olayı gerçekleştirir. TM ise hem SU glikoproteininin stabilitesini sağlar hem de bünyesinde ifade edilen 340 amino asit ile penetrasyonda önemli rol oynar (Willett ve ark. 2008, Samman ve ark, 2010) (Şekil 2.2).

1.3.2. Retrovirus Replikasyon Siklusu

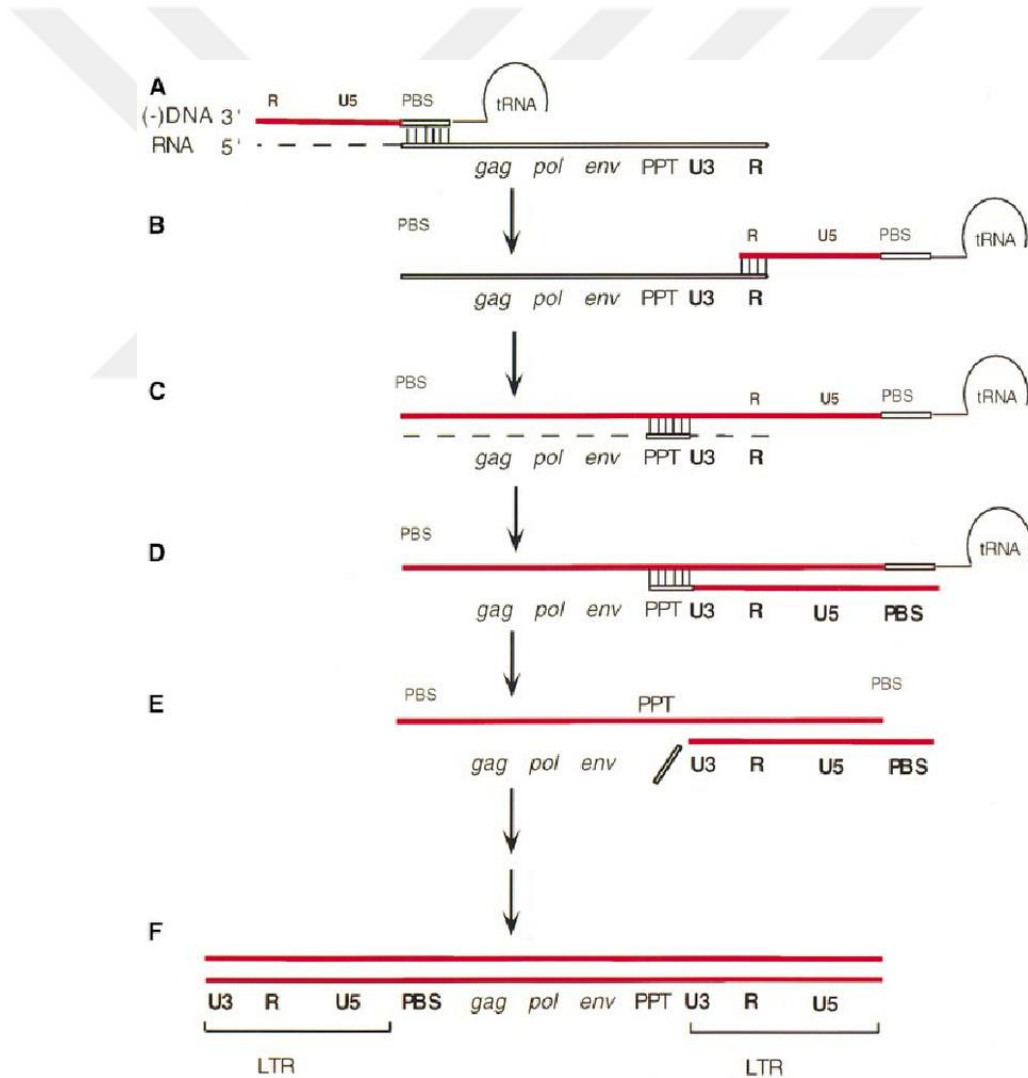
FIV, replikasyon siklusu olarak farklılık göstermesi yanında genel retrovirus replikasyonunu meydana getirir. FIV replikasyon siklusunda ilk olarak *env* alt birimi olan gp120 proteini yardımıyla birincil reseptör olan CD134'e bağlanır ve konakçı

hücre ile ilk bağlantı kurulmuş olur. İnsan ve primatlarda HIV/SIV enfeksiyonunda ise virus CD134 yerine CD4 reseptörünü birincil reseptör olarak belirler ve ona bağlanır. CD134 reseptörünün iki farklı sistin zengin reseptörleri mevcuttur. Bu reseptörlerin adı CRD1 ve CRD2'dir. Bu reseptörler özellikle FIV patogenezi açısından oldukça önemlidir. Ayrıca bu durum sırasında CD134 reseptörüne yardımcı kemokin reseptörleri de görev yapabilir. Bu kemokin reseptörleri CXCR4 veya CCR5 olabilir ancak yapılan araştırmalarda CXCR4 FIV enfeksiyonlarında daha çok ifade olduğu saptanmıştır (de Parseval ve ark., 2006). Bu reseptörleri en çok taşıyan hücreler lenfoit, makrofaj ve lenfosit/makrofaj benzeri hücreler ile dendritik hücrelerdir. O yüzden replikasyon siklusunda ilk hedef hücreler bu hücrelerdir. *Env* alt birimlerinin hücre reseptörleri ile bağlantıya geçmek için farklı görevler üstlendiği öngörülmektedir. Özellikle V3 ve V5 loop bölgeleri öne çıkmaktadır ki V3, CD134 ve CXCR4 ile yapılan ilk bağlantıya geçen birim; V5 ise virusun nötralizasyonunda ya da nötralizasyondan kaçışta görev yaptığı belirtilmektedir. Özellikle yeni N-glikolizasyon bölgelerinin ortaya çıkmasında etkin olduğu vurgulanmıştır (Kraase ve ark., 2010). Bunun dışında yer alan V1, V2 ve V4 bölgeleri yine glikolizasyonda görev aldığı belirtilmektedir. Bu durumda mutasyon gelişimi ve buna bağlı konakçı/virus ilişkisinin farklılaşmasına neden olur.

Hücreye giren ve zarfından arınan virusun tek iplikçikli genomu çift hale gelmek için "Reverz Transkripsiyon" (RT) işlemini başlatır. Bu işlem tRNA'nın viral genomun "Birincil Bağlanma Bölgesine" (PBS) bağlanmasıyla başlar ve işlem sonrası U5 ve R ye ait kalıp DNA oluşur (Şekil 1.4./A). Retroviruslar sahip oldukları RNaz H aktivitesi ile U5 ve R bölgesine ait RNA ürünleri tamamıyla ortadan kaldırır ve oluşan tek iplikçikli kısa DNA kalır (Şekil 1.4./A). Bu yeni oluşan DNA iplikçığı de genomik RNA'nın 3' ucuna komplementer sekans aracılığıyla bağlanır ki bu RNA, DNA polimerizasyon işleminde bir kalıp görevi göstermektedir (Şekil 1.4./B). Geriye, genomun merkezinde bulunan polypurin yolaklarında (PPT) RNaz H degradasyonuna direnç gösteren RNA fragmanları kalır ve kalan bu fragmanlar ikinci iplikçik oluşumunda adeta bir primer görevi görürler (Şekil 1.4./C). PPT'den başlayan polimerizasyon işlemi sonrası ikinci DNA fragmanı da oluşur (Şekil

1.4./D). Bu işlem sonrasında RNaz H tRNA'yı degrades eder ve oluşan ikincil DNA fragmanı 3' ucundan başlayarak komplementer eşleniği ile bağlanır (Şekil 1.4./E-F).

Bağlanma sonrasında cPPT bölgesinde yer alan *gag*, *pro/pol*, *vif* ve *orfA* ile uç kısımlarında *LTR* bölgelerinin bulunduğu proviral DNA meydana gelmiş olur (Şekil 1.4./F) (Arts ve ark., 1998 ve Miller ve ark., 2001). FIV, HIV-1'nun RT işlemi sırasında kullandığı aynı tRNA'yı kullanır. Fakat tRNA ile RT işleminin nasıl başladığı tam olarak aydınlatılamamıştır. Genel görüş olarak, tRNA'nın ilgili genomun 5' ucundaki U5 bölümüne bağlanarak RT işleminin başlatıldığıdır (Arts ve ark., 1998 ve Miller ve ark., 2001).



Şekil 1.4. Revers transkripsiyon işleminin şematik görünümü. Basamaklar (A>F) ana metin içerisinde anlatılmıştır. RNase H, Ribonükleaz H; tRNA, transfer RNA; PBS, Prime Binding Site; PPT, Polypurine Tract. Sarafianos ve ark. (2001)'dan uyarlanmıştır.

RT işleminin ardından oluşan proviral DNA integrasyon aşamasına geçer. İntegrasyon prosesi üç aşamda gerçekleşir. İlk olarak proviral DNA'nın 3' ucundan iki nükleotid ayrılır ve kapsit (CA) uzantısı uzaklaşır. İkinci olarak proviral DNA 3' ucu hedef konakçı DNA'sının 5' ucuna bağlanır. Son olarak birleşme yerleri hücresel DNA tamir enzimleri tarafından tamir edilir (Shibagaki ve ark., 1997). Söz konusu proviral DNA, yeni oluşacak FIV RNA'ları için adeta bir fabrika görevi görür ve translasyonu destekler.

Entegrasyon sağlandıktan sonra FIV'una ait viral proteinlerin üretimi, birleştirilme ve nihayetinde hücreden saçılımı meydana gelir. Üretilen viral proteinler sonrasında hücre plazma membranı ile birleşme olur. Bu olay dinamikleri incelendiğinde *gag* prekürsör proteinleri olayı yönetir. *gag*'ın önemli bölgeleri matrix (MA), kapsid (CA), nükleokapsid (NC) ve C-terminal peptit (p2) her biri bu proseste görevlidir. MA bölgesi *gag*'ı plazma membranına yönlendirir ve virionlarda *env* ile bağlantı kurmasına izin verir. CA viral RNA ve pol tarafından kodlanan enzimleri çevreleyen konik çekirdeğin oluşumunu iletir. NC alanı, viral RNA içindeki bir veya daha fazla paketleme sinyalinin (Ψ) tanır ve birleşmekte olan virionun içine hareket etmesine aracılık eder. FIV'ın *gag* bölgesi Ψ içeren tüm retrovirusları paketleyebilir ki bu durum Ψ bölgesinin retrovirus replikasyon siklusunda önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Browning ve ark., 2001).

Retroviral replikasyon döngüsünde son olarak hücreden çıkış söz konusudur. FIV diğer retroviruslarda olduğu gibi tomurcuklanma yolu ile hücreden çıkar. İşlem *gag* ile ilişkilidir ve FIV'na ait spesifik bir şekilde gerçekleşir. *gag* yapısında bulunan p2 peptit ve korunmuş PSAP motifi "endozomal dağıtım kompleksine bağlı transport" (ESCRT) işlevi ile direkt bağlantıya geçer. Virionun tomurcuklanması için bu esas teşkil etmektedir (Luttge ve ark., 2008).

Virion maturasyonu ise virionun hücreden çıkmasından kısa bir süre sonra başlar. Bu olay viral proteaz ile ilişkili olup, *gag-pol* poliproteinlerine ait

prekürsörlerin ayrılmasını ve her olgun proteinin formasyonunu kapsamaktadır. Maturasyon morfoloji dağışımına bağı bir olaydır (örneğin, virionun tamamen infeksiyöz hale gelmesi). Maturasyon işleminin sonrası virus diğer hücreleri enfekte edebilecek titreye ulaşır (Laco ve ark., 1997).

1.3.3. Epidemiyoloji

FIV, kediler arasında horizontal ve vertikal yolla bulaşabilmektedir. Kediler, toplu yaşam habitatı kullandıklarından horizontal bulaş vertikal bulaşa göre daha sık görülmektedir. Horizontal geçişte özellikle enfekte erişkin erkek kediler önemli olup, üstünlük kurma çabasıyla meydana gelen kavgalarda, ısırma ve tırmalama sonucu enfekte salgıların portantrelerden invaze olması şeklindedir. Ayrıca FIV alt tiplerinin vertikal bulaşmayla geçebileceği vurgulanmıştır. Deneysel olarak 1995 yılında ilk vertikal bulaş saptanmış, doğal bulaşma ise ilk olarak pumalarda daha sonra da kedilerde saptanmıştır (O'neil ve ark., 1995; Burkhard ve Dean, 2003 ve de Oliveira Medeiros ve ark., 2012).

FIV suşları moleküler karakterizasyon sonucu A, B, C, D, E olmak üzere 5 ana genotipe ayrılmıştır. Ancak son yapılan moleküler çalışmalarda F ve Yeni Zelanda kökenli UNV-Z alt tiplerinden de bahsedilmektedir. Bu genotiplendirmede *env* geninin V3-V5 bölgelerindeki moleküler değişiklikler alt tipler arasındaki farklılığın oluşmasındaki en önemli faktörlerdendir. (Nishimura ve ark, 1998 ve Vahlenkamp ve ark, 1999). Ayrıca yapılan çeşitli moleküler çalışmalar ile alt tiplerin oluşumu filocoğrafik temele de dayandırılmıştır (Beczowski ve ark., 2014 ve Beczowski ve ark., 2015) (Şekil 2.2). Buna göre;

- FIV-A alt tipi İngiltere'de saptanan tek alt tip iken, aynı alt tip Amerika ve Avustralya'da da görülmektedir (Sodora ve ark., 1994).
- FIV-B Amerika'nın doğu kısmında ve Güney Avrupa'da oldukça yaygındır (Bachmann ve ark., 1997).

- FIV-C Kaliforniya, Kanada ve Tayvan'da (Kann ve ark.,2006; Sodora ve ark, 1994),
- FIV-D ise Japonya'da daha yaygın olarak görülmekteyken (Kakinuma ve ark., 1995),
- FIV-E ise Arjantin 'de görülen en yaygın alt tiptir (Pecoraro ve ark., 1996).



Şekil 1.5. FIV alt tiplerinin dünyadaki yayılımı (Hosie ve ark, 2009'dan uyarlanmıştır) (Türkiye'de görülen alt tipler mavi ile belirtilen B ve E alt tipleridir (Oğuzoğlu ve ark., 2010).

FIV, dünyanın birçok yerinde oldukça yaygın olup, yapılan yakın tarihli prevalans çalışmalarında pozitiflik oranı %4 ile %14 arasında bildirilmiştir (European Advisory Board on Cat Diseases-ABCD-Manuals, Erişim Tarihi: 12.10.2017). Türkiye'de ise ilk seroprevalans çalışması Yılmaz ve ark (2000) tarafından yapılmıştır. İstanbul bölgesinde yapılan bu çalışmada FIV seroprevalansı %23 bulunmuştur. Van kedileri üzerine yapılan çalışmada ise ELISA ile antijen varlığına bakılmış ve %3 bulunmuştur (Yüksek ve ark, 2005). Aydın ve İzmir bölgesinde yapılan diğer bir seroprevalans çalışmasında ise FIV antikor varlığı %19,5 olarak saptanmıştır (Erol ve Paşa, 2013). Seroprevalans çalışması en ayrıntılı olarak Oğuzoğlu ve ark. (2013) tarafından yapılmıştır. Çalışmada %9,5 oranında bir seropozitiflik tespit edilmiş, aşıllı hayvanlarda seroprevalans oranı %40 iken, aşızsız kedilerde bu oran %42,4 bulunmuştur. Bu durum aşılamanın ne kadar etkin olduğu konusunda soru işaretleri ortaya koymuştur. Türkiye'de FIV enfeksiyonunun varlığı

ve moleküler genotiplendirilmesine ilişkin Oğuzoğlu ve ark (2010) tarafından yapılan bir çalışma bulunmaktadır. Buna göre; üç FIV pozitif kedide *env* genine yönelik sekans sonuçları filogenetik analizde dünyadaki diğer alt tiplerle karşılaştırıldığında iki örneğin alt tip B'de yer aldığı, diğer örneğin ise alt tip E'de yer aldığı belirlenmiştir.

1.3.4. Patogenez/Klinik

Meydana gelen yaralanmalar sonucu virusun direkt kontakt yol ile sağlıklı hayvana naklini takiben, primer enfeksiyon periferik lenf dokularında oluşur, prekürsör haldeki timositlerin enfeksiyonu gerçekleşir ve CD4+ T lenfositleri enfekte hale gelir. Enfeksiyon nedeniyle CD4+/CD8+ T lenfosit oranı tersine dönmeye başlar. CD8+ reseptörüne sahip olan sitotoksik T lenfositler kazanılmış antiviral immünite en önemli rolü oynamaktadır. Ayrıca FIV ile enfekte lenfositler genomlarında provirus olarak etkeni taşıdıklarından, slow-latent tipte bir enfeksiyonun başlamasına neden olurlar. FIV bu özelliği sayesinde sinir sisteminde bulunan dendritik hücreleri, CD134 reseptörüne ve CXCR4 ko-reseptörüne bağlanarak enfekte eder, böylece kan-beyin bariyerini dendritik hücrelerde gizlenmiş olarak geçirir ve nörotropik etki sebebiyle merkezi sinir sistemi enfeksiyonu gerçekleşmiş olur (Fletcher ve ark, 2011). Tabii her FIV suşu nörolojik olarak bir patogenez izlemez. Bunun sebebi bireyin immün sistemi, virusun yapısı/titresi ve aralarındaki ilişkinin sürekli değişken olmasıdır. FIV organizmaya genellikle en fazla kan ve mukoza yoluyla girer ki bunlar genelde kavga/doğum sonrası açılan portantreler, vajinal/oral/rektal mukozalardır. Ayrıca iatrojenik olarak kan transfüzyonu, enfekte enjektör kullanımı veya uygun koşullarda yapılmayan cerrahi operasyonlarda risk faktörüdür (Eckstrand ve ark., 2017)

FIV, yapılan deneysel patogenez çalışmalarında birçok dokuyu enfekte eder. Özellikle organizmaya girdiği en yakın lenf nodülleri ilk hedefidir. Burada replikasyon olan virus kemik iliği dahil bir çok lenfoid dokuyu ve organı enfekte eder. Bunlar lokal lenf nodülleri, dalak, bağırsak lamina propriası, Peyer plakları (lenfoid

folliküller), timus, kemik iliği ve karaciğerde bulunan Kupffer hücreleri gibidir. Ancak nöropatogenez her zaman oluşmayabilir. Ancak bazı viruslar nörolojik hücrelere affinite göstererek astrosit ve mikrogliaları enfekte etmektedir. Buna neden olan viruslar genel olarak replikasyon kompetent provirus oluşturan FIV suşlarıdır. Burada önemli olan bir diğer nokta CD134 reseptörüne ait CRD2 alt reseptörüdür. Yapılan çalışmalar sonrasında CRD2'ye bağlanan virusların genel olarak replikasyon gücü yüksek olup nörolojik patoloji meydana getirdiği ve hastalığın prognostik olarak olumsuz seyrettiği vurgulanmış, CRD2 bağımsız virusların ise daha zayıf daha hiç replikasyon gücü olmayan proviruslar meydana getirdiği vurgulanmıştır. Araştırmacılar bu durumun *env* geninden ileri geldiğini belirtip moleküler açıdan da B alt tiplerinin CRD2'ye bağımlı olmayıp replikasyon kompetentliğinin düşük olduğunu belirtmişlerdir (Beckowzki ve ark., 2014; Rogers ve ark., 2002; ve Willett ve Hosie, 2013).

FIV ile enfekte kedilerde klinik bulgu olarak; mukozal bölgelerde erezyonlar, oral kavite, dişeti ve burun içinde kanamaları, stomatitis ve gingivitis olguları da sıklıkla bildirilmektedir. Nörotropizm nedeniyle konvülsiyon, tremor, ataksi, inkoordinasyon vb. bulgular görülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda alt tipler ile klinik semptomların ilişkilendirildiği görülmüştür (Vahlenkamp ve ark, 1999). Örneğin; A ve C subtiplerinde bulunan virusların kedilerde nörolojik enfeksiyonlara neden olduğu belirtilmiştir. B subtipinin ise genel olarak asemptomatik veya çok hafif seyirli bir hastalık yaptığı belirtilmiştir (Vahlenkamp ve ark, 1999). D ve E alt tiplerinin ise tam olarak bir klinik bulgu ile eşleştirmemesi yanında, rekombinasyon sonucu ortaya çıkan viruslar olduğundan birey immun sistemi ve hücre içi dinamiklere göre farklı klinik tabloların oluşabileceği üzerinde durulmaktadır (Beckowzki ve ark., 2014).

FIV CD4+/CD25+ T lenfositleri enfekte ettikten sonra prodüktif hastalık oluşur ve hızlı bir şekilde diğer dokulara da yayılım gösterir. Ancak CD4+/CD25- T hücrelerin enfekte edilmesi sonrasında virus bu hücrelerde latent hale gelir ve provirus olarak konakçı genomuna entegre olur. Bu hücrelerde yavaş bir şekilde

replikasyonunu gerçekleştiren virus bireyin antiviral cevabına göre hastalık oluşumunu gerçekleştirir (Eckstrand ve ark., 2017)

1.3.5. Tanı

FIV enfeksiyonunun tanısında en çok moleküler (PCR, Real-Time PCR) ve serolojik (ELISA) teknikler kullanılmaktadır. Bu iki test metodunun uygulanması tanıda güvenilirliği %95 seviyesinin üstüne taşımaktadır. Hızlı ve kolay uygulanmasından dolayı hızlı test kitleri (SNAP) tüm dünyada FIV tanısında yoğun olarak kullanılmaktadır. Genellikle bu test kitleri kombo olarak üretilir (FIV, FeLV combo SNAP kit). Bu test kitlerinin handikapı ise p17 ve p24 proteinlerini ifade eden *gag* gen bazlı üretilmeleri nedeniyle endojen retroviruslarla da reaksiyona girip yanlış sonuç verebilmeleridir. Bu yüzden farklı zaman dilimlerinde alınan kan numunelerinde yapılacak testler ve ekstra olarak uygulanacak serolojik bir test FIV enfeksiyon varlığının konfirmasyonu açısından önem taşımaktadır. Ayrıca son yapılan çalışmalara göre p24'ün yanında gp40 proteinin de yer aldığı hızlı tanı kitlerinin aşı/ aşısız/ hasta ayırımını daha iyi yapabildiği vurgulanmaktadır (Westman ve ark., 2016). Moleküler tanı yöntemleri yanı sıra Western Blot yöntemi de sıkça kullanılmaktadır.

FIV'nun serolojik olarak araştırılması dünyanın ve Türkiye'nin çeşitli yerlerinde ve farklı zaman dilimlerinde yapılmıştır. Araştırmacılar FIV, FeLV gibi hastalıkların seroprevalansının belirlenmesinin özellikle hastalığın hangi bölgelerdeki kedileri etkilediğini ve diğer teknikler (örn; PCR) ile elde edilen pozitifliklerin doğru olup olmadığını anlamada yardım ettiği kanaatindedirler (Little ve ark, 2011). Ayrıca aşı/ aşısız hayvanların antikor varlığının araştırılmasında en önemli yöntemdir.

FIV'nun replikasyon komponent provirus olup olmadığını anlamak için ayrıntılı laboratuvar çalışmasına gereksinim vardır. Bunun için en sık kullanılan

metot ise *ex vivo* virusun elde edildikten sonra replikasyonun sağlanması ve elde edilen virusların daha sonra SPF (specific pathogen free) ortama verilerek etkisinin gözlemlenmesidir. Bu metot genellikle araştırma amaçlı olup, pratik uygulama alanında kullanılmaz. Ancak viral patogenez açısından “altın standart test”tir (Eckstrand ve ark., 2017).

1.3.6. Destekleyici Tedavi

FIV enfeksiyonu kediler arasında yaygın olsa da mortalite oranı bakımından yüksek bir değer göstermez. Bu yüzden FIV olan kedilerde iyi bakım koşulları ve düzenli yaşam sayesinde enfeksiyon asemptomatik veya subklinik olarak uzun yıllar boyunca seyredebilir. Bu yüzden bağışıklık sistemini baskılayacak durumlardan kaçınılmalıdır. Avrupa Kedi Hastalıkları Danışma Kurulu (ABCD)’nin hazırlamış olduğu teknik nota göre FIV pozitif kediler çoğunlukla ev ortamında yaşamalı ve iyi bakım besleme sağlanmalıdır. Ayrıca çok gerekli olan durumlar hariç, hekim denetiminde ve takibinde aşı yaptırılması gerektiği vurgulanmaktadır (European Advisory Board on Cat Diseases-ABCD-Manuals, Erişim Tarihi: 02.03.2018).

Ayrıca günümüzde bağışıklık sistemini desteklemek amacıyla immunmodulatörelere de kullanılmaktadır. Özellikle parapox ovis içeren preparatlar günümüzde birçok hasta kedide başarı ile uygulanmış ve prognozu da düzelmiştir. Bunlara bağlı olarak kediye ait kan değerleri takip edilerek işlemler uygulanmalıdır (European Advisory Board on Cat Diseases-ABCD-Manuals, Erişim Tarihi: 02.03.2018).

1.3.7.Korunma

Günümüzde FIV’a karşı kullanılan sadece iki adet ticari inaktif aşı vardır. Bu aşuların biri dünya çapında en yaygın kullanılanıdır. %80 etkinlik gösterdiği ve bu

etkisinin en çok A alt tipine karşı bağıklık oluğu saptanmıştır. Diğer aşının etkinliği hakkında ise net bir bilgi bulunmamaktadır. İnsan hekimliğinde de HIV karşı kullanılan dört ticari aşı bulunmaktadır. Ancak etkinlik çalışmalarında çok değişken sonuçlar alınmış hatta bazı denemelerde hiç antikor pozitiflik elde edilememiştir (Bkz. Tartışma 53.sayfa). Günümüzde FIV ve HIV aşı çalışmaları bir arada yürütölmektedir. Çapraz denemeler ve hayvan modellemesi bakımından FIV çok önemlidir (Bęczkowski ve ark, 2015).

Genel olarak FIV aşısı üzerine yapılan çalışmalarda araştırmacılar, aşılamanın önemli olduğunu belirtmekte ancak aşı öncesi genel sağlık kontrollerinin mutlaka yapılması hususunda öneri de bulunmaktadır (Beckowzki, 2013; Little ve ark., 2011 ve Westman ve ark., 2016). Özellikle yapılan rutin kontroller sonrasında mevcut herhangi bir retroviral enfeksiyon varlığında, diğer virus aşılarının yapılmaması yönünde bir görüş hakimdir. Ayrıca yaşam statüleri de bu durum sonrası önem arz etmektedir. Diğer bir deyişle predispoze kedilerin sahada sirköle olan suşlarla karşılaşmaması adına sokak kedilerinden izole bir şekilde yaşaması önerilmektedir. Ayrıca süreli immunmodulator kullanılması ve kaliteli bakım/besleme FIV ile enfekte kedilerin hem yaşam süresi hem kalitesi üzerine olumlu etkileri mevcut olup, uygulanması otoriteler tarafından önerilmektedir (Beckowzki, 2013; Little ve ark., 2011 ve Westman ve ark., 2016).

