

T.C
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
VİH – 2020 – 0005

**YAVRU KÖPEKLERDE *BİFİDOBACTERİUM ANİMALİS*
SUBS. LACTİS VE VİTAMİN D KOMBİNASYONUN AŞI
SONRASI BAĞIŞIKLIK YANIT ÜZERİNE ETKİLERİ**

**GÖKHAN SARIDAĞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. HASAN ERDOĞAN**

AYDIN 2020

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

**YAVRU KÖPEKLERDE *BİFİDOBACTERİUM ANİMALİS*
SUBS. LACTİS VE VİTAMİN D KOMBİNASYONUN AŞI
SONRASI BAĞIŞIKLIK YANIT ÜZERİNE ETKİLERİ**

**GÖKHAN SARIDAĞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. HASAN ERDOĞAN**

AYDIN-2020

KABUL ONAY



TEŞEKKÜRLER



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Kanin Parvovirüs.....	6
2.1.1.Epidemiyoloji.....	6
2.1.2. Patogenez.....	8
2.1.3. Klinik Bulgular.....	9
2.1.4. Laboratuvar Bulguları.....	11
2.1.5. Tanı Yöntemleri.....	14
2.1.5.1 Elektron mikroskobu	14
2.1.5.2. Polymerase chain reaction (PCR)	14
2.1.5.3. İmmunokromotografik yöntem.....	14
2.1.5.4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	15
2.1.5.5. Hemagglutinasyon testi.....	15
2.1.5.6. Hemagglutinasyon inhibisyon testi.....	16
2.1.5.7. Virüs izolasyonu.....	16
2.1.5.8. Real time PCR (RTPCR)	17
2.2. Kanin Distemper.....	17
2.2.1. Etiyoloji.....	18
2.2.2. Epidemiyoloji.....	18
2.2.2.1. Coğrafik dağılım ve konakçı duyarlılığı.....	18
2.2.2.2. Bulaşma ve enfeksiyon kaynağı.....	18
2.2.3. Patogenez.....	19

2.2.4. Klinik Bulgular.....	19
2.2.5. Tanı.....	20
2.2.5.1. Fiziksel tanı.....	20
2.2.5.2. Laboratuvar bulguları.....	21
2.2.6. Postmortem Bulgular.....	22
2.2.7. Sağaltım.....	22
2.2.8. Koruma ve Kontrol.....	23
2.3. Köpeklerde Aşılama İlkeleri ve Bireysel Köpeklerin Aşılanması.....	23
2.3.1. Temel Aşılama Programı.....	23
2.3.2. Yavruların Aşılanması ve 12 Aylık Booster Uygulanması.....	24
2.3.3. Yetişkin Köpeklerde Aşı Tekrarı.....	24
2.3.4. Aşılamaya Karşı İmmunitenin Moniterizasyonu için Serolojik Testler.....	25
2.3.5. Bağışıklılık Süresinin Belirlenmesinde (BSB) Serolojik Testlerin Kullanımı....	26
2.3.6. Pasif İmmünizasyon.....	27
2.4. Probiyotik ve Vitamin D'nin İmmünite İle İlişkisi.....	28
2.4.1. Probiyotik, Prebiyotik ve Sinbiyotik Tanımı.....	28
2.4.2. Probiyotiklerin Etkisi ve İmmünite.....	29
2.4.3. Vitamin D ve İmmünite.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Gereç.....	33
3.1.1. Hayvan Materyali ve Grupların Dizaynı.....	33
3.2. Yöntem.....	33
3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması.....	33
3.2.2. Laboratuvar Analizleri.....	34
3.2.3. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Klinik Bulgular.....	38
4.2. Laboratuvar Bulguları.....	38
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR.....	47
EKLER. 1 ADÜ-HADYЕК raporu.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µL	: Mikro Litre
AFP	: Akut Faz Protein
AP-1	: Aktivatör Protein-1
APC	: Antijen Sunan Hücre
AST	: Aspartat Amino Transferaz
AT	: Anti Trombin
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BSB	: Bağışıklılık Süresinin Belirlenmesi
CAV	: Canine Adenovirus
CDV	: Canine Distempervirus
CK	: Kreatinin Kinaz
CPV	: Canine Parvovirus
CRP	: C-Reaktif Protein
cTnI	: Kardiyak Troponin I
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EM	: Elektron Mikroskopu
FPV	: Feline Panlökopeni Virus
G-CSF	: Granulosit Koloni Uyarıcı Faktör
GIS	: Gastrointestinal Sistem
HA	: Hemaglutinasyon
HI	: Hemaglutinasyon İnhibisyon
IECs	: İntestinal Epitel Hücre
IgA	: Immunglobulin A
IgG	: Immunglobulin G
IL-10	: İnterlökin-10
KD	: Kanin Distemper
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LPS	: Lipopolisakkarit
MLV	: Modifiye Canlı Aşı
MOS	: Mannan Oligosakkarit

MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NF-B	: Nükleer Faktör Kappa Beta
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
RTPCR	: Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TNF-	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
USG	: Ultrasonografi
VDR	: Vitamin D Reseptörü
VGG	: Aşılama İlkeler Grubu



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Kan örneklerinin alınması işlemi.....	34
Resim 2.	Analiz işlemleri ve sonuçların yapılışı.....	35
Resim 3.	Test kartuşu ve analiz sulandırma sıvılarının görünümü.....	35



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Köpek distemper virüs antikolarının seviyeleri.....	39
Şekil 2.	Köpek parvovirüs virüs antikolarının seviyeleri.....	40



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Köpek parvovirüs antikor yoğunluklarına göre immun durumun değerlendirilmesi.....	36
Tablo 2. Köpek Distemper Virüsü antikor yoğunluğuna göre immun durumun değerlendirilmesi.....	36
Tablo 3. Aşılama sonrası Distemper virüsü antikor değişimleri (Log_n).....	38
Tablo 4. Aşılama sonrası Parvovirüsü antikorları değişimi (Log_n).....	39



ÖZET

YAVRU KÖPEKLERDE BİFİDOBACTERİUM ANİMALİS SUBS. LACTİS VE VİTAMİN D KOMBİNASYONUN AŞI SONRASI BAĞIŞIKLIK YANIT ÜZERİNE ETKİLERİ

Sarıdağ G. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020.

Bu araştırmada yavru köpeklerde oral yolla kullanılan *bifidobacterium animalis subs. lactis* ve vitamin d kombinasyonu ile sadece vitamin D'nin aşılama sonrası bağışıklık yanıt üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu kapsamda, çalışmaya 55-65 günlük yaşta, her iki cinsiyetten de olan melez ırkta köpekler (n=21) dahil edildi. Çalışma kapsamına alınan köpekler ticarî karma aşı (Grup 1), karma aşı ile *bifidobacterium animalis subs. lactis* ve vitamin d kombinasyonu (Grup 2), aşı ve vitamin D (Grup 3) uygulanan olmak üzere 3 gruba ayrıldı. *Bifidobacterium animalis subs. lactis* ve vitamin D kombinasyonunun uygulandığı gruptaki köpeklerin tüy yapısının ve iştahlarının diğer gruplara kıyasla daha iyi olduğu gözlemlendi. Kanin distemper virüsüne karşı gelişen antikor titrelerinin 1. ve 2. rapel aşı sonrasında ilk aşılama ile kıyasla gruplar arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı farklılığın olmadığı hayvanların hastalıktan korunma açısından yeter antikor titrelerine ulaştığı belirlendi. Kanin parvo virüs aşılama sonrası karşı gelişen antikor titrelerinde ise ilk aşılama zamanında gruplar açısından istatistiksel farklılığın olmadığı buna karşın, 2. rapel aşıların yapıldığı zamanda alınan örneklerde *bifidobacterium animalis subs. lactis* ve vitamin D3 kombinasyonu uygulanan grupta (Grup 2) diğer gruplara kıyasla antikor titrelerinde istatistiksel anlamlı farklılığın olduğu belirlendi ($P<0,05$). Sonuç olarak 2. Rapel aşılama yapılmadan önce köpeklerin kanin parvo virüs ve kanin distemper virüse karşı yeterli antikor yanıtının oluştuğu ve *bifidobacterium animalis subs. lactis* ve vitamin D3 kombinasyonunun parvovirüse karşı gelişen antikor yanıtı üzerine olumlu yanıtın gerçekleştiği belirlendi.

Anahtar kelimeler: Aşılama, antikor yanıt, *bifidobacterium animalis sub. animalis*, vitamin D.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS SUBS ANIMALIS AND VITAMIN D COMBINATION AFTER VACCINATION ON IMMUNE RESPONSE IN PUPPY DOGS

Sarıdağ G. Aydın Adnan Menderes University Health Science Institutes Internal
Medicine (Veterinary) Master Program, Master of Science Thesis, Aydın, 2020.

In this study it was aimed to determine the effects of orally vitamin D and *bifidobacterium animalis subs. lactis* and vitamin D combination on immune response after vaccination. For this purpose crossbred dogs (n = 21) in both sexes on 55-65 days of age were included in the study. The dogs included in the study were divided into three groups: commercial mixed vaccine (Group 1), mixed vaccine and *bifidobacterium animalis subs lactis* and vitamin d combination (Group 2), vaccine and vitamin D (Group 3). It was observed that the hair structure and appetite of the dogs in the group where the combination of *Bifidobacterium animalis subs. lactis* and vitamin D was applied was better compared to other groups. It was determined that the antibody titers that developed against the canine distemper virus reached sufficient antibody titers in terms of disease protection in animals after the 1st and 2nd booster vaccine, where there was no statistically significant difference between the groups compared to the first vaccination. The titers of antibodies against canine parvo virus vaccination in developing the groups were not statistically different in terms of the time of the first vaccination, however, *bifidobacterium animalis subs lactis* in the samples at the time of the booster vaccination second and applied a combination of vitamin D3 (Group 2) were statistical significant differences in antibody titers compared to other groups ($P < 0.05$). In conclusion, before the second repeat vaccination, it was determined that the dogs had sufficient antibody response to the canine parvo virus and the canine distemper virus, and that the combination of *bifidobacterium animalis subs lactis* and vitamin D3 had positive response to the antibody response to parvovirus.

Keywords: Antibody response, *Bifidobacterium animalis subs. animalis*, vaccination, vitamin D.

1. GİRİŞ

Köpeklerde görülen distemper hastalığı Paramiksoviridae ailesinin Morbilivirusları genusunda bulunan canine distemper virüsü tarafından oluşturulan bir hastalıktır. Kuduz hastalığından sonra köpeklerde en yaygın görülen infeksiyöz ve genellikle ölümcül seyir eden bir hastalıktır. Virus genellikle aerosol yolla bulaşmakta ve lenfositler ve makrofajlar üzerine affinitesi bulunmaktadır (Greene ve Appel, 1990). Distemper hastalığı, gelincikler, tilkiler, kokarcalar, rakunlar ve köpekleri etkileyebilmektedir. Hastalık dişlerde lezyonlara, burun ve ayak tabanlarında sertleşmeye solunum güçlüğüne ve iştahsızlık gibi durumlara yol açabilmektedir. Hastalıktan etkilenip ölümün şekillenmediği köpeklerde de tekrarlayan kalıcı nörolojik problemler ortaya çıkabilmekte ve bu durumlar da kendisini tikler ve konvulziyonlar halinde göstermektedir (Ettinger ve Feldman, 1995). Köpek distemper virüsü CDV genellikle 3-6 aylık genç yavruları etkilemekte ve aerosol yolla damlacık enfeksiyonu şeklinde ya da vücut sıvıları ile direkt temas yolu ile yayılabilmekte hatta hastalığa maruz kalmadan yaklaşık 6-22 gün süresince idrar ve dışkı içerisinde de bulunabilmektedir. Aynı zamanda hastalık vücut sekretleri ile kontamine olmuş gıda ve su kaynakları aracılığı ile de saçılım gösterebilmektedir (Carter ve Flores, 2006). Hastalığın inkubasyon periyodu genellikle 14-18 gün arasında değişmekle birlikte etkenin alınışından 3-6 gün sonra hastalık bulguları ortaya çıkabilmektedir (Appel ve Summers, 1999). Hastalığın akut generalize enfeksiyon tablosunu oluşturduğu ve sentral sinir sistemini etkileyen kronik lokalize formu olarak iki formu bulunabilmektedir (Stetler ve ark, 1997). Hastalığın mortalite oranını etkileyen en önemli unsur genç yavruların immün durumları olarak bildirilmektedir. Genç yavrularda hastalığın ölümle sonuçlanmasının en önemli sebebi pnomoni ve ensefalitis gibi komplikasyonlara bağlı olduğu belirtilmektedir (Hirsch ve Zee, 1999). Köpeklerin gençlik dönemlerinde onları etkileyen bu viral kökenli hastalıkla başa çıkmanın yegâne unsuru da aşılama geçmektedir. Aşılama ve maternal antikoların varlığı sayesinde genç hayvanlar bu dönemde belirtilen hastalık ile başa çıkabilmektedir (Charmichael ve ark, 1980).

Köpeklerde görülen akut öldürücü ve bulaşıcı diğer bir viral enfeksiyonda Kanin parvo virüs enfeksiyonudur. Özellikle 12 aylıktan küçük köpeklerde şiddetli ve ölümcül enfeksiyonlara sebebiyet verebilmektedir. Etken genellikle hemorajik enterit ve miyokardit gibi klinik bulgulara yol açmaktadır. Sekiz -12 haftalık yaşlarda bulunan köpeklerde söz konusu klinik bulgular ortaya çıkabilmekte ve hastalığın ölümcül seyir etmesine sebebiyet

verebilmektedir. Hastalığın miyokardit formu 8 haftalığa kadar olan köpeklerde görülebilmekte ve fetal hayatta dahi köpekler etkilenebilmektedirler. Miyokardit formu ile enfekte olan köpeklerde enfeksiyonu takiben yaklaşık 24 saat içerisinde ölüm görülebilmektedir (Goddard ve Leisewitz, 2010). Enfeksiyonun kaynağı kanin distemperda olduğu gibi hastalığı geçiren hayvanlar ve zaman zaman insanlar olabilmektedir. Etkene maruz kalan hasta hayvanlar hastalığı akut şekilde yaşayabileceği gibi asemptomatik de olabilirler. Akut enfeksiyona sahip olan hayvanlar kanin parvo virüsü dışkı, idrar, salya ve nazal akıntı gibi doğal sekretleri ile saçmaktadırlar. Genellikle dışkı yolu ile saçılım şekillenmekle birlikte asemptomatik hayvanlarında salya ve serketlerinde etkene rastlamak mümkündür (Bloom ve Kerr, 2006). Sekretler ile temas eden diğer hayvanlar hastalığa yakalanmakta ve hastalığın akut hemarajik gastroenteritis ve miyokarditis gibi formları ile klinik tabloyu yansıtmaya başlamaktadır. Özellikle aşısız annelerden doğan ve miyokarditise yakalanan yavrular akut miyokardite bağlı olarak hızlı bir şekilde ex olurlar (Goddard ve Leisewitz, 2010). Tıpkı kanin distemper virusunda olduğu gibi kanin parvovirustan da köpekleri korumanın en etkin yolu immunizasyondur (Waner ve ark, 1996). Aşı uygulamalarının ardından köpeklerde antikor titrelerinin 1:80 ve üzerinde olması durumlarında köpeklerin hastalığa karşı bağışık duruma geldiği bildirilmektedir (Apple, 1999).

T ve B hücreleri aracılıklı immun yanıtın şekillenmesinde dokular tarafından sentezlenen vitamin D' nin etkisi bilinmektedir. Dentrik hücrelerin aktivasyonundan sonra intraselüler olarak vitamin D sentezi başlamakta ve bu durum dentritik hücrelerin değişimi ile sonuçlanmaktadır. Bu sebeple vitamin D'nin intrakin ve parakrin tepkilerine bağlı olarak Th-yanıtın modülasyonu ile sonuçlanmaktadır (Hevison ve ark, 2003). Bu senaryo kapsamında vitamin D T-hücre proliferasyonunu baskılamaktadır (Van Etten ve ark, 2005). Böylece, kalsitriol sinyali, Th1 cevap-benzeri sitokin kodlayan genlerin transkripsiyonunu baskılar (örn., INF γ hücresel immunitiyi aktive eden, makrofaj, sitotoksik T-hücreleri, doğal katil hücreler, B-hücreleri tarafından salgılanan ve opsonizasyonda görev alan proteinler) (Alroy ve ark, 1995, Mahon ve ark, 2003) ve Th17 (örn., Interlökin 17 antimikrobiyal ve epitel mukozal bariyerlerdeki immunitiyi sağlar) (Sun, 2010), T hücrelerinin regule edilmesinde Th2 'ye göre CD4+ aktivasyonu daha etkin rol oynar (örn., interlökin 2 humoral kökenli bağışıklığı daha iyi sağlayarak ekstraselüler alanda nötralizan antikorların patojenler ile savaşı) (Di Rosa ve ark, 2011; Bansal ve ark, 2012; Ooi ve ark, 2012). Bahsedilen son iki fenotipik yapı Th1'e bağımlı otoimmun cevabın vitamin D tarafından baskılanmasında anahtar role sahip olarak tanımlanmaktadır (Van Etten ve ark, 2005; Ooi ve ark, 2012). Özellikle Th17 hücreleri belirli

patojenler (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Helicobacter pilory*, *Klebsiella pneumoniae*, *M. tuberculosis* ve *Staphylococcus*) ile savaşta çok önemli bir role sahip olmakla birlikte aynı zamanda da doku hasarı ve inflamasyonla ilişkili olarak da rolleri bulunmaktadır (Korn ve ark, 2007; Wu ve ark, 2009; Peck ve Mellins 2010). Bu sebeple vitamin D'nin adaptif bağışıklık sistemi üzerine olan bu kışkan tepkilerini azaltarak immun toleransa katkı sağlamaktadır (Lang ve ark, 2013). Bu bilgilere rağmen Vitamin D seviyelerindeki değişimlerin T-hücre fonksiyonu üzerine olan etklerinin belirlenmesi için yeterli verinin bulunmadığıda görülmektedir (Lang ve ark, 2013).

Aşılar dünya çapında yaşamı tehdit eden birçok enfeksiyöz hastalığın önlenmesinde güçlü öneme sahip koruyucu araçlar olarak tanımlanabilmektedir. Nitekim, antibiyotikler bile dahil olmak üzere başka hiçbir yöntem, morbidite ve mortalite azaltımı üzerinde böyle büyük bir pozitif etkiye sahip olmamıştır (Lang ve Aspinal, 2014).

Aşılama ile immünizasyon hem doğal hem de adaptif immünitenin aktivasyonu yoluyla immün yanıtı uyarır. Aşı antijeninin verilmesi (adjuvanlı veya adjuvansız ve uygulama yolu ne olursa olsun) ilk olarak enjeksiyon bölgesinde doğal immün yanıtın aktivasyonunu indükler.

Aşı antijenleri daha sonra yakalanır, işlenir ve antijen sunan hücrelere (makrofajlar ve dentritik hücreler) sunulur. Söz konusu hücreler lenf düğümleri içerisinde CD4 + ve CD8 + T hücrelerinin aktivasyonunu ve klonal genişlemesini indükler. Daha sonra B hücrelerinin aktivasyonu başlatılarak B hücre farklılaşması ve antikör salgılayan B hücrelerinin üretimi ile sonuçlanan durumlar şekillenmektedir. Son olarak da kanda ve lenf düğümlerinde uzun ömürlü plazma hücreleri ve bellek T lenfositleri tarafından söz konusu bağışıklık durumu korunur (Lang ve ark, 2013). Aşılamaya karşı gelişen immun yanıtındaki değişimlerin vitamin D ile ilişkisinin belirlenmesinde potansiyel unsurun vitamin D nin antijen sunan hücreler üzerine meydana getirdiği (zellikle de dentritik hücrelerde) değişimler ile açıklanabilir (D'Ambrosio ve ark, 1998; Penna ve Adorini, 2000). Söz konusu etkiler yalnızca aşının adjuvantına bağlı olarak gelişen tool like reseptörleri etkilemesinin yanında aynı zaman da dentritik hücrelerde meydana gelen CYP27B1 zerinden T hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini regüle etmesine bağlı olarak gelişmektedir (Liu ve ark, 2006). Son yapılan araştırmalarda vitamin D'nin söz konusu etkilerini Th1 kökenli sitokinlerde (IL2, IFN) azalma, Th2 kökenli sitokinlerde (IL4,IL5,IL10 ve IL13) ise artışlara ve Th17 benzeri sitokinlerde (IL17) retim artışı gibi sonuçların yanında; B hücre hemostazı, proliferasyonu ve immunglobulin üretiminde meydana getirdiği indirekt etkilere bağlı olarak şekillendirdiği belirtilmektedir (Chen ve ark, 2007).

Her ne kadar 1,25 (OH)₂VitD, B hücresi fonksiyonlarını doğrudan köreltmış gibi görünse de paradoksal olarak, doğuştan gelen bağışıklık üzerindeki etkileri ile aşı etkinliğini teşvik edecektir (Lang ve Samaras, 2012). Son çalışmalar VitD'in sitokin üretimi üzerindeki etkilerini hayvanlarda ve insanlarda, normal doğuştan ve adaptif bağışıklık fonksiyonlarını düzenlemede etkili olduğunu doğrulamıştır (Lang ve Samaras, 2012).