1.4. Feline Leukemia Virus (FeLV)

1.4.1.Etiyoloji

Feline Leukemia Virus (FeLV), *Orthoretrovirinae* alt ailesi içinde yer alan *Gammaretrovirus* genusunda bulunur. FeLV, FIV ile beraber evcil ve/veya vahşi kedilerde immunsupresyona neden olan en önemli viral ajanlardandır. FeLV, FIV ve FFV'dan farklı olarak daha temel genom yapısına sahiptir. Genel olarak Retroviruslarda olduğu gibi linear, pozitif polariteli, çift kopyalı, tek iplikçikli 8.4 kb.

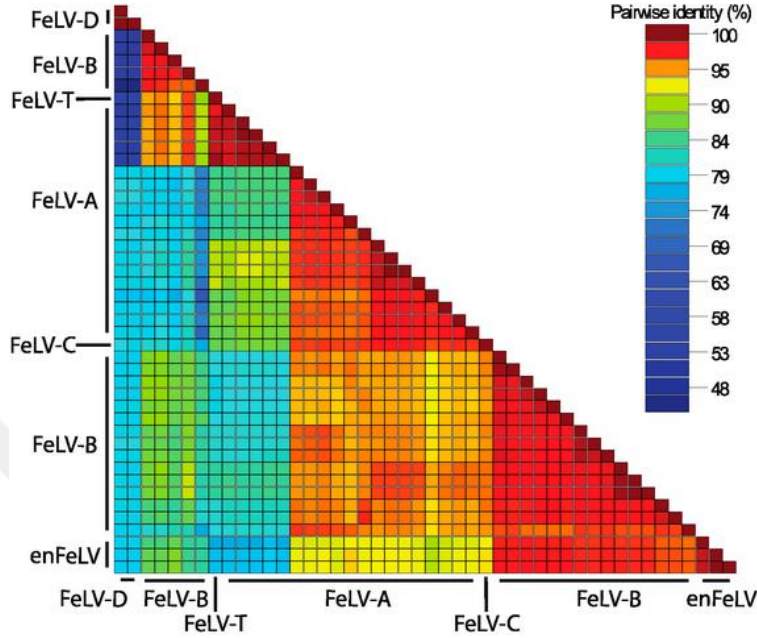
büyükliğünde RNA genomuna ve zarlı, ikosahedral bir simetriye sahiptir. Aksesuar proteinlerinin olmamasının sonucunda gerek hücre içi gerekse sistemik immün yanıt bakımından FIV ve FFV'ye oranla virus etkilerinin daha kolay bir şekilde bertaraf edilebildiği belirtilmektedir. Ancak FeLV'un süre gelen evrimsel süreçte eşey hücrelerine entegre olan ve nesilden nesile aktarılan endojen varyantı (enFeLV) olmasından dolayı, aşılama sonucu çok farklı etkilerin ortaya çıkabileceği belirtilmiştir (Anai ve ark., 2012; Hartmann, 2012 ve Krunic ve ark., 2015). Özellikle aşılama veya başka hastalıkların immün sistemi baskılaması sonucu lenfomalara, lenfadenopatlere, sarkomalara neden olabileceği vurgulanmıştır (Anai ve ark., 2012 ve Krunic ve ark., 2015). Tümör oluşmasına neden olduğu için "Oncovirus" lar içinde de yer almaktadır. Temel moleküler yapısında bulunan genler ve kodladıkları proteinler aşağıda belirtilmiştir:

- *env* gen bölgesi; yüzey (SU) glikoproteini ³gp70'i ve transmembran (TM) p15E 'yi
- *pol* gen bölgesi; RT, proteaz ve IN
- *gag* gen bölgesi: internal virion proteinleri olan p15c, p12, ³p27 ve p10'u kodlar.

FeLV 'nun 4 temel alt tipi mevcuttur. Bunlar; FeLV A, B, C ve T 'dir. Dünya üzerinde en yaygın olan alt tip FeLV-A alt tipidir. Genellikle asemptomatik seyrederek ve en bulaşıcı alt tipidir. FeLV-B neoplastik oluşumlara ve tümör gelişmesine neden olur. FeLV-C ise tüm kan hücrelerini enfekte eder ve genel bir anemiye neden olur. FeLV-T enfeksiyonunda ise sadece T-lenfositler enfekte edilir. CD4+/CD8+ oranı düşer ve immünyüpresyon bu formda daha hızlı oluşur. (Merck Manual, Erişim Tarihi: 07.07.2017). Genel olarak FeLV-A, -B ve -C ekzojen FeLV olarak nitelendirilmiştir (Chiu ve ark., 2018). Ayrıca son yıllarda kedi endojen retrovirusları ile yakın ilişkili yeni alt tip olarak FeLV-D ortaya konmuştur (Anai ve ark., 2012 ve Miyake ve ark., 2016). Bu tipler arasında özellikle FeLV B alt tipi ile ilgili ayrıntılı moleküler çalışmada benzerlik üzerine matriks tablosu oluşturulmuş ve başta ERV-DC olmak üzere tüm enFeLV'lar ile yakınlık gösterdiği saptanmıştır (Şekil 1.6.)

³ P27 klinik tanıda kullanılan gen bölgesiyken, gp70 virus alt tiplerinin identifiye edilmesinde önemlidir.

(Anai ve ark., 2012). Bütün bu alt tipler dışında FeLV-A/C rekombinant alt tipinden bahseden çalışmalar vardır, ancak bu durum henüz global literatüre girmemiştir (Chiu, 2018).



Şekil 1.6. enFeLV ve FeLV-B'nin yakınlığını gösteren matrix tablosu (Koyu kırmızı ile işaretli olan kısımlar yüksek nükleotit benzerliğini, koyu mavi olan kısımlar ise yüksek nükleotit farklılığı göstermektedir).

1.4.2. Epidemiyoloji

FeLV, FIV gibi toplu yaşam alanını paylaşan kediler arasında çok görülür. Enfekte kedilerden; akıntular, kavga veya çiftleşme ile virus nakledilebilmektedir. Özellikle eşey hücrelerini enfekte etmesinden ötürü (sperm, ovum) yeni jenerasyonlara aktarımın vertikal yolla olabildiği belirtilmiştir. Ancak vertikal geçiş sonrası enfeksiyon oluşup oluşmayacağı veya hangi durumlarda söz konusu olacağı konuları halen araştırılmaktadır. Özellikle enFeLV ve ekzojen feline leukemia virus (exFeLV) etkileşim meydana gelerek mi, yoksa farklı mekanizmalarla mı tümörögenesis oluştuğu günümüzde araştırılmaktadır (Krunic ve ark., 2015).

1.4.3. Patogenez/Klinik

Patogenez genellikle iki aşamadan oluşur. İlk aşamada birinci viremi meydana gelir ve eğer immun sistem yeterli düzeyde yanıt geliştirebilirse bu aşamada enfeksiyon ortadan kaldırılır. Ancak birinci viremi sırasında immun sistem yeterli düzeyde yanıt oluşturamazsa, primer lenfoid dokulara giden virus buradaki hücrelerde (genellikle olgunlaşmamış CD4+ T lenfosit hücreleri) “provirus” olarak persiste kalır. İmmun yanıtın durumuna göre farklı enfeksiyon çeşitleri meydana getirir. Yapılan çalışmalarda virusun kediyi ilk enfekte ettiği zaman CD4+ T lenfosit sayısı oldukça yüksek ve IL-2 (interleukin) ifadesi yeterli düzeyde ise virus ilk girdiği yerdeki immun yanıtla bertaraf edilebildiği belirtilmiştir. Günümüzde halen immun sistem ve FeLV arasında nasıl bir etkileşim olduğu önemli bir araştırma konusudur. Kesin olan durum ise kedilerin bireysel immun sistem düzeyidir. İmmun sistemin faaliyetine, hastalığın patogenez ve klinik durumuna göre FeLV enfeksiyonları ayrı ayrı isimlendirilmiştir (Hartmann, 2012):

- ✓ Abortif
- ✓ Regressif
- ✓ Progressif
- ✓ Fokal enfeksiyonlardır.

Abortif ve fokal enfeksiyonlar en az görülen klinik hastalıklardır.

Abortif enfeksiyonda; vücuda girişteki bölgesel lenfoid dokuları enfekte eden virusun güçlü humoral ve hücrel yanıtla viremi dönemine geçememesi sonucu hastalık şekillenmemesi söz konusudur. Kan parametreleri ya hiç değişmez ya da çok hafif değişiklikler vardır. FeLV antijenini ya da proviral DNA’yı saptamak neredeyse imkansızdır. Böyle bir enfeksiyonla çok nadir karşılaşmaktadır (Major ve ark., 2010).

Fokal enfeksiyon ise sadece tek bir dokuda meydana gelen tipidir. Bulgular; göz, sidik kesesi veya meme bezlerinde ortaya çıkabilir. Ortaya çıkma ihtimali çok düşüktür. Tespiti zordur; hem serolojik hem moleküler teknikler birlikte kullanılmalıdır (Levy ve ark., 2008).

Regressif enfeksiyonda ise virus viremi geçirir ve başta kemik iliği olmak üzere lenfoid dokularda “provirus” olarak latent kalır. Bu tip enfeksiyonda ilk 3 haftalık dönem geçici bir viremi olur. Bu dönemde ateş, halsizlik, iştahsızlık gibi genel semptomlar görülür. Lenfoid dokularda latent hale geldikten sonra hastalık oluşturmaz, yani proviral DNA’dan protein sentezlenmez. Fakat bazı immunsupresyon dönemlerinde provirus reaktif olup hastalık ve tümörogenesis oluşturabilir. Hastalığı tespit etmek zordur; dokulardan alınacak biyopsi, kan örnekleri moleküler ve serolojik testte tabii tutulmalıdır (Pepin ve ark., 2007).

Progressif enfeksiyonda ise enfekte olan bireyin hem lenfoid, hem de kan hücrelerinde persiste bir enfeksiyon oluşur. İlk viremi sonrası yaklaşık bir sene semptom görülmezken, daha sonra onkolojik semptomlar ortaya çıkar. Lenfadenopatiler, lenfoma, sarkoma oluşumlarına neden olur. Kısa bir süre içerisinde ölüm görülebilmektedir. Tanısı diğer formlara nazaran daha iyi orandadır. Hem moleküler olarak provirusu hem de serolojik olarak antikor tespiti yapılabilir (Pepin ve ark., 2007).

FeLV ile enfekte olan kedilerde stomatit, gingivit, dişeti semptomlarına ek olarak ateş, halsizlik, diare, anisocoria (göz bebeklerinde bozukluk), tekrarlayan bakteriyel/viral enfeksiyonlar, deri ve kıl döküntüleri gibi semptomlar da görülebilir (Hartmann, 2012).

1.4.4. Tanı

Tanıda en çok kullanılan yöntemler ELISA, PCR ve immunfloresans teknikleridir. ELISA ve immunfloresans için en önemli gen bölgesi p27'dir. Bu gen bölgesinin tespiti FeLV için spesifikite göstermektedir. FIV tanısında bahsedildiği üzere kliniklerde hızlı tanı kiti olan kombo SNAP kitleri çok yoğun kullanılmaktadır. Tanı da önemli olan hayvanın yaş, immun sistem durumu ve test sonucunun karşılaştırılmalı değerlendirilmesidir. Bütün bu faktörler göz önünde bulundurularak *European Advisory Board on Cat Diseases'in* hazırlamış olduğu kılavuzun takibi tavsiye edilmektedir (European Advisory Board on Cat Diseases-ABCD-Manuals, Erişim Tarihi: 22.11.2017) (Çizelge 1.3).

FeLV, PCR tanısında en çok kullanılan hedef gen bölgeleri *U3* ve *LTR*'dir. Tez çalışmasında da tanı amaçlı olarak bu gen bölgeleri kullanılmış olup, moleküler karakterizasyon amacıyla farklı gen bölgeleri de karakterize edilmeye çalışılmıştır.

Çizelge 1.3. FeLV için tanı ABCD (European Advisory Board on Cat Diseases) hazırlanan kılavuza göre tanısal diagram.

<i>Yaş</i>	<i>İlk test sonucu</i>	<i>Yaşam Stili/Durumu</i>	<i>Değerlendirme</i>	<i>Sonuç</i>
<i><12 haftalık</i>	<i>Negatif</i>	<i>Toplu Yaşam</i>	<i>Test Tekrarı 4-6 hafta sonra</i>	<i>Son test sonucu kesinlik gösterir.</i>
		<i>Tekil yaşam</i>	<i>Enfekte değil</i>	
	<i>Pozitif</i>	<i>Anne ile (kolostral yolla enfeksiyon)</i>	<i>FeLV ile Enfektedir.</i>	<i>İzole edilip her 6 ayda bir muayeneye tabii tutulur.</i>
<i>>12 haftalık</i>	<i>Negatif</i>	<i>FeLV enfeksiyonun görüldüğü hayvan popülasyonunda yaşama</i>	<i>Test Tekrarı 6-8 hafta sonra</i>	<i>Son test sonucu kesinlik gösterir.</i>
		<i>Belirti göstermeyen kedi</i>	<i>Enfekte değil</i>	
	<i>Pozitif</i>	<i>Semptom gösteren kedi</i>	<i>FeLV ile Enfektedir.</i>	
		<i>Değişken klinik görünüm</i>	<i>Test Tekrarı 6-8 hafta sonra</i>	<i>Son test sonucu kesinlik gösterir.</i>

Türkiye'de hastalığın varlığı ve yaygınlığı birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. İlk çalışma 2000 senesinde FeLV nu tespit etmeye yönelik Ag ELISA ile yapılmıştır. Test sonucu testte tabii tutulan hayvanların %5.8 inde FeLV

antijenine rastlanılmıştır (Yılmaz ve ark., 2000). 2010 senesinde yapılan diğer bir çalışmada ise % 3,8 FeLV antijen pozitiflik ve % 7,5 FeLV antikor pozitiflik tespit edilmiştir. (Oguzoglu ve ark., 2010). 2013 senesinde Aydın'da yapılan çalışmada FeLV antijen % 7,6 ve FeLV antikor ise % 58,1 tespit edilmişken; aynı sene Ankara'da yapılan diğer bir çalışmada antijenik yönden % 20,5'luk bir oran bulunmuştur (Erol ve Paşa, 2013 ve Oguzoglu ve ark., 2013).

1.4.5. Korunma

Aşılama korunma yöntemleri içerisinde önemli yere sahiptir. Ülkemizde de kullanılan ticari aşının etkinliği; yapılan bir çalışmada FeLV için %85 olarak belirtilmiştir (Merck Manual, Erişim Tarihi: 15.03.2018). Aşı; Türkiye'de çoğu özel veteriner kliniklerinde ve hastanelerinde aşı programına alınmıştır. Ancak aşılama sonrası koruyucu antikor varlığının araştırılması veya regresif enfeksiyonun oluşup oluşmadığının takibi yapılmamaktadır. Ayrıca aşılama öncesi hastalık teşhisine yönelik testlerin yapılması önem arz etmektedir. Aksi takdirde aşının koruyucu özelliğinden çok, hastalığın ağırlaşmasına sebebiyet verebileceği hususu unutulmamalıdır (Hartmann, 2012 ve Merck Manual, Erişim Tarihi: 15.03.2018).

Ayrıca FIV enfeksiyonunda belirtildiği üzere FeLV enfeksiyon sahip kedilerin immun sistemini desteklenmesi amacıyla immunmodülatör müstahzarlar uygulanabilmektedir (European ABCD Guidelines, Erişim Tarihi: 03.11.2017). Ancak enFeLV patogenez ve klinik olarak aydınlatılamadığından korunma veya tedavi anlamında herhangi bir uygulama yapılmamaktadır.

1.5. Feline Foamy Virus (FFV)

1.5.1. Etiyoloji

Feline Foamy Virus (FFV) *Spumaretrovirinae* alt ailesi altında *Felispumavirus* genusunda yer almaktadır. *Spuma* latince “köpük” anlamına gelmektedir. Patolojik olarak mikroskopik bakışında hücre kültürlerinde meydana getirdiği sitopatojenik etkinin köpük şeklinde görülmesinden ötürü İngilizce karşılığı olan “foamy” kelimesi virus identifikasyonunda kullanılmıştır (Alke ve ark., 2001; Boneva ve ark., 2007 ve Lukic ve ark., 2013).

Foamy viruslar, kompleks Retroviruslardır. Yapısında *Bet*, *Tas* gibi aksesuar proteinler bulunmaktadır. Önceleri fonksiyonları çok bilinmeyen bu proteinlerin, virusun replikasyonunda büyük rol oynadığı anlaşılmıştır. Yapılan bir çalışmada *Bet* proteininin *bel 2* bölgesinin oluşmasını engelleyerek meydana getirilen rekombine virusun kedi böbrek hücresinde ve insan lenfosit orijinli hücrede (293T) etkinliğinin 10 kat azaldığı saptanmıştır (Alke ve ark., 2001). Ayrıca *Bet* aksesuar proteinin bir özelliği de restriksiyonel antiviral bir protein olan APOBEC3G (cystidine deaminase, A3) proteinini nötralize etmesi ve enfeksiyon meydana getirmesidir (Lukic ve ark., 2013). Bir örnek özellikleri yanında; inokule edildiği in vivo ortamlarda patojenite oluşturmayan in vitro ortamlarda ise hücre ölümlerine, proliferatif sitopatojenik etkilere neden olan FFV’un dikkate ve takibe alınması gerektiğini göstermektedir.

1985 yılında yapılan bir serolojik araştırma sonucu günümüzde de kabul edilen 2 serotip (FUV7 ve 951) elde edilmiştir (Flower ve ark., 1985). Bu viruslar, daha sonra yapılan serolojik araştırmalarda referenz olarak kabul edilmişlerdir. Serotiplere paralel olarak; genotiplendirmede de 2 ana referenz suş saptanmıştır. Bunlar FUV ve F17 suşlarıdır. Genotiplendirmede *env* gen bölgesinin farklılığının temel teşkil ettiği vurgulanmıştır (Winkler ve ark., 1998). En son yapılan çalışmalarda moleküler

olarak genotiplendirilen viruslar FUV ve F17/951 benzeri viruslar (FUV-like, F17/951-like) olarak sınıflandırılmışlardır (Phung ve ark., 2001; Kehl ve ark., 2013).

1.5.2. Epidemiyoloji

FFV'nin bulaşması hakkında net bilgi mevcut olmayıp, FIV ve FeLV gibi toplu yaşam alanlarındaki horizontal bulaşmalar sonucu enfeksiyon olduğu düşünülmektedir. Horizontal bulaşmada en büyük risk faktörünün kediler arasındaki kavga sonucu meydana gelen yaraların olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca Human ve Simian Foamy viruslarda olduğu gibi vertikal bulaşmanın da olabileceği belirtilmiştir (Rethwilm ve Bodem, 2013).

1.5.3. Patogenez/Klinik

Feline Foamy Virus, in vivo şartlarda apatojen olarak değerlendirilmesinden dolayı patogenez mekanizması net olarak aydınlatılamamıştır. Feline Foamy Virus genellikle kedilerde asemptomatik görülse de bazı çalışmalar kronik progressif polyartritise ve trombosit sayısında değişikliğe neden olabileceğini belirtmektedir. Ayrıca FIV ile beraber ko-enfeksiyon meydana getirme olasılığı da oldukça yüksek olduğu vurgulanmıştır (Pedersen ve ark., 1980; Winkler ve ark., 1999). FFV'un patojenitesi hakkında; German ve ark.'nın (2008) yaptığı çalışmada, sekiz kedi FFV'un referenz suşlarından biri olan FUV ile enfekte edilerek; hem klinik hem de ayrıntılı laboratuvar analizlerine tabii tutulmuşlardır. Çalışma sonucu yedi kedide klinik olarak herhangi bir semptom görülmezken, bir kedide polyarthritis geliştiği görülmüştür. Ayrıca bu kedide glomerulonefritis geliştiği, trombosit sayısında düşüklük olduğu saptanmıştır. FFV'un gen terapisinde kullanılan vektörlerden biri olduğuna dikkat çekilerek, sanıldığı kadar apatojen bir etken olmadığı ve hakkında tekrar düşünülmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Bir başka çalışmada, FIV ile beraber ko-enfeksiyon meydana getirme olasılığının oldukça yüksek olduğu vurgulanmıştır (Liu ve ark., 2013).

Foamy virus birçok memeli türünde saptanmıştır. Örnek olarak; Human Foamy Virus (HFV), Simian Foamy Virus (SFV), Bovine Foamy Virus (BFV), Equine Foamy Virus (EFV)'lar verilebilir. Günümüze kadar başta FFV olmak üzere non-primat Foamy virusların zoonoz karakter göstermesi açısından tespit edilmiş bir vak'a bildirilmemiştir. (Callahan ve ark., 1999; Boneva ve ark.,2007; Engel ve ark., 2013).

1.5.4. Tanı

FFV için günümüzde kullanılan tanı teknikleri şunlardır (Rethwilm ve Bodem, 2013):

- ✓ Virus izolasyonu; Crandell Rees Feline Kidney (CRFK), Feline T-lymphoblastoid cell lines (MYA-1 ve FL74) vb.
- ✓ Moleküler olarak; PCR, Real-Time PCR

2.3.5.Korunma

Bu enfeksiyona ait herhangi bir aşı bulunmamaktadır. Patolojik mekanizması ayrıntılı çalışılmadığından ve çoğu araştırmacı tarafından apatojen olarak nitelendirildiğinden herhangi bir özel korunma yöntemi uygulanmamaktadır.

Bu tez çalışmasında;

- ✓ Örneklenen kedilerde Feline Retrovirusların tek veya çoklu varlığı ve yaygınlığının araştırılması,
- ✓ Feline Retrovirus enfeksiyonu pozitif bireylerin istatistiksel yönden değerlendirmelerinin yapılabilmesi için yaş, cinsiyet, ırk, aşı durumu ve klinik bulgu varlığı/yokluğu gibi verilerle karşılaştırılması,
- ✓ Feline retrovirus enfeksiyonları yönünden pozitif bulunan örneklerdeki farklı gen bölgelerinin moleküler virolojik metotlar kullanılarak araştırılması,
- ✓ Hedef gen bölgeleri yönünden yapılan dizin analizlerinin dünyadaki diğer izolatlar ile karşılaştırılarak benzerlik ve farklılıkları ortaya konulması,
- ✓ Kedilerde subklinik seyreden enFeLV ve FFV enfeksiyonlarının ülkemizde varlığının ve yaygınlığının ortaya konulması,

hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.1. Gereç

Doktora tez çalışması kapsamında, özel klinik ve hastanelerden olmak üzere, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararı (No: 2015-17-192) (Ek-1) ve Aydınlatılmış Onam Formu ile toplamda 200 kediden; 198 adet periferel kan, 1 adet asites sıvısı ve 2 adet doku örneği alındı. Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA)'lı kan tüplerine alınan tam kanlar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'na soğuk zincir altında ulaştırıldı. Kan numuneleri +4 °C'de, asites ve doku örnekleri -20 °C'de muhafaza edildi. Örneklerin alındığı kedilere ait bilgiler (yaş, cinsiyet, ırk, klinik bulgular, aşı durumları, yaşam ortamları) kaydedildi.

2.1.2. Virus ve İnternal Kontroller

PCR optimizasyonunda; Oğuzoğlu ve ark. (2010)'nın çalışmalarında elde ettikleri FIV pozitif numunelere ait virus nükleik asit ekstraktları pozitif kontrol olarak kullanıldı. FeLV ve FFV'nin PCR testlerinde ise kedi kökenli internal kontrol (16S rRNA) kullanıldı.

2.1.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri

Tez çalışmasında kullanılmaya yönelik temin edilen kimyasal ve sarf malzemeleri aşağıda listelendi.

- ✓ 5 ml'lik vakumlu EDTA kan tüpü
- ✓ Taq DNA Polymerase Kiti

- ✓ 100 bp DNA Ladder
- ✓ Pipet tip blue
- ✓ Pipet tip yellow
- ✓ Pipet p10
- ✓ Microcentrifuge tube 1,5 ml
- ✓ PCR-CP transp 0,2 ml
- ✓ dNTp mix
- ✓ Microcentrifuge tube 2,2 ml DNase RNase free
- ✓ Nitril eldiven medium
- ✓ Agaroz Jel
- ✓ Water Molecular biology grade
- ✓ PBS Solution w/o Ca²⁺,Mg²⁺
- ✓ PP-Tube sterile 15 ml
- ✓ PP-Tube sterile 50 ml

2.1.4. Kitler

Tez çalışmasında kullanılan kitler aşağıda belirtilmiştir.

- ✓ Viral Nükleik Asit Ekstraksiyon Kiti
- ✓ GeneReleaser
- ✓ PCR Clean-Up Kit
- ✓ cDNA Synthesis Kit
- ✓ PCR Gel Extraction Kit

2.1.5. Cihazlar

Tez çalışmasındaki araştırmalar AÜ Veteriner Fakóltesi Viroloji Anabilim Dalı envanterinde bulunan cihazlar ile yapılmıştır:

- ✓ Sigma Mikro Santrifüj 1-14k (Michael Christ design)
- ✓ Vera Scientific Vortex
- ✓ Biometra 96-well Gradient Thermal Cyclers (Analytik Jena, Almanya)
- ✓ Kyrattec 96-well Gradient Thermal Cyclers (Kyrattec Inc., Avustralya)
- ✓ Metis Lab Biyogüvenlik II Kabini
- ✓ Cleaver® Scientific Elektroforez Seti
- ✓ Kodak 1D Gel Logic Kamera
- ✓ UV Tranilluminator
- ✓ +4 °C Buzdolabı
- ✓ -20 °C Derin dondurucu
- ✓ -80 °C Derin dondurucu

2.2. Yöntem

2.2.1. Kan Numunelerinin Hazırlanması

Örneklenen kanlar +4 °C'de 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası plazma, lökosit kısımları ayrı ayrı stok tüplere alınarak teste alınmaya dek -80 °C'de depolandı. Viral nükleik asit izolasyonu amacıyla 0,5 ml alınarak 1,5 mililitrelik ependorf tüplere aktarıldı.

2.2.2. Organ ve Asites Numunelerinin Hazırlanması

Soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılan organ numuneleri, Viroloji Anabilim Dalında bulunan biyogüvenlik kabininde (Metis Safe, Türkiye) işlenerek Fosfat Buffered Saline (PBS w/o Ca²⁺, Mg²⁺) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenize edilen doku 15 ml'lik tüplerde 3000 devirde +4 °C'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatanttan viral nükleik asit izolasyonu

amacıyla 0,5 ml miktarda 1.5 ml'lik ependorf tüpe aktarıldı. Arta kalan şahit numune ise -80 °C derin dondurucuda muhafaza edildi.

Asites numunesi ise nükleik asit izolasyonu amacıyla direkt 0,5 ml tüpe alındı. Arta kalan numuneler; şahit numune olarak -80 °C derin dondurucuya kaldırıldı.

2.2.3. Viral Nükleik Asit İzolasyonu

Proviral DNA/viral RNA ekstraksiyonu amacıyla ticari bir kit (Exgene™ Viral Nükleik Asit İzolasyon Kiti, GeneAll®, Güney Kore) üretici firmanın önerdiği protokole göre kullanıldı. Bu kite ait uygulama protokolü aşağıda belirtilmiştir.

- ❖ Ekstraksiyon yapılacak her bir numune için 1.5 ml'lik mikrotüplere 10 µl proteinase K konuldu.
- ❖ Bu tüplere ekstaksiyon için ayrılan numunelerden 200 µl konuldu.
- ❖ Her tüpe 200 µl BL buffer eklendi.
- ❖ 7 µl carrier RNA eklendi ve homojen bir karışım için tüpler vortekslendi.
- ❖ Karışım 56 °C'de 10 dk bekletildi.
- ❖ Süre sonunda RB1 bufferdan 400 µl eklendi.
- ❖ Karışım kit içindeki micro S columnlara aktarıldı.
- ❖ 10000xg 'de 1 dk boyunca santrifüj edilerek nükleik asitin filtreye takılması sağlandı.
- ❖ Daha sonra 500 µl BW buffer eklendi.
- ❖ 10000xg 'de 1 dk boyunca santrifüj yapıldı.
- ❖ 700 µl TW buffer eklendi.
- ❖ 10000xg 'de 1 dk boyunca santrifüj yapıldı.
- ❖ Etanolü tamamen uzaklaştırmak için 14800 rpm'da 1 dk. Boş olarak santrifüj yapıldı.
- ❖ Steril ve temiz 1.5 ml'lik DNase v RNase tüplere alınan filtrelere 35 µl su (nuclease free) konuldu.
- ❖ 1 dk oda sıcaklığında bekletilen filtreler daha sonra 14800 rpm'da 1 dk.

santrifüj edildi.

- ❖ Tüpe alınan nükleik asit, PCR işlemine kadar -80 °C’de bekletildi.

2.2.4. Viral RNA’nın Reverz Transkripsiyonu (RT)

Elde edilen viral RNA, ekzojen FeLV tanısı için komplementer DNA (cDNA) sentezi yapıldı. Bu amaçla Reverse Transkriptase enzimi içeren ticari bir kit (First Strand cDNA sentez kiti, Fermentas/Thermo®, Litvanya) kullanıldı. Yapılan karışımların içerikleri ve uygulanan ısı döngüleri Çizelge 3.1 ve 3.2 'de verildi. Tüm bu işlemler için termal döngü cihazı (Biometra, Almanya) kullanıldı.

Çizelge 2.1. Reverse Transkriptaz Polimeraz Chain Reaksiyonu (RT-PCR) için mix hazırlanması.

Mix 1		Mix 2	
Moleküler Düzeyde Deiyonize su	3 µl	5 X Reaksiyon Buffer	2 µl
Random Primer	0.5 µl	10 mM dNTP mix	1 µl
Viral RNA	3 µl	Reverse Transcriptase Enzim	0.5 µl
Toplam	6.5 µl	Toplam	3.5µl
Toplam reaksiyon hacmi	10 µl		

Çizelge 2.2. RT-PCR uygulama protokolü

Isı	Süre	Protokol
70 °C	5 dk.	Mix 1
25 °C	10 dk.	Mix1+Mix2
37 °C	60 dk.	
72 °C	5 dk.	

2.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

2.2.5.1. FIV Tanısı ve Moleküler Karakterizasyonuna Yönelik PCR

FIV tanısı ve moleküler karakterizasyonu amacıyla nested-PCR uygulanmıştır. FIV *env* geninin V3-V6 (Endo ve ark., 1997) hedef gen bölgesini çoğaltan primer çiftleri kullanılmıştır. Ayrıca moleküler karakterizasyon çalışmalarının çeşitlendirilmesi amacıyla *gag* ve *vif* gen bölgesini hedefleyen primerler de sentezlenmiştir. Ayrıca *vif* aksesuar geninin tespiti ile replikasyon kompetant FIV'lar da ayırt edilmiştir. PCR testinde bu gen bölgelerini tanımaya yönelik sentezlenmiş ve dizayn edilmiş primer sekansları ile reaksiyon koşullarına ait ayrıntılı bilgiler Çizelge 2.3, 2.4 ve 2.5'de sunulmuştur.

Çizelge 2.3. FIV tanısı ve moleküler karakterizasyonu için kullanılan primer dizinleri

Bölge	Primer Adı	Dizini (5' → 3')	Referans
<i>env</i> V3-V6 (859 bp)	FIV F1	GAGTAGATACWTGGTTRCAAG	(Endo ve ark., 1997)
	FIV F2	CATCCTAATTCTTGCATAGC	
	FIV F3	CAAAATGTGGATGGTGGAAAY	
	FIV F4	ACCATTCCWATAGCAGTRGC	
Komple <i>gag</i> (1609 bp)	FiGag 1	AATGGCCATTAAGAGATGTAG	Bu çalışmada tasalanmıştır
	FiGag 2	TGCTTGCTGCATTTGATTCA	
Partial <i>gag</i> (855 bp)	G1F	GGGGATCCAACAAGGTAGGAGAGATTC	(Kakinuma ve ark., 1995)
	G2R	CTCAAGCTTATAGGGTGTCCATTTACAAA	
	G3F	GGGAGATCTAAGGAAATTGATATGGCAA	
	G4R	CTCAAGCTTGCATTTTATATCCTGGTG	
<i>vif</i> (615 bp)	Vif-1	AAGATTGGCAGGTAAGTA	Bu çalışmada tasalanmıştır
	Vif-2	CGTTGATTACAGCATCCTC	

Çizelge 2.4. FIV'a ait PCR analizinde kullanılan karışımın komponent miktarları

Komponent	Miktar	Konsantrasyon
5 X Green® Flexi Buffer	4 µl	1 X
MgCl ₂ 25 mM	2 µl	2,5 mM
Nucleotide Mix 10 mM	0.5 µl	0.25 mM dNTP
Forward Primer	1 µl	0.5 µM
Reverse Primer	1 µl	0.5 µM
Taq DNA Polymerase	0.1 µl	0.5 u
Proviral DNA	2 µl	-
Moleküler Deiyonize su	9.4 µl	-
TOPLAM	20 µl	

Çizelge 2.5. FIV'a ait ilgili primerlere ait PCR döngü protokolleri

	<i>env V3-V6</i> ve Komple gag bölgeleri için optimize edilen 1. ve 2. Tur PCR Döngüleri	Partial <i>gag</i> bölgesi için optimize edilen 1. ve 2. Tur PCR Döngüleri	<i>vif</i> bölgesi için optimize edilen PCR Döngüsü
Başlangıç Denaturasyonu	94 °C → 5 dk	94 °C → 5 dk	94 °C → 5 dk
Döngü (35 siklus)	94 °C → 45 sn 50 °C → 45 sn 72 °C → 1 dk 18 sn (↑Δt 3sn her siklus için)	94 °C → 45 sn 55 °C → 45 sn 72 °C → 1 dk 26 sn (↑Δt 2sn her siklus için)	94 °C → 40 sn 58 °C → 40 sn 72 °C → 1 dk 20 sn
Son Uzama	72 °C → 5 dk	72 °C → 5 dk	72 °C → 5 dk

2.2.5.2. Feline Leukemia Virus (FeLV) tanısı ve moleküler karakterizasyonuna yönelik PCR

FeLV tanısı ve moleküler karakterizasyonu amacıyla nested-PCR uygulanmıştır. FeLV *u3-ltr* gen bölgesini çoğaltan primer çiftleri (Miyazawa ve Jarrett, 1997) kullanılmıştır. Ayrıca moleküler karakterizasyon çalışmalarının çeşitlendirilmesi amacıyla *gag* gen bölgesini hedefleyen primerler de tasarlanmıştır. Ayrıca FeLV'un endojen varyantı ile ayırımı yapmak ve internal kontrol için farklı primer çiftleri (Herring ve ark., 2001) de sentezlenmiştir. PCR testinde bu gen bölgelerini tanımaya yönelik sentezlenmiş ve dizayn edilmiş primer sekansları ile reaksiyon koşullarına ait ayrıntılı bilgiler Çizelge 2.6, 2.7 ve 2.8'de sunulmuştur.

Çizelge 2.6. FeLV tanısı ve moleküler karakterizasyonu için kullanılan primer dizinleri

Bölge	Primer Adı	Dizini (5'→3')	Referans
U3-LTR (601 bp)	U3F1	ACAGCAGAAGTTTCAAGGCC	(Miyazawa ve Jarrett, 1997)
	GR1	GACCAGTGATCAAGGGTGAG	
	U3F2	GCTCCCCAGTTGACCAGAGT	
	GR2	GCTTCGGTACCAAACCGAAA	
Komple gag (1537 bp)	FeGag 1	TAGCCAGCTACTGCAGTGGTG	Bu çalışmada tasalanmıştır.
	FeGag 2	CAGCCCACATTCATCATTAC	
U3-ltr (495 bp)	FeLV-F	GCCAGCTACTGCAGTGGTGTCAT	(Herring ve ark, 2001)
	FeLV-R	CTGGGGGTTGGGGTCTTTATCC	
16s RNA (600 bp)	16s-AR	CTGGGGGTTGGGGTCTTTATCC	
	16s-BR	CGCGTCTGAACTCAGATCACGT	

Çizelge 2.7. PCR analizinde kullanılan karışımın komponent miktarları.

Komponent	Miktar	Konsantrasyon
5 X Green GoTaq G2® Flexi Buffer	4 µl	1 X
MgCl ₂ 25 mM	2 µl	2,5 mM
PCR Nucleotide Mix 10 mM	0.5 µl	0.25 mM dNTP
Forward Primer	1 µl	0.5 µM
Reverse Primer	1 µl	0.5 µM
GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase	0.1 µl	0.5 u
Proviral DNA	2 µl	
Moleküler Düzeyde Deiyonize su	9.4 µl	
TOPLAM	20 µl	-

Çizelge 2.8. İlgili primerlere ait PCR döngü protokolleri

	U3-LTR (<i>nested</i>) bölgesi için optimize edilen 1. ve 2. Tur PCR Döngüleri	Komple gag bölgesi için optimize edilen PCR Döngüsü	U3-ltr ve 16sRNA bölgeleri için optimize edilen PCR Döngüsü
Başlangıç Denaturasyonu	94 °C → 5 dk	94 °C → 5 dk	94 °C → 5 dk
Döngü (35 siklus)	94 °C → 45 sn 50 °C → 45 sn 72 °C → 1 dk 18 sn (↑Δt 3sn her siklus için)	94 °C → 45 sn 57 °C → 45 sn 72 °C → 1 dk 18 sn (↑Δt 2sn her siklus için)	94 °C → 40 sn 60 °C → 40 sn 72 °C → 1 dk 20 sn (↑Δt 2sn her siklus için)
Son Uzama	72 °C → 5 dk	72 °C → 5 dk	72 °C → 5 dk

2.2.5.3. Feline Foamy Virus (FFV) tanısı ve moleküler karakterizasyonuna yönelik PCR

FFV tanısı ve moleküler karakterizasyonu amacıyla PCR uygulanmıştır. FFV *gag* geninin NC bölgesini çoğaltan primer çifti tanı amacıyla (Winkler ve ark, 1998) kullanılmıştır. Ayrıca moleküler karakterizasyon çalışmalarının çeşitlendirilmesi amacıyla *gag* gen bölgesini hedefleyen primerler de tasarlanmıştır. Ayrıca FFV'un replikasyon kompetan olup olmadığı ayırımı yapmak için aksesuar gen *bet* 'e karşı primer çifti de tasarlanmıştır. PCR testinde bu gen bölgelerini tanımaya yönelik sentezlenmiş ve dizayn edilmiş primer sekansları ile reaksiyon koşullarına ait ayrıntılı bilgiler Çizelge 2.9, 2.10 ve 2.11'de sunulmuştur.

Çizelge 2.9. FFV tanısı ve moleküler karakterizasyonu için kullanılan primer dizinleri

Bölge	Primer Adı	Dizini (5'→3')	Referans
<i>gag</i> NC (455 bp)	2610S	AACAGCAACACTCTGATGTTCCCG	(Winkler ve ark., 1998)
	3065AS	TTGCTGCCTAACAGGTTCTTCTC	
Komple <i>gag</i> (1650 bp)	FoGag 1	ATGGCTCGAGAATTAAATCCT	<i>Bu çalışmada tasarlanmıştır.</i>
	FoGag 2	GCTGCGGATTTCTTCTAAAA	
<i>bet</i> (1350 bp)	bet-F	ATGGCTCAAATACCCGGAAGAAG	<i>Bu çalışmada tasarlanmıştır.</i>
	bet-R	TTCAGAGTCAGATGACTCAGATGTTG	

Çizelge 2.10. FFV'ye ait PCR analizinde kullanılan karışımın komponent miktarları

Komponent	Miktar	Konsantrasyon
5 X Green GoTaq G2 ®Flexi Buffer	4 µl	1 X
MgCl ₂ 25 mM	2 µl	2,5 mM
PCR Nucleotide Mix 10 mM	0.5 µl	0.25 mM dNTP
Forward Primer	1 µl	0.5 µM
Reverse Primer	1 µl	0.5 µM
GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase	0.1 µl	0.5 u
Proviral DNA	2 µl	
Moleküler Düzeyde Deiyonize su	9.4 µl	
TOPLAM	20 µl	

Çizelge 2.11. FFV'ye ait ilgili primerlere ait PCR döngü protokolleri

	<i>gag NC</i> bölgesi için optimize edilen PCR Döngüsü	<i>bet</i> bölgesi için optimize edilen PCR Döngüsü	<i>Komple gag</i> bölgesi için optimize edilen PCR Döngüsü
Başlangıç Denaturasyonu	94 °C → 5 dk	94 °C → 5 dk	94 °C → 5 dk
Döngü (35 siklus)	94 °C → 45 sn 58 °C → 45 sn 72 °C → 1 dk 18 sn	94 °C → 45 sn 55 °C → 45 sn 72 °C → 1 dk 18 sn	94 °C → 40 sn 50 °C → 40 sn 72 °C → 1 dk 30 sn
Son Uzama	72 °C → 5 dk	72 °C → 5 dk	72 °C → 5 dk

2.2.6. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Elde edilen amplikonların görüntülenmesi amacıyla, ethidium bromide içeren (Sigma, ABD) %1,5'lik agaroz jel (Prona, EU) hazırlandı. Tank tamponu ve agaroz jel hazırlanmasında 10xTAE (Tris Asetat - Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)) tamponu kullanıldı. 0,5xTAE solüsyonu içinde ısı yardımıyla (mikro dalga fırın) çözülen agaroz, soğutulduktan sonra, üzerine 0,5 µg/ml oranında ethidium bromide (Sigma, ABD) konuldu ve karıştırıldı. Jel tarakları yerleştirilmiş olan jel küvetine bu karışım döküldü. 20 dakika sonra donmuş olan jel elektroforez tankına yerleştirildi.

Elde edilen PCR ürünleri yükleme boyası (6x Loading Dye, Jena, Almanya) ile karıştırılarak jele yüklendi. Ürün büyüklüğünün yaklaşık olarak belirlenebilmesi için 100 bp'lik marker (Jena Bioscience, Almanya) solüsyonundan en dıştaki kuyucuklara 1 µl yüklendi. Ürünler yaklaşık 20 dakika, 16 Volt/cm elektrik akımına tabi tutuldu. Jel görüntüleme sistemi (Kodak, Gel Logic 100) kullanılarak PCR sonucu oluşan amplikonlar UV ışık altında görüntülendi.

2.2.7. Amplikonların Purifikasyonu

Amplikonlar görüntüledikten sonra dizin analizine gönderilebilmesi için saflaştırma işlemine geçildi. Saflaştırmada iki yöntem kullanıldı. PCR sonucu beklenen büyüklükteki tek ve temiz bir bant elde edilmişse ticari “clean-up” kiti (Expin™, GeneAll, Güney Kore) buna karşın beklenen bantın altında veya üstünde farklı bantlarda var ise, ticari “gel extraction” kiti (Expin™, GeneAll, Güney Kore) kullanılmıştır. Söz konusu kitin protokolü aşağıda belirtilmiştir.

Jel Ekstraksiyon

- %1 lik agaroz jelden ilgili bant steril bisturi yardımıyla kesilerek darası alınan ependorf tüplere alındı.
- Ağırlıkları ölçülen bantların ağırlığının 3 katı miktarda “Gel solubilization” solüsyon konuldu.
- 56°C’de 10’ beklemeden sonra, ependorf tüpündeki jelin tamamen eridiği görüldü.

Clean-up

- PCR reaksiyonu sonucu tüp sıvı miktarının 3 katı “Binding Buffer” konuldu.

- Filtrelere alınan sıvılar 10000xg devirde 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Filtre üzerine 500µl BW yıkama solüsyonu kondu ve tekrar 10000xg de 1 dk santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Filtre üzerine 700µl TW yıkama solüsyonu kondu ve tekrar 10000xg de 1 dk santrifüj yapıldı.
- Santrifüj sonrası süzülen kısım atıldı. Etanolün iyice uçması ise filtreler boş olarak 10000xg de 1 dk santrifüj edildi.

- Steril ependorfa alınan filtrelere daha önce 70°C’de ısıtılan “elution buffer”dan 35 µl eklendi.
- 1 dk oda sıcaklığında standa bekleyen tüpler daha sonra 10000xg de 1 dk santrifüj edildi.
- Elde edilen amplikonlar kontrol için tekrar agaroz jelde yürütüldü, uygun olanlar sekans analizine kadar -20°C’de saklandı.

2.2.8. Dizin Analizi

Saflaştırılan ürünler kontrol edildikten sonra, tez projesi kapsamında sağlanan hizmet alımı ile ticari bir firmaya (BM Labosis, Ankara) dizin analizine gönderilmiştir. Dizin analizi Sanger metoduna göre yapılmış olup kullanılan cihaz ABI 3130xl DNA Analyzer (Applied Biosystem, ABD)’dir.

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

Analiz sonrası elde edilen dizinler, ilk ulaştığında konfirmasyon amacıyla National Center for Biotechnology Information (NCBI)’ın veritabanında yer alan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programına (Camacho ve ark., 2009) yüklendi. Böylece dizin analizi konfirmasyonu sağlanarak moleküler karakterizasyon işlemlerine geçildi.

Öncelikle sekans analizi sırasında histogramların düzgünlüğünü ve derinliğini kontrol etmek için Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 6.0 (MEGA 6.0v) (Tamura ve ark., 2013) programının Tracer bölümü kullanıldı. Yapılan düzeltmeler sonrasında aynı gen bölgelerine ait dizinler çoklu hizalama için “Clustal W Alignment” işlemine tabi tutuldu. Hizalama sonrası dizin uzunluklarını eşitlemek

için uzun olan dizinlerin 5' ve 3' uçlarından kesildi. Nükleotid bazlı değişiklikler izlendi ve karşılaştırma yapıldı.

Filogenetik analiz için, elde edilen sekanslarımızın yanına yine NCBI'nin altında yer alan GenBank (Benson ve ark., 2014) veritabanından referans dizinler alındı. Bioedit Programından Clustal W yöntemi ile hizalama işlemi yapıldıktan sonra filogenetik analize geçildi. Öncelikle en iyi modelleme için "Find best DNA models" işlemi yapıldı. Bu işlem sonucunda FIV *env*, *gag*, *vif* ve enFeLV LTR bölgeleri için en uygun modelin GTR+G+I modellemesi olduğu saptandı. Modelleme sonrası Maximum Likelihood (ML) ağacı oluşturmak için programda Maximum Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 parametre modeli, GTR+G+I modellemesi ve 1000 bootstrap tekrarı seçildi. İşlem sonucunda filogenetik ağaçlar elde edilmiştir. Filogenetik ağaçta üzerinde genotiplendirme yapılmıştır.

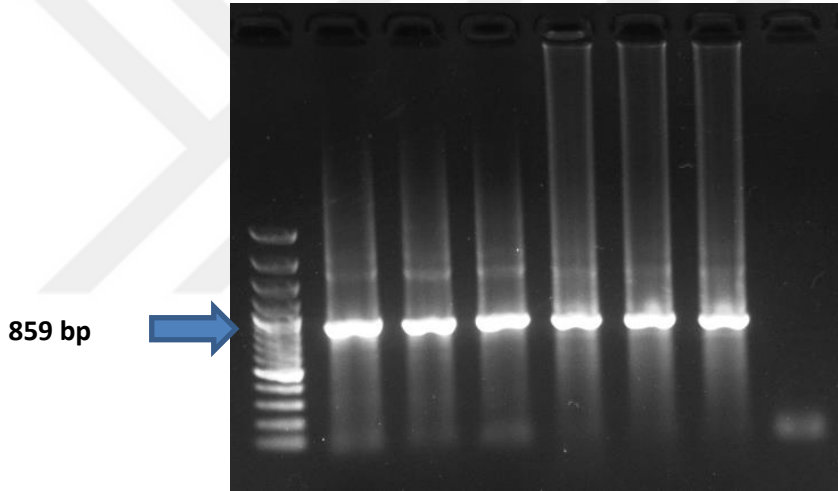
Nükleotid bazlı farklılık ve benzerlik matrisi oluşturmak amacıyla SDT v1.2 (Muhire ve ark., 2014) ve MatGat 2.0 (Campanella ve ark., 2003) programı kullanılmıştır. Elde edilen veriler yüzdeler bazda Excel ve Matris tablosu olarak elde edilmiştir.

Ayrıca tez çalışması sırasında moleküler ve filogenetik değerlendirme yapılan tüm sekanslar GenBank (Benson ve ark., 2014) veritabanına Banklt arayüzü kullanılarak girilmiştir. Elde edilen "Accession Number" bilgisi Ek.2'de sunulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. FIV Tanısı ve Moleküler Karakterizasyon Sonuçları

FIV tanısı için sentezlenen *env* ve *gag* primerleri ile yapılan PCR sonucunda 21 (%10,5) numunede beklenen nested- PCR (859 bp) ürünü elde edilmiştir. Elde edilen bazı FIV pozitif numunelere ait PCR görüntüsü Şekil 3.1’de sunulmuştur. Ayrıca *vif* gen bölgesine yönelik tasarlanan primerler ile yapılan PCR sonucunda sadece iki örnekten sekans elde edilmiştir.

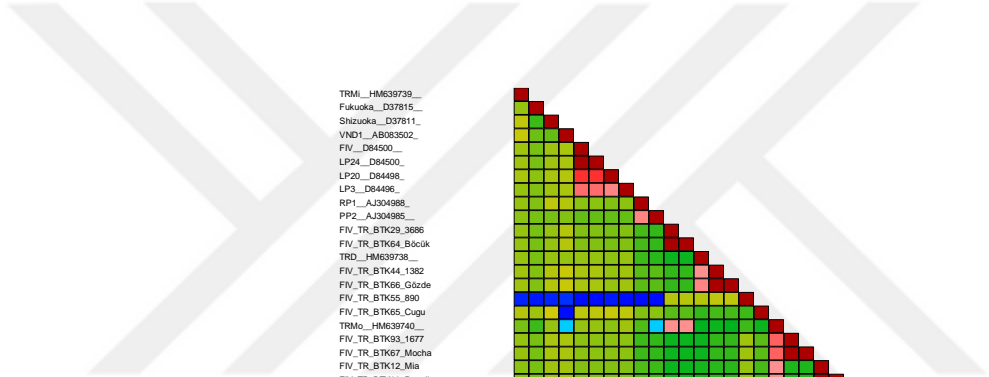


Şekil 3.1. FIV *env* V3-V5 bölgesine ait PCR görüntüsü. FIV tanısı ve moleküler karakterizasyonunda kullanılan F1/F2 ve F3/F4 primerleri elde edilen PCR bant görüntüleri.

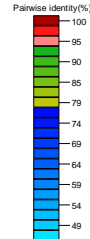
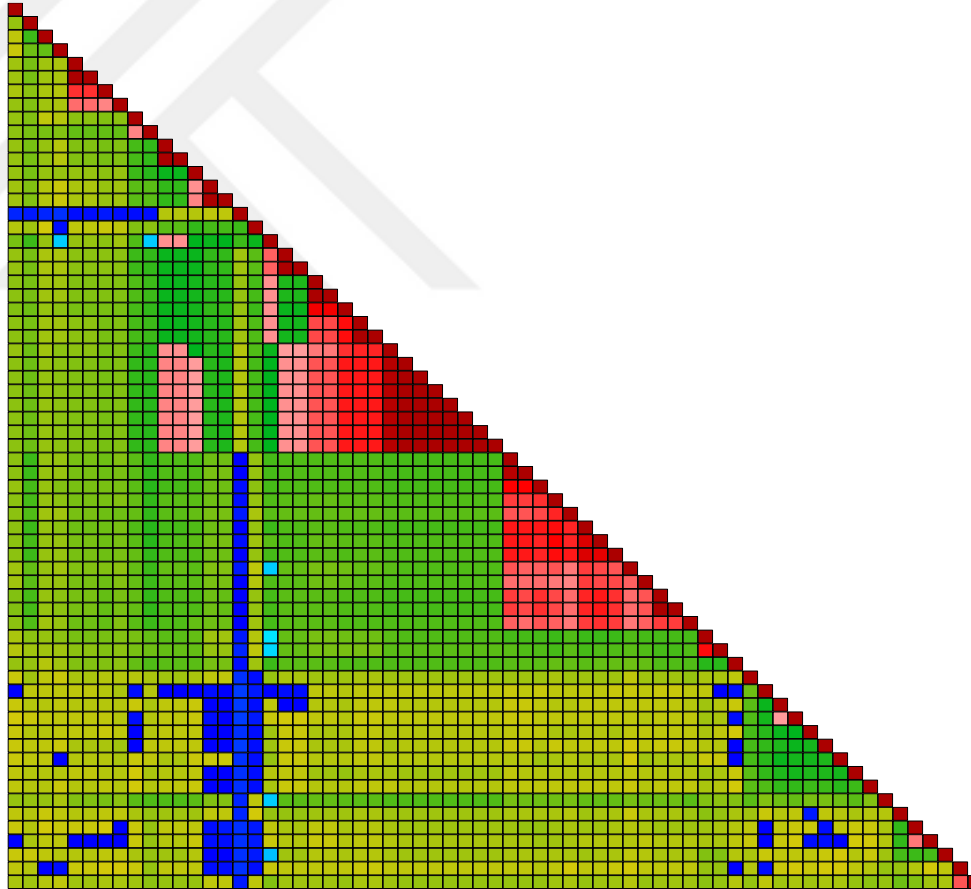
Yapılan moleküler değerlendirme sonucu sekanslarımız *env* ve *gag* bölgesine göre B alt tipine parafiletik yakınlık göstermiştir ancak kendi aralarında ayrı bir küme oluşturmuşlardır. Ayrıca sekans analizi sonrası yapılan benzerlik oranlarını gösterir tabloda (Şekil 3.2)’de sunulmuştur. Tez çalışmasındaki sekanslardan FIV/TR/BTK/55/890 ve FIV/TR/BTK/65/Cugu ise Türkiye’de daha önce bildirilen suşlara yakın çıkmıştır. Özellikle bu iki örnek diğer tez çalışmasına ait örneklerden nükleotid ifadesi anlamında da farklılık göstermiştir (Şekil 3.2 ve 3.3).