Hayvan modellerinde difteri aşılmasının, yerel olarak üretilen VitD'nin dentritik hücrelerde aşılama bölgesinden tahliye edilmeyen lenfoid organlara göçüne neden olduğu, burada antijene spesifik T ve B hücrelerini kuvvetli ve kalıcı bir antikor tepkisi oluşturmak üzere uyarabildikleri görülmüştür (Enioutina ve ark, 2008,2009). Farelerde üç değerlikli influenza aşısı ile 1,25 (OH)₂VitD' nin birlikte tatbik edilmesi hem mukozal hem de sistemik spesifik antikor tepkisini ve ardından hayvanların burun içine yerleştirilmiş canlı influenza virüsünü nötralize etme kabiliyetini arttırmaktadır. Söz konusu araştırmalara ilaveten hayvan ve insanlarda vitamin D'nin aşılamaya karşı birçok hastalıkta önemli rolünün bulunduğu kanıtlanmıştır (Ovsyannikova ve ark, 2010; Lalor ve ark, 2011; Zitt ve ark, 2012).

Bilimsel kanıtlar, probiyotik bakterilerin enfeksiyon riskini, bazı durumlarda enfeksiyon süresini ve şiddetini azalttığını göstermektedir (Lomax ve Calder, 2009). Beşeri hekimlikte özellikle yeni doğanlarda probiyotik kullanımına bağlı olarak akut rota virüse bağlı gelişen ishal tablolarının klinik bulgularında azalmaların bulunduğu belirtilmektedir (Kaila ve ark, 1992; Majamaa ve ark, 1995; Marteau ve ark, 2001; Sullivan ve Nord, 2005; Guandalini, 2008,). Laktobasillerin ve bifidobakterlerin antibiyotik ile ilişkili ishallerin giderilmesinde kullanıldığı birçok araştırmacı tarafından belirtilmektedir (Lomax ve Calder, 2009). Probiyotiklerin immun sistem üzerine direkt ve indirekt etkileri bulunmaktadır. Direkt etkilerini bağırsak mikrobiyotası içerisinde bulunan zararlı bakteri popülasyonunda meydana getirdikleri değişimler ile patojen bakteriler ile ilişkili yapıların bağırsak lenfoid dokusuna ulaşmasını azaltarak göstermektedirler. İndirekt etkilerini ise bağırsaklar içerisinde oluşturdukları mikrobiyal bir ürün olan kısa zincirli yağ asitleri üzerinden sağlamaktadırlar (Thomas ve Versalovic, 2010). Hayvan modellerinden elde edilen kanıtlar, yerleşik bağırsak mikrobiyotasının antiviral savunmaları şekillendirdiğini ve virüs enfeksiyonlarının sonucunu değiştirdiğini, grip de dahil olmak üzere bir dizi enfeksiyona daha duyarlı olan mikropsuz farelerin modüle edildiğini göstermektedir (Pang ve Iwasaki, 2011). Antibiyotik ile tedavi edilen spesifik patojen içermeyen (SPF) fareler ile yapılan deneyler de bunu desteklemektedir. Ölümcül dozun hemen altında PR8 virüsü ile enfekte edilen SPF farelerde (antibiyotik kullanan) CD4 ve CD8 T hücrelerinin farklılaşmasında gecikmelerin olduğu belirtilmektedir (Pang ve Iwasaki, 2011). Yine antibiyotik kullanıma bağlı olarak solunum yollarında bulunan

dentritik hücrelerin göçünde azalmaların bulunduğu ve influenza virusuna karşı CD8 T hücrelerinin seviyelerinde de azalmaların bulunduğu belirtilmektedir (GeurtsvanKessel ve ark, 2008). Söz konusu bilgiler ışığında planlanan çalışmada köpeklerde yaygın görülen kanin distemper virüsü ve kanin parvoviral enteritis hastalıklarına karşı rutin olarak uygulanan aşılamalara ilaveten uygulanacak olan Vitamin D ve *Bifidobacterium animalis subs. lactis* (BB-12) (Bibac D3 damla) kombinasyonunun aşılama sonrası oluşan immun yanıt üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanin Parvovirüs

Kanine parvovirüs (CPV) *Parvoviridae* ailesinin *Parvovirinae* alt ailesinden gelmektedir ve vertebralı canlıları etkileyen viral bir etkindir (Dogonyaro, 2010). *Parvovirinae* ayrıca 3 türe ayrılmaktadır: Parvovirüs, Erythrovirüs ve Dependovirüs (Berns, 1990, Tattersal ve Cotmore, 1990). Parvovirüs gennusundan kanine parvovirüs ve feline parvovirüs olarak 2 alt gruba ayrılmaktadır (Siegl ve ark, 1985). Etken Felin Panlökopeni virüsü ile %98 benzerlik göstermektedir ve viral kapsid protein VP-2'nin 6-7 amino asidi aralarında farklılık göstermektedir (Carter ve Wise, 2006; Hoelzer ve Parrish, 2010; Mittal ve ark, 2014; Chollom ve ark, 2013). Mink enteritis virüs, Raccon parvovirüs ve blue fox parvovirüs ile de yakından benzerlik göstermektedir (Jones ve ark, 1997). Kanin ve bovin parvovirüs de *parvoviridae* ailesinden gelen küçük bir grup olarak karşımıza çıkmaktadır (Dogonyaro, 2010). CPV, kanin parvo ailesinden olan diğer virüslerden ayırt edilmek için tip-2 olarak adlandırılmıştır (Binn ve ark, 1980; Carmichael ve ark, 1994). Tilley ve Smith'e (2010) göre ise, orijinal parvovirüs CPV-1 ve CPV-2 olarak değişime uğramıştır fakat kanin parvovirüs tip-2 antijenik olarak CPV tip-1 ile benzerlik göstermez (Carmicheal ve ark, 1994). Bazı yazarlarca da CPV tip-2 felin parvovirüs'ten köken almakta ve CPV tip-2'nin değişik türlerine mutasyona uğramaya devam etmektedir (Dogonyaro, 2010; Sherry ve ark, 2012; Chollom ve ark, 2013; Mittal ve ark, 2014).

2.1.1. Epidemiyoloji

Kanin parvovirüs'ün (CPV) yol açtığı hastalıkta etken daha çok kanin parvovirüs tip 2 (CPV-2) olarak bilinmektedir ve köpeklerde ikinci olarak tanımlanan bir türdür. 1967 yılında ilk olarak gastrointestinal ve respiratorik hastalıklara yol açan bir etken olarak bulunmuştur ve daha sonra köpeklerde önemsiz bir virüs olarak adlandırılmıştır (Binn ve ark, 1970). Bu etken daha sonra tip 1 olarak belirtilmiştir (CPV-1). CPV ile enfekte köpeklerin çoğunda durum asemptomatik olarak görülmüş (Lamm ve Rezabek, 2008) ve 1978 yılına gelindiğinde ise Amerika'da etkeni tam belli olmayan ve bulaşıcı bir hastalık olarak salgına yol açtığına dair

raporlar yer aldı. Etken izolasyonu yapılarak bu etkenin Parvoviradae genusuna ait bir etken olduğu gösterildi ve CPV-2 olarak adlandırıldı. Köpeklerde mevcut immunitenin yetersizliği ile beraber hızlı bir yayılım gösterdiği ve 1980 yılında dünya genelinde salgınlara yol açtığı bildirildi (Pollock, 1984a; Lamm ve Rezabek, 2008).

Etkenin (CPV-2) tam olarak nereden çıktığı ve nasıl bir gelişim gösterdiği hala daha tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar Felin panlökopeni virüs ile yakın bir ilişkili olduğunu bildirmekte ve birkaç yayında da CPV-2'nin FPV'den geliştiğini bildirmektedir (Pollock, 1984b). Başka araştırmacılar ise; vahşi karnivolar ile antijenik olarak benzerlik gösterdiği belirtmektedir (Lamm ve Rezabek, 2008; Pollock ve Coyne, 1993). Enfeksiyonun başlangıcında özellikle saf kan ırk köpeklerde yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olduğu söylenmekte fakat aşılama sonrasında ise enfeksiyonun daha çok barınak ve aynı ortamlarda bulunan hayvanlar arasında sınırlı kaldığı bildirilmektedir. 1980'li yıllarda CPV-2 suşu ortaya çıkarılmış ve CPV-2a olarak adlandırılmıştır. Virüs hızlı bir şekilde mutasyona uğramış ve 1984'te CPV-2b suşuna geçiş yapmıştır (Lamm ve Rezabek, 2008; Parrish ve ark, 1988). Günümüzde ise, köpeklerde CPV-2a ve CPV-2b yaygın olarak hastalığa neden olan suşlardandır. Son 20 yıl içerisinde, buluna yeni suş CPV-2c ortaya çıkmıştır. Bu suş 2008 yılında İtalya'da bildirilmiş ve daha sonra Vietnam 9, İspanya 10, Amerika 11, Güney Amerika 12, ABD, Portekiz 13, Almanya 14 ve İngiltere'de de 14 olduğu rapor edilmiştir (Decaro ve ark, 2007). Belirtilen bu suş yüksek mortalite, virülense ve morbiditeye sahiptir ve perakut olarak ölümlere neden olabilmektedir.

Akut enterite neden olan CPV-2 köpeklerde yaş, tür ve cinsiyet farketmeksizin görülebilmektedir fakat özellikle yavrularda ise 4 hafta ile 6 aylık yaş arasında görülmektedir (Pollock ve Coyne, 1993; Hoskins, 1997; Prittie, 2004). Enfeksiyonu ya da aşılamaı takiben gelişen immunité sonucu köpeklerde uzun süre immun kalırlar ve bu nedenle en önemli kısmı yeni doğan yavrular kapsamaktadır. Yavruların yaşamlarının ilk birkaç haftasında maternal antikorlarla enfeksiyona karşı bağışıklılık sağlanmaktadır. Bu nedenden dolayı enfeksiyon yeni doğan yavrularda çok nadir olarak görülmektedir (Pollock ve Carmichael, 1982). Ayrıca, parvovirüsá karşı gelişen maternal antikorlar yaklaşık 10 gün içinde yarılanmaktadır ve sonraki süreçte enfeksiyona açık hale gelerek duyarlılık gelişebilmektedir (Pollock ve Carmichael, 1982; O'Brien, 1994).

Yavruların hastalığa karşı predispoze hale getiren faktörler arasında koruyucu immunitenin oluşmaması, intestinal parazitler ve aşırı kalabalık ve strese neden olan yaşam alanları yer almaktadır (Brunner ve Swango, 1985; Hoskins, 1994; Smith-Carr ve ark, 1997). Belirli türlerde özellikle de rottweiler, doberman pinscher, American pit bull terrier, Labrador

retriever ve Alman çoban köpeğinde şiddetli CPV enteritise karşı risk daha da fazla olmaktadır (Brunner ve Swango, 1985; Houston ve ark, 1996; Smith-Carr ve ark, 1997). Türlerin hastalığa karşı neden bu şekilde olduğu tam olarak belli değildir. Doberman pincher ve Rotweiller açısından ortak atalara bağlı olarak von Willebrand hastalığı (VWD) prevakansı da yüksektir ve bu nedenle rottweilerlarda kalıtsal immun yetersizliğe bağlı olabilmektedir (Houston ve ark, 1996; Glickman ve ark, 1985; Prittie, 2004). Diğer faktörler risk düzeyini her ne kadar arttırsa da tür popülasyonu ve uygun aşılama protokollerinin yapılmaması gibi genetik komponentler de risk oluşturmaktadır (Prittie, 2004). Altı aylık yaştan daha büyük köpeklerde, kısırlaştırılmamış dişilerde kısırlaştırılmış dişilere göre CPV enteritis tablosunun görülme riski 2 kat daha fazladır. Sezona bağlı olarak da hastalığın geliştiği bildirilmektedir özellikle yaz ve kış aylarında hastalığın insidansı pik düzeylerde seyretmektedir (Glickman ve ark, 1985; Houston ve ark, 1996; Shakespeare, 1999).

2.1.2. Patogenezi

CPV-2 enfeksiyonu köpekler arasında direkt olarak feka-oral bulaşma ile hızlı bir şekilde yayılım gösterdiği gibi kontamine dışkıının temas ettiği yüzeylerle de etkileşim sonucu oro-nasal yolla enfeksiyon yayılım gösterebilmektedir (Johnson ve Smith, 1983; Hoskins, 1997; Smith-Carr ve ark, 1997). Deneysel yolla oluşturulan enfeksiyonlarda etkenin en erken 3 günlük süreçten sonra dışkıyla atılımının gerçekleştiği bildirilmekte ve hastalığın subklinik ya da klinik seyrini takiben dışkı ile 3-4 haftaya kadar enfeksiyon saçılımı devam etmektedir (Johnson ve Smith, 1983; Macartney ve ark, 1984). Timus, mezenteriyal lenf nodülleri ve orofarenks lenfoid dokularda virüs replikasyonu başlar ve hematogen yol ile beraber (enfeksiyondan sonraki 3-4 gün) ince bağırsak kriptlerinde yayılıma gösterir (Appel ve ark, 1980; Hoskins, 1997; Lamm ve Rezabek, 2008). Enfeksiyondan 1-5 gün sonra belirli şekilde viremi gelişir, CPV-2 suşu özellikle ağız, dil ve oral kavite epitellerinde, kemik iliğinde ve timus ve lenf nodüllerinde lokalize olur (Meunier ve ark, 1985; Hoskins, 1997). Ayrıca akciğer, dalak, karaciğer, böbrek ve myokardiumdan etken izole edilebilmekte ve bu durum hastalığın multi-sistemik olarak seyrettiğini göstermektedir (Appel ve ark, 1980; Lamm ve Rezabek, 2008).

Lenfoid dokuların ve intestinal hücrelerin dayanıklılık durumu hastalığın şiddetinin belirlenmesinde temel olarak rol oynamaktadır. Dayanıklılık ne kadar yüksek ise hücre replikasyonu ve hücre hasarının boyutu ile de o derece ilişkili olacaktır. Paraziter ya da bazı

çevresel bakım ile ilişkili olarak strese yol açan durumlar mukozal hücre aktivitelerinde artış meydana getirerek hastalık için köpeği açık hale getirmektedir (Jacobs ve ark, 1980; O'Sullivan ve ark, 1984; Lamm ve Rezabek, 2008). Yavurların süttten kesilme sürecinde intestinal kriptlerdeki enterositler besleme ve floranın değişimi sonucu yüksek mitotik aktiviteye sahip hale gelmekte ve virüsün affinitesi bakımından önemli hale gelmektedir (Houston ve ark, 1996).

İntestinal kript epitel hücrelerinin ince bağırsakta olgunlaşması ile kript epitellerinden villuslara doğru göç gerçekleşir. Villusların uç noktalarında ise; absorbe kapasitesine erişir ve besinleri de asimile eder. Parvovirüs epitelde yıkımlanma ve villuslarda tahribat oluşturarak intestinal kriptlerin germinal epitellerinin enfekte eder ve sonuç olarak da normal hücre dayanıklılığı hasara uğrar (ince bağırsaklarda, 1-3 gün içinde). Sonuç olarak kısa, atrofik olarak gelişen ve patolojik lezyon olan villusların oluşmasına neden olur (Hoskins, 1997; Pollock ve Coynee, 1993; Lamm ve Rezabek, 2008). Villuslarda meydana gelen atrofiyle ilişkili olarak absorpsiyon kapasitesinde azalma meydana gelir. Timusda meydana gelen değişiklikler daha dramatik bir hal alır ve lezyonlar genellikle timik korteks ve germinal merkezlerde gözlenir. Mitotik aktivitesi olan hücreler için CPV'nin tropizmasını yansıtır. Diğer lenfoid dokulara nazaran timik kortekste meydana gelen lenfositolizis bu organ için yüksek mitotik oranını daha fazla gösterir ve yavru köpeklerde gelişen şiddetli lenfopeni bu duruma bağlı olarak olası bir durum olarak meydana gelmektedir (Macartney ve ark, 1984; Lamm ve Rezabek, 2008).

2.1.3. Klinik Bulgular

Kanin parvovirüs-2 (CPV-2) enfeksiyonu başlangıç aşamasında enterit ve myokarditis olarak 2 hastalık formu görülmektedir. CPV-2 myokarditis günümüzde çok nadir düzeyde görülmekte, fakat aşılama yapılmayan annelerden doğan ve 8 haftalık yaşa kadar olan yavruarda intrauterin olarak enfeksiyona bağlı olarak myokarditis tablosu gelişebildiği bildirilmektedir (Hoskins, 1997). Genellikle de doğan tüm yavruar enfekte doğar ve klinik bulguların gelişmesiyle birlikte 24 saatlik süreçte ölüm gerçekleşir. Klinik bulgular hızlı bir şekilde ortaya çıkar ve ilerleme gösterir. Dispne, ağlama-inleme ve öğürme görülen başlıca klinik bulgular arasında yer almaktadır (Robinson ve ark, 1979; Hoskins, 1997). Myokartta meydana gelen lezyonlar multifokal değişimler olarak görülür ve yangısal ya da yangıya bağlı

olmadan myofibrillerde lizis oluşumu ile kendini gösterir. İntranükleer inklüzyon cisimciği myokardial hücre nükleuslarında bulunabilir (Robinson ve ark, 1980).

Kanin parvoviral enfeksiyonuyla ilişkili olarak yaygın bir biçimde akut enteritis tablosu gelişir ve 6 aylık yaşa kadar olan yavrularda sık bir oraya çıkar. Genel olarak klinik bulgular spesifik değildir ve anoreksi, depresyon, laterji, ateş gibi semptomlar başlangıç aşamasında görülmektedir. İleriki aşamada daha spesifik olarak kusma ve mukoidden hemorajik tarza kadar akut bir ishal görülür (Prittie, 2004; Lamm ve Rezabek, 2008). Gastrointestinal sisteme bağlı aşırı sıvı ve protein kaybıyla ilişkili olarak dehidrasyon ve hipovolemik şok gelişebilmektedir (Prittie, 2004). CPV enterite bağlı abdominal ağrı bariz bir bulgudur ve akut gastroenterik veya intestinal intusisepsiyona neden olabilir.

Viral enfeksiyon sonucu intestinal sistemin hasarlanması bakteriyel kontaminasyon ve enfeksiyon riskini arttırarak koliform septisemi için risk oluşturur. Buna bağlı olarak sistemik yangısal yanıt gelişerek septik şokun oluşumuna zemin hazırlar ve kaçınılmaz son olan ölüme kadar hastayı götürebilmektedir. *Escherichia coli* enfekte yavruların akciğer ve karaciğerleri yerleşebilmektedir. Pulmoner lezyonlar, insanlarda tanımlanan yetişkin respiratorik distres sendromuyla benzer niteliktedir (Turk ve ark, 1990; Otto ve ark, 1997; Prittie, 2004). Hemorajik ishal endotoksemi ve sitokin üretimiyle sonuçlanır. Söz konusu durum viral enfeksiyonla ilişkili olarak gerçekleşmez (Isogai ve ark, 1989). Yapılan araştırmalar neticesinde endotoksinlerin ve tumor nekrozis faktörün (TNF) enfekte yavrularda ölçülebilir düzeylerde seyrettiği ve bu durumun TNF ile mortalite arasında bir ilişkinin olduğu ortaya çıkarılmıştır (Wessels ve Graffin, 1986). Endotoksinler ve proinflamatuvar sitokinler sistemik yangısal yanıtın güçlü mediatörleri olduğu ve koagülasyon kaskad aktivatörleri olduğunu göstermektedir (Wessels ve Graffin, 1986; Weiss ve Rashid, 1998).

Enfeksiyon ile özellikle sıvı ve gaz ile dolu olan bağırsak segmentlerinin varlığı gibi tipik gastroenterit bulguları ile ilişkili olarak spesifik bir radyografik bulgu bulunmamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda normal sağlıklı yavrular ile CPV enteritli hayvanlar arasında ultrasonografik (USG) bulgular değerlendirilmiştir (Stander ve ark, 2010a, 2010b). Ultrason bulguları hastalık için spesifik bir veri içermese de meydana gelen farklı düzeydeki değişiklikler hastalık bakımından şüpheyi arttırmaktadır. CPV enteritis ile ilişkili olarak gösterilen bulgular sıvı dolu, atonik ince ve kalın bağırsakları kapsar bununla birlikte belirsiz duvar tabakaları ve düzensiz lümen-mukozal yüzeyleri olan/olmayan duodenal ve jejunal mukozal tabaka incilmesi; geniş duodenal ve/veya jejunal hiperekoik mukozal beneklenme; ve duodenum ve/veya jejunal olukları içerir. Meydana gelen geniş ölçekli intestinal lezyonlar villusların dökülmesi, mukozal erozyonlar ve ülserasyon oluşumu ile kript

nekrozuyla yakından ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada da sonografik değişikliklerin hastaların klinik durumları arasında korelasyon bulunduğunu da gösterilmiştir (Stander ve ark, 2010a, 2010b).