Çalışmada yer alan diğer bir FIV karakterizasyon geni olan *gag* yapılan denemeler sonrası komple olarak elde edilememiştir. Kısmi *gag* bölgesini tanıyan primerlerle ise *env* gen bölgesi elde edilen 21 adet örneğin hepsinde 855 bp büyüklüğünde amplikonlar elde edilmiş olup moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Moleküler karakterizasyon işleminden sonra ortaya çıkan filogenetik ağaçta B alt tipiyle yakın ilişkili olarak ayrı iki ana dalda yer almıştır (Şekil 3.4 ve 3.5). Dörtlü olarak bir dal oluşturan FIV/TR/BTK44/1382, FIV/TR/BTK/55/890, FIV/TR/BTK/65/Cugu ve FIV/TR/BTK66/Goзде örnekleri daha önce Duarte ve ark. (2006) tarafından Portekiz’de bildiri yapılan RP1 ve PP2 suşları ile yakınlık göstermiştir (Şekil 3.5). Ayrıca SDT programı kullanılarak elde edilen *gag* gen bölgesine ait benzerlik tablosu (Şekil 3.3)’da sunulmuştur.

Tez çalışmamızda *env* ve *gag* bölgeleri yönünden 21 adet sekans elde edilmişken *vif* yönünden sadece iki örnekte pozitiflik tespit edilmiştir. Bunlar *env* gen bölgesinde ayrı bir alt dal oluşturan TR/BTK/55/890 ve TR/BTK/65/Cugu’dur. GenBank veritabanında Brezilya’dan bildirilen 2017 yılına ait sekanslar ile çalışmamızda elde edilen kısmi *vif* dizinleri yakınlık göstermiştir (Şekil 3.6).

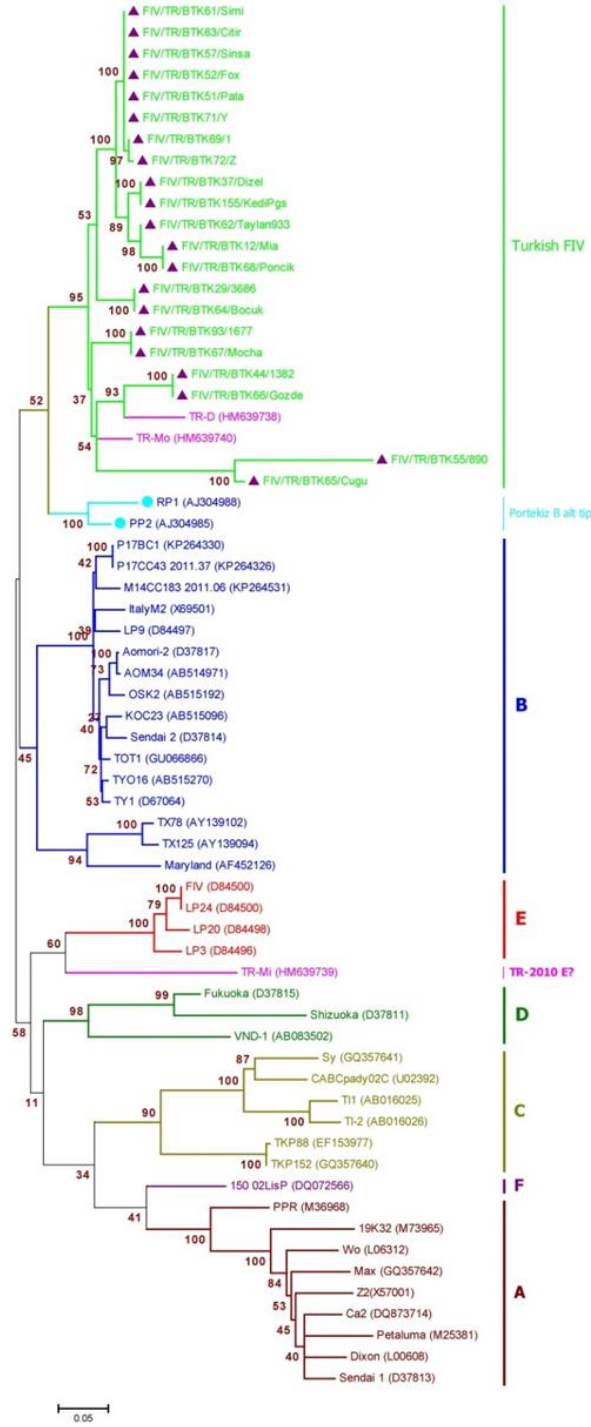


TRM1_HM639739
 Fukuoka_D37815_
 Shizuoka_D37811_
 VND1_AB083502_
 FV_D84500_
 LP24_D84500_
 LP20_D84498_
 LP3_D84496_
 RP1_AJ304988_
 PP2_AJ304985_
 FV_TR_BTK29_3686
 FV_TR_BTK64_Bocuk
 TRD_HM639738
 FV_TR_BTK44_1382
 FV_TR_BTK66_Gozde
 FV_TR_BTK55_890
 FV_TR_BTK65_Cugu
 TRMo_HM639740_
 FV_TR_BTK63_1677
 FV_TR_BTK67_Mocha
 FV_TR_BTK12_Mia
 FV_TR_BTK68_Poncik
 FV_TR_BTK62_Taylan933
 FV_TR_BTK37_Dizel
 FV_TR_BTK155_KediPgs
 FV_TR_BTK7_2
 FV_TR_BTK61_Simi
 FV_TR_BTK63_Citr
 FV_TR_BTK69_1
 FV_TR_BTK71_Y
 FV_TR_BTK51_Pala
 FV_TR_BTK52_Fox
 FV_TR_BTK57_Sinisa
 Aomr2_D37817_
 AOM34_AB514971_
 OSK2_AB515192_
 KOC23_AB515096_
 Sendai_2_D37814_
 TYO16_AB515270_
 TY1_D67064
 TOT1_GU066866_
 ItalyM2_X65501_
 LP9_D84497_
 P17BC1_KP264330_
 P17CC43_2011.37_KP264326_
 M14CC183_2011.06_KP264531_
 TX78_AY139102_
 TX75_AY139094_
 Maryland_AF452128_
 PPR_M36968_
 Petaluma_M25381_
 Dixon_L00608_
 Sendai_1_D37813_
 Ca2_DQ673714_
 ZZ_X57001_
 Max_GQ357642_
 Wo_L06312_
 19K32_M73965_
 150_02LisP_DQ072566_
 Sy_GQ357641_
 TI_A8016025_
 TR_A8016026_
 CABQeady02C_U02392_
 TKP88_EF153977_
 TKP152_GQ357640_

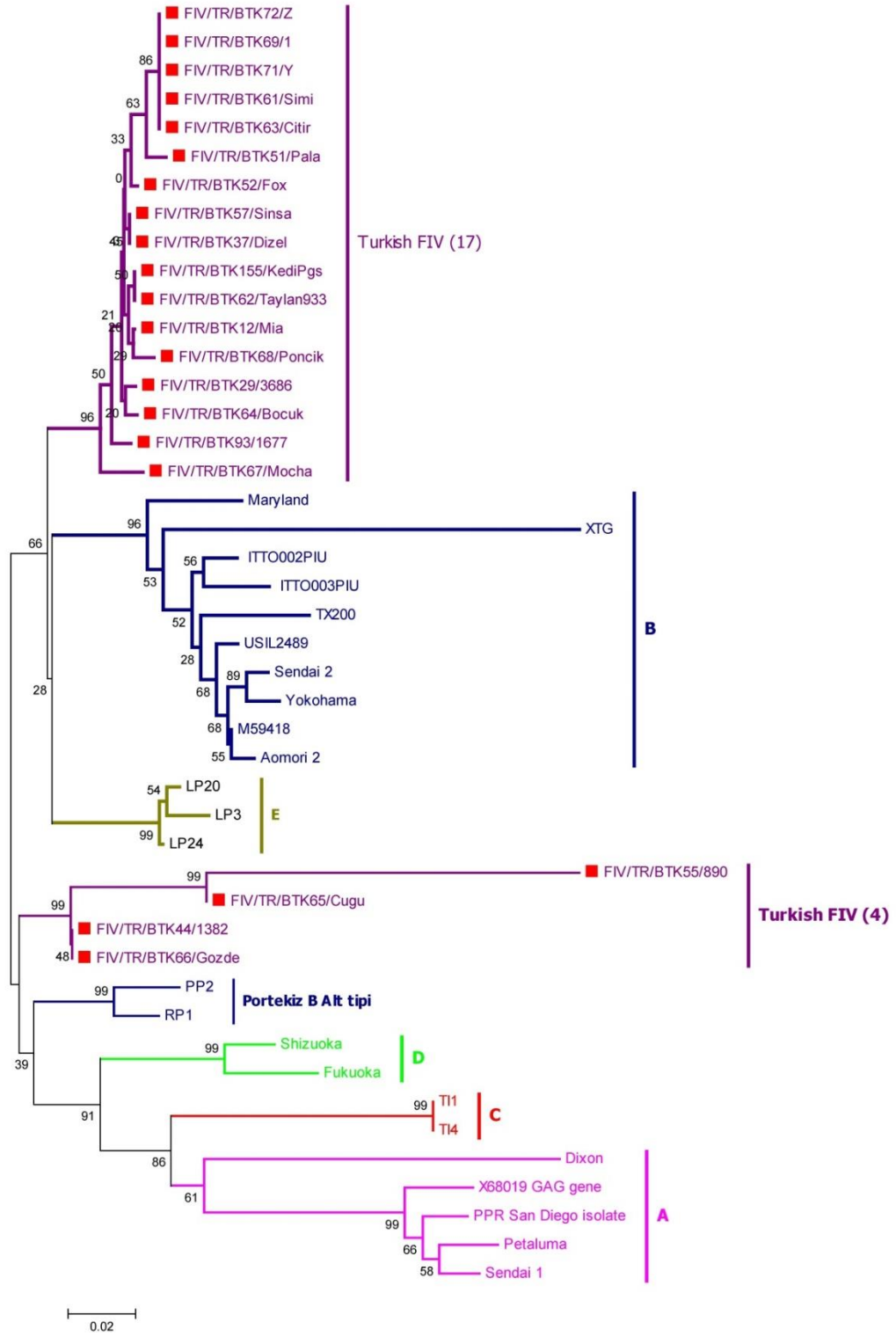


TRM1_HM639739
 Fukuoka_D37815_
 Shizuoka_D37811_
 VND1_AB083502_
 FV_D84500_
 LP24_D84500_
 LP20_D84498_
 LP3_D84496_
 RP1_AJ304988_
 PP2_AJ304985_
 FV_TR_BTK29_3686
 FV_TR_BTK64_Bocuk
 TRD_HM639738
 FV_TR_BTK44_1382
 FV_TR_BTK66_Gozde
 FV_TR_BTK55_890
 FV_TR_BTK65_Cugu
 TRMo_HM639740_
 FV_TR_BTK63_1677
 FV_TR_BTK67_Mocha
 FV_TR_BTK12_Mia
 FV_TR_BTK68_Poncik
 FV_TR_BTK62_Taylan933
 FV_TR_BTK37_Dizel
 FV_TR_BTK155_KediPgs
 FV_TR_BTK7_2
 FV_TR_BTK61_Simi
 FV_TR_BTK63_Citr
 FV_TR_BTK69_1
 FV_TR_BTK71_Y
 FV_TR_BTK51_Pala
 FV_TR_BTK52_Fox
 FV_TR_BTK57_Sinisa
 Aomr2_D37817_
 AOM34_AB514971_
 OSK2_AB515192_
 KOC23_AB515096_
 Sendai_2_D37814_
 TYO16_AB515270_
 TY1_D67064
 TOT1_GU066866_
 ItalyM2_X65501_
 LP9_D84497_
 P17BC1_KP264330_
 P17CC43_2011.37_KP264326_
 M14CC183_2011.06_KP264531_
 TX78_AY139102_
 TX75_AY139094_
 Maryland_AF452128_
 PPR_M36968_
 Petaluma_M25381_
 Dixon_L00608_
 Sendai_1_D37813_
 Ca2_DQ673714_
 ZZ_X57001_
 Max_GQ357642_
 Wo_L06312_
 19K32_M73965_
 150_02LisP_DQ072566_
 Sy_GQ357641_
 TI_A8016025_
 TR_A8016026_
 CABQeady02C_U02392_
 TKP88_EF153977_
 TKP152_GQ357640_

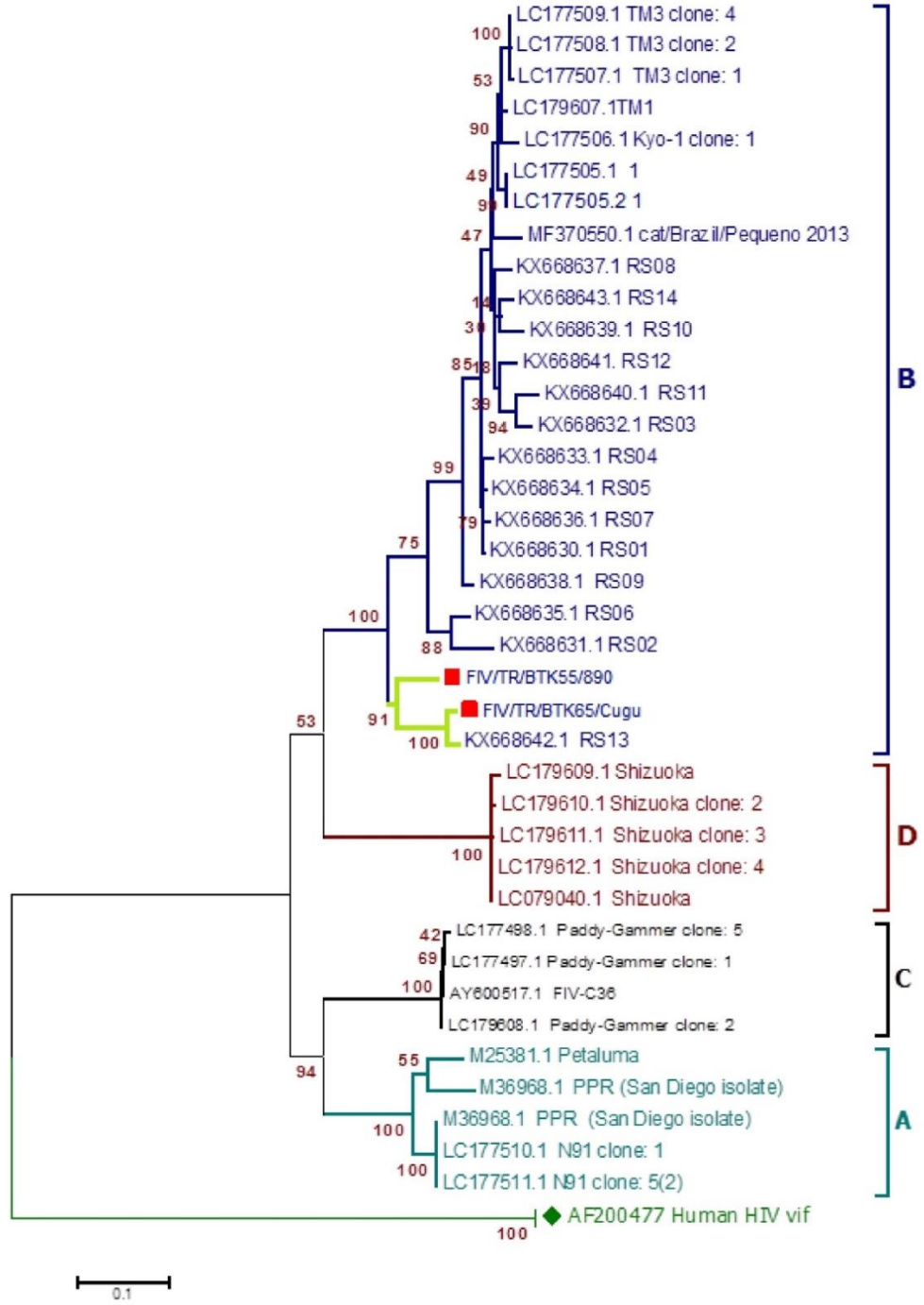
Şekil 3.3. FIV gag geni baz alınarak yapılan uzak ve yakın şuşların gösterildiği matrix tablosu (SDT Viral sequence nucleotide identity v1.2)



Şekil 3.4. FIV envelope gen bölgesi yönünden filogenetik ağaç. Filogenetik analiz yapılırken Maximum-Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 modeli ve 1000 bootstrap tekrarı tercih edilmiştir. Buna göre elde edilen sekanslar Türkiye’de daha önce yapılan çalışmadaki sekanslar gibi FIV- genotip B’de yer almıştır. “▲” şekil ile gösterilen virüsler bu çalışmada kazanılan alttiplerdir.



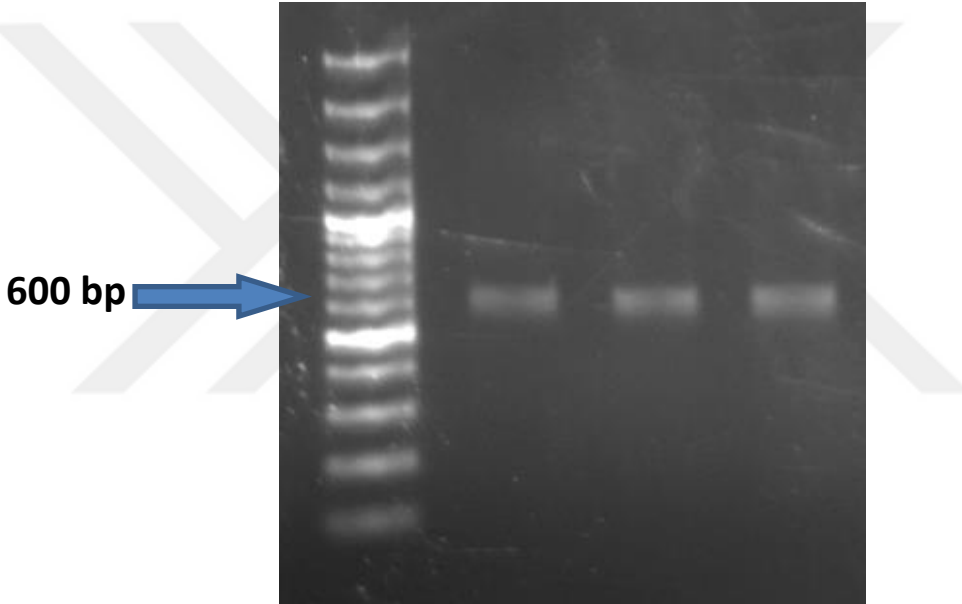
Şekil 3.5. FIV kısmi *gag* (p24) baz alan filogeni analizi. Filogenetik analiz yapılırken Maximum-Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 modeli ve 1000 bootstrap tekrarı tercih edilmiştir. *gag* analizine göre de çalışmamızın elde edilen sekansları FIV- genotip B'ye daha yakın yer almıştır. “■” şekil ile gösterilen virus bu çalışmada kazanılan alttipdendir.



Şekil 3.6. FIV *vif* gen bölgesini baz alan filogeni analizi. Filogenetik analiz yapılırken Maximum-Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 modeli ve 1000 bootstrap tekrarı tercih edilmiştir. *vif* analizine göre de çalışmamızın elde edilen sekansları FIV- genotip B’de yer almıştır. “■” şekli ile gösterilen virus bu çalışmada kazanılan alttipdendir. Ayrıca dış grup olan Human HIV *vif* en alttayeralmıştır.

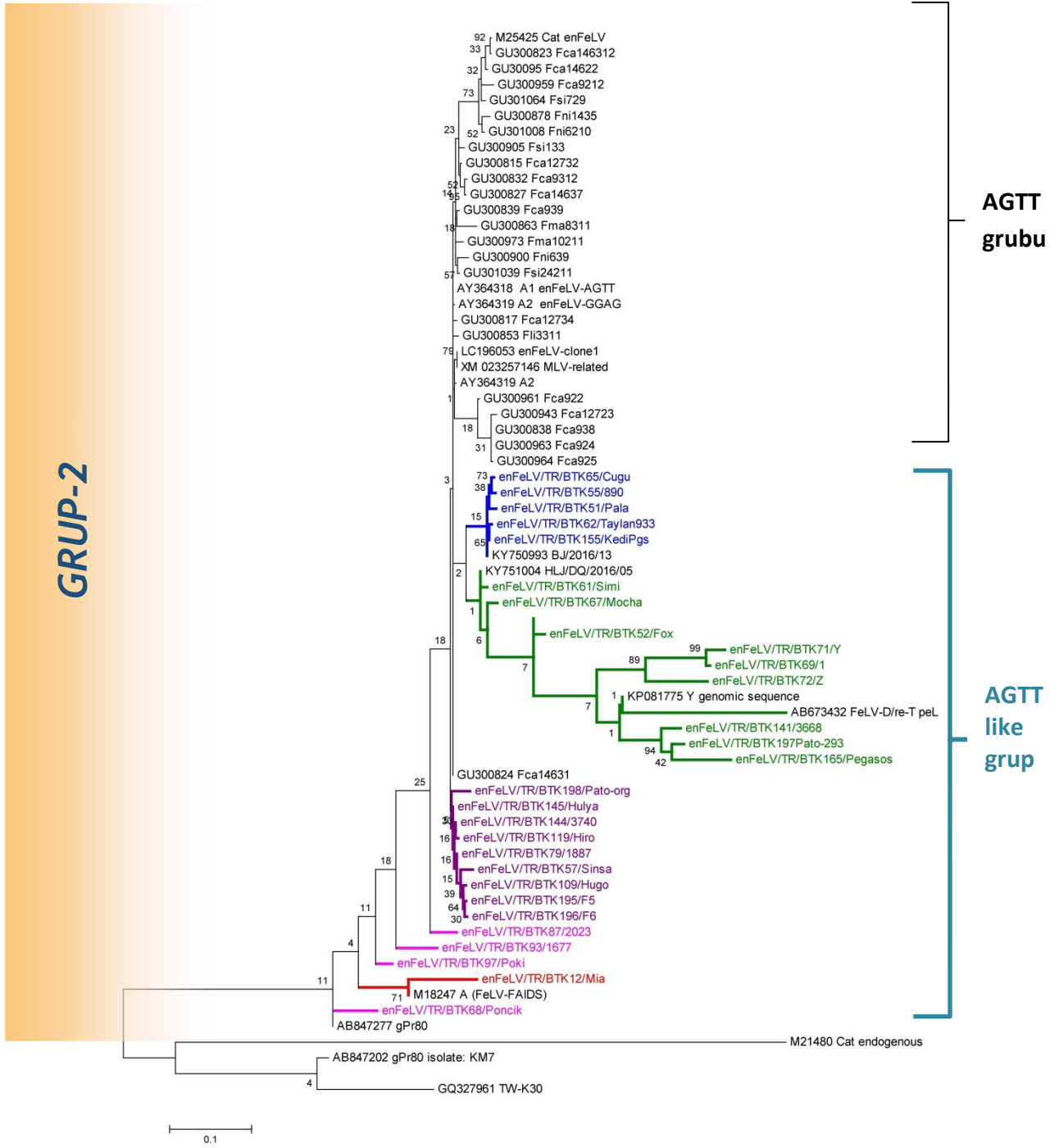
3.2. FeLV tanısı ve moleküler karakterizasyonu

FeLV ekzojen varyantını tespit etmek amacıyla tasarlanan ve sentezlenen primerler ile beklenen ampliconlar elde edilememiştir. Ancak FeLV endojen varyantına karşı yapılan PCR sonucunda 28 örnek pozitif olarak tespit edilmiştir. Elde edilen 600 bp büyüklüğündeki ampliconlar (Şekil 3.7) dizin analizine gönderilmiştir. Sekans analizi sonrası söz konusu sekanslar BLAST kullanılarak konfirme edilmiş ve daha sonra moleküler karakterizasyon amacıyla filogenetik analiz yapılmıştır.



Şekil 3.7. enFeLV için ilk aşamada elde edilen pozitif PCR sonucu

Tez çalışmamızın sekansları üç grup halinde Gup-2'nin altında AGTT-benzeri grup içerisinde yer almıştır. Mavi grup ve mor alt grup enFeLV suşlarına daha yakınken, yeşil grup FeLV-D grubuna ait provirus ile yakın bulunmuştur. Ayrıca FIV/TR/BTK12/Mia etiketli örnek ise FeLV-A FAIDS (M18247) referans suşu ile aynı daldan köken alarak monofiletik olarak yakın konulanmışlardır.

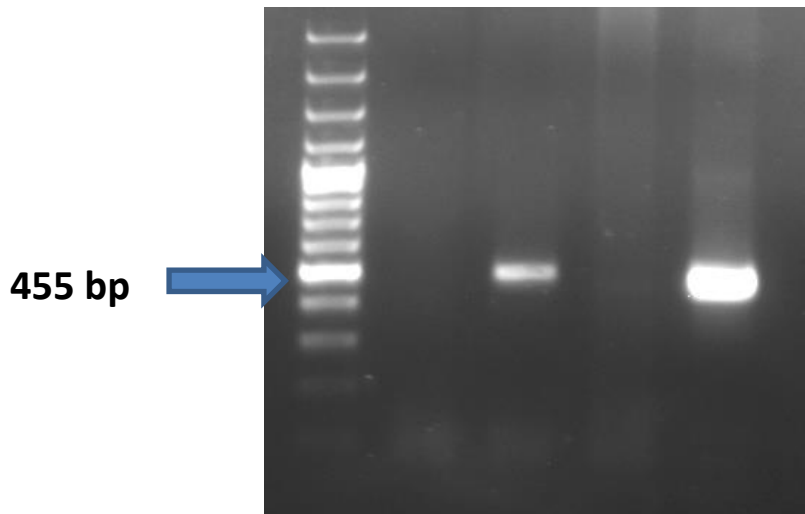


Şekil 3.8. enFeLV 3' LTR bazlı filogenisi. Polani ve ark. (2010) yılında yaptığı sınıflandırma baz alınarak yapılmıştır. Buna göre tez çalışmamızın sekansları üç grup halinde AGTT-benzeri grup içerisinde yer almıştır. Mavi grup ve mor alt grup enFeLV suşlarına daha yakinken, yeşil grup FeLV-D grubuna ait provirus ile yakın bulunmuştur.

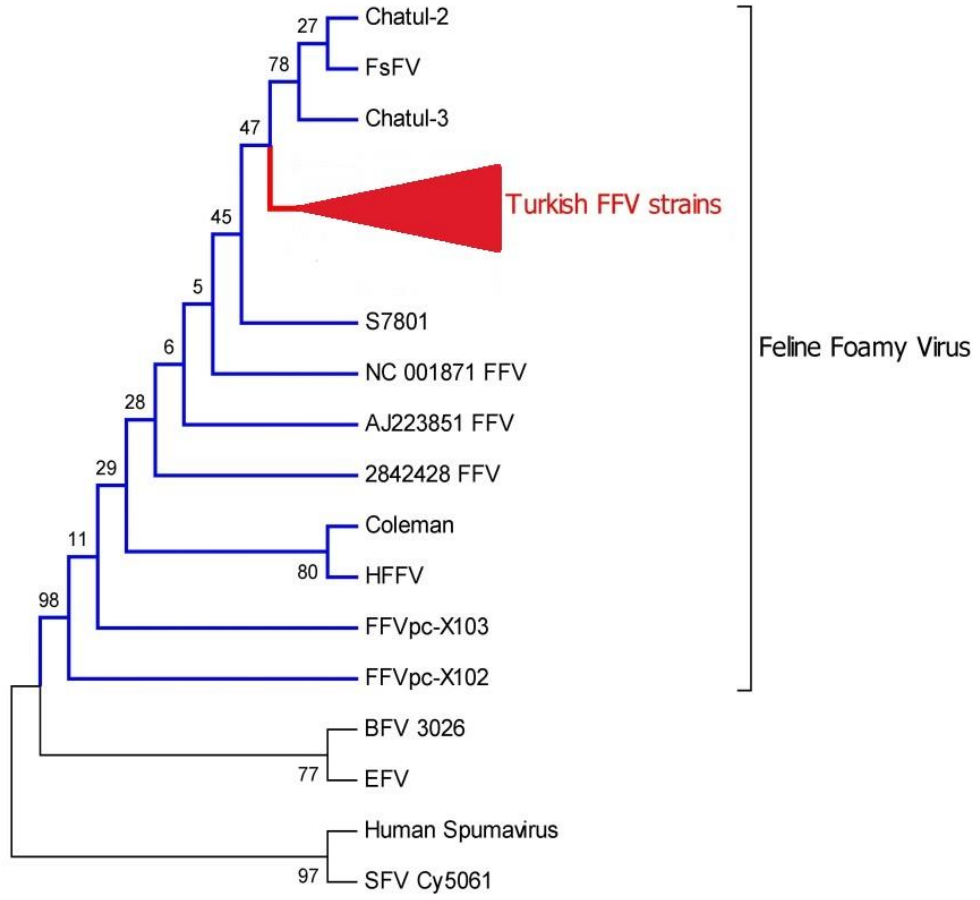
3.3. FFV tanısı ve moleküler karakterizasyonu

FFV tanısı amacıyla sentezlenen primerler ile 455 bp büyüklüğünde PCR ürünü elde edilmiş olup, 20 numunede tespit edilmiştir. Elde edilen PCR pozitif numunelere ait ampikon bant görüntüleri Şekil 3.9’de sunulmuştur. Dizin analizi sonrası değerlendirmede *gag* gen bölgesinde yer alan NC bölümü BLAST programı ile konfirme edilmiştir. Kısmi *gag* gen bölgesi ile elde edilen örnekler komple *gag* bölgesi yönünden de pozitif elde edilmiştir. Ancak GenBank veritabanında sınırlı veri olmasından ötürü moleküler karakterizasyon uygulamalarında kısmi *gag* bölgesine ait sekanslar kullanılmıştır. Moleküler karakterizasyon sonrasında tüm FFV sekanslarımız %95-99 benzerlikle aynı dal üzerinde yer almıştır. Bunun yanında dış dallar incelendiğinde tez çalışmasındaki sekansların İngiltere orijinli Chatul-3 (AJ564746) suşuna yakınlık gösterdiği saptanmıştır (Şekil 3.10).

Ayrıca replikasyon-kompetan FFV’ler de bulunan *bet* gen bölgesi (1350 bp) de PCR sonucu üç örnekte elde edilmiştir. Bu üç örneğe ait sekans analizi sonucu elde edilen sekanslar birbirlerine oldukça benzer olup konsensus sekans, *bet* sekansı mevcut olan GenBank veritabanındaki FFV referans suşları ile karşılaştırılmıştır. *bet* geni yönünden de tez çalışmamızdaki sekanslar, Chatul-3 (AJ564746) ile benzerlik göstermiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.9. FFV – NC bölgesi yönelik PCR görüntüsü. (455 bp büyüklükteki ampikonlar)



Şekil 3.10. FFV kısmi *gag* gen bölgesi yönünden filogenetik ağaç. Filogenetik analiz yapılırken Maximum-Likelihood istatistik metodu, Kimura-2 modeli ve 1000 bootstrap tekrarı tercih edilmiştir. Türkiye FFV suşları İngiltere orijinli suşlara yakınlık göstermektedir.

3.4. Elde Edilen Epidemiyolojik Veriler Ve İstatistiksel Analizleri

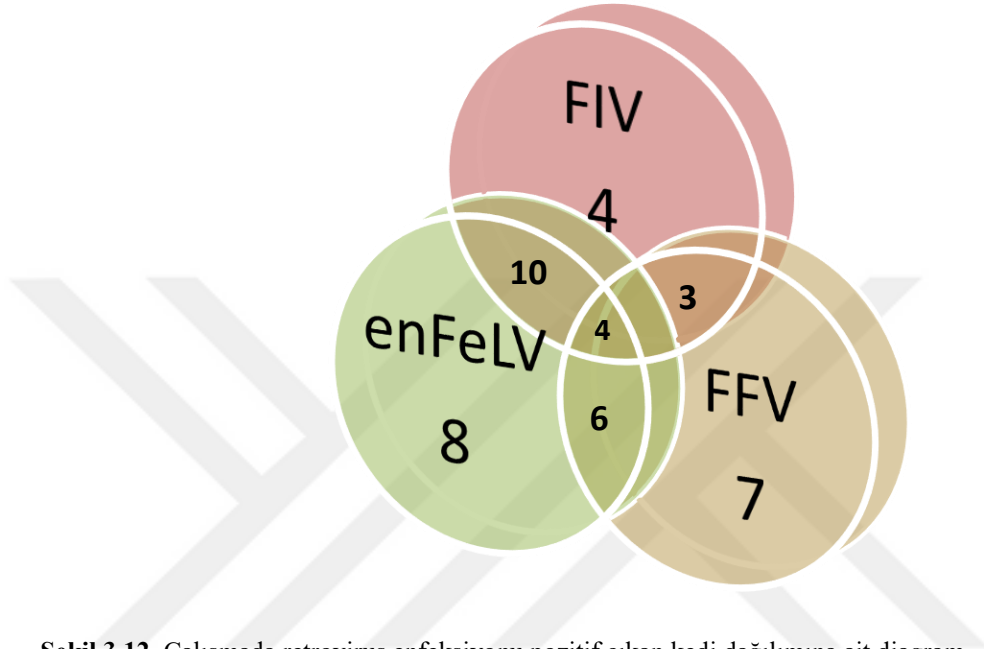
Tez çalışmasında elde edilen veriler Microsoft Excel (Microsoft Office 2016) programına kaydedilerek hem yüzde bazında değerlendirilmenin yapılmasına hem de Lojistik Regresyon Analizi için uygun data haline getirilmesine olanak sağlanmıştır. Çalışmamızda Feline retrovirus pozitif bulunan kedilere ait bireysel özelliklerini içeren veri, bu verilere göre yüzde ve lojistik regresyon analizi sonucu elde edilen p-değeri çizelgesi aşağıda sunulmuştur (Çizelge 3.1).

⁴Çizelge 3.1. Risk faktörleri ve sonuçları gösteren çizelge. Tez çalışmasında elde edilen pozitifliklerin toplam popülasyondaki (n=200) çeşitli değişkenlere göre (cinsiyet, yaş, ırk, sağlık ve aşı durumu) dağılımları.

	<i>FIV</i>	<i>enFeLV</i>	<i>FFV</i>
Cinsiyet			
<i>Dişi (n=95)</i>	11 (%11.5)	12 (%12.6)	6 (%6.3)
<i>Erkek (n=105)</i>	10 (%9.5)	16 (%15.2)	14 (%13.3)
<i>p-value</i>	>0.05	>0.05	<0.05
Yaş (ay)			
<i>0-6 (n=102)</i>	2 (%1.9)	8 (%7.8)	6 (%5.8)
<i>7-12 (n=44)</i>	6 (%13.6)	8 (%18.2)	6 (%13.6)
<i>13-48 (n=50)</i>	11 (%22)	10 (%20)	8 (%16)
<i>>48 (n=4)</i>	2 (%50)	2 (%50)	-(%0)
<i>p-value</i>	>0.05	>0.05	>0.05
İrk			
<i>Saf (n=15)</i>	11 (%73.3)	7 (%46.6)	6 (%40)
<i>Melez (n=185)</i>	10 (%5.4)	21 (%11.3)	14 (%7.6)
<i>p-value</i>	<0.05	>0.05	<0.05
Sağlık durumu			
<i>Sağlıklı (n=161)</i>	4 (%2.48)	11 (%6.8)	9 (%5.6)
<i>Hasta (n=39)</i>	17(%43.6)	17 (%43.6)	11 (%28.2)
<i>p-value</i>	<0.05	<0.05	>0.05
Aşı durumu			
<i>Aşılı (n=60)</i>	14 (%23.3)	18 (%30)	10 (%16.6)
<i>Aşısız (n=140)</i>	7 (%5)	10 (%7.1)	10 (%7.1)
<i>p-value</i>	<0.05	<0.05	>0.05

⁴ P değeri <0.05 ise anlamlı, >0.05 ise anlamsız.

Kedilerde bulunan retrovirus enfeksiyonlarının moleküler teknikler kullanılarak araştırılmasını konu alan bu tez kapsamında elde edilen moleküler epidemiyolojik sonuçlar çalışma popülasyonu içinde ve yüzde olarak aşağıda irdelenmiştir;



Şekil 3.12. Çalışmada retrovirus enfeksiyonu pozitif çıkan kedi dağılımına ait diagram

✓ Bu çalışma sonucunda kedilerde FIV enfeksiyonunun varlığı %10,5 (21/200) olarak tespit edilmiştir. FIV pozitif kedilerde; gingivitis ve/veya oral-nasal yaralar öne çıkan klinik bulgulardandır (12/21; %57,1). Ayrıca en az bir klinik bulgu gösteren kedi oranı ise %80,9 (17/21) olarak tespit edilmiştir. Klinik bulgu göstermeyen ve aşı öncesi rutin kontrol amaçlı örneklenen ve FIV pozitif bulunan kedi sayısı ise 4/21 (%19) olarak saptanmıştır.

✓ Çalışmada 200 numunenin hiçbirinde exFeLV saptanmamış buna karşın %14 oranında (28/200) enFeLV pozitiflik saptanmıştır. Ülkemizde FeLV'nun endojen varyantının yaygınlığının ekzojen varyantından fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca çoklu retrovirus enfeksiyonları bakımından enFeLV pozitif saptanan kedilerin dört tanesinde (4/28; %14) hem FIV hem de FFV pozitifliği saptanmıştır.

✓ FFV, çalışmamızdaki kedilerin 20 tanesinde pozitif olarak tespit edilmiştir (20/200; %10). FFV çalışmasında klinik semptom görülüp görülmemesi önemli bir veri olup, klinik bulgu gösteren FFV pozitif kedi sayısı 7 (7/20; %35) olarak tespit edilmiştir.

✓ Çoklu enfeksiyon olarak saptanan sonuçlar aşağıdaki şekilde belirtilmiştir. FIV ve FFV nin beraber görüldüğü vaka sayısı 7 (7/200; % 3,5); FIV ve enFeLV'nun beraber görüldüğü vaka sayısı 14 (14/200; % 7); enFeLV ve FFV 'nun beraber görüldüğü vaka sayısı ise 10 (10/200; % 5) olarak saptanmıştır. Üç enfeksiyonun tek bir kedide görüldüğü vaka sayısı ise 4 (4/200; % 2)'tür.

✓ Çalışmada önceden başka viral etkenler yönünden aşılanmış hayvan sayısı oldukça azdır (60/200; %30). Bunun sebebi; bilinçli hayvan sahiplerinin aşılama öncesi rutin kontrol amaçlı çalışmaya katılmasıdır (131/200; % 65,5).

✓ Çalışmada moleküler ve filogenetik olarak değerlendirilen tüm sekanslar için GenBank veritabanından "Accession Number" alınmıştır. Söz konusu veriler Ek-2'de sunulmuştur. Ayrıca çalışmada feline retrovirus pozitif çıkan kedilere ait özellikler Ek-3'de sunulmuştur.

Microsoft Excel (Microsoft Office 2016)'de işlenen veriler, ayrıntılı istatistiksel değerlendirme amacıyla SPSS (The Statistical Package for the Social Sciences) programı (Norusis, 2008) ile Lojistik Regresyon Analizine tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar ayrıntılı olarak çizelgelerde (Çizelge 3.2., 3.3. ve 3.4.) sunulmuştur.

3.4.1 FIV için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu

Çizelge 3.2. FIV enfeksiyonunun risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları

	B	S.E.	Wald	Df	Sig.	Exp(B)
<i>Yas(1)</i>	,720	,952	,571	1	,450	2,054
<i>Cinsiyet(1)</i>	,506	,717	,498	1	,480	1,659
<i>Irk(1)</i>	3,093	,821	14,192	1	,000	22,036
<i>Aşı Durum(1)</i>	1,363	,807	2,855	1	,091	3,908
<i>Klinik Bulgu(1)</i>	3,804	,904	17,698	1	,000	44,877
<i>Sabit</i>	-5,720	1,410	16,451	1	,000	,003

Klasifikasyon Tablosu					
İzlenen			Beklenen		
			FIV		Yüzde
Bas	FIV	Yok	Var		
1			179	0	100,0
			10	11	52,4
Toplam					95,0
Yüzde					

a. Eşik Değer ,500

Yaş ve cinsiyetin modele etkisi önemli olmamakla birlikte; ırk, aşı durumu ve klinik bulgunun etkisi önemli bulunmuştur. Saf ırklarda FIV görülme riski melezlere göre 22 kat daha fazla, aşılılarda FIV görülme riski aşısız olanlara göre 3,9 kat **daha** fazla, klinik bulgusu olan hayvanlarda FIV görülme riski klinik bulgusu gözlemlenmeyenlere göre 44,9 kat daha fazla bulunmuştur ($p<0.05$).

3.4.2. enFeLV için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu

Çizelge 3.3. enFeLV enfeksiyonunun risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları

	B	S.E.	Wald	Df	Sig.	Exp(B)
<i>Yas(1)</i>	,299	,576	,270	1	,604	1,349
<i>Cinsiyet(1)</i>	-,275	,468	,346	1	,556	,759
<i>Irk(1)</i>	,763	,628	1,474	1	,225	2,144
<i>Aşı Durum(1)</i>	1,363	,508	7,216	1	,007	3,909
<i>Klinik Bulgu(1)</i>	1,932	,560	11,890	1	,001	6,903
<i>Sabit</i>	-3,113	,677	21,135	1	,000	,044

Klasifikasyon Tablosu					
İzlenen			Beklenen		
			enFeLV		Yüzde
Bas	enFeLV	Yok	Var		
1			168	4	97,7
			20	8	28,6
Toplam					88,0
Yüzde					

a. Eşik Değer ,500

Aşı durumu ve klinik bulgunun enFeLV üzerine etkisi anlamlı bulunmuştur. Aşılılarda enFeLV görülme riski aşısız olanlara göre 3,9 kat daha fazla, klinik bulgusu olan hayvanlarda enfelv görülme riski klinik bulgusu gözlemlenmeyenlere göre 6,9 kat daha fazla bulunmuştur.

3.4.3. FFV için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu

Çizelge 3.4. FFV enfeksiyonunun risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları

	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>Wald</i>	<i>Df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Exp(B)</i>
<i>Yas(1)</i>	-,256	,587	,191	1	,662	,774
<i>Cinsiyet(1)</i>	-,950	,541	3,081	1	,079	,387
<i>İrk(1)</i>	1,475	,656	5,062	1	,024	4,372
<i>Aşı Durum(1)</i>	,492	,557	,779	1	,378	1,635
<i>Klinik Bulgu(1)</i>	,743	,621	1,430	1	,232	2,102
<i>Sabit</i>	-2,266	,615	13,559	1	,000	,104

Klasifikasyon Tablosu					
İzlenen		Beklenen		Yüzde	
		FFV	Yok		
Bas 1	FFV	179	1	99,4	
	Yok	17	3	15,0	
Toplam Yüzde				91,0	
a. Eşik Değer ,500					

FFV enfeksiyonu bakımından ırk faktörünün etkisi istatistik olarak anlamlı bulunmuştur. Safkan ırklarda FFV görülme riski melez ırklara göre 4,3 kat daha fazladır.

3.4.4. Çoklu (Multi) Enfeksiyon için Lojistik Regresyon Analiz Sonucu

Çizelge 3.5. Çoklu enfeksiyonların risk faktörleri ile yapılan Lojistik Regresyon Analiz Sonuçları

	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>Wald</i>	<i>Df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Exp(B)</i>
<i>Yas(1)</i>	,175	,664	,070	1	,791	1,192
<i>Cinsiyet(1)</i>	-,446	,548	,662	1	,416	,640
<i>Irk(1)</i>	2,163	,644	11,273	1	,001	8,700
<i>Aşı Durum(1)</i>	1,081	,590	3,350	1	,067	2,947
<i>Klinik Bulgu(1)</i>	2,138	,608	12,372	1	,000	8,484
<i>Sabit</i>	-3,433	,795	18,644	1	,000	,032

Klasifikasyon Tablosu					
İzlenen			Beklenen		
			Çoklu	Yok	Var
Bas 1	Çoklu	Yok	175	1	99,4
	Var	15	9	37,5	
Toplam Yüzde					92,0

a. Eşik Değer ,500

Çoklu (Multi) enfeksiyon durumu istatistiksel olarak değerlendirilmesiyle; ırk, aşı durumu ve klinik bulgunun model üzerinde anlamlı etkileri olduğu saptanmıştır. Saf ırkta çoklu enfeksiyon görülme riski meleze göre 8,7 kat yüksek, aşıları olanlarda olmayanlara göre 2,9 kat yüksek, klinik bulgu görülenlerde görülmeyenlere göre 8,48 kat yüksek saptanmıştır.

4. TARTIŞMA

Kedi Retrovirus enfeksiyonları; gerek Veteriner Virologlar ve gerekse klinisyen Veteriner Hekimler açısından öneme sahip hastalıklar olup, ülkemizdeki evcil kedilerde varlığı ve yaygınlığı konuları sınırlı sayıda çalışmada bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında; kedileri enfekte edebilen üç Retrovirus (FIV, FeLV, FFV) enfeksiyonunun ülkemizdeki evcil kedilerde varlığı, anılan bu üç enfeksiyonun birlikte görülme sıklığı, örneklenen hayvanların bilgileri doğrultusunda istatistiksel olarak elde edilen sonuçların anlamlı olup olmadığı konuları ve elde edilen pozitif suşların moleküler teknikler kullanılarak dünyadaki hem cinsleri ile karşılaştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca Feline Foamy Virus enfeksiyonunun ülkemizdeki evcil kedilerde varlığı bu çalışma kapsamında ilk kez bildirilmiş olup, anılan başlıklar çalışmaya özgünlüğünü veren konuların başında gelmektedir.

Ülkemizde evcil kedilerin sayısı hakkında herhangi kesin bilgi bulunmamakla birlikte, giderek artan pet hayvancılığı ve sokak hayvanlarının sahiplenilmesi olguları; dikkate değer ölçüde kedi popülasyonu olduğu gerçeğini göstermektedir. Bilimsel anlamda retrovirus enfeksiyonlarının insanlarda da homologlarının bulunması, kedilerdeki retroviruslar ile moleküler farklılıklarının az olması sebebiyle anılan bu kedi kökenli Retrovirusların laboratuvar koşullarında insan Retrovirus çalışmalarında “prototip” olarak tercih edilmesine imkan tanımaktadır. Ayrıca ülkemizdeki kedilerde bulunan Retrovirusların moleküler yapılarının araştırılması; dünyadaki hem cinsleri ile antijenik yakınlık/uzaklıklarının belirlenmesini de mümkün kılmaktadır. Bu bağlamda bu tez ile ülkemize ait sınırlı sayıdaki moleküler veriye katkı sağlayabilecek, anılan üç enfeksiyöz ajan hakkında ileriye yönelik çalışmalara temel teşkil edebilecek verilerin eldesi de gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması, toplamda 200 kedi örneğini kapsamakta olup, bunlardan 21’inde FIV, 28’inde enFeLV, 20’sinde FFV varlığı tespit edilmiştir. Ülkemizdeki evcil kedilerde; FIV ve FeLV enfeksiyonlarının prevalansına yönelik moleküler bazlı tek bir çalışma bulunmakla birlikte (Oğuzoğlu ve ark., 2013), yoğunlukla serolojik bazlı

çalışmalar yapılmıştır (Yılmaz ve ark., 2000, Erol ve Paşa, 2013, Oguzoglu ve ark., 2013). Ülkemizdeki kedilerde FFV enfeksiyonunun bildirimine yönelik ise herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Türkiye’de kedilerdeki retrovirularla ilgili ilk seroprevalans çalışmasında (Yılmaz ve ark., 2000), İstanbul bölgesinde FIV seroprevalansı %23 bulunmuştur. Bir başka çalışmada, Van kedilerinde ELISA ile FIV antijen varlığı %3 bulunmuştur (Yüksek ve ark, 2005). Aydın ve İzmir bölgesinde yapılan diğer bir seroprevalans çalışmasında ise FIV antikor varlığı %19,5 olarak saptanmıştır (Erol ve Paşa, 2013). Nükleik asit varlığı yönünden yapılan tek prevalans çalışması olarak, 200 kedide yapılan bir araştırmada (Oguzoglu ve ark., 2013); %20,5 FeLV yönünden ve %9,5 FIV yönünden antijenik pozitiflik tespit edilmiş, ayrıca yüksek oranda FIV ve FeLV enfeksiyonlarının aynı bireyde birlikte varlığı da belirlenmiştir. Oğuzoğlu ve ark. (2013) bu çalışmada; yaş (erişkin) ve yaşam koşullarının (sokak kedisi) bu enfeksiyonların Türkiye’deki evcil kedilerde varlığı yönünden risk oluşturabileceğini belirtmiş olup, aşılama öncesinde bu hastalıklara yönelik enfeksiyon tablosunun aydınlatılması gerekliliği üzerinde durulmuştur.

Bu tez çalışmasında FIV açısından tespit edilen %10,5’luk (21/200) prevalans değeri, önceki prevalans çalışması ile (%9,5) (Oguzoglu ve ark, 2013) uyumlu bulunmuştur. Ayrıca bu tez çalışmasında bulunan, başka hastalıklara karşı aşılanmış hayvanlarda FIV pozitifliği %66,7 (14/21) ve FeLV pozitifliği %64,2 (18/28) oranları, yine anılan çalışma ile (FIV %40, FeLV %42) (Oguzoglu ve ark 2013) uyum göstermektedir. Bu bulgular ışığında; evcil kedilerin rutin kontroller sırasında diğer hastalık etkenlerine karşı aşılama yapılmadan önce mutlak surette FIV ve FeLV enfeksiyonları yönünden virolojik olarak taranması gerektiği kanaatine varılmıştır. Aşılama öncesi enfeksiyon tablosunun aydınlatılması, immunsupresif retrovirus enfeksiyonlarının varlığı durumunda, gerek immun sistem üzerine negatif etkilerin azaltılması ve gerekse var olabilecek diğer enfeksiyöz ajanların ortaya çıkışını önlemek adına önem taşımaktadır.

FIV pozitifliği belirlenen hayvanların klinik tablo açısından değerlendirilme yapıldığında, klinik bulgulu hayvanlarda FIV nükleik asit varlığı %80 (17/21) olarak

tespit edilmiştir. Anılan klinik bulgular oral ve nasal bölgedeki yaralar şeklinde sıklıkla belirlenmiş olmakla birlikte, iki kedide (FIV/TR/BTK.55/Pala ve FV/TR/BTK67/Mocha) herhangi klinik bulgu tespit edilmemiştir. Yapılan lojistik regresyon analizinde de klinik bulgulu kedilerde subklinik olanlara göre enfeksiyona rastlanma riskinin 44,9 kat daha fazla olduğu saptanmış ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). Bu sonuçlar, yapılan birçok prevalans çalışması ile uyum göstermektedir (Courchamp ve ark., 2000, Hosie ve ark., 2009 ve Westman ve ark., 2016).

Bu tez çalışmasındaki diğer önemli veri; örneklenen hayvanların ırkları ile FIV pozitifliği arasında bir bağlantı olduğu konusudur ki, saf ırklarda FIV pozitifliği oranının melezlere göre 22 kat fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). FIV ile ilgili çalışmalarda enfeksiyonun ırk yatkınlığı hakkında yapılan istatistiksel değerlendirme oldukça azdır. Oguzoglu ve ark. (2013) yaptığı prevalans çalışmasında ırk faktörünün istatistiksel değerlendirmede anlamlı olmadığı vurgulanmıştır. Yapılan çalışmalarda; FIV enfeksiyonunda ırklar arası herhangi yatkınlık bildirilmemiş olup, önem arz etmeyen bir veri olduğu vurgulanmıştır (European ABCD Manual, Erişim Tarihi: 19.03.2018; Gleich ve ark., 2009 ve Norris ve ark., 2007). Gleich ve ark. (2009)'nın yaptığı, 6 yıllık bir süreçte 17 bin kedide yapılan retrospektif bir çalışmada; saf ırklarda FIV görülme oranının daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu bağlamda; tez çalışmasında örneklenen 200 hayvandan 15'i saf ırka sahip olup, FIV pozitifliği dikkate alındığında karşılaşılan %73.3'lük (11/15) oranın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ortaya çıkmaktadır ($p<0.001$). Bu durum Gleich ve ark. (2009)'nın çalışması ile uyumludur.