2.1.4. Laboratuvar Bulguları

Kanin prroviral (CPV) enteritiste lökosit sayımı genel olarak önemli derecede düşük olmasıyla karakterizedir ve geçici lenfopeni en belirgin bulgulardandır. Hematolojik değişimler yaygın olarak kemik iliği ve timus, lenf nodulleri ve dalak gibi lenfoproliferatif organlarda farklı lökosit tiplerinin hematopoietik progenitör hücrelerin yıkımına bağlı olarak gelişir. Tüm bunlar yangısal durumun olduğu gastrointestinal sistemde lökositler (özellikle nötrofiller) için talebin çok olması ama üretiminin yetersiz olmasıyla açıklanmaktadır (Macartmer ve ark, 1984; Goddard ve ark, 2008). Yakın zamanda yapılan çalışmada özellikle total lökosit ve lenfosit sayısı bakımından sitopeni eksikliğinin etken maruziyetini takiben geçen 24 saatlik süreçte %100 pozitif belirleyici değerde olduğunu gösterilmiştir. Etken sonrası 24 saatteki lenfosit sayısındaki yanıt artışı iyileşen yavrularda görülmüştür (Goddard ve ark, 2008). Çalışmalar iyileşme döneminde eritroit elementler ve granulositlerin hiperplazisini takiben kemik iliğinde megakaryositik hücre hatlarının, granulositlerin ve eritroitlerin belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir (Potgieter ve ark, 1981; Boosinder ve ark, 1982). Meydana gelen tüm bu değişiklikler nonspesifiktir ve endotoksemiye yansıtmaktadır (Boosinger ve ark, 1982). Kan prekürsör hücre hattında meydana gelen bazı değişiklikler olmasına karşın erken pluripotent hücrelerin bellidir (Macartney ve ark, 1984). Artan granulosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) konsantrasyonunun nötropeninin ölçülemediği düzeylerde olduğunda nötropeninin başlamasından hemen sonra CPV enteritte gözlemlenmiştir (Cohn ve ark, 1999).

Anemi özellikle hastalığın şiddetli fazından sonraki süreçte yaygın olmayan bir hematolojik bulgudur. Bu durumun nedeni kemik iliğinde üretiminin virüs tarafından baskılandığı kısa sürece kıyasla sirkülasyondaki eritrositlerin yarılanma ömrünün uzun olmasından kaynaklanmaktadır (Potgieter ve ark, 1981). Hematokrit değerde oluşan azalma muhtemel olarak gastrointestinal sistemde gelişen hemoraji ve rehidrasyon tedavisiyle ilişkilidir (Jacobs ve ark, 1980; Hoskins, 1997). Lipid peroksidaz düzeyinin artışı ve antioksidan enzim kapasitesinin değerlendirilmesi aneminin patogenezinde rol oynayabilmektedir (Panda ve ark, 2009).

Virüs'e bağı trombositopeni, platelet ya da endotelyumda virüs ve-veya immunlojik yapıların direkt olarak aktivasyonu sonucu ya da platelet üretiminin azalması sebebiyle gelişir (Wilson ve ark, 1982). Hemorajik yansıma, subklinik treombositopeni vasküler permeabiliteyi etkileyebilir ve virüsün ekstrasvasküler alana geçişine yol açabilir (Axthelm ve Krakowa; 1987). Dissemine intravasküler koagulopati olmadan gelişen hiperkoagulabilitenin kanıtı CPV enteritli köpeklerde belgelendirilmiştir ve endotoksin-sitokin ilişkili prokoagulantların endotelial hücreleri etkilemesine bağı olduğu düşünülmektedir. Antitrombin (AT) kaybı özellikle gastrointestinal sistem aracılığıyla AT tüketiminin yanı sıra bu durum CPV enteritiste aşırı pıhtılaşma durumuna atıf bakımından hiperfibrinojenemi gösterir (Otto ve ark, 2000).

Kritik hastalıklarda adrenal ve tiroidal bezlerde oluşan reaksiyon hayvanın hayatta kalması için gerekli bir yanıttır. İnsanlardaki kritik hastalıklarda görülen duruma benzer şekilde hastalığın 24-48 saatlik süreçlerinde serum kortizol düzeyinin yüksek ve serum tiroksin (T4) düzeyinin düşük olması CPV enteritiste yavruların mortaliteleri ile yakından ilişkilidir (Schoeman ve Herrtage, 2007; 2008).

Enfeksiyona bağı olarak serum biyokimyasındaki anormallikler sepesifik değildir. Anoreksi, kusma ve ishale beraber şiddeti hipokalemi, depresyon ve güçsüzlüğe neden olabilir. Diğer elektrolitlerde meydana gelen patolojik değişimler (hipokloremi ya da hiponatermi gibi) kusma ve ishale bağı sekonder olarak gözlenebilir (Jacobs ve ark, 1980; Heald ve ark, 1986; Macintire ve Smith-Carr, 1997). Total magnezyum konsantrasyonunun kritik hastalarda prognostik önemi olsa da iyonize magnezyum düzeyi CPV enterit sonucuyla alakalı değildir (Mann ve ark, 1998). Hipoalbuminemi düzeyi düşük total kalsiyum düzeyini açıklayabilir (Jacobs ve ark, 1980). Serum elektroforezis profili görecelidir ve net hipoalbuminemi, hipogammaglobulinemi ve hiper-a2-globulinemi göstermektedir (Broek, 1990). Hastalığın seyriyle beraber plazma protein düzeylerinin azalması rehidratasyonu takiben intestinal kanamayla ilişkilendirilir. A2-globulindeki artış doku hasarı ve yangıyla ilişkili olarak lökosit endojen mediyatörler tarafından akut faz proteinlerin (AFP) hepatik sentezinden kaynaklanır (Broek, 1990). AFP oluşumu kritik hastalarda albumin oluşumunun harcanmasında görülür. Serum C-reaktif protein (CRP) ile ilişkili veriler, köpeklerde major AFP'dir, etken maruziyetiyle beraber yüksek seyreder ve 12-24 saat sonra da mortalite riskinin artışıyla ilişkili bulunmuştur. Kan üre, kreatinin ve inorganik fosfat düzeylerinin yüksek olması dehidrasyonla ilişkilidir. Alkalen fosfotaz ve alanin transaminazdaki yükselme de bağırsak bariyerinin kaybına bağı olarak toksik maddelerin emilini veya şiddetli hipovolemiyi takiben sekonder olarak gelişir ve hepatik hipoksiyle ilişkilidir. Alkalen fosfotaz

aktivitesindeki artış yaş ile ilişkili de olabilir (Jacobs ve ark, 1980; Macintire ve Smith-Carr, 1997). Plazma lipoproteinleri endotoksinlerin bioaktif parçalarına bağlanır ve monositleri, makrofajları ile diğer lipopolisakkarite (LPS) duyarlı hücreleri uyarmasını önleyerek önemli bir konakçı mekanizması oluşturur. Bazı çalışmalarda insanlarda kritik ve enfektif hastalıklarda düşük plazma kolesterol ile mortalite arasında kuvvetli bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ise, CPV enteritiste serum total kolesterol düzeyi ile yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyinin düştüğü fakat serum trigliserid düzeyinin ise arttığı bildirilmiştir. Hipokolesterolemi CPV enteritisin şiddetinin bir belirtici olarak kullanılabileceği de belirtilmektedir (Yılmaz ve Senturk; 2007).

CPV enteritiste asit-baz dengesine bakıldığında ise, kusmanın şiddeti (hidrojen ya da klor kaybı gibi) ya da ishalin kaynağına (ince ya da kalın bağırsak kökenli) bağlı olarak asidozis ya da alkalozis gelişebilmektedir (Heald ve ark, 1986). Olguların çoğunda venöz kan pH ve HCO_3 düzeylerinin azaldığı ve bu durumun gastrointestinal sistemden aşırı düzeyde bikarbonat kaybıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Rai ve Nauriyal, 1992; Nappert ve ark, 2002). CPV enteritisle ilişkili gelişen metabolik asidozis kalın bağırsaklarda meydana gelen bakteriyel popülasyon sonucu D-laktat üretimi ile kompanze edilemez (Nappert ve ark, 2002).

Kardiyak fonksiyonlar, bazı ekokardiyografik indekslerle değerlendirilmektedir (Boon, 1996; Moise ve Fox, 1999). Tei indeksen oluşturulan Doppler myokardiyal performansın değerlendirilmesinde sistolik ve diastolik zaman aralığının kombine edilmesi uygun bir yöntem olarak belirtilmiştir (Tei, 1995; Arnlov ve ark, 2005; Teshima ve ark, 2006, 2007). Bazı belirli biyobelirteçler de kardiyak hasarla ilişkili olarak bilgi vermektedir (Schober ve ark, 1999, 2002; Rosalki ve ark, 2004; Walker, 2006; Babuin ve Jaffe, 2005; Apple ve ark, 2008). Kardiyak troponin I (cTnI) insan ve hayvanlarda kardiyak hasarın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır ve cTnI düzeyinde meydana gelen artışlar kalpte meydana gelen morfolojik değişimlerle de ilişkilidir (Apple ve ark, 2008). Diğer kardiyak biyobelirteçler olan kreatinin kinaz (CK), laktat dehidrojenaz (LDH) ve aspartat aminotransferaz da (AST) doku spesifikite ve sensitivitesi ile ilgili sınırlı düzeyde de olsa bilgi verebilmektedir (Schober ve ark, 2002; Qi ve Sun, 2004; O'Brien, 2008; Francove ve ark, 2009).

2.1.5. Tanı Yöntemleri

2.1.5.1 Elektron mikroskobu

Elektron mikroskopta (EM); etkenin yüksek çözünürlükte görünmesi ve büyütülmesi için elektromanyetik alandan ışın kümesini geçirilmesi prensibine dayanan bir cihazdır. Bu yöntemde, virüsün büyüklüğü ve şekline bağlı olarak tanı koyulur. Hastalığın akut fazında viral yapılar negatif boyama ve EM yardımıyla dışkıda gözlemlenebilir (Burtonboy ve ark, 1979).

Yüksek çözünürlük ve yansıma ile hücrelerin iç yapılarının detaylı olarak görüntülenmesine olanak tanır ama numunenin canlı olmaması ve tecrübe gerektirmesi sebebiyle de dezavantajı olabilen bir yöntemdir.

2.1.5.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), CPV enfeksiyonları için tanı bakımından hızlı sonuç vermektedir. Korunmuş viral gen olan VP-2 geni primer olarak kullanılır. Gen amplifikasyonu sonrasında, elde edilen genin sınırlı bölünme modeli kullanılır. CPV farklı türlerinin belirlenmesinde kullanılabilir. Farklı PCR türleri bulunmaktadır: Nested PCR, Touchdown PCR ve ayrılmış izotermal PCR. Reaksiyonun spesifitesini ve duyarlılığını artırmak için, 2 çift primerin kullanıldığı Nested PCR kullanılmalıdır 36. Rutinde tanı amacıyla kullanılması için ise hızlı, duyarlı ve basit olması sebebiyle de Touchdown PCR kullanılır (Schunck ve ark, 1995). Ayrılmış izoermal PCR hızlı ve duyarlılığından dolayı özellikle saha çalışmalarında kullanım alanı bulmaktadır (Wilkes ve ark, 2015.) Çok hızlı ve spesifik bir yöntem olsa da ampifiye bölgeler yanlış primer bağlanması ve pahalı ekipman kullanımı da dezavantajları arasında yer almaktadır.

2.1.5.3. İmmunokromotografik yöntem

SNAP hızlı kanin parvovirüs antijen kitleri bu yöntemle bakılan testlerden biridir ve basit ve hızlı sonuç vermesi sebebiyle de klinikçiler tarafından rutin olarak kullanılabilir (Esfandiari ve Klingeborn, 2000). Net bir sonuç için viral antijen miktarının fazlaca olması gerekir ve yorumlama bazen bu nedenle yanlış da olabilmektedir bu durum özellikle de virüs miktarının çok az olduğu durumlarda yanlış negatiflik ya da

pozitiflik vererek hatalı sonuca götürebilmektedir (Mochizuki ve ark, 1993b; Uwatoko ve ark, 1995; Estandiari ve Klingeborn, 2000; Desario ve ark, 2005). Bu testte, virüsün CPV-2a, b ve c olarak 3 türü de belirlenebilmektedir. Klinik bulguların başlangıcından itibaren ilk 5 gün içerisinde yapılmış ise test sonucunun doğruluk payı artmaktadır. Klinik bulgulara rağmen negatif teste sahip köpekler günlük olarak tekrar teste tabi tutulmalıdır (Ettinger ve Feldman, 2005).

2.1.5.4. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Immunoblot ELISA testi olarak bilinen ve aşılanmış yetişkinler ile genç köpeklerin kan serumlarında Kanine Distemper Virüs ve CPV IgG antikor titresinin belirlenmesi amacıyla enzim kullanılarak yapılan bir testtir (Naveh ve ark, 1995; Waner ve ark, 1996; Waner ve ark, 1998; Truyen, 2001; Eghafona ve ark, 2007). Bu test dot-ELISA teknolojisi ile katı faza bağlıdır ve antijenler plastik karttaki yerlere uygulanırlar (Biogal, 2014). Test edilecek kan örnekleri uygun seyrelticilerle karıştırılır ve inkube edilir. Örnekten alınan spesifik IgG antikorları testteki uygun antijenlere bağlanırlar. Bağlanmayan antikorlar için yıkama işlemi uygulanır ve antijen-antikor kompleksine bağlanması için anti-dog IgG alkalın fosfataz konjugatı ile reaksiyona girmesi sağlanır. Devamında da 2 yıkama daha yapılır ve renk değişimine bakılarak yoğunluğa göre antikor seviyesi hakkında bilgi edinilir. CDV ve CPV'ye karşı gelişen immunité 0-6 arasındaki bir skortlama kullanılır. Sıfır: hastalığa karşı antikor olmadığını, 1-2: düşük düzeyde olduğunu ve koruyuculuğu olmadığını; 3-4: koruyucu olarak yeterli olabilir ve 5-6: yüksek düzeyde humoral immunitenin geliştiğini bildirir. Skoru 3 ve üzeri olan köpekler için tekrar bir aşılama gerekmez. Prosedüre göre testin CPV için spesifitesi %100; duyarlılığı %97'dir (Biogal, 2014).

2.1.5.5. Hemaglutinasyon testi

Bu testte, hemaglutinasyon (HA) ile virüslerin miktarının belirlenmesi esasına dayanarak ölçüm yapılır. Kolay, hızlı ve basit bir metod olmakla beraber çok sayıda örneğe uygulanabilmektedir. Farklı ailelerden virüslerin (örn: Parvoviridae) yüzeylerinde kırmızı kan hücrelerin yüzeylerinde bulunan reseptörlere bağlanarak eritrositlerini aglutin etme yeteneğine sahip olan hemaglutininler bulunur. CPV domuz kırmızı hücrelerini aglutine edebilir. Fosfat tamponlu salin içerisindeki kırmızı hücreler mikrotitre olarak ilk olarak belirlenebilen titre ve hemaglutinasyonun görüldüğü Parvovirüs içeren suspensiyona eklenir.

HA testi, virüs spesifik antiserumlarla engellendiğinde pozitif olarak kabul edilir (Dogonyaro, 2010). HA testinin avantajları hızlı, kolay ve canlı bir organizmaya ihtiyaç duyulmamasıdır. Spesifik HA aktivitesi enfeksiyon sonrası 9 güne kadar dışkıdan da belirlenebilmektedir. CPV suşlarının HA yeteneğinin olmadığına dair de bildiriler mevcuttur (Parrish ve ark, 1988; Cavalli ve ark, 2001). Ayrıca HA testi hızlı bir okuma süresine sahip olduğu için fazla sayıda numune için de kolaylık arz etmektedir (Deseria ve ark, 2005).

2.1.5.6. Hemaglutinasyon inhibisyon testi

Hemaglutinasyon inhibisyon testi (HI) maternal antikorların tayininde sıklıkla kullanılan bir testtir ve aşılama sonrası gelişen sero-pozitiflik için kullanılmaktadır. HI testi, bir MAb paneli ile HI analizinde antijenik karakterine göre antikor spesifik düzeyinin belirlenmesinde de kullanılır (Buonavoglia ve ark, 2001; Nakamura ve ark, 2004; Desario ve ark, 2005; Martella ve ark, 2006). CPV suşları MAb reaktivitesine göre CPV-2 (orijinal tip) ve CPV-2a,b,c olabilmektedir (Decaro ve ark, 2005). Bu testin güvenilirliği 2 tip durumdan hangisine uygulanmasına bağlı olarak değişiklik gösterir: yeni virüslerin hızlı tanımlanmasıyla izole edilmesi ve hastalığın seyri süresince elde edilen serumda antikorların varlığının belirlenmesidir. Yeni izolatlar aglutine kırmızı hücreleri gösteriyorsa herhangi bir serumu inhibe aglutinasyon kapasitesinin belirlenebilmesi sağlanır. CPV için testin önemi ise HA testinde de belirtildiği gibi etkenin doğrulanması için kullanılır (Dogonyaro, 2010).

2.1.5.7. Virüs izolasyonu

Kanin parvovirüs'ün izole edilebilmesi için uygun besi alanları, donanımlı ve tecrübeli personel gerektirmesinin yanında izin verilen hücre hatlarının kullanılmasını gerektirir. Virüsün izole edilmesi zaman alan bir süreçtir, uzun inkubasyon süresi bulunur (5-10 gün) ve anti-CUP konjugat kullanılarak immunfloresans yöntemi ile de değerlendirilebilmektedir (Decaro ve ark, 2006a). HA testi hücre kültür supernatantlarda viral antijenleri belirlemede kullanılır. Temel dezavantaj, deneysel ve doğal olarak oluşturulan enfeksiyonlardan sonraki sadece birkaç gün için CPV-2 virüsü izole edilebilmekte ve tanımlanabilmektedir (Desario ve ark, 2005).

2.1.5.8. Real Time PCR (RTPCR)

Taqman ve Minör oluk bağlayıcı esasına dayanan RT_PCR geleneksel konvensiyonel PCR yöntemine göre çok daha duyarlı bir yöntemdir. Kantitatif RT_PCR duyarlı, spesifik ve tekrarlanabilmesi daha fazla olan yöntemdir ve birkaç saat içinde CPV-2'nin nükleik asit belirlenmesi ve sayısını verebilmektedir ve vakit olarak çok daha kısa zaman almaktadır (Decaro ve ark, 2005; 2006; Hong ve ark, 2007). Kontaminasyon riski de diğer PCR yöntemlerine göre çok daha azdır (Decaro ve ark, 2005; 2006).

2.2. Kanin Distemper

Kanin Distemper (CDV), evcil köpeklerde yaygın olarak görülen ve oldukça bulaşıcı viral hastalıktır (Swango ve ark, 1995). CDV virüs ilk olarak 1905 yılında izole edilmiştir ve hem evcil hem de vahşi hayvanlar ile beraber denizde yaşayan bazı canlılarda da görülen viral etkene bağlı enfektif bir hastalıktır (Carre, 1905). Paramyxoviridae ailesinde Morbilivirüs genusunda yer almaktadır (Griffin, 2001; Murphy ve ark, 1999). Bu grupta Kızamık, Sığır Vebası gibi hastalıklar da yer alır. Etken konakçıya benzer tropizması ve yayılımı bulunmaktadır. Morbilivirüs aerosol ve direkt temas ile taşınabildiği gibi klinik olarak bulgular benzerlik gösterir ve ateş, seröz nazal akıntı ve respiratorik sistemin etkilendiği durumlarda öksürük gelişebilmektedir. Önceki bulgularla beraber sekonder bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olarak gastrointestinal sistem bulguları da gelişebilmektedir. Ayrıca, virüs genusunun en belirgin özelliği geçici de olsa şiddetli immunsupresyona neden olmasıdır (Messling ve ark, 2003).

Hastalık, genç köpeklerde özellikle yaşamlarının ilk yıllarında yaygındır ve erişkinlerde de görülebilmektedir (Tipold ve ark, 1992). Enfeksiyöz hastalıklar arasında CDV mortalitesi yüksek olan hastalıklar arasındadır (Shell, 1990; Appel ve Summers, 1995). Yavru köpeklerde pneumoni, konjuktivit, rinit ve trakeitis gelişir.

2.2.1. Etiyoloji

Kanin distemper virüs lipoprotein yapılı tek sarmallı RNA virüsüdür ve Paramyxoviridae ailesinden Morbilivirüs genusundadır (Greene ve apple, 1990; Swango ve ark, 1995).

2.2.2. Epidemiyoloji

2.2.2.1. Coğrafik dağılım ve konakçı duyarlılığı

Hastalık, köpeklerde beraber rakun ve sansarlarda da görülmektedir (Apple, 1987). Genel itibariyle genç ve aşılanmamış köpeklerde görülmektedir özellikle yaşamlarının ilk yılında fakat bazı vakalarda erişkinlerde de görülmektedir (Tipold ve ark, 1992). Ayrıca gri tilki gibi bazı türlerde de hastalık için duyarlılık mevcuttur ve direnç ise daha fazladır (Deem ve ark, 2000, Williams, 2001). Hastalık Asya filllerinde de görülüşüne dair veriler bulunmaktadır (Creevy, 2013).

2.2.2.2. Bulaşma ve enfeksiyon kaynağı

Enfeksiyon bulaşmasında enfekte evcil ve vahşi köpeklerle temas büyük rol oynar. Hastalığın taşınmasında en büyük pay enfekte respiratorik eksudatın aerosol yolla alınmasıdır ve diğer vücut sıvıları da aynı şekilde hastalığın bulaşmasında rol oynayabilmektedir. Hastalığın ortaya çıkması 1 hafta ile 1 ay arasında değişmektedir. Oldukça bulaşıcı olan hastalık 60-90 gün süreyle de etrada saçılabilir. Transplasental bulaşmanın da olduğu bildirilmektedir (Krakowka ve ark, 1997). Vertikal bulaş durumu ise tam olarak bilinmemektedir. Etken çevre şartlarında uzun süre yaşayamaz ve düşük sıcaklıklarda daha uzun süre dayanabilmektedir (25 °C 48 saat, 5 °C 14 gün). Sonuç itibarı ile enfekte sekretler ve bu sekretlerin enfekte ettiği yüzeylerle temas ile hastalık bulaşabilmektedir (Pearson ve Gorham, 1987).