Ülkemizde kedilerde FeLV ile ilgili olarak tespit edilen endojen varyant (%14) dünya genelinde yapılan birçok araştırma ile uyum göstermektedir (Anai ve ark., 2012 ve Hartmann, 2012). EnFeLV'nun klinik bulgulu kedilerde daha sık gözlemlenmesi, özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Arnaud ve ark.,2007; Kawamura ve ark., 2015 ve Ramirez ve ark., 2016). Tez çalışmasında da klinik bulgulu kedilerde enFeLV pozitif çıkma ihtimalinin 6,9 kat daha fazla olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Bu durum özellikle Krunic ve ark. (2015) ve Ramirez ve ark.

(2016)'nın yaptığı benzer çalışmalar ile uyumludur. FIV/TR/BTK51/Pala isimli örnek, klinik prognozu en olumsuz ve üç retrovirus enfeksiyonu ile eş zamanlı enfekte olan bir olgudur. Söz konusu örnek; filogenetik olarak FeLV-FAIDS (M18247) FeLV-A alt tipinde yer alan referenz suş ile yakın ilişkili olarak belirlenmiştir. Bu durum, enFeLV klinik duruma etkisi olduğu hipotezini de desteklemektedir. Türkiye'de moleküler bazlı bir çalışmada (Oguzoglu ve ark., 2013) %20.5 FeLV pozitiflik oranı saptanmış, ancak ekzojen ve endojen FeLV ayrımı yapılmamıştır. Klinik bulgu ile enFeLV enfeksiyonu arasındaki ilişkinin varlığı açısından ülkemiz orijinli herhangi bir karşılaştırma yapılamamıştır. Bu tez çalışmasında; endojen FeLV ile enfekte bireylerde klinik bulgu yönünden istatistiksel değerlendirme önemli ($p < 0.05$) bulunmuş olup, %60,7'lik (17/28) bir oranda klinik bulgulu kedilerde FeLV enfeksiyonunun varlığı tespit edilmiştir. Bu durum, enFeLV'un tek başına (8/28) veya viral (FIV ile birlikte 10/28, FFV ile birlikte 6/28, FIV/FFV ile birlikte 4/28) ya da sekonder diğer enfeksiyöz ajanlarla birlikte organizmayı zayıf hale düşürdüğü ve klinik bulgu oluşumuna neden olabildiği şeklinde yorumlanmıştır.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, diğer hastalıklara karşı aşılı olan hayvanlarda enFeLV varlığı açısından anlamlı bir farklılık olduğu ortaya çıkmıştır ($P < 0,01$). Aşılı kedilerin enFeLV ile enfekte olma oranı %64,2 (18/28) bulunurken, bu sonuç diğer çalışmalarla uyum göstermiştir (Miyazawa ve ark., 2010, ve Yoshikawa ve ark., 2014). Bu çalışmalarda; aşı üretiminde kullanılan hücrelerin kedi orijinli olması ve bu hücrelerin kedi genomu kaynaklı endojen FeLV ile enfekte olması ihtimali üzerinde durularak, aşılarda zararsızlık kontrollerinin yapılması gerekliliği vurgulanmıştır. Bu enfeksiyon riski sadece aşı kaynaklı olmayıp, aynı zamanda aşılanacak kedilerin enfeksiyon panellerinin aydınlatılmasını takiben bu rutin aşılarda uygulanması da önem arz etmektedir. Burada unutulmaması gereken diğer önemli nokta; retrovirusların genoma entegre olma kabiliyetleridir ki, FeLV aşılarının uygulanabilirliği bu bağlamda kısıtlılık oluşturmaktadır. Kronic ve ark. (2015)'nin yaptığı bir çalışmada aşılama öncesi enFeLV varlığı bilinen bir kedide aşılama sonrası tümör oluşumu izlenmiş, tümör gelişiminde direkt etkili olup olmadığı anlaşılmamakla birlikte, enFeLV entegre provirusunun aktifleşerek klinik

enfeksiyon getirebileceği ihtimaline vurgu yapılmıştır. Bu tez çalışmasındaki bulgulara göre; bireyler aşılardan önce retroviruslar dahil tüm mikrobiyel ajanlar yönünden enfeksiyon spektrumunu aydınlatılmalı, kedilerin yaşam ortamları dikkate alınarak FIV, FeLV açısından aşılamanın gerekliliği sorgulanmalı ve klinisyen Veteriner Hekimlerin bu konuda bilgilendirilmelidir.

Feline Foamy Virus (FFV) enfeksiyonu; ülkemizde evcil kedilerde varlığı ve yaygınlığı açısından araştırılmamış bir enfeksiyon olup, dünyada yaygınlığı açısından aslında hiç de küçümsenemeyecek oranlarda kedi popülasyonlarında varlığı bildirilmiş bir hastalık etkenidir (Winkler ve ark., 1998; Winkler ve ark., 1999; Nakamura ve ark., 2000 ve Romen ev ark., 2006). Tez çalışmasında 200 kedinin 20'sinde (%10) FFV pozitifliği saptanmış olup, çoklu enfeksiyon tablosu olarak bakıldığında FIV ile birlikte yedi kedide, enFeLV ile birlikte 6 kedide varlığı tespit edilmiştir. Yapılan birçok seroprevalans çalışmasında %30-%80 arasında değişen pozitiflik oranları bildirilmiş olmakla birlikte (Bleiholder ve ark., 2011), bu tez çalışmasındaki pozitiflik oranının anılan çalışmalara göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu tez çalışmasındaki pozitiflik FFV nükleik asitinin tespitine dayalı olup, antikör varlığına dayalı çalışma sonuçlarından daha düşük antijenik pozitiflik saptanmış olması olağan olarak değerlendirilmiştir.

FFV enfekte kedilerin ırk özellikleri istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuş olup, özellikle hibrid ırklarda FFV enfeksiyonu varlığının %70 (14/20) olduğu tespit edilmiştir. Irk dışında herhangi bir değişkenin FFV enfeksiyonu üzerine etkisi tespit edilmemiştir. Irk olarak melez kedilerde FFV'nun daha yaygın olduğu ve safkan ırklara göre 4,3 kat daha fazla görüldüğü ortaya konmuştur. Bu sonuçlara göre melez ırklar için bir ırk yatkınlığının söz konusu olabileceği düşünülmektedir.

Erkek kedilerde (n=14) FFV pozitifliği dişilere (n=6) göre daha yüksek tespit edilmiş olup, %70'lik bu oran istatistiksel olarak da anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. FFV enfeksiyonunun yaygınlığı yönünden Winkler ve ark. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, dişiler erkekler oranla daha yüksek pozitifliğe sahip bulunmuş

olup, aynı habitatı paylaşan enfekte dişilerin özellikle sekretlerle bu ajanı rahatlıkla yayabileceğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında FFV yönünden erkeklerde bulunan yüksek pozitiflik dikkat çekici olup, etkenin eşey hücreleri ile taşınması hakkında yapılacak ilerideki çalışmalarda virusun sperma ile naklinin mümkün olup olmadığının araştırılması önerilmektedir. Böylelikle vertikal nakilde hangi cinsiyetin önemli olabileceği konusu da aydınlığa kavuşabilecektir.

FFV'li kedilerdeki klinik bulgular üzerine yapılan birkaç çalışmada (Arzi ve ark., 2015 ve German ve ark., 2008) polyartrit olgusu belirtilmiştir. Tez çalışmasında FFV pozitifliği belirlenen kedilerde klinik bulgu olarak gingivitis ve oral yaraların ağırlıklı (8/11) olduğu, diğerlerinin (n=9) subklinik enfekte oldukları tespit edilmiştir. Üç hayvandaki bulgular ise; ateş, halsizlik, karında sıvı birikimi şeklinde not edilmiştir. Gingivitis ve oral yaralar (%72,7) öne çıkan klinik bulgular olup, FFV ile ilgili ilerideki çalışmalarda sorgulanmasının önemli olacağı kanaatine varılmıştır. Bu bağlamda, klinisyen Veteriner Hekimler açısından bu bulguların FFV enfeksiyonunu da akla getirmesi adına önem arz edeceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada FIV, enFeLV ve FFV dört kedide aynı anda tespit edilmiştir. Kedilerde klinik bulgu anlamında dördünde de gingivitis tablosu mevcuttur. Sadece bir kedide (FIV/TR/BTK67/Mocha) kan değerlerinde düşüklük (lökopeni, trombositopeni, lenfositopeni) mevcuttur. Weissl ve Ark. (2012)'nin yaptığı benzer çalışmada; osteoporotik kedilerde feline retroviruslar araştırılmış ve en yüksek oranda FFV varlığı saptanmıştır. Bu durum feline retrovirusların farklı klinik bulgular ile seyredebileceğine işaret etmektedir. Bu tez çalışmasında üç retrovirus yönünden pozitif bulunan dört hayvanın; üçü saf ırk ve üçü aşıllı olduklarından, çoklu retroviral enfeksiyonlar düşünüldüğünde, anılan bu özelliklerin dikkate alınması önerilmektedir.

Araştırılan üç virusa ait filogenetik analiz sonuçları bu bölümde tartışılmıştır:

FIV moleküler karakterizasyon çalışmalarında; genellikle iki hedef gen kullanılmaktadır. Bunlar *env* ve *gag* gen bölgeleridir. Retroviruslar için *gag* gen bölgesi mutasyonel anlamda daha stabil iken, FIV tanısı ve karakterizasyonunda *env* gen bölgesi tercih edilmektedir. Özellikle yüksek değişkenlik gösteren bölge olan V3-V6 moleküler çalışmalarda en çok hedeflenen bölgelerin başını çekmektedir (Miyazawa ve ark., 1994). Bu tez çalışmasında, FIV pozitif örneklerde 3 farklı gen bölgesine (*gag*, *env*, *vif*) yönelik moleküler karakterizasyon yapılmıştır. Ülkemize ait suşlar *env* ve *gag* gen bölgeleri filogenetik analizine göre genetik grup olarak B alt tipine yakın yer almış olmakla birlikte, ayrı bir küme oluşturmuşlardır. ABD, Avrupa ve Doğu Akdeniz'de B alt grubunun daha yoğun olduğunu vurgulayan çalışmalar ile bu sonuçlar uyum göstermektedir (Duarte ve Tavares, 2006; Oğuzoğlu ve ark., 2010; Perharic ve ark., 2016; Steinrigl ve Klein, 2003 ve Weaver, 2010). Oğuzoğlu ve ark. (2010)'nın yaptığı çalışmada yer alan TR-Mo ve TR-D suşlarının *env* geninin V3-V5 bölgesine yönelik filogenetik analizinde B alt tipine yakın olduğu belirtilmiştir. Bu tez çalışmasına ait FIV pozitif örneklerin, TR-Mo ve TR-D suşları ile birlikte B alt tipine yakın ayrı bir parafiletik dal oluşturdukları belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar; ülkemizde sirküle olan rekombinasyon açısından dinamik suşların varlığına bir kanıt olup, bugüne dek bildirilmiş 5 temel alt grup dışında farklılığa sahip bir FIV alt tipinin var olabileceği hipotezini kuvvetlendirmektedir.

Tez çalışmasında *env* ve *gag* gen bölgeleri yanısıra *vif* gen bölgesi de araştırılmıştır. *vif* önemli bir aksesuar gen olup virusun hücre içi antiviral faktörü olan APOBEC3G (A3) proteinin etkisini nötralize ettiği literatür bilgide verilmiştir (Gu ve ark., 2016, Sims ve ark., 2017 ve Yoshikawa ve ark., 2017). Yoshikawa ve ark. (2017)'nin hipotezlerinde özellikle çalışma yaptıkları FIV-B alt tiplerinde enfeksiyon sırasında *vif* gen bölgesinin eksprese olmadığı, buna bağlı olarak patojenite oluşturamadığı belirtilmiştir. Tez çalışmasındaki *vif* gen bölgesi ile yapılan moleküler analizler sonucunda Yoshikawa ve ark. (2017)'nin yaptığı çalışmaya uyumlu olarak sadece iki örnekte *vif* gen bölgesi yönünden pozitiflik elde edilmiştir. FIV pozitifliği *env* ve *gag* bazlı primerler ile 21 adet kedide tespit edilirken, *vif* geni ile sadece 2 kediden pozitiflik elde edilmiş olması nedeniyle bu bölgenin tanısal amaçlı kullanımını kısıtladığı kanaatine varılmıştır.

Bu sonuç aynı zamanda şu olguyu da ortaya çıkarmaktadır: 21 FIV pozitif suşun sadece 2 tanesinde aksesuar proteinlerden olan *vif* geni varlığından bahsetmek mümkünken, geri kalan 19 suшта bu gen bölgesinin eksikliğinin söz konusu olabileceğinden hareketle, *vif* gen bölgesi primerleri ile herhangi ürün eldesi gerçekteşmemiştir. Bu 2 adet *vif* gen bölgesi pozitifliğin elde edildiği kedinin klinik bulguları da oldukça farklılık arz etmektedir. FIV/TR/BTK55/890 etiketli kedide nöbet tarzı nörolojik bulguları takiben beden ısısı artışı ve ağız bölgesinde ilaç sağaltımına cevap vermeyen yaralar bildirilmekteyken, FIV/TR/BTK65/Cugu olanda da ataksi ve tremorlara ilaveten inkoordinasyon ve görüş bozukluğu bilgileri not edilmiştir. Bu klinik bulguların sonucu olarak; suşlardaki *vif* gen bölgesinin nötralize edilmemiş olması durumunun, virus suşlarının virulenz durumunu yakından etkilemiş olabileceği ve enfeksiyonun patogenezi artırıcı yönde etki yapabileceği kanaatine varılmıştır. Nitekim; *vif* geni FI-Viruslarının patojenitesi ile yakından ilgili bir gen bölgesi olduğundan ve enfeksiyözite gücünün değişiminden, klinik görünümdeki farklılık ortaya çıkmasına kadar birçok olguya neden olduğundan literatür bilgi olarak bahsedilmektedir (Gu ve ark., 2016, Sims ve ark., 2017 ve Yoshikawa ve ark., 2017). Bu iki örnekte de görüldüğu gibi klinik olarak nörolojik bulgular ile seyreden FIV olgularında *vif* geni sekanslarının elde edilmesi ve diğer hem cinsleri ile karşılaştırılması önem arz etmektedir. Özellikle coğrafik farklılıklar yönünden alt tip değişimi veya yeni alt tiplerin ortaya çıkışı olgularında da bu gen bölgesine ait sekans dizinlerinin karşılaştırılmasının önemli olacağı kanaatine varılmıştır.

FIV suşlarının *vif* gen bölgesi bakımından filogenetik analiz çalışmaları sınırlı sayıda olup, bu tez çalışması *vif* gen bölgesi verileri açısından global anlamda literatür bilgiye katkı sağlayacağı düşünölmektedir. Bu bağlamda; ölkemiz orijinli FIV pozitif *vif* geni sekans dizinleri kullanılarak yapılan filogenetik analiz sonuçları, Brezilya'dan bildirilen 2017 GenBank verileri (Accession No. KX668630-43) ile yakınlık göstermiştir. Filogenetik analizde kullanılan full genomlar ile yapılan karşılaştırmada ise, ölkemiz orijinli FIV suşlarının "B" alt tipine yakınlıkları bir kere daha teyit edilmiş olup, Aomori-2 referenz suşu ile yakınlıkla birlikte aynı

clusterda fakat ayrı bir dal oluşturdukları tespit edilmiştir. Buna ek olarak; HIV *vif* bölgesi moleküler olarak FIV *vif*'e benzese de; yapılan analizde filogenetik açıdan Türk FIV suşları, hem insan orijinli hem de kedi orijinli tüm suşlardan ayrı bir dalda yer alarak, kendileri bir grup oluşturmuşlardır.

FeLV enfeksiyonu yönünden elde edilen verilere bakılacak olursa; endojen ve ekzojen virus kavramı hakkındaki literatür bilgiye göre sıklıkla kedi genomuna entegre olan ve parazitik olarak organizmada varlığını gizleyebilen bir genomik yapıdan söz edilmektedir. Endojen bu partikül, komple virus genomu olarak bulunmamakla birlikte, FeLV genomuna farklı genom parçacıklarının entegre olduğu yapı yanısıra, komple virion olarak bulunmayan bu yapının dışarıdan alınabilecek aktif viral partiküller sonrası gelişebilecek rekombinasyonlarla enfeksiyöz hale dönüşmesi veya ekzojen virusun dışardan alınması ile mevcut bulunan endojen virusun kullanılarak kendi replikasyonunu gerçekleştirmesi söz konusu olabilmektedir (Anai ve ark., 2012 ve Chiu ve ark., 2018). Bu tez çalışmasında herhangi ekzojen FeLV tespit edilmemekle birlikte, endojen FeLV enfeksiyonu %14 (28/200) olarak belirlenmiştir. FeLV araştırması için iki farklı gen bölgesi (kısmi envelope ve 3'-LTR) kullanılmıştır. Bu iki bölge genomik yapıda birbirini takip eden durumda olup, genelde konakçı genomunda kalıp halde bulunmaktadır (Anai ve ark., 2012 ve Polani ve ark., 2010). Ülkemizde daha önce GenBank veri tabanında herhangi FeLV nükleotid dizisi bulunmamakla birlikte, bu tez çalışması sonucu olarak GenBank veritabanına girilen 28 adet endojen FeLV kısmi envelope ve 3'-LTR bölgesine ait dizinler dünyadaki hem cinsleri ile karşılaştırılmıştır.

EnFeLV'ların alt genomik üniteleri kedi kromozomlarında dağınık olarak bulduklarından tüm dünyada bu varyantla (endojen) ilgili filogenetik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Roca ve ark. (2004) enFeLV'leri genel olarak 2 gruba ayırmıştır. Bu tez kapsamında elde edilen endojen FeLV sekansları ve dünyadaki hem cinsleri kullanılarak yapılan filogenetik analizde Grup 2 de yer almıştır. Türkiye'deki evcil kedilerden elde edilen bu örneklerin, Amerikan orijinli enFeLV-AGTT suşu ile yüksek oranda (%99) benzerlik gösterdiği tespit edilmiş olup, AGTT-like grupta yer aldığı saptanmıştır. Elde edilen sekanslar, kedi genomunda entegre halde bulunduğu

tespit edilen ve bir endojen virus suşu olan RD114'le, karşılaştırıldığında moleküler bazda herhangi bir benzerlik bulunamamıştır. Bu durumun Türkiye orijinli endojen suşlar için önemli olabileceği düşünülmektedir.

EnFeLV pozitif örneklerden elde edilen sekansların 24'ü, filogenetik analiz sonucunda 3 ayrı küme oluşturarak parafiletik dallarda (Bkz. sayfa 50 mavi, yeşil, mor grup) yer alırken, dört adet sekans bu gruplardan farklı dallarda yerleşmiştir. Özellikle FeLV/TR/BTK12/Mia isimli örneğe ait sekans, bir referenz suş olan ve FeLV-A alt tipinde yer alan FeLV-FAIDS (M18247) ile monofiletik dalda yer almıştır. Bu Türkiye suşu ile ekzojen FeLV-FAIDS suşu arasındaki benzerlik anlamlı olup, özellikle endojen ve ekzojen FeL-Virusları arasındaki genetik aktarımları vurgulayan çalışmalarla da uyumlu olduğu görülmüştür (Polani ve ark., 2010, Stewart ve ark., 2011; Anai ve ark., 2012; Watanabe ve ark., 2013; Kamawura ve ark. 2015; ve Ramirez ve ark., 2016).

FFV enfeksiyonu ile ilgili olarak GenBank veritabanında az veri mevcut olduğundan, bu durum elde edilen Türkiye orijinli sekansların dünyadaki hem cinsleri ile ayrıntılı karşılaştırılmasına imkan tanımamıştır. Ancak oluşturulan filogenetik ağaçta bu çalışmaya ait tüm FFV sekanlarının aynı dalda bulunduğu ve İngiltere orijinli Chatul-3 suşuna yakınlık gösterdiği saptanmıştır. Chatul-3 suşu, FUV-like FFV olmasından (Roy ve ak., 2003) ötürü, tez çalışmasında elde edilen sekansların genotipik olarak FUV-like viruslar arasında olduğu kanaatine varılmıştır.

Bu tez çalışmasından elde edilen tüm kedi kökenli Retroviruslara yönelik genel bir değerlendirme yapılacak olursa; pozitiflik saptanan virus enfeksiyonu sıralamasının; en çok enFeLV (%14) > FIV (%10,5) > FFV (%10) olduğu tespit edilmiştir. Retroviruslarda bulunan aksesuar genlerin en az bulunduğu virus grubu dikkate alındığında, bu sıralamanın enFeLV < FIV < FFV olacağı gerçeğinden hareketle, mutasyonların en çok rastlanabilecek virus grubu olan enFeLV suşlarının ülkemizdeki bu yoğunluğunun yeni tipte rekombinant virusların oluşumuna bir potansiyel teşkil edebileceği kanaatine varılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ✓ Dünyada ve ülkemizde pet hayvanı sayısının artışı ve ekonomik sektör yaratması nedeniyle daha önceleri fazla araştırılmayan enfeksiyöz ajanların da önemi artmıştır. Bu durum, yaşam habitatını sahipleriyle paylaşan kedilerin sağlık durumlarını önemli ölçüde etkileyen viral ajanlardan olan feline Retrovirusların araştırılmasını gündeme getirmektedir.
- ✓ Ülkemizde sirküle olan kedi kökenli Retrovirusların varlığını/yaygınlığını ve moleküler tiplerinin belirlenmesini konu alan bu tez, Veteriner Hekimlerin tanılal alanda ihtiyaç duyduğu bu enfeksiyöz hastalıklar hakkındaki sorulara cevap verecek bilgilerin toplanmasına imkan sağlamıştır. Ayrıca bu çalışma sonuçları; gelecekte bu enfeksiyonlarla mücadele seçeneklerinin sunulmasında önem arz eden temel bilgileri içermektedir. Bu sonuçlara göre; %14 FeLV, %10.5 FIV, %10 FFV enfeksiyonlarının ülkemizdeki kedilerde varlığı belirlenmiştir.
- ✓ Bu tez bulguları kapsamında, FIV enfeksiyonunun rutin tanısında *gag* ve *env* genleri yanısıra, PCR pozitif olgularda *vif* geni karakterizasyonunun da yapılması önerilmektedir. Böylelikle ülkemizde sirküle olan FIV suşlarının patogenez özellikleri ve virus suşu-klinik bulgu ilişkisi hakkında bilgi sahibi olunabileceği kanaatine varılmıştır.
- ✓ Retroviruslar, dinamik olarak başkalaşım geçiren bir virus ailesinde olduklarından ve konakçı genomuna entegre olabildiklerinden, bu çalışmada belirlenen endojen FeLV varyantının varlığı önem arz etmekte olup, mutant tiplerin ortaya çıkışını etkileyebilecek olan bu durumun ilerideki çalışmalarda dikkate alınması önerilmektedir.

- ✓ Mevcut bilgilere göre FFV enfeksiyonuna yönelik ülkemizde yapılmış herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışma, FFV enfeksiyonu varlığına yönelik ilk bulguları içermektedir. Ayrıca FFV; tek başına kedileri enfekte edebildiği gibi, FIV ve FeLV gibi diğer feline Retroviruslarla birlikte de bulunabilmektedir. Bu çalışma sonuçları; tanı laboratuvarlarının araştırma panellerinde bu enfeksiyonun da bulunması gerekliliğini göstermektedir.
- ✓ Bu çalışma sonucunda bir öneri olarak; FFV enfeksiyonunun vertikal naklinin araştırılmasında erkek kedilerin rolünün değerlendirilmesi için, elde edilecek sperm örneklerinin kullanımının önemli olduğu kanaatine varılmıştır.
- ✓ FFV, aynı insanlardaki homologu olan HFV gibi, canlıda nasıl bir hastalığa neden olduğu tam aydınlatılmamış virus enfeksiyonlarından olup, ileride gerçekleştirilebilecek deneysel enfeksiyonlar ile hastalığın oluşum mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik araştırmalara temel teşkil edecek veriler sunulabileceği düşünülmektedir.
- ✓ Özellikle klinikler ve hayvan hastanelerinde Veteriner Hekimlerin aşılama programı öncesinde sadece FIV ve FeLV değil, FFV enfeksiyonu yönünden de varlığının araştırılması ve durumun bu doğrultuda değerlendirilmesi gerekliliği öngörümüzdür.

ÖZET

Kedilerde Görülen Retrovirus Enfeksiyonlarının (FIV, FeLV, FFV) Moleküler Olarak Araştırılması

Gerek hayvan sağlığına direkt etkileri ve gerekse immunsupresyon nedeniyle apatojen formda bulunan sekonder etkenlerin şiddetli enfeksiyonlara dönüşümünü tetikleyen Retrovirus enfeksiyonları, kedilerde de önem arz eden viral ajanlardandır. Feline Retrovirus enfeksiyonlarının (Feline Immunodeficiency Virus-FIV, Feline Leukemia Virus-FeLV ve Feline Foamy Virus-FFV) ülkemizdeki evcil kedilerde varlığı ve yaygınlığının araştırılmasının hedeflendiği bu tez, 200 adet evcil kediden alınan kan örneklerinde, anılan üç farklı virusa karşı nükleik asit tespitine dayalı moleküler teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Saptanan pozitiflikler büyükten küçüğe doğru sırasıyla %14 FeLV, %10.5 FIV, %10 FFV şeklinde olup, elde edilen amplikonlar dizin analizine tabii tutulmuştur. İlgili dizinler Gen bankasına kaydedilmiş olup, aynı zamanda dünyadaki hem cinsleri ile filogenetik analiz kullanılarak karşılaştırılmıştır. Tez bulguları olarak; FeLV enfeksiyonuna neden olabilecek varyantlardan sadece endojen olan tespit edilirken, FIV suşlarının B alt tipine yakın olmakla birlikte beraberce farklı bir alt grup oluşturdukları belirlenmiştir. Ülkemizde kedilerde FFV enfeksiyonunun varlığı ise ilk kez bu araştırma ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen bulgular; ülkemizde Veteriner Viroloji alanında kedilerde bulunan Retroviruslar hakkında sınırlı moleküler bilgiye katkı sağlamaktadır. Viral enfeksiyöz ajanlar olarak önem arz eden kedi kökenli Retrovirus enfeksiyonlarının araştırılmasına olanak sağlaması ve gerekse hayvan sağlığı açısından kayda değer verilerin elde edildiği bu tez; global literatür bilgisine ve konu ile ilgili yeni çalışmaların planlanmasına da katkı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Feline Immunodeficiency Virus (FIV), Feline Leukemia Virus (FeLV), Feline Foamy Virus (FFV), Moleküler Karakterizasyon, Türkiye

SUMMARY

Molecular Investigation of Retrovirus Infections (FIV, FeLV, FFV) in Cats

Retrovirus infections, both of which are direct effects on animal health and which trigger the conversion of secondary agents, which are in apathogenic form due to immunosuppression, to severe infections, are also important viral agents in the cat. This thesis, which aims to investigate the presence and prevalence of Feline retrovirus infections (Feline Immunodeficiency Virus-FIV, Feline Leukemia Virus-FeLV, and Feline Foamy Virus-FFV) in domestic cats in our country, is based on nucleic acid detection against three different viruses molecular techniques.

The detected positivities were high to low, 14% FeLV, 10.5% FIV, 10% FFV, respectively, and the obtained amplicons were subjected to index analysis. The relevant sequences were recorded in the GenBank and were also compared using phylogenetic analysis with both sexes in the world. As thesis findings; It was determined that FIV strains from a different subgroup together with being close to B subtype, while only endogenous strains were identified from the variants that could cause FeLV infection. The presence of FFV infection in cats in our country was the first time that this research has been carried out.

Obtained Findings, for our country, provides a considerable contribution limited preexisting molecular information about Retroviruses in the cats in the field of Veterinary Virology. This thesis, which provides an opportunity to investigate cat-related retrovirus infections that are important as viral infectious agents and which provides livelihoods in terms of animal health, contributed to the knowledge of the global literature and the planning of new studies on the subject.

Keywords: Feline Immunodeficiency Virus (FIV), Feline Leukemia Virus (FeLV), Feline Foamy Virus (FFV), Molecular Characterization, Turkey

KAYNAKLAR

- ALKE A, SCHWANTES A, KIDO K, FLÖTENMEYER M, FLÜGEL RM, LÖCHELT M (2001). The bet gene of feline foamy virus is required for virus replication. *Virology* **287(2)**: 310-320.
- ANAI Y, OCHI H, WATANABE S, NAKAGAWA S, KAWAMURA M, GOJOBORI T, NISHIGAKI K (2012). Infectious endogenous retroviruses in cats and emergence of recombinant viruses. *J Virol.* **86(16)**: 8634.
- ARNAUD F, CAPORALE M, VARELA M, BIEK R, CHESSA B, ALBERTI A, GOLDBERGER M, MURA M, ZHANG YP, YU L, PEREIRA F (2007). A Paradigm for Virus–Host Coevolution: Sequential Counter-Adaptations between Endogenous and Exogenous Retroviruses. *PLoS Path.* **3(11)**: 1-11.
- ARTS EJ, MILLER JT, EHRESMANN B, LE GRICE SF (1998). Mutating a Region of HIV-1 Reverse Transcriptase Implicated in tRNALys-3 Binding and the Consequences for (–)-Strand DNA Synthesis. *J Biol Chem.* **273(23)**: 14523-14532.
- ARZI B, KOL A, MURPHY B, WALKER NJ, WOOD JA, CLARK K, VERSTRAETE FJ, BORJESSON DL (2014). Feline foamy virus adversely affects feline mesenchymal stem cell culture and expansion: Implications for animal model development. *Stem Cells Dev.* **24(7)**: 814-823.
- ASQUITH CR, MELI ML, KONSTANTINOVA LS, LAITINEN T, PERÄKYLÄ M, POSO A, RAKITIN OA, ALLENSPACH K, HOFMANN-LEHMANN R, HILTON ST (2014). Evaluation of the antiviral efficacy of bis [1, 2] dithiolo [1, 4] thiazines and bis [1, 2] dithiopyrrole derivatives against the nucleocapsid protein of the Feline Immunodeficiency Virus (FIV) as a model for HIV infection. *Bioorg Med Chem Lett.* **24(12)**: 2640-2644.
- BACHMANN MH, MATHIASON-DUBARD C, LEARN GH, RODRIGO AG, SODORA DL, MAZZETTI P, HOOVER EA, MULLINS JI (1997). Genetic diversity of feline immunodeficiency virus: dual infection, recombination, and distinct evolutionary rates among envelope sequence clades. *J Virol.* **71(6)**: 4241-4253.
- BĘCZKOWSKI PM (2013). Virus evolution in the progression of natural feline immunodeficiency virus infection (Doctoral dissertation, University of Glasgow). Erişim Adresi: <http://theses.gla.ac.uk/4186/>, Erişim Tarihi: 07.02.2018.
- BĘCZKOWSKI PM, HUGHES J, BIEK R, LITSTER A, WILLETT BJ, HOSIE MJ (2014). Feline immunodeficiency virus (FIV) env recombinants are common in natural infections. *Retrovirology.* **11(1)**: 1-10.
- BĘCZKOWSKI PM, HARRIS M, TECHAKRIENGKRAI N, BEATTY JA, WILLETT BJ, HOSIE MJ (2015). Neutralising antibody response in domestic cats immunised with a commercial feline immunodeficiency virus (FIV) vaccine. *Vaccine* **33(8)**: 977-984.
- BENSON DA, CLARK K, KARSCH-MIZRACHI I, LIPMAN DJ, OSTELL J, SAYERS EW (2014). GenBank. *Nucleic Acids Res.* **42**: 32-37.

- BIENZLE D (2014). FIV in cats—a useful model of HIV in people?. *Vet Immunol Immunopath.* **159(3)**: 171-179.
- BLEIHOLDER A, MÜHLE M, HECHLER T, BEVINS S, DENNER J, LÖCHELT M (2011). Pattern of seroreactivity against feline foamy virus proteins in domestic cats from Germany. *Vet Immunol Immunopath.* **143(3-4)**: 292-300.
- BONEVA RS, SWITZER WM, SPIRA TJ, BHULLAR VB, SHANMUGAM V, CONG ME, LAM L, HENEINE W, FOLKS TM, CHAPMAN LE (2007). Clinical and virological characterization of persistent human infection with simian foamy viruses. *AIDS Res Hum Retroviruses* **23(11)**: 1330-1337.
- BROWNING MT, SCHMIDT RD, LEW KA, RIZVI TA (2001). Primate and feline lentivirus vector RNA packaging and propagation by heterologous lentivirus virions. *J Virol.* **75(11)**: 5129-5140.
- BURKHARD M, DEAN GA (2003). Transmission and immunopathogenesis of FIV in cats as a model for HIV. *Curr HIV Res.* **1(1)**: 15-29.
- CALLAHAN ME, SWITZER WM, MATTHEWS AL, ROBERTS BD, HENEINE W, FOLKS TM, SANDSTROM PA (1999). Persistent Zoonotic Infection of a Human with Simian Foamy Virus in the Absence of an Intact orf-2 Accessory Gene. *J Virol.* **73(11)**: 9619-9624.
- CAMACHO C, COULOURIS G, AVAGYAN V, MA N, PAPADOPOULOS J, BEALER K, MADDEN TL (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, **10(1)**: 421.
- CAMPANELLA JJ, BITINCKA L, SMALLEY J (2003). MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. *BMC Bioinformatics* **4(1)**: 29.
- CHIU ES, HOOVER EA, VANDEWOUDE S (2018). A Retrospective Examination of Feline Leukemia Subgroup Characterization: Viral Interference Assays to Deep Sequencing. *Viruses* **10(1)**: 29.
- COURCHAMP F, SAY L, PONTIER D (2000). Transmission of feline immunodeficiency virus in a population of cats (*Felis catus*). *Wildlife Res.* **27(6)**: 603-611.
- DE OLIVEIRA MEDEIROS S, MARTINS AN, DIAS CG, TANURI A, DE MORAES BRINDEIRO R (2012). Natural transmission of feline immunodeficiency virus from infected queen to kitten. *Virol J.* **9**: 99-99.
- DE PARSEVAL A, GRANT CK, SASTRY KJ, ELDER JH (2006). Sequential CD134-CXCR4 interactions in feline immunodeficiency virus (FIV): soluble CD134 activates FIV Env for CXCR4-dependent entry and reveals a cryptic neutralization epitope. *J Virol.* **80(6)**: 3088-3091.
- DUARTE A, TAVARES L (2006). Phylogenetic analysis of Portuguese feline immunodeficiency virus sequences reveals high genetic diversity. *Vet Microbiol.* **114(1)**: 25-33.
- ECKSTRAND CD, SPARGER EE, MURPHY BG (2017). Central and peripheral reservoirs of feline immunodeficiency virus in cats: a review. *J Gen Virol.* **98(8)**: 1985-1996.

- ELDER JH, LERNER DL, HASSELKUS-LIGHT CS, FONTENOT DJ, HUNTER E, LUCIW PA, MONTELARO RC, PHILLIPS TR (1992). Distinct subsets of retroviruses encode dUTPase. *J Virol.* **66(3)**: 1791-1794.
- ENDO Y, CHO KW, NISHIGAKI K, MOMOI Y, NISHIMURA Y, MIZUNO T, GOTO Y, WATARI T, TSUJIMOTO H, HASEGAWA A (1997). Molecular characteristics of malignant lymphomas in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. *Vet Immunol Immunopath.* **57(3-4)**: 153-167.
- ENGEL GA, SMALL CT, SOLIVEN K, FEEROZ MM, WANG X, HASAN MK, OH G, ALAM SR, CRAIG KL, JACKSON DL, MATSEN IV FA, LINIAL ML, JONES-ENGEL L (2013). Zoonotic simian foamy virus in Bangladesh reflects diverse patterns of transmission and co-infection. *Emerg Microbes Infect.* **2(9)**: 58.
- EROL N, PASA S (2013). An Investigation of the Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) Infections in Cats in Western Turkey. *Acta Sci Vet.* **41**: 1166.
- EUROPEAN ADVISORY BOARD ON CAT DISEASES ABCD Guidelines. Erişim Adresi: <http://www.abcdcatsvets.org/>, Erişim Tarihleri: 12.10.2017, 03.11.2017, 22.11.2017, 02.03.2018, 19.03.2018.
- FLETCHER NF, MEEKER RB, HUDSON LC, CALLANAN JJ (2011). The neuropathogenesis of feline immunodeficiency virus infection: Barriers to overcome. *Vet J*, **188(3)**: 260-269.
- FLOWER RL, WILCOX GE, COOK RD, ELLIS TM (1985). Detection and prevalence of serotypes of feline syncytial spumaviruses. *Arch Virol.* **83(1-2)**: 53-63.
- GERMAN AC, HARBOUR DA, HELPS CR, GRUFFYDD-JONES TJ (2008). Is feline foamy virus really apathogenic?. *Vet Immunol Immunopath.* **123(1)**: 114-118.
- GLEICH SE, KRIEGER S, HARTMANN K (2009). Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *JFMS.* **11(12)**: 985-992.
- GOFF SP (1990). Retroviral reverse transcriptase: synthesis, structure, and function. *J Acquir Immune Defic Syndr.* **3(8)**: 817-831.
- GU Q, ZHANG Z, ORTIZ LC, FRANCO AC, HÄUSSINGER D, MÜNK C (2016). Feline immunodeficiency virus Vif N-terminal residues selectively counteract feline APOBEC3s. *J Virol.* **90(23)**: 10545-10557.
- HARTMANN K (2012). Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses* **4(11)**: 2684-2710.
- HERRING ES, TROY GC, TOTH TE, FORRESTER SD, WEIGT LA, HERRING IP (2001). Detection of feline leukaemia virus in blood and bone marrow of cats with varying suspicion of latent infection. *JMFS.* **3(3)**: 133-141.
- HOSIE MJ, ADDIE D, BELÁK S, BOUCRAUT-BARALON C, EGBERINK H, FRYMUS T, GRUFFYDD-JONES T, HARTMANN K, LLORET A, LUTZ H, MARSILIO F (2009). Feline immunodeficiency. ABCD guidelines on prevention and management. *JMFS.* **11(7)**: 575-584.

- HOSIE MJ, TECHAKRIENGKRAI N, BĘCZKOWSKI PM, HARRIS M, LOGAN N, WILLET BJ (2017). The Comparative Value of Feline Virology Research: Can Findings from the Feline Lentiviral Vaccine Be Translated to Humans?. *Vet Sci.* **4(1)**: 7.
- INTERNATIONAL COMMITTEE OF VIRUS TAXONOMY (ICTV) 9th Report (2011, updated in 2017). Family: Retroviridae. Erişim Adresi: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses-2011/w/rt_viruses/161/retroviridae , Erişim Tarihi: 4 Ocak 2018.
- KAKINUMA S, MOTOKAWA K, HOHDATSU T, YAMAMOTO JK, KOYAMA H, HASHIMOTO H (1995). Nucleotide sequence of feline immunodeficiency virus: classification of Japanese isolates into two subtypes which are distinct from non-Japanese subtypes. *J Virol.* **69(6)**: 3639-3646.
- KANN RK, KYAW-TANNER MT, SEDDON JM, LEHRBACH PR, ZWIJNENBERG RJ, MEERS J (2006). Molecular subtyping of feline immunodeficiency virus from domestic cats in Australia. *Aust Vet J.* **84**: 112-116.
- KAWAMURA M, WATANABE S, ODAHARA Y, NAKAGAWA S, ENDO Y, TSUJIMOTO H, NISHIGAKI K (2015). Genetic diversity in the feline leukemia virus gag gene. *Virus Res.* **204**: 74-81.
- KEHL T, TAN J, MATERNIAK M (2013). Non-simian foamy viruses: molecular virology, tropism and prevalence and zoonotic/interspecies transmission. *Viruses* **5(9)**: 2169-2209.
- KENYON JC, LEVER AM (2011). The molecular biology of feline immunodeficiency virus (FIV). *Viruses* **3(11)**: 2192-2213.
- KRAASE M, SLOAN R, KLEIN D, LOGAN N, MCMONAGLE L, BIEK R, WILLET BJ, HOSIE MJ (2010). Feline immunodeficiency virus env gene evolution in experimentally infected cats. *Vet Immunol Immunopath.* **134(1-2)**: 96-106.
- KRUNIC M, ERTL R, HAGEN B, SEDLAZECK FJ, HOFMANN-LEHMANN R, VON HAESELER A, KLEIN D (2015). Decreased expression of endogenous feline leukemia virus in cat lymphomas: a case control study. *BMC Vet Res.* **11(1)**: 90.
- LACO GS, FITZGERALD MC, MORRIS GM, OLSON AJ, KENT SB, ELDER JH (1997). Molecular analysis of the feline immunodeficiency virus protease: generation of a novel form of the protease by autoproteolysis and construction of cleavage-resistant proteases. *J Virol.* **71(7)**: 5505-5511.
- LECOLLINET S, RICHARDSON J (2008). Vaccination against the feline immunodeficiency virus: the road not taken. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* **31(2-3)**: 167-90.
- LEONARD, CK, SPELLMAN MW, RIDDLE L, HARRIS RJ, THOMAS JN, GREGORY TJ (1990). Assignment of intrachain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem.* **265(18)**: 10373-10382.

- LEVY J, CRAWFORD C, HARTMANN K, HOFMANN-LEHMANN R, LITTLE S, SUNDAHL E, THAYER V (2008). 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. *JMFS*. **10(3)**: 300-316.
- LITTLE S, BIENZLE D, CARIOTO L, CHISHOLM H, O'BRIEN E, SCHERK M (2011). Feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in Canada: Recommendations for testing and management. *Can Vet J*. **52(8)**: 849.
- LIU W, LEI J, LIU Y, LUKIC DS, RÄTBE AM, BAO Q, KEHL T, BLEIHOLDER A, HECHLER T, LÖCHELT M. (2013). Feline foamy virus-based vectors: advantages of an authentic animal model. *Viruses* **5(7)**: 1702-1718.
- LUKIC DS, HOTZ-WAGENBLATT A, LEI J, RÄTBE AM, MÜHLE M, DENNER J, MÜNK C, LÖCHELT M (2013). Identification of the feline foamy virus Bet domain essential for APOBEC3 counteraction. *Retrovirology* **10(1)**: 76.
- LUTTGE BG, SHEHU-XHILAGA M, DEMIROV DG, ADAMSON CS, SOHEILIAN F, NAGASHIMA K, STEPHEN AG, FISHER RJ, FREED EO (2008). Molecular characterization of feline immunodeficiency virus budding. *J Virol*. **82(5)**: 2106-2119.
- MAJOR A, CATTORI V, BOENZLI E, RIOND B, OSSENT P, MELI ML, HOFMANN-LEHMANN R, LUTZ H (2010). Exposure of cats to low doses of FeLV: seroconversion as the sole parameter of infection. *Vet Res*. **41(2)**: 1-10.
- MERCK VETERINARY MANUAL: OVERVIEW OF FELINE LEUKEMIA VIRUS AND RELATED DISEASES Erişim Adresi: http://www.merckvetmanual.com/mvm/generalized_conditions/, Erişim Tarihleri: 07.07.2017, 15.03.2108.
- MEEKER RB, HUDSON L (2017). Feline Immunodeficiency Virus Neuropathogenesis: A Model for HIV-Induced CNS Inflammation and Neurodegeneration. *Vet Sci*. **4(1)**: 14.
- MILLER JT, EHRESMANN B, HÜBSCHER U, LE GRICE SF (2001). A novel interaction of tRNA^{Lys}, 3 with the feline immunodeficiency virus RNA genome governs initiation of minus strand DNA synthesis. *J Biol Chem*. **(29)**: 27721-27730.
- MIYAKE A, WATANABE S, HIRATSUKA T, ITO J, NGO MH, MAKUNDI I, KAWASAKI J, ENDO Y, TSUJIMOTO H, NISHIGAKI K (2016). Novel feline leukemia virus interference group based on env gene. *J Virol*. **90(9)**: 4832.
- MIYAZAWA T (2010). Endogenous retroviruses as potential hazards for vaccines. *Biologicals* **38(3)**: 371-376.
- MIYAZAWA T, TOMONAGA K, KAWAGUCHI Y, MIKAMI T (1994). The genome of feline immunodeficiency virus. *Arch Virol*. **134(3-4)**: 221-34.
- MIYAZAWA T, JARRETT O (1997). Feline leukaemia virus proviral DNA detected by polymerase chain reaction in antigenaemic but non-viraemic ('discordant') cats. *Arch Virol*. **142(2)**: 323-332.

- MUHIRE BM, VARSANI A, MARTIN DP (2014). SDT: A Virus Classification Tool Based on Pairwise Sequence Alignment and Identity Calculation. *PLoS ONE* **9(9)**: 1-8.
- NAKAMURA K, MIYAZAWA T, IKEDA Y, SATO E, NISHIMURA Y, TAKAHASHI E, MOCHIZUKI M, MIKAMI T (2000). Contrastive prevalence of feline retrovirus infections between northern and southern Vietnam. *J Vet Med Sci.* **62(8)**: 921-923.
- NISHIMURA Y, GOTO Y, PANG H, ENDO Y, MIZUNO T, MOMOI Y, WATARI T, TSUJIMOTO H, HASEGAWA A (1998). Genetic heterogeneity of env gene of feline immunodeficiency virus obtained from multiple districts in Japan. *Virus Research* **57(1)**: 101-112.
- NORRIS JM, BELL ET, HALES L, TORIBIO JA, WHITE JD, WIGNEY DI, BARAL RM, MALIK R (2007). Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. *JFMS.* **9(4)**: 300-308.
- NORUSIS M (2008). SPSS Statistics 17.0: Guide to data analysis. Prentice-Hall, New Jersey-ABD.
- O'BRIEN SJ, TROYER JL, BROWN MA, JOHNSON WE, ANTUNES A, ROELKE ME, PECON-SLATTERY J (2012). Emerging viruses in the Felidae: shifting paradigms. *Viruses* **4(2)**: 236-257.
- OĞUZOĞLU TÇ, TİMURKAN MÖ, MUZ D, KUDU A, NUMANBAYRAKTAROĞLU B, SADAK S, BURGU I (2010). First molecular characterization of feline immunodeficiency virus in Turkey. *Arch Virol.* **155(11)**: 1877-1881.
- OGUZOGLU TC, SAHNA KC, ATASEVEN VS, MUZ D (2010). Prevalence of feline coronavirus (FCoV) and feline leukemia virus (FeLV) in Turkish cats. *Vet J Ankara Univ.* **57(4)**: 271-274.
- OĞUZOĞLU TÇ, MUZ D, TİMURKAN MÖ, MARAL N, GURCAN IS (2013). Prevalences of Feline Coronavirus (FCoV), Feline Leukaemia Virus (FeLV), Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Parvovirus (FPV) among domestic cats in Ankara, Turkey. *Revue Méd Vét.* **164(11)**: 511-516.
- OMOTO S, BRISIBE EA, OKUYAMA H, FUJII YR (2004). Feline foamy virus Tas protein is a DNA-binding transactivator. *J Virol.* **85(10)**: 2931-2935.
- O'NEIL LL., BURKHARD MJ, DIEHL LJ, HOOVER EA (1995). Vertical transmission of feline immunodeficiency virus. *AIDS Res Hum Retroviruses* **11(1)**: 171-182.
- PECON-SLATTERY J, TROYER JL, JOHNSON WE, O'BRIEN SJ (2008). Evolution of feline immunodeficiency virus in Felidae: implications for human health and wildlife ecology. *Vet Immunol Immunopath.* **123(1-2)**: 32-44.
- PECORARO MR, TOMONAGA K, MIYAZAWA T, KAWAGUCHI Y, SUGITA S, TOHYA Y, KAI C, ETCHEVERRIGARAY ME, MIKAMI T (1996). Genetic diversity of Argentine isolates of feline immunodeficiency virus. *J Gen Virol.* **77(9)**: 2031-2035.
- PEDERSEN NC, POOL RR, O'BRIEN T (1980). Feline chronic progressive polyarthritis. *Am J Vet Res* **41(4)**: 522-535.

- PEDERSEN NC, HO EW, BROWN ML, YAMAMOTO JK (1987). Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. *Science* **235(4790)**: 790-793.
- PEPIN AC, TANDON R, CATTORI V, NIEDERER E, RIOND B, WILLI B, LUTZ H, HOFMANN-LEHMANN R (2007). Cellular segregation of feline leukemia provirus and viral RNA in leukocyte subsets of long-term experimentally infected cats. *Virus Res.* **127(1)**: 9-16.
- PERHARIĆ M, BIĐIN M, STAREŠINA V, MILAS Z, TURK N, ŠTRITOF Z, HAĐINA S, HABUŠ J, STEVANOVIĆ V, MOJČEC-PERKO V, KOVAČ S (2016). Phylogenetic characterisation of feline immunodeficiency virus in naturally infected cats in Croatia indicates additional heterogeneity of subtype B in Europe. *Arch Virol.* **161(9)**: 2567-2573.
- PHUNG HT, IKEDA Y, MIYAZAWA T, NAKAMURA K, MOCHIZUKI M, IZUMIYA Y, SATO E, NISHIMURA Y, TOHYA Y, TAKAHASHI E, MIKAMI T (2001). Genetic analyses of feline foamy virus isolates from domestic and wild feline species in geographically distinct areas. *Virus Res.* **76(2)**: 171-181.
- POLICICCHIO BB, PANDREA I, APETREI C (2016). Animal models for HIV cure research. *Front Immunol.* **7**: 12
- POLANI S, ROCA AL, ROSENSTEEL BB, KOLOKOTRONIS SO, BAR-GAL GK (2010). Evolutionary dynamics of endogenous feline leukemia virus proliferation among species of the domestic cat lineage. *Virology* **405(2)**: 397-407.
- RAMÍREZ H, AUTRAN M, GARCÍA MM, CARMONA MÁ, RODRÍGUEZ C, MARTÍNEZ HA (2016). Genotyping of feline leukemia virus in Mexican housecats. *Arch Virol.* **161(4)**:1039-1045.
- RETHWILM A, BODEM J (2013). Evolution of foamy viruses: the most ancient of all retroviruses. *Viruses* **5(10)**: 2349-2374.
- RIGGS JL, OSHIRO LS, TAYLOR DO, LENNETTE EH (1969). Syncytium-forming agent isolated from domestic cats. *Nature* **222(5199)**: 1190-1191.
- ROCA AL, PECON-SLATTERY J, O'BRIEN SJ (2004). Genomically intact endogenous feline leukemia viruses of recent origin. *J Virol.* **78(8)**: 4370-4375.
- ROGERS AB, MATHIASON CK, HOOVER EA (2002). Immunohistochemical localization of feline immunodeficiency virus using native species antibodies. *Am J Pathol.* **161(4)**: 1143-51.
- ROMEN F, PAWLITA M, SEHR P, BACHMANN S, SCHRÖDER J, LUTZ H, LÖCHELT M (2006). Antibodies against Gag are diagnostic markers for feline foamy virus infections while Env and Bet reactivity is undetectable in a substantial fraction of infected cats. *Virology* **345(2)**: 502-508.
- ROY J, RUDOLPH W, JURETZEK T, GÄRTNER K, BOCK M, HERCHENRÖDER O, LINDEMANN D, HEINKELEIN M, RETHWILM A (2003). Feline foamy virus genome and replication strategy. *J Virol.* **77(21)**: 11324-11331.