2.2.3. Patogenezi

Hastalığın patogenezi, etkilenen tüm türler için oluşturulmuştur. Virus genellikle ilk olarak üst solunum yolu epitel hücrelerinden vücuda giriş yapar, makrofajlarda çoğalır viral replikasyonun gerçekleştiği yerdeki lenf yumruları ve tonsillere enfeksiyondan sonraki 2-4 gün içerisinde yayılım gösterir. Bir hafta içinde ise dalak, mezenteriyum, lenf nodülleri, karaciğer kupffer hücresi, midenin laminası ve ince bağırsaklarda etken (CDV) çoğalmaya başlar. Virüsün yayılımına bağlı olarak T ve B hücre kaybıyla ilişkili olarak ateş ve lökopeni gelişir. Virüs epitel hücreler boyunda vücutta yayılım gösterir. İmmun sistemi kuvvetli olan köpeklerde de hastalık belirtileri ortaya çıkabilmektedir ve etkilenen yerden yaklaşık üç hafta içerisinde virüs uzaklaştırılır. İmmun sistemin zayıf olduğu durumlarda ise 2-3 hafta içinde şiddetli hastalık tablosu gelişir ve 3-4 hafta içerisinde de ölümle sonuçlanabilir. İyileşen köpeklerde 3 aya kadar etken bulunabilir (Deem ve ark, 2000 ve Williams, 2001).

Humoral ve hücrel bağışıklıkla ilişkili olarak 9-14 gün içerisinde patogenezi gelişir. Nörolojik hastalığı olan köpeklerde epitel hasarına bağlı olarak ayak tabanlarında ve burunda hiperkeratoz gelişebilir. Meydana gelen bu durum "Hardpad" olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyona bağlı olarak ölüm yetişkinlerde yarıyından az olmasına karşın genç köpeklerde ölüm oranı % 80'lere kadar çıkabilmektedir (Appel,1987; Greeneand Appel, 1990).

2.2.4. Klinik Bulgular

Klinik bulgular, etkenin virulansına, çevresel durumlara ve immuniteye ilişkili olarak gelişir. En çok etkilenen sistem ve organlar solunum, gastrointestinal sistem, deri ve merkezi sinir sistemidir. Difuz ateş ve genel durum bozukluğu viremiye bağlı olarak görülür. Lökopeniye ilişkin sekonder enfeksiyonlar yaygın olarak görülmektedir ve hastalığın seyrinin kötüleşmektedir (Gelatt ve ark,1985). CDV konjunktivit, pnömoni, ishal, anoreksi ve şiddetli dehidrasyonun geliştirici ve solunum ve sindirim sisteminin etkilendiği bir hastalıktır. Nörolojik bulgular akut durumun düzelmesinden 1-3 hafta içerisinde ortaya çıkabilmektedir (Appel, 1987; Vandervelde ve Cachin, 1992). Her yaştan köpekte herhangi bulgu olsun olmasın nörolojik bulgular ortaya çıkabilir ve özellikle kronik hastalığı olan yaşlı köpekler için risk daha fazladır (6 yaş ve üzeri). Nörolojik komplikasyonlar virüsün merkezi sinir sisteminde (MSS) oluşturduğu yayılıma bağlı olarak değişir ve hiperestezi, servikal sertlik, çırpınma-nöbet, serebellar ve vestibüler bulgular ve sensorik ataksiyle ilişkili paraparezis or

tetraparezis gelişir. Güçlüü uyarıma bağlı kasların istemsiz kasıldığı myoklonus (sakız çiğneme benzeri harekete neden olur), CD için şüphe uyandırır ve ayaklarda hiperkeratoz ve optik nöritis, koyorenitis ve uveyitis tablosu da ayrıca gelişebilmektedir (Gelatt ve ark,1985). Hastalığa yakalanan genç hayvanlarda pnömoni, konjuctivits, rhinits ve tracheaitis gelişir. Akciğerler tipik olarak ödematöz haldedir ve mikroskobik olarak bronşiyollerde epitel tabakada kalınlaşmayla bronkointersitisyel pnömoni ile alveol duvarında kalınlaşma görülür (mclachlan ve Dubovi, 2011).

Klinik bulgular, etkenin vivrulasına, çevresel durumlara ve immuniteye ilişkili olarak gelişir. En çok etkilenen sistem ve organlar solunum, gastrointestinal sistem, deri ve merkezi sinir sistemidir. Difazik ateş ve genel durum bozukluğu viremiye bağlı olarak görülür. Lökopeniye ilişkin sekonder enfeksiyonlar yaygın olarak görülmektedir ve hastalığın seyrinin kötüleşireilmektedir (Gelatt ve ark,1985). KD konjuctivits, pnömoni, ishal, anoreksi ve şiddetli dehidrasyonun geliştirği ve solunum ve sindirim sisteminin etkilendiği bir hastalıktır. Nörolojik bulgular akut durumuhn düzelmesinden 1-3 hafta içerisinde ortaya çıkabilmektedir (Appel, 1987; Vandervelde ve Cachin, 1992). Her yaştan köpekte herhangi bulgu olsun olmasın nörolojik bulgular ortaya çıkabilir ve özellikle kronik hastalığı olan yaşlı köpekler için risk daha fazladır (6 yaş ve üzeri). Nörolojik komplikasyonlar virüsün merkesi sinir sisteminde oluşturduğu yayılıma bağlı olarak değişir ve hiperestezi, servikal sertlik, çırpınma-nöbet, serebellar ve vestibuler bulgular ve sensorik ataksiyle ilişkili paraparezis or tetraparezis gelişir. Güçlüü uyarıma bağlı kasların istemsiz kasıldığı myoklonus (sakız çiğneme benzeri harekete neden olur), CDV için şüphe uyandırır ve ayaklarda hiperkeratoz ve optik nöritis, koyorenitis ve uveyitis tablosu da ayrıca gelişebilmektedir (Gelatt ve ark,1985). Hastalığa yakalanan genç hayvanlarda pnömoni, konjuctivits, rhinits ve tracheaitis gelişir. Akciğerler tipik olarak ödematöz haldedir ve mikroskobik olarak bronşiyollerde epitel tabakada kalınlaşmayla bronkointersitisyel pnömoni ile alveol duvarında kalınlaşma görülür (mclachlan ve Dubovi, 2011).

2.2.5. Tanı

2.2.5.1. Fiziksel tanı

Evcil hayvanlarda, akut generalize enfeksiyonlarda genellikle anamnez, klinik bulgular vve aşılama geçmişinin olmamasıyla tanı koyulabilmektedir. Evcil olmayan hayvanlarda ise

klinik bulgular şüphe uyandırsa da diğer respiratorik, sindirim sistemi ve nörolojik bozukluklardan (kuduz, toxoplasma, kanin parvovirus, felin panlökopeni ya da zehirlenme gibi) ayırt edilmesi gerekmektedir. Ayaklarda, burunda ve göz kapaklarında hiperkeratoz dağgelincciği ve vizonda enfeksiyona bağlı olarak yaygın olarak görülür (Davidson, 1986; Pearson ve Gorham, 1987). Bazu türlerde de hastalık için çok şüpheli durumlar olsa da bazen bulgular nadir olarak ortaya çıkabilmektedir.

2.2.5.2. Laboratuvar bulguları

Benzer klinik bulgulara neden olan hastalıklardan ayrılması bakımında tanısal testlere başvurulması gerekmektedir. Etken izolasyonu da yapılabilmektedir (maclachlan ve Dubovi, 2011). Absolut lenfopeni, rejeneratif anemi, albumin düzeyinde azalma ve alfa-gama globulin düzeyinde artma meydana gelebilir (Greene ve Appel 1990; Swango, 1995).

Periferal kanda özellikle lenfositler boyanarak sitoplazmalarında inklüzyon çok az bir kısmında belirlenebilir. Inklüzyon cisimcikleri konjuktival sıvıdan yapılan smearda da elde edilebilir. Ayrıca, enfeksiyonun akut fazı dışında hem kanda hem de konjuktival örnekte bulunmayabilir. Thorasik radyografide interstisyel ya da alveolar yapılar tanı bakımında destekleyici olabilmektedir. Beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde protein düzeylerinde (>25 mg/dl) ve hücre miktarında (10 hücre/ml düzeyde predominant lenfosit varlığı) artış görülür ve yangıyla alakalı olarak basınç artışı da gerçekleşir. Anti-CDV antikor düzeyinin artışı da nörolojik enfeksiyonlar için bir belirteçtir. Kan-beyin bariyeri bozulmadığı sürece aşılınmış köpeklerde BOS içinde spesifik immünglobulin G bulunmaz. (Johnson ve ark, 1994)

ELISA ile de hastalığa karşı gelişen ıgg ve ıgm antikorları serum örneğinde belirlenebilir (). Immunglobulin g'nin tespit edilmesi farklı anlamlara da gelebilir ve aşılama ya da enfeksiyonun göstergesi olabilir. İmmuno histo-sito kimya da tanı bakımında yardımcı olabilir ve immunofloresens yöntemi de konjuciva, tonsilla, genital ve respiratorik epitel hücrelerinden alınan smear örnekleri bakımındda kullanışlı olur. Rutin hüre kültürlerinde CDV izolasyonu güç olabilir. Enfekte hayvanlardan virüs izolasyon yöntemi kullanılarak elde edilen hedef dokulardaki lenfosit ve makrofajlar belirlenebilir. Non-sitopatik olarak kültürde de 48-72 saat sonrasında da etkilenme olmaz ve floresent antikor testiyle CDV belirlenebilir (Appel,1987; Appel ve ark, 1992) ve polimeraz zincir reaksiyonu ile de CDV belirlenmesi ve ayırt edilebilirliği değerlendirilir (Haas ve ark, 1991).

2.2.6. Postmortem Bulgular

Enfeksiyon ile ilişkili lezyonlar evcill ve evcil olmayan köpeklerde benzerlik gösterir (Deem ve ark, 2000). Önemli benzer lezyonların lenfopoietik organlarda pnömonik tükenmesi ile burun, ayak tabanları ve göz kapaklarında hiperkeratozudur. Komplike olmayan vakalarda patolojik olarak değerlendirilebilecek bulgular arasında timus atrofisi vardır (Appel ve ark., 1994). Yaygın olarak görülen histolojik bulgular burun, ayak tabanları ve göz kapaklarında hiperkeratozu, bazı durumlarda bazı organlarda eozinofilik inklüzyon cisimciği (yaygın olarak sitoplazmiktir fakat nadiren de MSS, idrar kesesi ve bronşiyal epitellerde intranükleer) ve MSS'de demyelinizasyon ve nöronal dejenerasyon meydana gelen alanlarda lenfoplasmatik infiltrasyon görülmesidir. Sinsityal büyük hücreler akciğer ve MSS beyaz maddede, üveada ve lenf nodüllerinde bulunabilir. Evcil hayvanlarda histopatolojik bulgular tanımlanmış olsa da büyük kedilerin akciğerlerinde intrastoplazmik ve intranükleer viral inklüzyon cisimciğiyle yaygın tip 2 hücre hiperplazisi gelişir. Bu hücreler immunohistokimyasal boyamayla CDV antijeni için güçlü pozitifliğin göstergesidir. Hücresel yanıtın büyük kedilere özgü olduğu görülmektedir (Appel ve ark, 1994). Ayrıca, beyin dokularında yapılan histopatolojik incelemede astrositozis ve vasküler kaf ile tipik köpek modelleeme demyelinizasyonunda yoksun olabilir. Kedilerin çoğunda köpeklerle kıyasla hafif düzeyde seyrede. Enfeksiyonla ilişkili olarak şüpheli olan ölmüş hayvanlardan akciğer, karaciğer, lenf nodülleri, beyin ve dalaktan örnek alınarak PCR ve/veya virüs izolasyonu ile değerlendirilmelidir. Formalin ile fikse edilen dokular için immunhistokimyasal boyama ile CDV enfeksiyonu için kesin kanıt niteliğinde belirtiler elde edilir (Axthelm ve Krakowka, 1986).

2.2.7. Sağaltım

Sağaltım bağlamında spesifik bir uygulama yoktur fakat semptomatik ve destekleyici sağaltım uygulamaları uygulanır ve sekonder bakteriyel enfeksiyonlar önlenmeye çalışılır, sıvı dengesi sağlanır ve nörolojik bulgular kontrol altına alınmaya çalışılır. Geniş spektrumlu antibiyotikler, sıvı elektrolit dengesinin sağlanması, parenteral beslenme, antipiretikler, analjezikler ve antikonvulzanlar kullanılır ve uygun ve yeterli bakım koşulları sağlanmaya çalışılır (Creevy, 2013).

2.2.8. Koruma ve Kontrol

Hastalığa karşı korunmada en etkili yol aşılama ve evcil ve evcil olmayan köpekler için farklı aşılama yöntemleri bulunmaktadır (Deem ve ark, 2000). Günümüzde ticari olarak geliştirilen ve hastalığa karşı kullanılan modifiye canlı aşılama yöntemleri bulunmaktadır ve virüs bir dizi pasajlama işlemi takiben atenué edilmiştir. Bu aşılama ile yavru köpeklerde etkin bir immunité oluşturmak için maternal antikor ile etkileşimin olmaması gerekmektedir. Bu bağlamda yavruya 6 haftalıktan itibaren 16 haftalık yaşa kadar 3-4 hafta aralıklarla tekrarlayan şekilde aşılama yapılmalıdır (Creevy, 2013). Modifiye canlı virüs içeren bazı aşılama yöntemleri bulunmakta ve uygun ilkelere bağlı olarak uygulanmalıdır. Bu aşılama yöntemleri, bazı immünsupresif durumlarda hastalığa neden olabilmektedir ve evcil olmayan köpekler hastalığa karşı daha yatkın haldedir. Bu yüzden atenué aşılama yöntemleri evcil olmayan köpeklerde mümkün olduğunca kullanılmamalıdır.

Rekombinant kanaripoxvirüs aracılığıyla aşılama yöntemleri de bulunmaktadır ve canlı virüs içermediği için daha güvenli halde olup hastalığa neden olmazlar (Pardo ve ark, 1997). Virüs, çok kırılabilir yapıda olup; ultraviyole ışığa, ısıya, kurumaya ve yaygın dezenfektanlara (formaldehit ve kuarterner amonyum bileşikleri gibi) son derece duyarlıdır. Ayrıca, oda sıcaklığında birkaç saatten fazla yaşayamaz ve daha düşük sıcaklıklarda (~5 °C) en az birkaç hafta daha yaşabilmektedir. Enfekte hayvanlar, sağlıklılarından ayrılarak karantinaya alınmalı ve bu süreç virüs saçılımı da göz önüne alındığında 2-3 aya kadar sürdürülmelidir (Shen ve Gorham, 1980).

2.3. Köpeklerde Aşılama İlkeleri ve Bireysel Köpeklerin Aşılması

2.3.1. Temel Aşılama Programı

Aşılama İlkeleri Grubu (VGG), yavru köpeklerin özellikle küresel çapta öneme sahip hastalıklar bakımından Core aşı (mutlaka yapılması gerekli olan) ile aşılması gerektiğini düşünmektedir. Ülkeden ülkeye göre de bu programa değişim gösterebilir. Bu tipte aşılamanın örneği Kuduz için yapılan aşılama yöntemidir. Endemik seyrettiği için koruma ve kontrol bakımında tüm evcil ve yabani hayvanlara yapılmalı ve gerektiğinde de insanlara da yapılmalıdır (AAHA, 2003). Bazı ülkelerde Kuduz aşısı zorunlu olarak yapılması gereken aşılar arasındadır. Non-core aşılar ise yaşanan yere göre veya seyahat durumuna göre değişiklik

gösteren hallerde uygulanan aşılardır (AAHA, 2003). Bazı aşıların da yapılması bilimsel verilerin yetersiz olması sebebiyle Önerilmeyen Aşılar grubundadır.

2.3.2. Yavruların Aşılama ve 12 Aylık Booster Uygulanması

Yavruların çoğunda yaşamların ilk haftalarında maternal antikorlar tarafından koruma sağlanır. Genel olarak, bu durum aktif bağışıklılık sağlanmaya başlanana kadar yani 8-12 haftalık süreçlerde pasif bağışıklılık azalmaya başlar. Zayıf maternal antikor ile doğan yavrular daha çok savunmasız olur ve maternal antikor düzeyi yüksek olanlar ise 12 haftalık yaşa kadar güçlü bir immunizasyona sahip olur. Tüm bunlara bakarak tek tip aşılama programı uygun olmaz. Genel itibari Aşılama İlkeleri Grubu (VGG) 8-9 haftalıkken aşılamaya başlanarak 3-4 hafta aralıklarla 14-16 haftalık yaşa kadar son doz aşının yapılmasını önermektedir (Roth ve ark, 2001; AAHA, 2003). Bazı aşılar için hayvanların sosyalleşmesi bakımından 10 haftalık bitirme durumu söz konusu olup ikinci aşının 10 haftalık yaşta yapılması söz konusudur. Sağlıklı ve aşılanmış hayvanlarda temas etmesi ise korunmada önemli rol oynamaktadır. VGG, 14-16 haftalık yaşta son tekrar aşının yapılması (core aşı) bitirilmesini önerir (Pardo ve ark, 1997). İmmunolojik olarak, yavrulara yaşamlarının ilk yıllarında yapılan tekrarlayan aşılar güçlendirici olmaz. Daha çok, zayıflatılmış virüsü (modifiye edilmiş canlı virüs [MCV] aşıları), nötralize edici antikor içermeyen bir hayvana enjekte ederek birincil bir bağışıklık tepkisi indüklemeye girişimleri olup, burada bir antijen sunan hücre tarafından işlenmesi ve antijen spesifik T ve B lenfositlerin uyarımı sağlanır. İnaktive (ölü) aşılar ise, maternal antikorlar immunolojik olarak antijenlere bağlanabilir ve immunizasyonu etkileyebilir (Shedlock ve Weiner, 2000; Spickler ve Roth, 2003). Tüm köpekler için son tekrar aşıdan sonra yılda bir olacak şekilde tekrarlanması gerekir (Pastoret, 1999).

2.3.3. Yetişkin Köpeklerde Aşı Tekrarı

Modifiye canlı virüs core aşı (MCV) ile aşılanıp immunité sağlayan köpeklerde tekrarlanan aşı olmasa da uzun yıllar güçlü bir immunité gelişir. Senelik tekrar dönen aşılarla, özel durumlar yoksa en az 3 yılda bir aşılama yapılır. Bu durum inaktive core aşı ve isteğe bağlı yapılan özellikle bakteriyel antijen içeren aşılar geçerli değildir. Bu yüzden Leptospira,

Bordotella ve Borrelia (Lyme) gibi aşılar ve parainfluenza aşılarının güçlü bağışıklılık oluşturmaları için tekrarının daha sık aralıklarla yapılması gerekir. Bu yüzden, yetişkin köpeklerde yıllık tekrarlar yapılır ve bileşenler farklı olabilir (Spickler ve Roth, 2003). Tipik olarak, Core aşılar 3 yılda bir uygulanabilir ve Non-core aşılar ise yıllık olarak uygulanmalıdır. Gençken 12 aylık yaşa kadar uygun biçimde Core aşılar ile aşılanmış yetişkin köpeklerde bağışıklılığın artması için tek doz aşı yeterli olur (Greene, 1998).

2.3.4. Aşılamaya Karşı İmmunitenin Moniterizasyonu için Serolojik Testler

Antikor testleri kanin ditemper virüs (CDV), kanin parvovirüs-2 (CPV-2), kanin adenovirüs-1 (CAV-1) ve kuduz için immunitenin izlenmesi bakımından kullanışlı olabilir (Böhm ve ark, 2004). CDV ve CPV-2 için antikor değerlendirilmesi büyük yarar sağlamaktadır. Son yıllarda bu testler için bazı metodolojiler de geliştirilmiştir (Larson ve Schultz, 1996). Bazı ülkelerde seyahat durumlarında kuduz için antikor testi zorunluluğu da bulunmaktadır ve daha hızlı, ucuz ve güvenilir testlerin varlığında ise rutine girecek bir uygulama olacaktır (Neimeier-Forster, 2004). Negatif sonuçlar, aşının yetersiz olduğunu, aşılanmadığını ya da tekrar aşılanması gerektiğini belirtir. Bazı durumlarda da bu sonuç yanıltabilir ve tekrar aşı ya da yetersiz immunité gibi gereksiz durumlara yorumlanabilmektedir (Böhm ve ark, 2004). CDV ve CPV-2 için negatif sonucun testten bağımsız olarak antikor olmadığını ya da enfeksiyona duyarlı olduğunu gösterdiği göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan son aşının (14-16 haftalık yaşta) takip eden 2 hafta sonrasında alınan örnekle aşı için pozitiflik aranmalıdır (Böhm ve ark, 2004). Seronegatif durumlarda tekrar aşılama ve testin tekrarlanması gerekir. Eğer test tekrar negatif ise koruyuculuğun gelişmediği ve aşının çalışmadığı düşünülmelidir. Antikor testleri aşı antijeninin tanınarak immunitenin oluşmuş olmasının belirlenmesinde pratik bir yoldur. Bazı aşılar da bazı durumlara bağlı olarak başarısızlığa neden olur (Neimeier-Forster, 2004):

a. Maternal Antikorların Virüsü Nötralize Etmesi

En yaygın nedenler arasındadır ve son tekrar aşının yapıldığı 14-16 haftalık yaşta MDA en alt düzeylere inmiş olmalıdır ve aktif bağışıklılık için başarı sağlar (% 98) (Rikula ve ark, 2000).

b. Aşı Zayıf İmmunejeniktir

Bu durumda, aşının üretiminden hayvana yapılacak olann zamana kadar aradaki süreçte yer alan yetersizlikleri kapsar. Üretim hatası, yanlış taşıma ve depolama ve tarihin geçmiş olması bu nedenler arasındadır ve modifiye canlı virüs aşıları için inaktive olmasına neden olur (Rikula ve ark, 2000).

c. Hayvanda Oluşan Yanıt Yetersizdir (immun sistem tarafında tanınmaması)

Tekrar aşılamayı takiben antikor yanıtın gelişmemiştir ve bu durum göz önünde bulundurulmalıdır. Bazı türler bakımından genetik olarak da bu durum oluşabilir. Rottweiler ve Dobermanlarda bu durumun söz konusu olduğu düşünülmektedir özellikle CPV-2'ye karşı. Nedeninin ise genetik taşıyıcıların olmamasıdır ve antijenlere cevap gelişmeyebilir (Rikula ve ark, 2000).