- SAMMAN A, LOGAN N, MCMONAGLE EL, ISHIDA T, MOCHIZUKI M, WILLETT BJ, HOSIE MJ (2010). Neutralization of feline immunodeficiency virus by antibodies targeting the V5 loop of Env. *J Gen Virol.* **91(1)**: 242-249.
- SHIBAGAKI Y, HOLMES ML, APPA RS, CHOW SA (1997). Characterization of feline immunodeficiency virus integrase and analysis of functional domains. *Virology* **230(1)**: 1-10.
- SIMS OL, MAYNARD E, POESCHLA EM (2017). Characterization Of Vif Domains That Mediate Feline Immunodeficiency Virus Antagonism Of APOBEC3-H And APOBEC3-CH Restriction. *BioRxiv* **1**: 1-34.
- SODORA DL, SHPAER EG, KITCHELL BE, DOW SW, HOOVER EA, MULLINS JI (1994). Identification of three feline immunodeficiency virus (FIV) env gene subtypes and comparison of the FIV and human immunodeficiency virus type 1 evolutionary patterns. *J Virol.* **68(4)**: 2230-2238.
- SOE LH, GHOSH AK, MAXSON RE, HOOVER EA, HARDY WD, ROY-BURMAN P (1986). Nucleotide sequence of the 1.2-kb 3'-region and genotype distribution of two common c-myc alleles of the domestic cat. *Gene* **47(2)**: 185-92.
- SARAFIANOS SG, DAS K, TANTILLO C, CLARK AD, DING J, WHITCOMB JM, BOYER PL, HUGHES SH, ARNOLD E (2001). Crystal structure of HIV-1 reverse transcriptase in complex with a polypurine tract RNA: DNA. *The EMBO Journal* **20(6)**: 1449-1461.
- STEINRIGL A, KLEIN D (2003). Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus in Central Europe: a prerequisite for vaccination and molecular diagnostics. *J Gen Virol*, **84(5)**: 1301-1307.
- STEWART H, JARRETT O, HOSIE MJ, WILLETT BJ (2011). Are endogenous feline leukemia viruses really endogenous?. *Vet Immunol Immunopath.* **143(3-4)**: 325-331.
- TALBOTT RL, SPARGER EE, LOVELACE KM, FITCH WM, PEDERSEN NC, LUCIW PA, ELDER JH (1989). Nucleotide sequence and genomic organization of feline immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA.* **86(15)**: 5743-7.
- TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, FILIPSKI A, KUMAR S (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* **30(12)**: 2725-2729.
- TEMIN HM (1971). The protovirus hypothesis: speculations on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and for carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* **46(2)**: 3-7.
- TROYER JL, VANDEWOUDE S, PECON-SLATTERY J, MCINTOSH C, FRANKLIN S, ANTUNES A, JOHNSON W, O'BRIEN SJ (2008). FIV cross-species transmission: an evolutionary perspective. *Vet Immunol Immunopath.* **123(1-2)**: 159-66.
- TROYER RM, THOMPSON J, ELDER JH, VANDEWOUDE S (2013). Accessory genes confer a high replication rate to virulent feline immunodeficiency virus. *J Virol.* **87(14)**: 7940-7951.
- VAHLENKAMP TW, DE RONDE A, SCHUURMAN NN, VAN VLIET AL, VAN DRUNEN J, HORZINEK MC, EGBERINK HF (1999). Envelope gene sequences encoding variable regions

- 3 and 4 are involved in macrophage tropism of feline immunodeficiency virus. *J Gen Virol.* **80(10)**: 2639-2646.
- WATANABE S, KAWAMURA M, ODAHARA Y, ANAI Y, OCHI H, NAKAGAWA S, ENDO Y, TSUJIMOTO H, NISHIGAKI K (2013). Phylogenetic and structural diversity in the feline leukemia virus env gene. *PloS One* **7(22)**: 12029-12037.
- WEAVER EA (2010). A detailed phylogenetic analysis of FIV in the United States. *PLoS One* **5(8)**: 1-10
- WEISSL K, BENETKA V, SCHACHNER E, TICHY A, LATIF M, MAYRHOFER E, MOESTL K (2012). Osteoarthritis in cats and the possible involvement of feline Calicivirus and feline Retroviruses. *Wien Tierarztl Monatsschr.* **99(5-6)**:123-133.
- WEISS RA (2006). The discovery of endogenous retroviruses. *Retrovirology* **3(1)**: 67.
- WESTMAN ME, MALIK R, HALL E, NORRIS JM (2016). Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) infection in FIV-vaccinated and FIV-unvaccinated cats using saliva. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* **46**: 66-72.
- WILLETT BJ, MCMONAGLE EL, LOGAN N, SAMMAN A, HOSIE MJ (2008). A single site for N-linked glycosylation in the envelope glycoprotein of feline immunodeficiency virus modulates the virus-receptor interaction. *Retrovirology* **5**: 77.
- WILLETT BJ, HOSIE MJ (2013). The virus-receptor interaction in the replication of feline immunodeficiency virus (FIV). *Curr Opin Virol.* **3(6)**: 670-675.
- WINKLER IG, FLÜGEL RM, LÖCHELT M, FLOWER RL (1998). Detection and molecular characterisation of feline foamy virus serotypes in naturally infected cats. *Virology* **247(2)**: 144-151.
- WINKLER IG, LÖCHELT M, FLOWER RLP (1999). Epidemiology of feline foamy virus and feline immunodeficiency virus infections in domestic and feral cats: a seroepidemiological study. *J Clin Microbiol.* **37(9)**: 2848-2851.
- YILMAZ H, ILGAZ A, HARBOUR DA (2000). Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. *JFMS.* **2(1)**: 69-70.
- YOSHIKAWA R, SHIMODE S, SAKAGUCHI S, MIYAZAWA T (2014). Contamination of live attenuated vaccines with an infectious feline endogenous retrovirus (RD-114 virus). *Arch Virol.* **159(3)**: 399-404.
- YOSHIKAWA R, TAKEUCHI JS, YAMADA E, NAKANO Y, MISAWA N, KIMURA Y, REN F, MIYAZAWA T, KOYANAGI Y, SATO K (2017). Feline Immunodeficiency Virus Evolutionarily Acquires Two Proteins, Vif and Protease, Capable of Antagonizing Feline APOBEC3. *J Virol.* **91(11)**: 1-16.
- YUKSEK N, KAYA A, ALTUG N, OZKAN C, AGAOGLU ZT (2005). Prevalence of feline retrovirus infections in Van cats. *Bull Vet Inst Pulawy* **49(4)**: 375.

ZIELONKA J, MARINO D, HOFMANN H, YUHKI N, LÖCHELT M, MÜNK C (2010). Vif of feline immunodeficiency virus from domestic cats protects against APOBEC3 restriction factors from many felids. *J Virol.* **84(14)**: 7312-7324.

ZIELONKA J, MÜNK C (2011). Cellular restriction factors of feline immunodeficiency virus. *Viruses* **3(10)**: 1986-2005.



EKLER

Ek-1. Etik Kurul Raporu



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 14/10/2015
TOPLANTI NO : 2015-17
DOSYA NO : 2015-141
KARAR NO : 2015-17-192

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.T.Çiğdem Oğuzoğlu'nun yaptığı ve araştırmacı olarak Prof.Dr.T.Çiğdem Oğuzoğlu ve Araş.Gör.B.Taylan Koç'un katıldığı "Kedilerde Görülen Retrovirus Enfeksiyonlarının (FIV,FeLV,FVV) Moleküler Olarak Araştırılması" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik'in 8.maddesinin k-1 bendine göre HADYEK iznine tabi olmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU (Başkan)	Parazitoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Aydın YAĞMURLU (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünler Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Prof.Dr.Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji	Veteriner Fakültesi	E	

Adres: Ankara Üniversitesi Rektörlüğü 06100 - Tandoğan / ANKARA Tel: 0 (312) 212 60 40 / 2064 Faks: 0 (312) 212 60 49

	Anabilim Dalı			
Uzm.Vet.Hek.Attıla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Vet.Hek.Dr.Akife KAYA (Üye)	Referans Veteriner Kliniği	Serbest	K	
Uzm.Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Fatma Aysun ÇOSKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	

Ek-2. Sekanslara ait GenBank Accession Numaraları

FIV

FIV env sequences	Accession no.	FIV gag sequences	Accession no.
FIV/TR/BTK29/3686	MH287063	FIV/TR/BTK29/3686	MH325051
FIV/TR/BTK64/Böcük	MH287064	FIV/TR/BTK64/Böcük	MH325052
FIV/TR/BTK44/1382	MH287065	FIV/TR/BTK44/1382	MH325053
FIV/TR/BTK66/Gözde	MH287066	FIV/TR/BTK66/Gözde	MH325054
FIV/TR/BTK55/890	MH287067	FIV/TR/BTK55/890	MH325055
FIV/TR/BTK65/Cugu	MH287068	FIV/TR/BTK65/Cugu	MH325056
FIV/TR/BTK93/1677	MH287069	FIV/TR/BTK93/1677	MH325057
FIV/TR/BTK67/Mocha	MH287070	FIV/TR/BTK67/Mocha	MH325058
FIV/TR/BTK12/Mia	MH287071	FIV/TR/BTK12/Mia	MH325059
FIV/TR/BTK68/Ponçik	MH287072	FIV/TR/BTK68/Ponçik	MH325060
FIV/TR/BTK62/Taylan933	MH287073	FIV/TR/BTK62/Taylan933	MH325061
FIV/TR/BTK37/Dizel	MH287074	FIV/TR/BTK37/Dizel	MH325062
FIV/TR/BTK155/KediPgs	MH287075	FIV/TR/BTK155/KediPgs	MH325063
FIV/TR/BTK72/Z	MH287076	FIV/TR/BTK72/Z	MH325064
FIV/TR/BTK61/Simi	MH287077	FIV/TR/BTK61/Simi	MH325065
FIV/TR/BTK63/Çitir	MH287078	FIV/TR/BTK63/Çitir	MH325066
FIV/TR/BTK69/1	MH287079	FIV/TR/BTK69/1	MH325067
FIV/TR/BTK71/Y	MH287080	FIV/TR/BTK71/Y	MH325068
FIV/TR/BTK51/Pala	MH287081	FIV/TR/BTK51/Pala	MH325069
FIV/TR/BTK52/Fox	MH287082	FIV/TR/BTK52/Fox	MH325070
FIV/TR/BTK57/Sinsa	MH287083	FIV/TR/BTK57/Sinsa	MH325071

FIV vif sequences	Accession no.
FIV/TR/BTK55/890	MH351794
FIV/TR/BTK65/Cugu	MH351795

enFeLV

enFeLV env-LTR sequences	Accession no.
enFeLV/TR/BTK87/2023	MH325023
enFeLV/TR/BTK67/Mocha	MH325024
enFeLV/TR/BTK197/Pato-293	MH325025
enFeLV/TR/BTK57/Sinsa	MH325026
enFeLV/TR/BTK141/3668	MH325027
enFeLV/TR/BTK79/1887	MH325028
enFeLV/TR/BTK52/Fox	MH325029
enFeLV/TR/BTK144/3740	MH325030
enFeLV/TR/BTK71/Y	MH325031
enFeLV/TR/BTK93/1677	MH325032
enFeLV/TR/BTK165/Pegasos	MH325033
enFeLV/TR/BTK198/Pato-org	MH325034
enFeLV/TR/BTK65/Cugu	MH325035
enFeLV/TR/BTK12/Mia	MH325036
enFeLV/TR/BTK72/Z	MH325037
enFeLV/TR/BTK195/F5	MH325038
enFeLV/TR/BTK61/Simi	MH325039
enFeLV/TR/BTK119/Hiro	MH325040
enFeLV/TR/BTK62/Taylan933	MH325041
enFeLV/TR/BTK145/Hulya	MH325042
enFeLV/TR/BTK155/KediPgs	MH325043
enFeLV/TR/BTK68/Poncik	MH325044
enFeLV/TR/BTK69/1	MH325045
enFeLV/TR/BTK97/Poki	MH325046
enFeLV/TR/BTK55/890	MH325047
enFeLV/TR/BTK109/Hugo	MH325048
enFeLV/TR/BTK51/Pala	MH325049
enFeLV/TR/BTK196/F6	MH325050

FFV

FFV gag/pro-pol sequences	Accession no.
FFV/TR/BTK12/Mia	MH351774
FFV/TR/BTK13/Webo	MH351775
FFV/TR/BTK37/Dizel	MH351776
FFV/TR/BTK44/1382	MH351777
FFV/TR/BTK48/Gofret	MH351778
FFV/TR/BTK51/Pala	MH351779
FFV/TR/BTK63/Citir	MH351780
FFV/TR/BTK67/Mocha	MH351781
FFV/TR/BTK79/1887	MH351782
FFV/TR/BTK87/2023	MH351783
FFV/TR/BTK97/Poki	MH351784
FFV/TR/BTK109/Hugo	MH351785
FFV/TR/BTK119/Hiro	MH351786
FFV/TR/BTK126/Zeus	MH351787
FFV/TR/BTK138/3686	MH351788
FFV/TR/BTK155/KediPgs	MH351789
FFV/TR/BTK163/6518	MH351790
FFV/TR/BTK165/Pegasos	MH351791
FFV/TR/BTK172/286	MH351792
FFV/TR/BTK189/3549	MH351793

Ek-3. Feline Retrovirus pozitif bulunan kedilere ait özellikler (yaş, cinsiyet, ırk, aşı ve klinik durumu vs.)

Tez Kod	Hay.Ad/ Kod	Yaş (ay)	Cinsiyet	İrk	Aşı durumu	Klinik Bl Var/yok	Klinik	Numune Türü	FIV	enFeLV	FFV
TR/BTK12	Mia	8	Erkek	Sarman	Var	Var	Dişetinde kanama	Kan	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK13	Webo	3	Erkek	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	Negatif	POZİTİF
TR/BTK37	Dizel	45	Dişi	Mix	Var	Var	Gingivitis	Kan	POZİTİF	Negatif	POZİTİF
TR/BTK44	1382	22	Erkek	İran	Yok	Var	Gingivitis	Kan	POZİTİF	Negatif	POZİTİF
TR/BTK48	Gofret	14	Erkek	Mix	Yok	Yok	Ateş, halsizlik	Kan	Negatif	Negatif	POZİTİF
TR/BTK51	Pala	37	Erkek	Mix	Var	Var	Gingivitis, Nöbet tarzı nörolojik tutulum, intermitant ateş	Kan+Rektal Swap	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK52	Fox	49	Dişi	Persian	Var	Var	Huzursuzluk, iştahsızlık, gingivitis	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK55	Müezza 890	48	Dişi	Persian	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK57	Şinsa	19	Erkek	Scottish fold	Var	Var	Dil üzerinde yara	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK61	Simi	12	Dişi	Scottish fold	Yok	Var	Gingivitis	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK62	Taylan933	22	Erkek	Mix	Var	Var	iyileşmeyen dişeti kanamaları	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK63	Çıtır	16	Erkek	Sarman	Var	Var	Oral yaralar, lökopeni	Kan	POZİTİF	Negatif	POZİTİF
TR/BTK64	Böcük	7	Dişi	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	POZİTİF	Negatif	Negatif
TR/BTK65	Cugu	40	Dişi	Mix	Var	Var	Diabet	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK66	Gözde	8	Dişi	Tekir	Yok	Var	İştahsızlık, huzursuzluk	Kan	POZİTİF	Negatif	Negatif
TR/BTK67	Mocha	25	Erkek	İran	Var	Var	Gingivitis, iştahsızlık, Trombosit-granülosit düşük, lökopeni, lenfositosis, RBC yüksek	Kan	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK68	Ponçik	37	Dişi	Mix	Var	Var	Nörolojik semptomlar, görme bozukluğu	Kan	POZİTİF	Negatif	Negatif
TR/BTK69	1	23	Dişi	Mix	Var	Var	Ağız ve burun çevresinde yoğun yaralar	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK71	Y	3	Erkek	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK72	Z	8	Erkek	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK79	1887	3	Erkek	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	Negatif	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK87	2023	3	Erkek	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK93	1677	5	Erkek	Mix	Var	Var	Halsizlik, gingivitis benzeri yaralar	Kan	POZİTİF	POZİTİF	Negatif
TR/BTK97	Poki	4	Dişi	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK109	Hugo	12	Erkek	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK119	Hiro	2	Erkek	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK126	Zeus	14	Erkek	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	Negatif	POZİTİF
TR/BTK138	3686	32	Dişi	Siyam	Yok	Var	Dişet yaraları	Kan	POZİTİF	Negatif	POZİTİF
TR/BTK141	3668	12	Erkek	Mix	Yok	Var	Karında sıvı birikmesi, WBC düşük	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK144	3740	8	Dişi	Mix	Yok	Yok	Karında sıvı birikmesi	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK145	Hülya 3704	5	Dişi	Mix	Var	Yok	Karında sıvı birikmesi	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK147	3698	18	Erkek	Mix	Var	Var	Karında sıvı birikmesi	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK155	Kedi Pgs	8	Dişi	Tekir	Yok	Var	Gingivitis	Kan	POZİTİF	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK163	6518	12	Dişi	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	Negatif	POZİTİF
TR/BTK165	Pegasos	3	Dişi	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	Negatif	POZİTİF	POZİTİF
TR/BTK172	286	11	Erkek	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	Negatif	POZİTİF
TR/BTK189	3549	8	Erkek	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok. Kontrol	Kan	Negatif	Negatif	POZİTİF
TR/BTK195	F5	19	Erkek	Mix	Var	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK196	F6	7	Erkek	Mix	Yok	Yok	Klinik Bulgu Yok.	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK197	Pato-293	45	Dişi	Mix	Var	Var	Karında ve göğüste sıvı birikmesi, asfeksiye bağlı ex	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TR/BTK198	Pato-org	32	Dişi	Mix	Var	Var	İshal, kusma, sıvı alamama	Kan	Negatif	POZİTİF	Negatif
TOPLAM:									21	28	20

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Bahattin Taylan

Soyadı: KOÇ

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara / 14.06.1984

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli / 2 Çocuk Babası

İletişim adresi ve telefonu: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji
Anabilim Dalı, 0312 3170315

II- Eğitimi

2009-2014: Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Viroloji
Yüksek Lisansı (Tezli)

2002-2007: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

1998-2002: Muğla Anadolu Lisesi

1995-1998: Muğla Merkez Ortaokulu

1991-1995: Dumlupınar İlkokulu/ Muğla

Yabancı dili: İngilizce

III- Ünvanları

2014: Uzman Veteriner Hekim

2009: Araştırma Görevlisi

2007: Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyimi

2012-2018 Ankara Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Viroloji (Doktora
Pr.) (Veteriner) (35. Madde)

2009-2012 Araştırma Görevlisi (Adnan Menderes Vet. Fak./Viroloji ABD)

2009-2010 Türk Silahlı Kuvvetleri – Muayene Kontrol/Hijyen Denetim Subayı

2006-2008 Muğla Belediyesi Köpek Barınağı

2006-2008 Serbest Veteriner Hekim

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Hekimler Derneği

Veteriner Mikrobiyoloji Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları

KOC BT, EROL N (2017). Aydın ve Muğla İllerindeki Sığır, Koyun, Keçi ve Develerde Akabane Virus (AKAV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. *Animal Health Production and Hygiene* **6(1)**: 459-462.

OĞUZOĞLU T, D MUZ MT, KOC BT, ÖZŞAHİN E, BURGU İ, AKÇA Y, DEMİRBAĞ Z (2017). Expression and production of recombinant proteins from immunodominant E gene regions of bovine viral diarrhoea virus 1 (BVDV-1) Turkish field strains for prophylactic purpose. *Rev Med Vet.* **168(7-9)**: 183-191.

OĞUZOĞLU TÇ, TİMURKAN MÖ, KOC BT, ALKAN F (2017). Comparison of genetic characteristics of canine papillomaviruses in Turkey. *Infect. Genet. Evol.* **55**: 372-376

EROL N, GÜRÇAY M, KIRDAR S, ERTUĞRUL B, GÜR S, KOC BT, TAN MT (2016). A Serological Investigation of West Nile Virus Infections in Various. *Refu Vet.* **71(2)**: 42-46

KOC BT, EROL N (2016). Onkolitik Viroterapi ve Bazı Onkolitik Virüsler ile Yapılan Anti Tümöral Uygulamalar. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **5(2)**: 196-201.

KOC BT (2016). Terapötik Newcastle Disease Virus (NDV)'un İmmün Sistem ve İnsan Tümör Hücreleri ile Etkileşimi Onkolitik Viroterapi. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* **1(2)**: 8-17.

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2016). The Investigation of Feline Parvoviruses (FPVs) into Two Different Phylogenetic Lineages in Turkey. *JABS* **10(2)**: 3-6.

EROL N, KOC BT, GÜR S, ÇAĞLAV VÖ, TAN MT (2015). Aydın ve Muğla İllerinde Bovine Ephemeral Fever Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **8(2)**: 41-45.

OĞUZOĞLU TÇ, TOPLU N, KOC BT, DOĞAN F, EPİKMEN ET, İPEK E, AKKOÇ AN (2015). First molecular detection and characterization of Akabane virus in small ruminants in Turkey. *Arch Virol.* **160(10)**: 2623-2627.

OĞUZOĞLU TC, ERTÜRK A, ÇİZMECİ ŞG, KOC BT, AKÇA Y (2015). A Report on Bovine Ephemeral Fever Virus in Turkey: Antigenic Variations of Different Strains of EFV in the 1985 and 2012 Outbreaks Using Partial Glycoprotein Gene Sequences. *Transbound Emerg Dis.* **62(5)**: 66-70.

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2015). Antiviral RNA İnterferenz RNAi ve Yeni Bir Gen Düzenleme Metodu CRISPR Cas Mekanizması ile Karşılaştırılması. *Animal Health, Production and Hygiene*, **4(2)**: 429-434.

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2015). Nörotropik Virüsler ve Etki Mekanizmaları. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, **1(1-2)**: 107-115.

OĞUZOĞLU TÇ, KOC BT, KİRDECİ A, TAN MT (2014). Evidence of zoonotic pseudocowpox virus infection from a cattle in Turkey. *VirusDisease* **25(3)**: 381-384.

Bildirileri

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2018). Molecular Investigation On Feline Retroviruses Among Domestic Cats In Turkey. 28th Annual Meeting of the Society for Virology, Würzburg- Almanya, 14-17 Mart 2018 (Özet Bildiri/Poster Sunum).

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2017). Prevalence and Multiple Viral Co-Infection Status of Feline Infectious Peritonitis (FIP) in Turkey. Association of Thrace Universities 1st International Health Sciences Congress, Edirne, 24-27 Kasım 2017 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

OĞUZOĞLU TÇ, KOC BT, TOPLU N (2017). Status quo of Akabane virus infection in 2017, Turkey. Association of Thrace Universities 1st International Health Sciences Congress, Edirne, 24-27 Kasım 2017, (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

OĞUZOĞLU TÇ, ÜLGENALP O, KOC BT (2017). The report about ecthyma contagiosum infection in small ruminant herds from Turkey. 2nd International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics (ICAVST), Makedonya, 4-8 Ekim 2017, (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

EROL N, GÜR S, KOC T, YAVRU S (2017). A Serological Investigation of Bovine Enterovirus-1, Bovine Herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhoe Virus and Parainfluenza-3 Virus Infections in Camels (*Camelus Dromedarius*) in Western Turkey. 2nd International Congress on Advances in Veterinary Sciences Technics (ICAVST), Makedonya, 4-8 Ekim 2017, (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

OĞUZOĞLU TÇ, KOC BT, DOĞAN F (2017). Retrospective Molecular Study of Bovine Leukemia virus (BLV) in Turkey. 8th Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), Kosova, 6-8 Eylül 2017 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

KOC BT, EROL N (2017). The Serological Investigation of Akabane Virus (AKAV) Infection in Mugla and Aydın Provinces. 8th Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), Kosova, 6-8 Eylül 2017, (Özet Bildiri/Poster)

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2017). Investigation of Molecular Diversity Between Turkish Bovine Viral Diarrhea (BVDV) Strains. 8th Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), Kosova, 6-8 Eylül 2017, (Özet Bildiri/Poster)

ÜLGENALP O, KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2017). Investigation of Presence of Some Significant Viruses Causing Abortions Among Cattle In Turkey. 8th Balkan Animal Science Conference (BALNIMALCON 2017), Kosova, 6-8 Eylül 2017, (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

OĞUZOĞLU TÇ, KOC BT (2016). The identification and characterization of pestivirus infections circulating among small ruminants Turkey. 6th European Congress of Virology; Almanya, 19-22 Ekim 2016, (Özet Bildirisi/Poster Bildiri)

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2016). Molecular evolutionary status of feline immunodeficiency virus in Turkey. Frontiers of Retrovirology Conference **13(S1)**: 28-29. Doi: 10.1186/s12977-016-0294-5, Almanya, 12-14 Eylül 2016, (Özet Bildirisi/Poster Bildiri)(Yayın No:3017071)

KOC BT, ÖZGERMEN S, OĞUZOĞLU TÇ (2016). The Investigation Of The Status Of Feline Immunodeficiency virus (FIV) And Feline Leukemia Virus (FeLV) in Natural Infected Domestic Cats in Turkey. 1st International Congress on Advances in Veterinary Sciences and Technics (ICAVST) (Özet Bildirisi/Poster Bildiri)

ÖZGERMEN S, KOC BT, BOZTOK ÖZGERMEN DB, OĞUZOĞLU TÇ (2016). First Molecular Detection and Characterization of Canine Adenoviruses in Turkey. 1st International Congress on Advances in Veterinary Sciences and Technics (ICAVST) (Özet Bildirisi/Sözlü Bildiri)

KOC BT, TOPLU N, EPİKMEN ET, OĞUZOĞLU TÇ (2016). Caspase -8 and -9 Mediated Apoptosis in Mucosal Disease (MD) Fatal Variant of Bovine Viral Diarrhea (BVD). 1st International Cell Death Research Congress, **41(S4)**: 133-133. (Özet Bildiri/Poster Bildiri)

KOC BT, OĞUZOĞLU TÇ (2016). The Investigation of Feline Parvoviruses (FPVs) into Two Different Phylogenetic Lineages in Turkey. 2nd International Congress on Applied Biological Sciences (Tam Metin Bildiri/Poster)

OĞUZOĞLU TÇ, KOC BT, ERTÜRK A, ÇİZMECİ Ş, AKÇA Y (2016). Bovine Ephemeral Fever Virus Infection in Turkey. 26th Annual Meeting of the Society for Virology (Özet Bildiri/Poster Bildiri)

EROL N, KOC BT (2009). Develerde Bovine Viral Diarrhea (BVD) Bovine Herpesvirus-1 BHV 1 ve Enzootik Bovine Leukosis EBL Virus Enfeksiyonlarının Araştırılması. VIII. Ulusal Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, Selçuk-İzmir (Tam Metin Bildiri/Poster)

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Projeler

OĞUZOĞLU TÇ, KOC BT (2016). Kedilerde Görülen Retrovirus Enfeksiyonlarının (FIV, FeLV, FFV) Moleküler Olarak Araştırılması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje No: 16L0239003. Başlangıç Tarihi: 07/06/2016 – Bitiş Tarihi: 03/11/2017 (ULUSAL).

EROL N, KOC BT (2013). Muğla ve Aydın İllerinde Akabane Virus Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje No: VTF-12033. Başlangıç Tarihi: 01/03/2013 – Bitiş Tarihi: 20/09/2013 (ULUSAL).

VIII- Diğer Bilgiler

Katıldığı eğitim seminerleri

“Araştırma görevlileri için Eğiticilerin Eğitimi”, Ankara Üniversitesi Hizmet İçi eğitim Koordinatörlüğü, Tandoğan-Ankara, 4 Aralık 2017-09 Ocak 2018.

“Introduction To The Molecular Analysis of Relevant Zoonotic Pathogens”, INIA-Madrid-İspanya, 22.05.2017 -26.05.2017.

“Uygulamalı Bilimsel Araştırma Projesi Hazırlama Eğitimi-2 (UBAPHE-2)” Tübitak 2237 Prog., Dedeman Otel-Şanlıurfa, 5-7 Nisan 2014

“Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (B Kategorisi-80 Saat) Kursu” Ankara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi (ANKÜSEM), Dışkapı/Sıhhiye-Ankara, 14-25 Ocak 2013.

“ADÜ-BİLTEM II. Klonlama Kursu” Adnan Menderes Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, 06-10 Şubat 2012.