2.3.5. Bağışıklılık Süresinin Belirlenmesinde (BSB) Serolojik Testlerin Kullanımı

Aşılama yapılan köpeklerin çoğunda serum antikor kalıcı olabilir (Core aşı antijenlerine karşı). İmmunolojik olarak, bu antikorların uzun süreli plazma hücre popülasyonunun fonksiyonunu yansıtır (Bellek etkili B hücreleri) (Tizard ve Ni, 1998; Twark ve Dodds, 2000). İmmunolojik yanıtın başlaması için aşılama gereklidir. Core aşılar için antikor varlığı ve koruyuculuk süresi arasında mükemmel bir korelasyon vardır ve BSB süreleri uzundur. Non-core aşılamalarda bu durum söz konusu olmayıp tekrarlama daha sık olmalıdır. Antikor testleri Core aşılama sonrası BSB'nin belirlenmesinde kullanılır (Twark ve Dodds, 2000). Köpeklerde CDV, CPV-2, CAV-1 ve CAV-2'ye karşı koruyucu antikor titresini 3 yıl ve üzerinde olduğu gösterilmiş ve deneysel çalışmalarla da bu durumun desteklemiştir (Pardo ve ark, 1997; Böhm ve ark, 2004). Bu nedenle test sonucu antikor bulunmamış ise tekrar aşılama yapılmalıdır (Cliquet, 1998). Diğer aşılamalar ile antikor düzeyinin belirlenmesi, içeren antikorların kısa ömürlü olması (Leptospira gibi) ile serum antikor ve koruma arasındaki korelasyonun eksik olmasına bağlı yetersizdir (Schultz ve ark, 2002). Tüm bu durumlara bakıldığında hem yavru hem yetişkin köpekler için maliyet ve güvenlik durumu göz önüne alınmalıdır.

2.3.6. Pasif İmmünizasyon

Aşılama enfeksiyöz hastalıklardan koruma sağlasa da pasif immunitenin hiperimmunserumunun bebeklerde antraks, botulismus ve kızıl hastalığı ile yetişkinlerde respiratorik sinsityal virüs, hepatitis A ve B, kabakulak, kızamık ve kuduza karşı korumada hatırı sayılır yeri vardır (Schultz ve Conklin, 1998; Abdelmagid ve ark, 2004). Viral enfeksiyonlar hem hücresel hem de humoral immunitiyi başlatsa da virüsün azalması ve ortadan kaldırılmasında esas rolü üstlenir. Bazı viral enfeksiyonlarda antikor düzeyi korumanın korelasyonu olarak ele alınır. Viremi süresince ortaya çıkmadan önce ya da enjente edilen antikorlar partiküllere tutunur ve enfeksiyonu nötralize ederek ortadan kaldırılmasını sağlar (Chappuis, 1995; Cliquet ve ark, 2003). Sağaltım amacıyla, serum ya da immunglobulinler derialtı olarak verilir ve hızlıca dolaşıma katılır. Beklenmedik şekilde, plazmanın intravenöz uygulanması (serum değil) da işe yaramaktadır fakat uygulama zorluğu bulunmaktadır. Kuduz için ısırılma sonrası insan immunglobulin uygulanması ile hızlı bir korunma sağlanabilmektedir (AAP, 1997). Yaranın olduğu yere ya da etrafına uygulanır ve aşı ile aynı ve yakın bölgeye yapılmalıdır (Greene, 1998). Koruyucu aktif immunizasyon olağan üstü durumlarda uygulanması gerekir (CDV, panlökopeni gibi). Serum ve immunglobulinler homolog veya heterolog kökenlidir ve serum veya immunglobulin fraksiyonlarından oluşur. Bu tür ürünler dikkatli şekilde kullanılmalıdır. Aynı ortamda barınan köpeklerde ortaya çıkan CDV enfeksiyonu için immun serum yerine aşılama daha doğru bir tercih olur. Böyle bir durumda Modifiye canlı aşıların derialtı-kasıçı yerine intravenöz olarak uygulanması önerilmektedir (Chappeus, 1995; Schultz, 2005). Bu uygulama ile hastalıklara karşı iyi düzeyde korunma ve ölümlere engel olma sağlar. Bu tür durumda aşı hastalığı engellemez sadece koruma sağlar (özellikle nörolojik olarak) ve bağışıklılık sağlanabilir. Felin panlökopeni virüs ve CDV enfeksiyonları ortaya çıktıktan sonra uygulanan hiperimmun serumların koruma sağlamadığı ve mortalite ve morbiditeye etki etmediği bildirilmektedir. Böyle durumlarda yaralı bir etkinin oluşması için klinik belirtilerin ortaya çıkmasından önce immun serum verilmesi gerekir (Miyamoto ve ark, 1995). Enfeksiyon sonrası 24-48 saat sonrasında veirilmesi daha uygundur ve antikor titresinin çok olması gerekir. Bazı durumlarda da enfeksiyonu atlatmış hayvanlardan ya da yakın zamanda aşılanan hayvanlardan serum toplanması yararlı olabilir. Bu uygulama bazı farklı hastalıklar da (kan paraziti ya da felin retrovirüsler) taşıyacağı için risk taşıyabilir (Bowman, 2004; Levy ve ark, 2005). Barınak şartlarında ya da birlikte barınma durumlarında hastalıkların kontrol altına alınması için serolojik tarama önemlidir. Serum antikor titresi belirlenmeli ve bağışık

olan ya da duyarlı olan hayvanlar belirlenebilir. Bazı durumlarda ötenazi de uygulanabilir. Mümkün değilse izolasyon uygulanmalı ve enfeksiyonun varlığı irdelenerek kesin sonuca göre ayrılmalı ya da terapötik destek sağlanmalıdır (Levy ve ark, 2005).

2.4. Probiyotik ve Vitamin D'nin İmmünite ile İlişkisi

2.4.1. Probiyotik, Prebiyotik ve Sinbiyotik Tanımı

Probiyotikler, genellikle konakçı üzerinde yaşayan ve yeterli düzeylerde alındığında konakçının sağlığı üzerine yararları olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca, bazı koşullar bakımından sağlamlık üzerine yararları tanımlanmamıştır fakat halen daha probiyotik terimi kullanılmaktadır. Küçük hayvanlar bakımından en uygun tanımlama sağlamlık durumunun gelişimini destekleyen canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanabilir. Konakçının çeşitli hücresel yapılarıyla etkileşim haline olan endojen ve eksojen bakteri türlerini kapsamaktadır.

Prebiyotikler ise; gastrointestinal mikrobiyotanın aktivitesi ve-veya yapısı bakımından spesifik değişikliklerle sonulanan seçili fermente yapılar olarak tanımlanır ve konakçıya yararı olan organizmalardır (Gibson ve ark, 2010; Roberfroid ve ark, 2010). Genel olarak prebiyotikler gastrointestinal sistem (GIS) tarafından tam olarak emilmeden geçen farklı boyutlardaki lifli yapılardır. Disakkaritler (laktuloz, tagatoz), oligo-polisakkaritler (fruktoz oligosakkarit –FOS), mannan oligosakkaritler (MOS), ksilooligosakkaritler, polidekstroz, glakto oligosakkaritler veya inülin gibi uzun zincirli probiyotikler bu lifli yapıları oluşturmaktadır (Hughes ve Rowland 2001; Ogu_e-Bon ve ark, 2010; Roberfroid ve ark, 2010; Koh ve ark, 2013).

Son olarak sinbiyotikler hem probiyotikleri hem de prebiyotikleri kombine olarak kapsayan yapılardır. Bu kavram, ilk olarak GIS'de diyetle beraber canlı mikrobiyal takviyelerinin uygulanması ve bunların hayatta kalmasıyla konakçının sağlık durumu üzerine yararlı etkileri olan pre-probiyotik karışımıdır ve konakçının refahının artırılmasından dolayı seçici olarak büyümeyi uyarmasıyla ve/veya sağlamlığı olumlu yönde etkileyen bakterilerin bir ya da sınırlı sayıda metabolizmasının aktivasyonu sağlanmasıyla yapmaktadır (Gibson ve Roberfroid 1995).

2.4.2. Probiyotiklerin Etkisi ve İmmunité

Probiyotikler antimikrobiyal yapıların üretimi (Jones ve Versalovic 2009), intestinal patojenlerle yer değıştirme (Lee ve ark, 2003), immun yanıtın arttırılması (Pagnini ve ark, 2010) ve/veya çeşitli metabolitleri desteklenmesi ile birlikte bu mekanizmalar ile mukozal bariyeri geliştirirerek sağlıklılık durumunu arttırmaktadır (Soo ve ark, 2008). İntestinal mukozaya uyum sağlamalarıyla etki etmesi veya mukus/müsin üretiminin arttırılmasıyla (Collado ve ark, 2007) patojen potansiyeline sahip mikroorganizmalar ile rekabet ederek etki edebilmektedir. Bu mekanizmalar suş spesifik olarak etki etmektedir ve bazı suşlar da mikrobiyotaya uyum kapasitesi arttırarak (örn. *L. rhamnosus* GG = LGG) etki etme özelliğine sahiptir (Collado ve ark, 2007b). Ayrıca probiyotik bakteriler yağ asidi, laktik asit ve asetik asit gibi antimikrobiyal yapıların üretimini gerçekleştirmektedir (Saarela ve ark, 2000). Bazı Laktobacillus türleri *Salmonella*, *E.coli* ya da *C. perfringens* tarafından toksik gen ekspresyonunu ve üretimini azaltmaktadır (Medellin-Peña ve ark, 2007; Allaart ve ark, 2011; Bayoumi ve Griffiths 2012) ya da ex vivo olarak proteaz üretimiyle toksinlerin inaktive edilmesidir (Castagliuolo ve ark, 1999).

Özellikle intestinal epitel hücreler (IECs) olmak üzere konakçının immun modülasyonu mikrobiyal hücre duvarı komponentleri, bunların metabolitleri veya DNA'ları tarafından da ortaya çıkabilmektedir (Oelschlaeger 2010; Thomas ve Versalovic 2010). Bu etkiler ya da modülasyon durumu tight junction varlığının korunması ve desteklenmesi, IECs'leri uzun ömürlü olması ve immunglobulin A (IgA) ve B-defensin üretiminin uyarılması gibi in vitro olduğu kadar hayvanlar üzerinde de denenen etkilere sahiptir (Oelschlaeger 2010; Thomas ve Versalovic 2010). Sağlam ve uygulanabilir olan bakteriler probiyotik etki içi gereklidir ve bu etkiler hücre duvarı komponentleri veya salgılanan çeşitli yapısal moleküller (peptit, lipopeptid ve lipopolisakkarit) tarafından düzenlenebilmektedir (Laukov_a ve ark, 2004). Çeşitli mekanizmalar çalışmaları nükleer faktör kappa Beta (NF-B), mitojen aktive edilmiş protein kinazlar, Akt/fosfatidil inositol-3kinaz ve transkripsiyon reseptör gammanın peroksizom proliferasyon-indüktör aktivatörü gibi kilit rol oynayan biyolojik sinyalizasyon sürecinin hem in vivo hem in vitro çalışmalarda probiyotiklerin ya da oluşturduğu metabolit-ürünlerin temel hedefidir (Thomas ve Versalovic 2010). Bu süreç; bireysel olarak farklı suşlar tarafından da düzenlenebilmektedir. Bazı türlerin bakteriyel suşları da dahil bu net suş-spesifik etki hücrel yanıtın farklılaşmasını değıştirebilmektedir. Örneğin; *Lactobacillus reuteri* (*Lb. reuteri*) aktivatör protein-1 (AP-1) üzerinden supresyona neden olarak in vitro koşullarda myeloid hücrelerden tumor nekrozis faktör alfa (TNF α) indüklü PS'yi inaktive edebilmekteyken başka

bir *Lb. reuteri* suşu TNFa indüklü LPS yapısını inhibe edemeyebilir (Lin ve ark, 2009). Spesifik probiyotik suşların hücresel düzeyde etkileşimi ile ilgili veriler birkaç derlemede özetlenmiştir (Oelschlaeger 2010; Thomas ve Versalovic 2010; Fijan 2014; Vitetta ve ark, 2014). İntestinal ve sağlıklılık açısından probiyotiklerin etkisi insanlarda ve insanlarda görülen hastalıklar için rodentlerde çalışılmıştır (Culligan ve ark, 2009) ve veteriner saha için ise bu veriler beşerî hekimlik kadar ayrıntılı ve fazla sayıda değildir (Callaway ve ark, 2008). Probiyotik ve prebiyotikler artan sıklıkla köpeklere uygulandığında sadece bazı araştırmalarda probiyotiklerin konakçı hücreleri, immun fonksiyonu veya intestinal mikrobiyal flora ile probiyotiklerin karmaşık yapısını incelemiştir (Garcia-Mazcorro ve ark, 2011). Bu in vivo çalışmaların çoğu köpeklerde yapılmıştır daha çok ex vivo çalışmalardır (Sauter ve ark, 2005; Schmitz ve ark, 2013, 2014).

Bakterilerin geniş skalada fazlası probiyotik olarak kullanılmaktadır özellikle en yaygın kullanılan suşlar *Lactobacilui* ve *Bifidobacteria* türleri kullanılmaktadır. Bir çalışmada probiyotik bakteriyel suşlarının hücre duvar komponentleri ile insan dentritik hücrelerine inkube edilmiş ve 4 *Laktobasüllus* ve 3 *Bifidobakteria* suşu ile bir tane de *Streptococcus* suşu kombine edilmiştir. Tüm *Bifidobakter* suşları 106-108 CFU düzeyde kanıta dayalı olarak doz-yanıt etkisiyle dentritik hücrelerde interlökin-10 (IL-10) üretimini uyarmıştır (Hart ve ark, 2004).

Probiyotikler spesifik immunitiyi pozitif yönde etkilemektedir. Probiyotiklerin seyahate bağlı ishal oluşumuna karşı oluşma durumunu azalttığı 12 denemenin yapıldığı meta-analiz çalışması mevcuttur (McFarland, 2007). Probiyotikler, immuniti ve egzersir ve *Laktobasillus asidophilus* ve *Bifidobakter bifidum* belirli düzeyde yarar sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca probiyotikler stres ilişkili gastrointestinal hastalıklarda da koruma sağlamaktadır.

2.4.3. Vitamin D ve İmmuniti

Vitamin D ile ilgili yapılan ik çalışmalarda immuniti üzerine T ve B hücrelerin vitamin D aktive edici enzim ile beraber nükleer vitamin D reseptörlerinin ekspresyonunu sağladığı gösterilmiştir (Provvedini ve ark, 1983). Özellikle, vitamin D reseptör (VDR) ekspresyonunun bu hücreler tarafından yapılması dinleme durumlarında çok olası olmamakla beraber aktivasyon ve proliferasyon üzerine T ve B hücreleri VDR ekspresyonunu önemli deerecede düzenlemekte ve çoğalmasını sağlayan 500'den fazla gen üzerine etkilidir (Lemire ve ark, 1984; Mahon ve ark, 2003; Chen ve ark, 2007). B hücrelerinde, farklılaşmanın, proliferasyonun

ve apoptozisin başlamasının inhibie edilmesi gibi kalsitriol'ün antirpoliferatif etkileri ve immunglobulin üretimini azalması T yardımcı (Th) hücreleri tarafından dolaylı yoldan düzenlendiği düşünülmektedir (Lemire ve ark, 1984). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda immunglobulin üreten B hücre apoptozisinin sağlanması gibi hafıza ve plazma hücre inhibisyonu gibi B hücre homeostazisi üzerine kalsitriol'ün direkt olarak etkisi bulunmaktadır (Chen ve ark, 2007; Mora ve ark, 2008; Baeke ve ark, 2010). B hücre aktivasyonu ve proliferasyonunun kontrolünün sağlanması olarak B hücre üreten otoantikor üretimi olan otoimmün hastalıklar bakımından klinik olarak önemlidir ve hastalıkların otoimmunitesinin patofizyolojisi bakımında önemli bir yere sahip olabilir. Bir diğer büyük adaktip immunité hücresi T hücreleri'dir. Farklı vitamin D türevlerinin immunomodülatör etkisini bakımından önemli hedef hücre pozisyonundadır. Vitamin D'nin T hücre üzerine 4 olası mekanizması bulunmaktadır (Weick, 1967):

1. Sistemik kalsitriol etkisiyle direkt T hücrelerine etkisi ve endokrin etkisi
2. T hücreleri tarafından direkt ve intrakrin olarak 25 (OH) vitamin D'nin kalsitriol'e dönüşümü
3. Monositik ya da dentritik hücrelerde 25 (OH) Vitamin D'nin kalsitriol'e dönüşümüyle beraber T hücre üzerine kalsitriol'ün parakrin etkisi, indirekt
4. Kalsitriol tarafından lokalize olmuş antijen sunan hücrelerin etkisiyle T hücre için antijen sunma indirekt etkisi

Vitamin D, proinflamatuvar durumdan kalsitriol'ün Th hücreleri baskılaması, farklılaşması ve sitoki üretimini düzenlemesi gibi immun durumu oluşturan T hücre alt tiplerinde çeşitli etkilere sahiptir (Lemire ve ark, 1985). Özellikle, kalsitriol ya da analogları ile T hücre'lerin iyileştirilmesi proinflamatuvar Th1 (IL-2, TNF- α), Th9 (IL-9) ve Th22 (IL-22) sitokinlerini inhibe ederken daha fazla antiinflamatuvar Th2 sitokin (IL-3, IL-4, IL-5 ve IL-10) üretimini de arttırır (Boonstra ve ark, 2001). IL-17 üreten Th 17 hücreleri de vitamin D düzeylerinden etkilenmektedir. Th 17 aktivitesinin baskılanması özellikle otoimmün hastalıkların sağaltımı bağlamında önemli rol oynamaktadır (Penna ve ark, 2006). Son yıllarda, kalsitriol'ün transkripsiyonel düzeyde IL-17 üretimini direkt olarak baskıladığı bulunmuştur (Joshi ve ark, 2011) ve aktive human-T hücrelerinin kalsitriol'le beraber düşük IL-17 düzeylerinde önemli artışlar oluşturduğu da bildirilmektedir (Jeffery ve ark, 2009). Benzer nitelikte çalışmalar, insan birincil T hücre kültürlerine bir kalsitriol ve IL2 kombinasyonu ekleyerek, düzenleyici T hücreleri (Tregs) için tipik genlerin artan ekspresyonunu içeren bir tolerojenik fenotipe yönelik bir değişikliği de ortaya koyulmuştur.

Tregs d.ğer immun hücrelerle birlikte proinflamatuvar yanıtı suprese etmekte ve otoimmun yanıtın şiddetlenmesini engellemektedir (Rudensky, 2011). Farklı vitamin D metabolitleri tarafından indüklenmektedir (Barrat ve ark, 2002).

Tregs, Vitamin D sağaltımıyla immature durumdayken dentritik hücre (DC) gruplarını da kapsayan antijen sunan hücreler (APC) tarafından indirekt olarak Vitamin D tarafından indükelnebilir. Direkt süreçte ise sistemik kalsitriol etkisi ya da Tregs tarafından 25 OH vitamin D'nin kalsitriol'e dönüşümünde rol oynar. Kalsitriol uygulanarak renal nakil yapılan durumlarda Tregs sayısını arttırır (Ardakan ve ark, 2007). Bugüne kadar vitamin D ve T hücre fonksiyonu üzerine yapılan çalışmalarda aktif kalsitriol ya da analogları üzerine bu hücrelerin yanıt durumuna odaklanılmıştır (jeffery ve ark, 2007; Baeke ve ark, 2011; Palmer ve ark, 2011). Burada, farklı T hücre alttiplerinin aktivitesi üzerine doğal formlarda vitamin D uygulanması konusunda eksiklikler bulunmaktadır (Ergo-/koleskalsiferol). Yapılmış bir çalışmada yüksek doz kolekalsiferol uygulanan hastalarda Tregs düzeylerinin önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Priehl ve ark, 2010; Bock ve ark, 2011). Vitamin sadece doğuştan kazanılan immunité üzerine değil adaptif immunité üzerine etki etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali ve Grupların Dizaynı

Araştırmanın hayvan materyalini Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi kliniklerine rutin aşılama talebi ile getirilen 55-65 günlük yaşta her iki cinsiyetten ve melez ırk köpekler (n=21) oluşturdu. Köpeklerin rutin klinik muayeneleri gerçekleştirildikten sonra antiparaziter sağaltımları gerçekleştirildi ve kombine karma aşılar ile aşılandı. Bu kapsamda rutin endoparaziter sağaltım amacı ile kombine endoparaziter ajanları içeren (Caniverm tablet, Bioveta, Türkiye) ve rutin aşılama amacı ile Vanguard 5L4 (Zoetis, Türkiye) kullanıldı.

Çalışma kapsamında üç grup oluşturuldu. Köpekler gruplara rastgele örnekleme meduna göre dağıtılarak her grupta (n=7) eşit sayıda hayvan olacak şekilde dağıtıldı. Grup 1 de bulunan köpeklere yalnızca ticari karma aşı uygulaması yapıldı ve aşı uygulamaları 3 doz olacak şekilde gerçekleştirildi. Grup 2 de bulunan köpeklere ise ilk aşı uygulaması ile birlikte Vitamin D ve *bifidobacterium animalis subs. lactis* BB-12 içeren (Bibac D3 damla, Danimarka) günde 6 damla olacak şekilde kullanıldı ve çalışma süresince söz konusu ilacın kullanımına devam edildi. Grup 3 de bulunan köpeklere ise aşılama prosedürünün başlaması ile birlikte yalnızca vitamin D₃ (Dvit 3 damla, Deva, Türkiye) kullanılarak aşılama protokolü boyunca günde 6 damla olacak şekilde kullanımına devam edildi.

Gruplara alınan hayvanlara ilk aşılamadan 21 gün aralıklarla 2. ve 3. karma aşıları (1. ve 2. rapel) uygulandı. Tez çalışması kapsamında değerlendirmeye alınan ve çalışmaya dahil edilen tüm hayvanlar hayvan sahiplerinin gönüllülük esasına dayanarak bilgi onam formlarının ve aydınlatıcı onamlarının alınmasını takiben gerçekleştirildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması

Çalışma kapsamında değerlendirmeye alınan köpeklerden *V.cephalica antebrahii* aracılığı ile her aşı uygulamasından önce alındı (Resim 1). Kan örnekleri her örneklemede 3

ml, toplamda da 9ml olacak şekilde antikoagulantlı (Li-heparin, EDTA) tüplere alındı. Alınan kan örneği 3000 devir/dk hızında, kan alım işleminin hemen akabinde santrifüj edilerek plazma örnekleri çıkarıldı ve antikor seviyelerinin belirlenmesi gerçekleştirildi.



Resim 1. Kan örneklerinin alınması işlemi

3.2.2. Laboratuvar Analizleri

Toplanan örnekler Bionote firmasına ait olan Vcheck marka cihaz ile söz konusu cihaza ait ticari test kitleri kullanılarak immunokromotografik ölçüm tekniği prensibi ile antikor titreleri belirlendi. Bu kapsamda üretici firmanın belirlediği kriterler kullanılarak analizler gerçekleştirildi. Kan örneklerinden elde edilen plazma cihaza ait özel bir mikropipet yardımı ile 5 μ L olacak şekilde alındıktan sonra analiz için özel olarak hazırlanmış sulandırma sıvısına alınarak gerekli karıştırma işlemi sağlandı. Akabinde hazırlanan karışımdan 100 μ L alınarak test kartuşunun örnek havuzuna aktararak 10 dakika beklenildi. Vcheck V200 cihazı çalıştırıldı ve yalnızca okuma seçeneği işaretlenerek ilgili parametrenin ölçümü sağlandı. Her iki hastalığa yönelik olarak antikor titrelerinin belirlenmesinde aynı prosedür gerçekleştirildi (Resim 2 ve Resim 3).



Resim 2. Analiz işlemleri ve sonuçların yapılışı



Resim 3. Test kartuşu ve analiz sulandırma sıvılarının görünümü.

Vcheck V200 analiz cihazının Köpek distemper virüsü ve Köpek parvovirüs enfeksiyonuna bağlı olarak immunitenin değerlendirilmesine yönelik olarak Tablo 1 ve Tablo 2' de belirtilen kriterlerin dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir.

Tablo 1. Köpek parvovirüs antikor yoğunluklarına göre immün durumun değerlendirilmesi.

Test Sonucu	Titre	İmmünite Durumu
Negatif (-)		
Düşük Titre (1)	CPV HI < 1:40	İmmünite zayıftır, aşılama gereklidir.
Düşük Titre (2)		
Orta Düzeyde Titre (3)	CPV HI 1:80	Koruyucu immünite vardır.
Orta Düzeyde Titre (3.5)	CPV HI 1:120	Bir yıl sonra immünite tekrar değerlendirilmelidir.
Yüksek Titre (4)		
Yüksek Titre (4.5)		
Yüksek Titre (5)	CPV HI > 1:160	İmmünite çok iyi bir şekilde gelişmiştir.
Yüksek Titre (5.5)		
Yüksek Titre (6)		

Tablo 2. Köpek Distemper Virüsü antikor yoğunluğuna göre immün durumun değerlendirilmesi.

Test Sonucu	Titre	İmmünite Durumu
Negatif		
Düşük Titre (1)	CDV VN < 1:16	İmmünite zayıftır, aşılama gereklidir.
Düşük Titre (2)		
Orta Düzeyde Titre (3)	CDV VN 1:32	Koruyucu immünite vardır.
Orta Düzeyde Titre (3.5)	CDV VN 1:48	Bir yıl sonra immünite tekrar değerlendirilmelidir.
Yüksek Titre (4)		
Yüksek Titre (4.5)		
Yüksek Titre (5)	CDV VN > 1:64	İmmünite çok iyi bir şekilde gelişmiştir.
Yüksek Titre (5.5)		
Yüksek Titre (6)		

Bu kapsamda çalışmamızda elde edilen immün durumların değerlendirilmesinde cihazda belirlenen kategorizasyon işlemlerinden ziyade antikor titrelerinin doğrudan sayısal değerler olarak değerlendirmeye alınması tercih edildi. Bununla birlikte istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi amacı ile tüm veriler Log_n tabanına göre transforme edildi. Her iki hastalık için belirlenen cut-off (eşik) değerleri için ise de benzer işlem uygulanarak eşik değerlerin logaritmik transformasyon sonrasındaki değerleri kullanılarak (parvovirüs için (1:80, 4,27) distemper virüsü için (1:32, 3,23) aşılama sonrasındaki immün durumların değerlendirilmesi gerçekleştirildi.

3.2.3. İstatistiksel Analiz

Gruplarda bulunan köpeklerin her iki hastalık yönünden antikor titreleri belirlendikten sonra değerler SPSS 22.0 (IBM, Amerika) programına aktarıldı. Verilerin sağlıklı bir istatistiksel değerlendirmesinin sağlanması amacı ile tüm gruplardaki ölçümlerin $\log_n$ tabanına göre transformasyon işlemleri gerçekleştirildi. Transforme edilmiş verilerin gruplar arasındaki farklılıklarının belirlenmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanıldı ve gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde Tukey testinden yararlanıldı. Elde edilen logaritmik değerler Geometrik ortalamaları ile %95 güven aralığı sınırları ile tablolandırıldı. Tüm analizlerde $P < 0,05$ değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Tez çalışması kapsamında değerlendirilen hayvanların aşılama prosedürlerinin başlamasından çalışmanın sonlandırıldığı tarihe kadar olan dönem içerisinde herhangi bir hastalık bulgusunun gelişmediği belirlendi. Bununla birlikte Vitamin D3 ve *Bifidobacterium animalis subs. lactis* kullanan ve aşılamaya devam edilen grupta bulunan hayvanların habituslarında belirgin bir farklılığın olduğu tüylerinin daha parlak, iştahlarının diğer gruplarda bulunan hayvanlara kıyasla daha güçlü olduğu belirlendi. Gruplarda bulunan köpeklerin hiçbirisinde aşılama sonrası herhangi bir anaflaksi ya da aşı bölgesi sarkomu gibi oluşumun şekillenmediği belirlendi.

4.2. Laboratuvar Bulguları

Tez çalışması kapsamında değerlendirilen hayvanların köpek distemper virüsü' ne bağlı 1.aşılama ve rapel uygulamalarından sonra şekillenen antikor yanıtı Tablo 3' te sunuldu.

Tablo 3. Aşılama sonrası Distemper virüsü antikor değişimleri (Log_n).

	Köpek Distemper Virüs Antikor (CI %)		
	<u>1. Aşılama</u>	<u>1. Rapel</u>	<u>2. Rapel</u>
Kontrol	1,21 (0,70-1,73)	2,60 (1,63-3,57)	3,81 (3,28-4,35)
Vitamin D3	1,09 (0,46-1,72)	2,38 (2,03-2,72)	3,66 (3,05-4,27)
Bibac D3	1,29 (0,35-2,23)	2,87 (2,30-3,45)	4,26 (4,02-4,50)

Antikor titrelerinin logaritmik transformasyonu sonrasında şekillenen dağılımları incelendiğinde 1. aşılama zamanında plazma antikor titrelerinin istatistiksel bir farklılığının bulunmadığı belirlendi. Gruplarda 1. rapel aşı uygulaması öncesinde alınan kan örnekleri incelendiğinde de benzer şekilde gruplar arasında anlamlı farklılığın bulunmadığı söz konusu durumun 2. rapelin gerçekleştirildiği zaman diliminde yapılan örneklemelerde de benzerlik gösterdiği belirlendi.

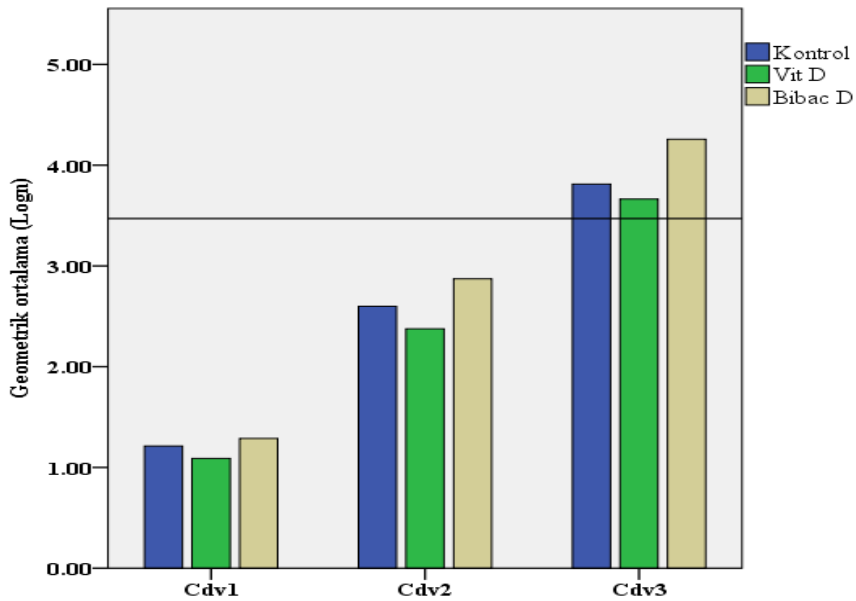
Tez çalışması kapsamında değerlendirilen hayvanların köpek parvo virüsü' ne bağlı 1.aşılama ve rapel uygulamalarından sonra şekillenen antikor yanıtı Tablo 4' te sunuldu.

Tablo 4. Aşılama sonrası Parvovirüsü antikorları değişimi (Log_n)

	Köpek Parvo Virüs Antikor (CI %)		
	1.Aşılama	1.Rapel	2.Rapel
Kontrol	3,17 (2,90-3,44)	5,08 (3,50-6,66)	6,20 (5,51-6,89) ^a
Vitamin D3	3,00 (3,00-3,00)	4,48 (2,65-6,31)	6,16 (5,54-6,79) ^a
Bibac D3	3,20 (2,90-3,51)	5,77 (4,49-7,05)	6,96 (6,47-7,44) ^b

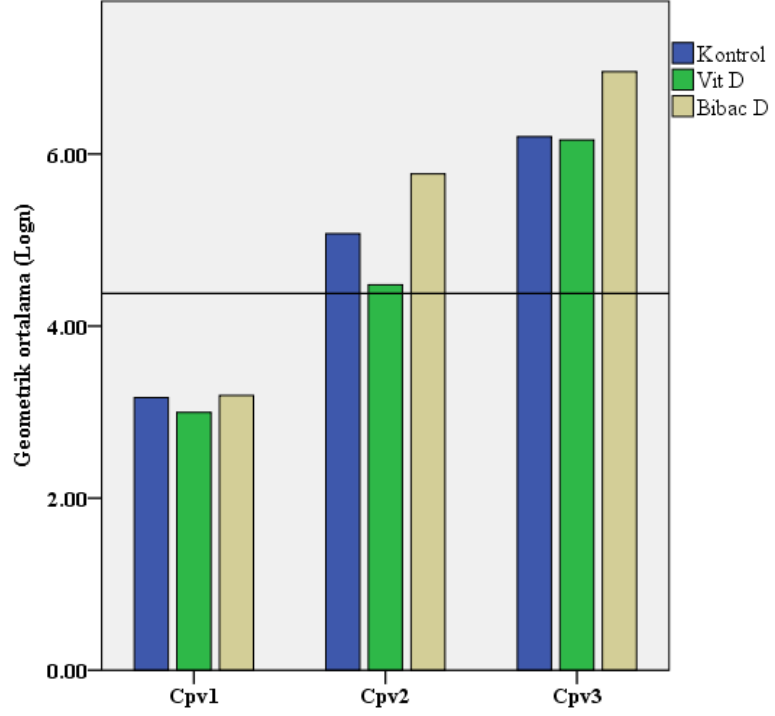
a,b: Aynı sütünde bulunan farklı harfler istatistiksel anlamlıdır (P<0,05)

Antikor titrelerinin logaritmik transformasyonu sonrasında şekillenen dağılımları incelendiğinde 1. aşılama zamanında plazma antikor titrelerinin istatistiksel bir farklılığının bulunmadığı belirlendi. Gruplarda 1. rapel aşı uygulaması öncesinde alınan kan örnekleri incelendiğinde de benzer şekilde gruplar arasında anlamlı farklılığın bulunmadığı ancak 2. rapelin gerçekleştirildiği zaman diliminde yapılan örneklemelerde ise vitamin D₃ ve *bifidobacterium animalis subs. lactis* kullanan hayvanların antikor titrelerinin yalnızca Vitamin D3 ve kontrol grubunda bulunan hayvanlara göre anlamlı düzeyde yüksek Distemper virüs antikor titresine sahip olduğu belirlendi.



Şekil 1. Köpek distemper virüs antikolarının seviyeleri

Hayvanların genel aşılama takipleri yapıldığında ölçüm için kullanılan cihazın belirttiği cut off değerine 2. rapel aşılama için kliniğe geldikleri dönemde ulaştıkları belirlendi (Şekil 1).



Şekil 2. Köpek parvovirüs virüs antikolarının seviyeleri

Köpek parvovirüsü yönünden gruplarda bulunan hayvanların antikor seviyelerinin takipleri dikkate alındığında söz konusu hayvanların 1.rapel uygulaması ile birlikte yeter seviyede antikor titresinin oluştuğu belirlendi (Şekil 2).

5. TARTIŞMA

Tarihsel değerlendirmeleri düşünüldüğünde Vitamin D' nin klasik fonksiyonları (kalsiyum, fosfor ve iskelet sistemi) üzerine araştırmalar (Szymczak ve Pawliczak, 2016; Altieri ve ark, 2017) özellikle veteriner hekimlikte yerini zamanla hastalıklardaki rolünün belirlenmesi üzerine değişim göstermiştir (Weidner ve Verbrugghe, 2017). Vitamin D' nin bilinen klasik etkilerinin yanında en önemli etkilerinin de immun sistem üzerine olduğu bilinmektedir (Penna ve Adorini, 2000; Szymczak and Pawliczak, 2016). Beşerî hekimlikte yapılan araştırmalar vitamin D' nin immun hücrelerdeki kemotaksi ve fagositoz gibi birçok durumu etkilediğini bunun yanında katherisin ve defensin gibi antimikrobiyal etkinliği bulunan proteinlerinde sentezinde artışlar meydana getirerek immun sistemin fonksiyonlarının güçlenmesine neden olduğu kanıtlamaktadır (Tokuda ve Levy, 1996; Chandravarthy ve ark, 2004; Gombart ve ark, 2005; Motlagh ve ark, 2015).

Beşerî hekimlikten ilham alınarak köpeklerde de benzer şekilde hastalıkların patogenezi içerisinde vitamin D'nin rolünün belirlenmesine yönelik araştırmalarda son yıllarda literatürde yerini bulmaktadır. Söz konusu araştırmalar ışığında da ulusal araştırma konseyi (NRC), Amerikan gıda kontrol ofisi birliği (AAFCO) ve Avrupa pet gıda kontrol endüstrisi federasyonu (FEDIAF) tarafından vitamin D' nin gıdalar içerisinde bulunması gereken miktarlarında görüş birliği sağlanmaya çalışılmaktadır. Ancak tüm bu araştırmalara ve tespitlere rağmen vitamin D üzerinde daha uzun yıllar çalışmaların yapılacağı öngörülmektedir (Weidner ve Verbrugghe, 2017).

Vitamin D reseptörleri birçok doğal ve kazanılmış bağışıklık hücreleri üzerinde bulunmakla birlikte B lenfositler, CD4, CD8, T lenfositler, dentritik hücreler, makrofajlar ve nötrofiller üzerinde bulunmaktadır (Yang ve ark, 2013; Lin ve Li 2016; Szymczak ve Pawliczak, 2016). Özellikle in vitro çalışmalar vitamin D' nin TLR4 üretimini baskıladığını ve lenfositlerden proinflatuvar sitokinlerin üretimini baskılayarak antienflatuvar bir etkinlik gösterdiğini göstermektedir (Villaggio ve ark, 2012; Harishankaar ve ark, 2014; Neve ve ark, 2014; Verma ve ark, 2014; Grubczak ve ark, 2015; Vang ve ark, 2015; Fitch ve ark, 2016). Hücresel düzeyde de Vitamin D CD4 + düzeylerindeki farklılaşmayı modüle ederek Th2 düzeylerini destekleyerek humoral bağışıklığın gelişimine katkıda bulunur, bununla birlikte Th-1 ve Th-17 seviyelerinde meydana getirdiği kısıtlama ile t hücrelerine dayalı otoimmunitenin azaltılmasına yardımcı olur

(Aranow, 2011). Tez çalışmamız kapsamında değerlendirilen hastaların bir grubunu oluşturan ve aşılama ile birlikte vitamin D uygulamasına maruz bırakılan köpeklerin distemper virüsü yönünden şekillenen antikorların seviyeleri incelendiğinde söz konusu gruplarda bulunan köpeklerde antikor seviyelerinde anlamlı bir düzeyde farklılığın meydana gelmediği görülmüştür. Aşılama protokolü düzeyinde yapılan bu takip dikkate alındığında immunitenin süresi ve ilerleyen haftalardaki antikor seviyelerinin de belirlenmesi ile farklılıkların çıkabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışma kapsamında değerlendirilen köpeklerin plazma vitamin D düzeylerinin ölçülmemiş olması araştırmanın kısıtlayıcı unsurları arasında yer aldığı düşünüldü. Benzer şekilde antikor seviyelerinin parvovirüs yönüyle değerlendirilmesinde ise gruplarda bulunan köpeklerin 1. rapel aşılamalarından önce yeterli antikor titresine ulaştığı ve bu kapsamda 2. rapelinde yapılan ölçümlerinde bibac D3 vitamini kullanan grupta bulunan hayvanların antikor seviyelerinin kontrol ve vitamin D gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi. Vitamin D uygulaması yapılan grup ile kontrol grubu arasında antikor seviyeleri yönü ile anlamlı bir farklılığa rastlanılmaması aşılama ile birlikte yalnızca vitamin d uygulamasının antikor titrelerinde pozitif yönlü bir çarpan şeklinde artış şekillendirmede yalnız başına yeterli olmadığını gösterebilir; daha geniş populasyonlar ile ileriki araştırmalar ile desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Yıllar içerisinde canlılardaki bağırsak mikrobiotası ile ilişkili temel düzeydeki araştırmaların zamanla klinik uygulamaları kapsayacak yönde değişim gösterdiği görülmektedir (Knight ve ark, 2018). Metagenomik, metabolik ve kültür temelinde yapılan araştırmalar sayesinde bağırsak mikrobiyotasının metabolik fonksiyonlar, sinir gelişimi ve immünolojik aktivite üzerinde önemli etkilerinin bulunduğunu belirlenmiştir (Shreiner ve ark 2015; Cho ve Blaser 2012). Farklı mikrobiyolojik analiz temelleri ile bifidobakteria türlerinin üzerinde yapılan fizyolojik ve biyokimyasal araştırmalar söz konusu bakteri ailesinin konak immun sistemi üzerinde olumlu etkilerinin bulunduğunu göstermektedir (Hidalgo-Catabrana ve ark 2017; Bottacini ve ark, 2017). Özellikle bifidobakterium ailesi soğuk kanlı hayvanlar ve hatta insektlere kadar birçok canlının parenteral yaşam dönemlerinde dahi bağırsak mikrobiyotası içerisinde bulunmaktadır (Bunesova ve ark, 2014; Milani ve ark, 2017). Özellikle neonatal yaşam dönemi göz önüne alındığında doğumdan itibaren bu dönemde bifidobakterium ailesinin kommensal bakteriler içerisinde ilk kolonizasyonlardan sorumlu olan bakteriler arasında bulunduğu belirlenmiştir. Bu kapsamda yapılan araştırmalarda da kabul gören genel ifadenin bifidobakterium ailesinin immun sistemin gelişmesinde, mukus bariyerinin üretiminde ve bağırsak lümeninde konakçı için yararlı glikanların sentezi gibi

birçok olumlu etki olduğu gösterilmektedir (Ventura ve ark, 2012). Sekans analizleri temelinde yapılan bir araştırmada bifidobakter ailesinin sahip olduğu geniş popülasyona bağlı olarak araştırmalarda diğer bakteri türlerine bağlı düşük sayıda olabileceği bu kapsamda sekans analizlerinde bifidobakterlerin değerlendirilmesinde alt türlerin belirlenerek yapılacak araştırmaların daha güvenilir olduğu belirtilmektedir. Aynı araştırmada köpeklerin 13 farklı çekirdek taksonomisine sahip olduğu bunlardan bazılarının, *Bifidobacterium magnum* (13.17 %), *Bifidobacterium longum subsp. longum* (11.30 %), *Bifidobacterium adolescentis* (5.82 %), 175 *Bifidobacterium bifidum* (3.86 %), *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (3.45 %) şeklinde olduğu belirtilmektedir (Alessandri ve ark, 2020). Tez çalışması kapsamında değerlendirilen köpeklere vitamin D₃ ve *bifidobacterium animalis subs. animalis* (bibac d3) kullanımına bağlı etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile uygulama gerçekleştirildi. Periferik kan mononükleer hücrelerin bifidobakterium türleri ile karşılaşmasının değerlendirildiği in vitro bir araştırmada aynı ortamda bifidobakterium ve laktobasil türlerinin monosit ve lökositlerden sitokinlerin salınımlarını uyardığını ve bu kapsamda söz konusu hücrelerin immun yanıtları üzerinde düzenleyici ve uyarıcı etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir. Yukarıda belirtilen araştırmada söz konusu değişimlerin IL-10 yönü ile artışlar buna karşın IL-12, IL-5 ve IL13 seviyelerinde ise azalmalar şeklinde gerçekleştiği; IL-10 seviyesindeki artışların da Th2 sitokinleri aracılığı ile pro-inflamatuvar sitokinlerden TNF alfa seviyelerinde de artış meydana getirdiği bildirilmektedir (Niers ve ark, 2005). *Bifidobacterium animalis* AHC7 suşu ile farelerde yapılan bir araştırmada enfeksiyon sonucu mukozada oluşan proinflatuar sitokin üretimine yanıt olarak proinflatuar transkripsiyon faktör aktivasyonunun zayıflatarak antiinflatuar etki gösterdiği belirtilmektedir (O'Mahony ve ark, 2010). Ayrıca *Bifidobacterium* türlerinin oral kullanımına bağlı olarak benzer antiinflatuar etkiler üzerinden influanza enfeksiyonlarında iyileştirici yönde etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir (Iwabuchi ve ark, 2011). Benzer şekilde influenza ile ilişkili yapılan başka bir araştırmada da bifidobakterium türlerinin humoral ve hücrel bağışıklığı Th1/Th2 dengesi üzerinden düzenleyerek etkili olduğu ortaya konmuştur (Mahooti ve ark, 2019).

Probiyotiklerin kolay buluna bilinir olması ve canlılara olumlu yöndeki etkilerinin yüksekliği ile son yıllarda beşerî hekimlik ve veteriner hekimlikte sağaltım ve profilaksi amacı ile yaygın kullanım alanı bulmaktadırlar. Özellikle aşı sonrası bağışıklığın değerlendirildiği çalışmalarda şekillenen farklılıklarında günümüzde coğrafik yerleşim, sosyoekonomik yapı, beslenme, hijyen koşulları gibi mikrobiyotayı doğrudan etkileyecek nitelikteki faktörlerin değişimine bağlı olarak şekillendiği belirtilmektedir (Velasquez ve ark, 2018). Son yıllarda aşı çalışmaları ile ilişkili olarak yapılan değerlendirmelerde yalnızca aşı

teknolojisindeki ilerlemelerin değil beraberinde immunitiyi doğrudan etkileyen mikrobiota değişimlerinin de büyük bir önem arz ettiğini hatta bu değişimlerin endojen adjuvant potansiyeli olarak nitelendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Nakaya ve ark, 2011; Oh ve ark, 2014). Bahsedilen tanımlamanın temellerini de farelerde yaptıkları aşı çalışmasında mikrobiota sayesinde “tool like reseptör 5” düzeylerinin söz konusu reseptöre sahip olmayan hayvanlarda bile mikrobiota sayesinde gerçekleştirilebildiği ve aşı sonrası immun yanıtı olumlu etkilerinin bulunduğunu belirterek atmışlardır. Huda ve ark, (2014), mikrobiyotanın aşı sonrası immun yanıtı üzerine yaptıkları kapsamlı bir araştırmada ise özellikle yeni doğanlarda bifidobakterium türlerinin predominant şekilde aşı sonrası immun yanıtı olumlu etkilerinin bulunduğunu, belirli hastalıklara karşı yapılan aşılama sonrasında CD4, CD8 T hücre proliferasyonlarında artışlar şekillendirmesi ile birlikte immunitede belirgin artışların ortaya çıktığını vurgulamaktadır. Sınırlı imkanlar dahilinde gerçekleştirdiğimiz tez çalışması kapsamında da multivalan aşılama sonrasında bifidobacterium ve vitamin D₃ uygulanan grupta bulunan köpeklerin 2. rapel dönemindeki antikör titrelerinin kontrol ve yalnızca vitamin D uygulaması yapılan köpeklere oranla anlamlı derecede yüksek bulunduğu tespit edildi. Bu durum beşerî hekimlikte ve laboratuvar hayvanları temelinde yapılmış olan diğer araştırmalar ile paralellik göstermekte iken söz konusu ilişkinin Distemper hastalığı antikörleri yönü ile benzerlik göstermediği tespit edildi. Multivalan aşılama sonrasında şekillenmesini beklediğimiz immun yanıtın derecesi yalnızca gastro intestinal mikrobiotanın durumu değil aynı zamanda çevresel ve aşı adjuvantlarına bağlı birçok nedenden etkilene bilmektedir (Velasquez ve ark, 2018). Aynı zamanda tez çalışmamız kapsamında sınırlı sayıda hayvan materyali ile çalışmış olmamızın da bu durumu etkileyen önemli faktörler arasında yer aldığı düşünmekteyiz. İlerleyen zamanlarda araştırmanın hipotezinin genişletilerek veteriner sahada kullanılan probiyotik ajanların farklı aşılama takvimleri ile daha geniş popülasyon ve parametreler ile desteklenmesinin aşı sonrası immun yanıtların daha hızlı ve güçlü şekillenmesini sağlayacak sonuçlar çıkaracağı kanaatindeyiz.

Parvovirüs ve distemper virüs enfeksiyonları köpeklerde yaygın bir şekilde hastalığa neden olan ve bu kapsamda ciddi kayıplara neden olan hastalıklar arasında yer almaktadır. Birçok ülkede ülkemizde de benzer şekilde olmak üzere söz konusu hastalıklara yönelik olarak kullanılan aşılama multivalan kombine aşılama şeklinde olduğu görülmektedir (Vasu ve ark, 2019). Söz konusu multivalan aşılama birçoğu genç yavruların 6 ila 8 haftalık döneminde başlanmakta olup 3-4 haftalık aralıklar ile tekrarlayan aşılama şeklinde olduğu ve köpeklerin 16 haftalık yaşa erişinceye kadar devam etmesi önerilmektedir. Sonrasında yeterli immunitenin sağlanması adına da söz konusu aşının yılda bir kez tekrarlanması hastalıklar

açısından korunmada yeterli olduğu belirtilmektedir (Kelly, 1978). Tez çalışmamız kapsamında değerlendirdiğimiz köpeklerle aşı üreticisi firmanın belirttiği şekle uygun olarak 9 haftalık yaştan küçük olmaları ve aşılama ile ilişkili rapellerinde 3 hafta ara ile yapılmasına dikkat edildi. Multivalan aşılamaların yapıldığı köpeklerin parvovirüs yönüyle antikor titrelerinin belirlendiği bir araştırmada tekrarlayan rapellerin yapıldığı köpeklerde yapılan aşılamalara bağlı olarak köpek parvovirüsü yönü ile 63.günde yeterli immunizasyona ulaştıkları ve tekli rapel uygulanan köpeklerle kıyasla antikor titrelerinin daha yüksek seyir ettiği belirtilmektedir (Vasu ve ark. 2019). Çalışmamız kapsamında kullanılan aşının immun yanıt açısından değerlendirildiği başka bir araştırmada ise söz konusu aşılama protokolü ile yaklaşık 48 aylık bir süre içerisinde köpeklerin immun halde kalabildiği ve bu kapsamda da bir yıllık aşılama tekrarları ile köpeklerin immun durumlarının stabillerinin sağlanabileceği gösterilmektedir (Mouzin ve ark, 2004). Benzer şekilde de araştırmamızdaki köpeklerin aşılama sonrası belirtilen araştırmalar ile paralel olarak hızlı bir antikor yanıtın geliştiği ve 2. rapelin yapıldığı süre içerisinde tüm köpeklerin immun olarak cut-off değerini geçtikleri görüldü. Ancak çalışmanın yalnızca aşılama dönemleri ile sınırlı tutulmuş olması ve gerek vitamin D gerekse de probiyotik takviyelerinin son aşılama ile sonlandırılmasının ardından köpeklerin immun durumların takip edilememesine bağlı olarak probiyotik ve vitamin D takviyesinin immun durumun süresi ile ilişkili yeterli bilgi sağlanamamıştır. Söz konusu durumun farklı çalışmalar ile desteklenerek değerlendirilmesinin gerektiği düşünüldü.

Aşı çalışmalarında immunitenin daha güçlü şekillenmesine yönelik olarak yapılan bilimsel araştırmaların özellikle aşılama protokolleri, adjuvant geliştirme ya da aşı suşları üzerine yoğunlaştırıldığı gözlemlenirken konağın durumunun değerlendirildiği ve konak üzerine yapılabilecek modifikasyonlar son yıllarda önem kazanmaya başlamıştır (Predrizet ve ark, 2019). Rutin aşılama prosedürleri içerisinde distemper virüsüne karşı immunitenin değerlendirildiği bir araştırmada geleneksel çin tıbbında kullanılan akupunktur yöntemi ile konağa yapılan uygulamaların uygulama yapılmayan kontrol grubuna göre 2 kata yakın daha yüksek antikor titrelerinin şekillenmesini sağladığı belirtilmektedir (Predrizet ve ark, 2019). Araştırmamızda da benzer şekilde probiyotiklerin aşı sonrası gelişen immun duruma kattığı olumlu yanıtların varlığı parvovirüs antikorları yönü ile görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında değerlendirilen hayvanların 2. rapel multivalan aşılama çalışmalarının yapılmadan öncesinde köpek parvo ve distemper virüslerine karşı yeter düzeyde antikor titresine sahip olduklarını ve köpek parvovirüsü açısından *Bifidobacterium animalis sub. animalis* ve vitamin D uygulaması yapılan gruptaki hayvanların antikor titrelerinin diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi.

Araştırmanın kısıtlayıcı unsurları göz önüne alındığında daha geniş bir popülasyon üzerinde daha uzun süreler ile antikor seviyelerinin takibinin yapıldığı çalışmaların, aşılama ile antijen sunumlarından ziyade aşılama hayvan açısından yapılacak girişimlere yön vereceği düşünüldü.

7. KAYNAKLAR

AAHA. American Animal Hospital Association Canine Vaccine Task Force. Report of the AAHA canine vaccine task force: executive summary and 2003 canine vaccine guidelines, recommendations. *Journal of American Animal Hospital Association* 2003, 39, 119–131.

Abdelmagid OY, Larson L, Payne L, Tubbs A, Wasmoen T, Schultz R. Evaluation of the efficacy and duration of immunity of a canine combination vaccine against virulent parvovirus, infectious canine hepatitis virus, and distemper virus experimental challenges. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine* 2004, 5, 173–186.

Appel M ve Summers BA. Pathogenicity of morbillivirus for terrestrial carnivores. *Veterinary Microbiology* 1995, 44, s 187-191.

Appel M, Meunier P, Pollock R, Greisen H, Carmichael L, Glickman L. Canine viral enteritis, a report to practitioners. *Canine Practice*, 1980, 7(4), 22–36.

Appel MJG, Pearce-Kelling S, Summers BA. Dog lymphocyte cultures facilitate the isolation and growth of virulent canine distemper virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1992, 4(3), s 258-263.

Appel MJG, Yates RA, Foley GL, Bernstein JJ, Santinelli S, Spelman KH, Miller LD, Arp LH, Anderson M, Barr M, Pearce-Kelling S, Summers BA. Canine distemper epizootic in lion's tigers, and leopards in North America. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1994, 6: 277–288.

Appel MJG. Canine distemper virus. *Virus Infections of Carnivores*, 1987, 133–159.

Aranow C. Vitamin D and the immune system. *Journal of investigative medicine*, 2011, 59(6), 881-886.

Axthelm MK ve Krakowka S. Immunocytochemical methods for demonstrating canine distemper virus antigen in aldehyde-fixed paraffin-embedded tissue. *Journal of virological methods* 1986, 13(3), 215–229.

Axthelm MK, Krakowka S. Canine distemper virus-induced thrombocytopenia. *American Journal of Veterinary Research* 1987, 48(8), 1269–1275.

Barbara A, Giovanna M, Luigi B, Chantal M, Carla VV, Luca M, Giorgia B, Vincenzo MA, Giacomo T, Giancarlo B, Silvia S, Nicola B, Cristina LR, Annamaria C, Alfredo P, Silvia DC. Does vitamin D play a role in autoimmune endocrine disorders? A proof of concept. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2017, 18(3), 335-346..

Bieringer M, Han JW, Kendl S, Khosravi M, Plattet P, Schneider-Schaulies J. Experimental adaptation of wild-type canine distemper virus (CDV) to the human entry receptor CD150. *PLoS One*, 2013, 8(3):e57488.

Binn LN, Lazar EC, Eddy GA, Kajima M. Recovery and characterization of a minute virus of canines. *Infection and Immunity*, 1970, 1(5):503–8.

Black JW, Holscher MA, Powell HS, Byerly CS. Parvoviral enteritis and panleukopenia in dogs. *Veterinary Medicine Small Animal Clinic* 1979, 74(1):47–50.

Boosinger TR, Rebar AH, DeNicola DB, Boon GD. Bone marrow alterations associated with canine parvoviral enteritis. *Veterinary Pathology*, 1982, 19(5):558–61.

Bottacini F, van Sinderen D, Ventura M. Omics of bifidobacteria: research and insights into their health -promoting activities. *Biochemical Journal* 2017, 474, 4137-4152.

Bowman D. Companion Animal Parasite Council Guidelines. North America Veterinary Conference, Orlando, 2004.

Böhm M, Thompson H, Weir A, Hasted AM, Maxwell NS. Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus, and distemper. *Veterinary Record*, 2004, 154(15), 457–462.

Broek AH. Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. *British Veterinary Journal* 1990, 146(3):255–9.

Brunner CJ, Swango LJ. Canine parvovirus infection: effects on the immune system and factors that predispose to severe disease. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1985, 7(12):979–88.

Bunesova V, Vlkova E, Rada V, Killer J, Musilova S. Bifidobacteria from the gastrointestinal tract of animals: differences and similarities. *Benef Microbes*, 2014, 5, 377 - 88. 7.

Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A, Maria T, Alessandra C, Domenico B, Giancarlo B, Gabriella E, Nicola D, Leland C. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *Journal of General Virology*, 2001, 82(12):3021–5.

Carré, H. Sur la maladie des chiens. 1905.

Chandra, G, Selvaraj P, Jawahar MS, Banurekha VV, Narayanan PR. Effect of vitamin D 3 on phagocytic potential of macrophages with live Mycobacterium tuberculosis and lymphoproliferative response in pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical Immunology*, 2004, 24(3), 249-257.

Chappuis G. Control of canine distemper. *Veterinary Microbiology*, 1995, 44, 351–358.

Cho I ve Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2012, 13, 260–270.

Cliquet F, Aubert M, Sagne L. Development of a fluorescent antibody virus neutralization test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralizing antibody. *Journal of Immunology Methods*, 1998, 212, 79–87.

Cliquet F, Verdiler Y, Sagne L, Aubert M, Schereffer JL, Selve M, Wasniewski M, Servat A. Neutralizing antibody titration in 25,000 sera of dogs and cats vaccinated against rabies in France, in the framework of the new regulations that offer an alternative to quarantine. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 2003, 22, 857–866.

Cohn LA, Rewerts JM, McCaw D, Boon GD, Wagner- Mann C, Lothrop Jr CD. Plasma granulocyte colony-stimulating factor concentrations in neutropenic, parvoviral enteritis-infected puppies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1999, 13(6):581–6.

Creevy KE. Overview of Canine Distemper. In: Aiello, Moses SE and Kenilworth MA. (Eds.), *The Merck Veterinary Manual*. New Jersey, 2013, 22-54.

Davidson M. Canine distemper, virus infection in the domestic ferret. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 1986, 8, 448–453.

Decaro N, Desario C, Addie DD, Vito M, Maria JV, Gabriella E, Angelique Z, Christopher D, Gertrude T, Ethienne T, Uwe T, Canio B. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerging infectious diseases*, 2007, 13(8):1222–4.

Decaro N, Martella V, Desario C, Bellacicco AL, Camero M, Manna L, D'Aloja D, Buonavoglia C. First detection of canine parvovirus type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. *Journal of Veterinary Medicine, Series*, 2006, 53(10):468–72.

Deem SL, Spelman LH, Yates RA, Montali RJ. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *Journal of Zoo and Wildlife medicine*, 2000, 31(4), 441-451.

Fitch N, Becker AB, HayGlass KT. Vitamin D [1,25(OH)₂D₃] differentially regulates human innate cytokine responses to bacterial versus viral pattern recognition receptor stimuli. *Journal of Immunology* 2016, 196, 2965–2972.

Gelatt KN, Whitley D, Samuelson DA, Garcia-Sanchez G. Ocular manifestations of viral diseases in small animals. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 1985, 7, 968–976.

Giulia A, Christian, Leonardo M, Giulia L, Rosaria A, Gabriele AL, Sabrina D, Francesca T, Maria CO, Douwe van S, Marco V. Deciphering the Bifidobacterial Populations within the Canine and Feline Gut Microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(7).

Glickman LT, Domanski LM, Patronek GJ, Visinfainer F. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 1985, 187(6):589–94.

Goddard A, Leisewitz AL, Christopher MM, Duncan NM, Becker PJ. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008, 22(2): 309–16.

Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃. *The FASEB Journal* 2005, 19(9), 1067-1077.

Greene CE, Schultz RD. Immunoprophylaxis and immunotherapy. In: Greene CE. (Edt), *Infectious Diseases of the Dog and Cat* 3 rd, Philadelphia, WB Saunders, 2005:1069–1119.

Greene CE. Immunoprophylaxis and immunotherapy. In: Greene CE. (Edt), *Infectious Diseases of the Dog and Cat* 2 nd, Philadelphia, WB Saunders, 1998, 723–744.

Greene CE. Immunoprophylaxis and immunotherapy. In: Greene CE. (Edt), *Infectious Diseases of the Dog and Cat* 2 nd, Philadelphia, WB Saunders, 1998, 717–750.

Greene GE, Appel MJ. Infectious Diseases of The Dog And Cat. In: Greene CR. (Edt), *Saunders Philadelphia, Pennsylvania*, 1990, 226–241.

Griffin DE. Measles Virus. In: Knipe DM. (Edt), *In Fields Virology*, 4 th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001, 1401-1441

Grubczak K, Lipinska D, Eljaszewicz A, Singh P, Radzikowska U, Miklasz P, Dabrowska M, Jablonska E, Bodzenta-Lukaszyk A, Moniuszko M. Vitamin D₃ treatment decreases frequencies of CD16-positive and TNF α -secreting monocytes in asthmatic patients. *International Archive of Allergy and Immunology*, 2015, 166, 170–176.

Haas L, Subbarao SM, Harder TG., Liess B, Barrett T. Detection of phocid distemper virus RNA in seal tissue using slot hybridization and the polymerase chain reaction: genetic evidence that the virus is distinct from canine distemper virus. *Journal of general virology* 1991, 72(4), 393–398.

Harishankar M, Afsal K, Banurekha VV, Meenakshi N, Selvaraj P. 1,25-Dihydroxy vitamin D₃ downregulates pro-inflammatory cytokine response in pulmonary tuberculosis. *Intenational Immunopharmacogyl*, 2014, 23, 148–152.

Heald RD, Jones BD, Schmidt DA. Blood gas and electrolyte concentrations in canine parvoviral enteritis. *Journal of The American Animal Hospital Association*, 1986, 22(6):745–8.

Hidalgo-Cantabrana C, Delgado S, Ruiz L, Ruas-Madiedo P, Sánchez B, Margolles A. Bifidobacteria and their health- promoting effects. *Bugs as Drugs: Therapeutic Microbes for the Prevention and Treatment of Disease*, 2018, 73-98.

Hong C, Decaro N, Desario C, Tanner P, Pardo MC, Sanchez S, Bounavoglia C, Saliki JT. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2007, 19(5):535–9.

Hoskins JD. Update on canine parvoviral enteritis. *Veterinary Medicine* 1997, 92(8):694–709.

Houston DM, Ribble CS, Head LL. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *Journal of The American Animal Hospital Association*, 1996, 208(4): 542–6.

Huda, MN, Lewis Z, Kalanetra KM, Rashid M, Ahmad SM, Raqib R, Firdausi Q, Mark AU, David AM, Charles BS. Stool microbiota and vaccine responses of infants. *Pediatrics*, 2014, 134, 362–372.

Isogai E, Isogai H, Onuma M, Mzukoshi N, Hayashi M, Namioka S. Escherichia coli associated endotoxemia in dogs with parvovirus infection. *The Japanese Journal of Veterinary Science* 1989, 51(3):597–606.

Iwabuchi N, Xiao JZ, Yaeshima T, Iwatsuki K. Oral administration of Bifidobacterium longum ameliorates influenza virus infection in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2011, 34(8), 1352-1355.

Jacobs RM, Weiser MG, Hall RL, Kowalski JJ. Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. *Journal of The American Animal Hospital Association* 1980, 16(6):809–14.

Johnson MR, Boyd DK, Pletscher DH. Serologic investigations of canine parvovirus and canine distemper in relation to wolf (Canis lupus) pup mortalities. *Journal of Wildlife Diseases*, 1994, 30, 270–273.

- Johnson N, Mansfield KL, Marston DA, Wilson C, Goddard T, Selden D.** A new outbreak of rabies in rare Ethiopian wolves (*Canis simensis*). *Archives of virology*, 2010, 155(7), 1175–1177.
- Johnson RH, Smith JR.** Epidemiology and pathogenesis of canine parvovirus. *Australian Small Animal Veterinary Association*, 1983, 13(1):31.
- Kelly WR.** An enteric disease of dogs resembling feline panleukopenia. *Australian Veterinary Journal* 1978, 54(12), 593.
- Knight R, Vrbancic A, Taylor BC, Aksenov A, Callewaert C, Debelius J, Gonzalez A, Kosciolk T, McCall L-I, McDonald D, Alexey VM, James TM, Jose N, Robert AQ, Jon GS, Austin DS, Luke RT, Anupriya T, Zhenjiang ZX, Jesse RZ, Qiyun ZJ. Gregory C, Pieter CD.** Best practices for analysing microbiomes. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 6, 410–422.
- Koutinas AF, Baumgärtner W, Tontis D, Polizopoulou Z, Saridomichelakis MN, Lekkas S.** Histopathology and Immunohistochemistry of Canine Distemper Virus-induced Footpad Hyperkeratosis (Hard Pad Disease) in Dogs with Natural Canine Distemper. *Veterinary Pathology*, 2004, 41, 2–9
- Krakowka S, Hoover EA, Koestner A, Ketring K.** Experimental and naturally occurring transplacental transmission of canine distemper virus. *American Journal of Veterinary Research*, 1997, 38, 919–922.
- Lamm CG ve Rezabek GB.** Parvovirus infection in domestic companion animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2008, 38(4):837–50.
- Larson LJ, Schultz RD.** High-titer canine parvovirus vaccine: serologic response and challenge-of-immunity study. *Veterinary Medicine*, 1996, 91, 210–218.
- Laurenson MK, Sillero-Zubiri C, Thompson H, Shiferaw F, Malcolm JR.** Disease threats to endangered species: patterns of infection by canine pathogens in Ethiopian wolves (*Canis simensis*) and sympatric domestic dogs. *Animal Conservation*, 1998, 1, 273–280.

Levy SA, Clark KK, Glickman LT. Infection rates in dogs vaccinated and not vaccinated with an OspA *Borrelia burgdorferi* vaccine in a *Lyme* disease-endemic area of Connecticut. *International Journal of Applied Research* 2005, 3, 1–5.

Lin Z ve Li W. The roles of vitamin D and its analogs in inflammatory diseases. *Current topics in medicinal chemistry*, 2016, 16, 1242–1261.

Macartney L, McCandlish IA, Thompson H, Cornwell HJ. Canine parvovirus enteritis 1: clinical, haematological and pathological features of experimental infection. *The Veterinary Record*, 1984, 115(9):201–10.

Macartney L, McCandlish IAP, Thompson H, Cornwell HJ. Canine parvovirus enteritis. 2. Pathogenesis. *The Veterinary Record*, 1984, 115(18):453–60.

Macintire DK, Smith-Carr S. Canine parvovirus. Part II. Clinical signs, diagnosis, and treatment. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1997, 19(3):291–302.

MacLachlan NJ ve Dubovi EJ. Fenner's Veterinary Virology. London, UK: Academic Press, London, UK, 2011.

Mahooti M, Abdolalipour E, Salehzadeh A, Mohebbi SR, Gorji A, Ghaemi A. Immunomodulatory and prophylactic effects of *Bifidobacterium bifidum* probiotic strain on influenza infection in mice. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2019, 35(6), 91.

Mann FA, Boon GD, Wagner-Mann CC, Ruben DS, Harrington DP. Ionized and total magnesium concentrations in blood from dogs with naturally acquired parvoviral enteritis. *Journal of The American Animal Hospital Association* 1998, 212(9):1398–401.

Marino J, Sillero-Zubiri C, Gottelli D, Johnson P, Macdonald DW. The fall and rise of Ethiopian wolves: lessons for the conservation of long-lived, social predators. *Animal Conservation*, 2013, 16, 621– 632.

Mazzaferro EM, Rudloff E, Kirby R. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2002, 12(2):113–24.

Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Lanieu ME, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. *Veterinary Pathology*, 1985, 22(6):617–24.

Meunier PC, Cooper BJ, Appel MJ, Lanieu ME, Slauson DO. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. *Veterinary Pathology*, 1985, 22(1):60–71.

Milani C, Mangifesta M, Mancabelli L, Lugli GA, James K, Duranti S, Turrone F, Ferrario C, Ossiprandi MC, van Sinderen D, Ventura M. Unveiling bifidobacterial biogeography across the mammalian branch of the tree of life. *The ISME Journal*, 2017, 11(12), 2834 -2847.

Miyamoto T, Taura Y, Une S, Yoshitake M, Nakama S, Watanabe S. Immunological responses after vaccination pre- and post-surgery in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* 1995, 57(1), 29–32.

Motlagh BM, Ahangaran NA, Froushani SMA. Calcitriol modulates the effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on macrophage functions. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2015, 18(7), 672.

Mouzin DE, Lorenzen MJ, Haworth JD, King VL. Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2004, 224(1), 55-60.

Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. San Diego, Calif: Academic Press. *Veterinary Virology*, 1999.

Nakamura M, Tohya Y, Miyazawa T, Mochizuki M, Phung HTT, Nguyen NH, Huynh LMT, Nguyen LT, Nguyen PN, Nguyen NPT, Akashi H. A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. *Archives of Virology*, 2004, 149(11):2261–9.

Nakaya HI, Wrammert J, Lee EK, Racioppi L, Marie-Kunze S, Haining WN, Anthony RM, Sudhir PK, Nooruddin K, Gui-Mei L, Megan MC, Vibhu K, Kenneth EK, Shuzhao L, Rivka E, Aneesh KM, Alan A, Kanta S, Rafi A, Bali P. Systems biology of vaccination for seasonal influenza in humans. *Nature Immunology*, 2011, 12, 786–795.

- Nappert G, Dunphy E, Ruben D, Mann FA.** Determination of serum organic acids in puppies with naturally acquired parvoviral enteritis. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2002, 66(1), 15-18
- Neimeier-Forster M.** Duration of immunity study in dogs as determined by serologic testing of canine distemper, parvovirus and rabies. Thesis, Vetsuisse University, Berne, Switzerland 2004.
- Neve A, Corrado A, Cantatore FP.** Immunomodulatory effects of vitamin D in peripheral blood monocyte-derived macrophages from patients with rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Medicine*, 2014, 14, 275–283.
- Niers LE, Timmerman HM, Rijkers GT, van Bleek GM, van Uden NO, Knol EF, Kapsenberg ML, Kimpfen JLL, Hoekstra MO.** Identification of strong interleukin- 10 inducing lactic acid bacteria which down- regulate T helper type 2 cytokines. *Clinical and Experimental Allergy*, 2005, 35(11), 1481-1489.
- Noon KF, Rogul M, Binn LN, Keefe TJ, Marchwicki RH, Appel MJ.** Enzymelinked immune sorbent assay for evaluation of antibody to canine distemper virus. *American Journal of Veterinary Research* 1980, 41, 605–609.
- O'Brien SE.** Serologic response of pups to the low-passage, modified-live canine parvovirus-2 component in a combination vaccine. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 1994, 204(8):1207–9.
- O'Sullivan G, Durham PJ, Smith JR, Campbell RSF.** Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. *Australian Veterinary Journal*, 1984, 61(1):1–4.
- Oh JZ, Ravindran R, Chassaing B, Carvalho FA, Maddur MS, Bower M, Hakimpour P, Gill KP, Nakaya HI, Yarovinsky F, Sartor RB, Gewitz AT, Pulendran B.** TLR5-mediated sensing of gut microbiota is necessary for antibody responses to seasonal influenza vaccination. *Immunity*, 2014, 41(3), 478–492.
- O'Mahony D, Murphy S, Boileau T, Park J, O'Brien F, Groeger D, Konieczna P, Ziegler M, Scully P, Shanahan F, Kiely B, O'Mahony L.** Bifidobacterium animalis AHC7 protects against pathogen-induced NF- κ B activation in vivo. *BMC Immunology*, 2011, 11(1), 63.

Osterhaus AD, de Swart RL, Vos HW, Ross PS, Kenter MJ, Barrett T. Morbillivirus infections of aquatic mammals: newly identified members of the genus. *Veterinary Microbiology*, 1995, 44(2-4), 219–227.

Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine distemper virus with the intact C protein has the potential to replicate in human epithelial cells by using human nectin4 as a receptor. *Virology*, 2013, 435(2), 485-492.

Otto CM, Drobatz KJ, Soter C. Endotoxemia and tumor necrosis factor activity in dogs with naturally occurring parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 1997, 11(2): 65–70.

Otto CM, Rieser TM, Brooks MB, Russel MW. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 2000, 217(10):1500–4.

Panda D, Patra RC, Nandi S, Swarup D. Oxidative stress indices in gastroenteritis in dogs with canine parvoviral infection. *Research in Veterinary Science*, 2009, 86(1):36–42.

Pardo MC, Bauman JE, Mackowiak M. Protection of dogs against canine distemper by vaccination with a canarypox virus recombinant expressing canine distemper virus fusion and hemagglutinin glycoproteins. *American Journal of Veterinary Research* 1997, 58(8), 833–836.

Pardo MC, Bauman JE, Mackowiak M. Protection of dogs against canine distemper by vaccination with a canarypox virus recombinant expressing canine distemper virus fusion and hemagglutinin glycoproteins. *American Journal of Veterinary Research* 1997, 58, 833–836.

Parrish CR, Have P, Foreyt WJ, Evermann JF, Senda M, Carmichael LE. The global spread and replacement of canine parvovirus strains. *Journal of General Virology* 1988, 69(5):1111–6.

Pastoret PP. Veterinary vaccinology. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 1999, 322(11), 967–972.

Pe´rez R, Francia L, Romero V, Maya L, Lopez I, Hernandez M. First detection of canine parvovirus type 2c in South America. *Veterinary Microbiology*, 2007, 124(1):147–52.

Pearson RC ve Gorham RJ. Canine distemper virus. In: Appel, MJ. (Edt) *Virus Infections of Carnivores*, New Yoek, Elsevier Science Publishers, 1987, 371– 378.

Penna G ve Adorini L. 1α , 25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *The Journal of Immunology* 2000, 164(5), 2405-2411.

Perdrizet JA, Shiau DS, Xie H. The serological response in dogs inoculated with canine distemper virus vaccine at the acupuncture point governing vessel-14: A randomized controlled trial. *Vaccine*, 2019, 37(13), 1889-1896.

Pollock RV ve Carmichael LE. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. *Journal of The American Animal Hospital Association* 1982, 180(1):37–42.

Pollock RV ve Coyne MJ. Canine parvovirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 1993, 23(3):555–68.

Pollock RV. The parvoviruses. I. Feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1984, 6(3):227–41.

Pollock RV. The parvoviruses. II. Canine parvovirus. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1984, 6(7):653–64.

Potgieter LN, Jones JB, Patton CS, Webb-Martin TA. Experimental parvovirus infection in dogs. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1981, 45(3):212–6.

Potgieter LND ve Ajidagba PA. Quantitation of canine distemper virus and antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays using protein A and monoclonal antibody capture. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1989, 1, 110–115.

Prittie J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2004, 14(3):167–76.

Qiu W, Zheng Y, Zhang S, Fan Q, Liu H, Zhang F, Wang W, Liao G, Hu R. Canine distemper outbreak in rhesus monkeys, China. *Emerging Infectious Diseases*, 2011, 17(8), 1541 1543.

Rai A, Nauriyal DC. A note on acid-base status and blood gas dynamics in canine parvoviral gastroenteritis. *Indian Journal of Veterinary Medicine* 1992, 12(2):87–8.

Rikula U, Nuotio L, Sihvonen L. Canine distemper virus neutralizing antibodies in vaccinated dogs. *Veterinary Record*, 2000, 147, 598–603.

Robinson WF, Huxtable CR, Pass DA, Howell JM. Clinical and electrocardiographic findings in suspected viral myocarditis of pups. *Australian Veterinary Journal*, 1979, 55(8):351–5.

Robinson WF, Huxtable CR, Pass DA. Canine parvoviral myocarditis: a morphological description of the natural disease. *Veterinary Pathology*, 1980, 17(3):282–93.

Roth JA ve Henderson LM. New technology for improved vaccine safety and efficacy. *Veterinary Clinical North American Food Animal Practice*, 2001, 17, 585–597.

Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. *Journal of Virology*, 2013, 87(12), 7170-7175.

Schoeman JP ve Herrtage ME. Serum thyrotropin, thyroxine and free thyroxine concentrations as predictors of mortality in critically ill puppies with parvovirus infection: a model for human paediatric critical illness? *Microbes and Infection*, 2008, 10(2):203–7.

Schoeman JP, Goddard A, Herrtage ME. Serum cortisol and thyroxine concentrations as predictors of death in critically ill puppies with parvoviral diarrhea. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 2007, 231(10):1534–9.

Schultz R. Canine distemper and vaccination. *Duluth, GA: Merial*, 2005.

Schultz RD ve Conklin S. The immune system and vaccines. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 1998, 20, 5–18.

Schultz RD, Ford RB, Olsen J, Scott F. Titer testing and vaccination: a new look at traditional practices. *Veterinary Medicine*, 2002, 97(2), 1–13.

Shakespeare AS. The incidence of gastroenteritis diagnosis among sick dogs presented to the Onderstepoort Veterinary Academic Hospital correlated with meteorological data. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1999, 70(2):95–7.

Shedlock DJ ve Weiner DB. DNA vaccination: antigen presentation and induction of immunity. *Journal of Leukocyte Biology*, 2000, 68(6), 793–806.

Shell LG. Canine Distemper. *Compendium of Continuum Education*, 1990, 12, 173-179.

Shen DT and Gorham JR. Survival of pathogenic distemper virus at 5C and 25C. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 1980, 75(1), 69-72

Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Current opinion in gastroenterology*, 2015, 31(1), 69.

Sillero-Zubiri C, Marino J, Gottelli D, Macdonald DW. Afroalpine Ecology, Solitary Foraging And Intense Sociality Amongst Ethiopian Wolves. In: Macdonald DW and Sillero-Zubiri C. (Edt), *The Biology and Conservation of Wild Canids*, Oxford, Oxford University Press, 2004, 254-266.

Sillero-Zubril C, King AA, Macdonald DW. Rabies and canine distemper in Ethiopia wolves. *Journal of Wildlife Disease*, 1996, 138-142.

Sixt N, Cardoso A, Vallier A, Fayolle AJ, Buckland R, Wild TF. Canine distemper virus DNA vaccination induces a humoral and cellular immunity and protects against a lethal intracerebral challenge. *Journal of Virology*, 1998, 72, 8472– 8476.

Smith-Carr S, Macintire DK, Swango LJ. Canine parvovirus. Part I. Pathogenesis and vaccination. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian*, 1997, 19(2):125–33.

Spickler AR ve Roth JA. Adjuvants in veterinary vaccines: modes of action and side effects. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 2003, 17, 273–281.

Stander N, Wagner WM, Goddard A, Kirberger RM. Normal canine pediatric gastrointestinal ultrasonography. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2010, 51(1):75–8.

Stander N, Wagner WM, Goddard A, Kirberger RM. Ultrasonographic appearance of canine parvoviral enteritis in puppies. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 2010, 51(1):69–74.

Sterner RT, Smith GC, Randallm DA, Williams SD, Kuzmin IV, Rupprecht CE, Tallents LA, Tefera Z. Modelling wildlife rabies: transmission, economics, and conservation. *Biological Conservation*, 2006, 131, 163–79

Sun Z, Li A, Ye H, Shi Y, Hu Z, Zeng L. Natural infection with canine distemper virus in hand-feeding Rhesus monkeys in China. *Veterinary Microbiology*, 2010, 141(3-4), 374-378.

Swango LJ, Ettinger SJ, Feldman EC. Canine viral diseases. In: Saunders WB (Edt), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia, Pennsylvania, 1995, 398–409.

Szymczak I and Pawliczak R. The active metabolite of vitamin D3 as a potential immunomodulator. *Scandinavian journal of immunology*, 2016, 83(2), 83-91.

Tipold A, Vandeveld M, Jaggy A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *Journal of Small Animal Practice*, 1992, 33, 466–470.

Tizard I ve Ni YW. Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. *Journal of The American Veterinary Medical Association*, 1998, 213(1), 54–60.

Tokuda N ve Levy RB. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 stimulates phagocytosis but suppresses HLA-DR and CD13 antigen expression in human mononuclear phagocytes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1996, 211(3), 244-250.

Turk J, Miller M, Brown T, Fales W, Gosser H, Nelson S, Shaw D, Solorzano R. Coliform septicemia and pulmonary disease associated with canine parvoviral enteritis: 88 cases (1987-1988). *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 1990, 196(5):771–3.

Twark L ve Dodds WJ. Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. *Journal of The American Veterinary Medical Association*, 2000, 217, 1021–1024.

Vandervelde M ve Cachin M. The neurologic form of canine distemper. In: Kirk RW and Bonagura JD (eds.), Small Animal Practice. WB Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania. *Current Veterinary Therapy*, 1992, 11, 1003–1007.

Vasu J, Srinivas MV, Antony PX, Thanislass J, Padmanaban V, Mukhopadhyay HK. Compaative immune responses of pups following modified live virus vaccinations against canine parvovirus. *Veterinary World*, 2019, 12 (9): 1422-1427.

Velasquez DE, Parashar U, Jiang B. Decreased performance of live attenuated, oral rotavirus vaccines in low-income settings: causes and contributing factors. *Expert Review Vaccines*, 2018, 17, 145–161.

Ventura M, Turrone F, Motherway MO, MacSharry J, van Sinderen D. Host -microbe interactions that facilitate gut colonization by commensal bifidobacteria. *Trends Microbiology*, 2012, 20, 467 -76.

Verma R, Jung JH, Kim JY. 1,25-dihydroxyvitamin D3 up-regulates TLR10 while down-regulating TLR2, 4, and 5 in human monocyte THP-1. *Journal of Steroid Biochemical Moleculer Biology*, 2014, 141, 1–6.

Vieira MJ, Silva E, Oliveira J, Vieira AL, Decaro N, Desario C, Muller A, Carvalheira J, Buonavoglia C, Thompson G. Canine parvovirus 2c infection in central Portugal. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 2008, 20(4):488–91.

Villaggio B, Soldano S, Cutolo M. 1,25-dihydroxyvitamin D3 downregulates aromatase expression and inflammatory cytokines in human macrophages. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2012, 30, 934–938.

Visser IKG, Van BresseM M, de Swart RL, van de Bildt MWG, Vos HW, van der Heijden RWJ, Saliki JT, Orvell C, Kitching P, Kuiken T, Barrett, Osterhau ADME. Characterization of morbillivirus isolated from dolphins and porpoises in Europe. *Journal Of General Virology*, 1993, 74, 631–641.

Von Messling V, Harder TC, Moennig V, Rautenberg P, Nolte I, Haas L. Rapid and sensitive detection of immunoglobulin M (IgM) and (IgG) antibodies against canine distemper virus by a new recombinant nucleocapsid protein based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 37, 1049– 1056.

Von Messling VC, Springfield PD, Cattaneo R. A ferret model of canine distemper virus virulence and immunosuppression. *Journal of Virology*, 2003, 77, 23, 12579–12591.

Wang H, Zhang Q, Chai Y, Liu Y, Li F, Wang B, Zhu C, Cui J, Qu H, Zhu M. 1,25(OH)₂D₃ downregulates the toll-like receptor 4-mediated inflammatory pathway and ameliorates liver injury in diabetic rats. *Journal of Endocrinology Investigation*, 2015, 38, 1083–1091.

Weidner N ve Verbrugghe A. Current knowledge of vitamin D in dogs. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 2017, 57(18), 3850-3859.

Weiss DJ ve Rashid J. The sepsis-coagulant axis: a review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1998, 12(5):317–24.

Wessels BC ve Gaffin SL. Anti-endotoxin immunotherapy for canine parvovirus endotoxaemia. *Journal of Small Animal Practice*, 1986, 27(10):609–15.

Williams E. Canine Distemper. In: William and Barks (Edt), *Infectious Diseases of Wild Mammals* Ames IO, Iowa State University Press, 2001, 50-59.

Wilson JJ, Neame PB, Kelton JG. Infection-induced thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost*, 1982, 8(3):217–33.

Yang CY, Leung PSC, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The implication of vitamin D and autoimmunity: a comprehensive review. *Clinical Review in Allergy ve Allergy*, 2013, 45(2), 217–226.

Yilmaz Z ve Senturk S. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice*, 2007, 48(11):643–50.

EKLER

EK-1



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



Aydın, 25/09/2019

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2019 Yılı VI. Oturum
Sayı : 64583101/2019/095
Proje Başlığı : Yavru Köpeklerde *Bifidobacterium animalis subs. lactis* ve Vitamin D Kombinasyonunun Aşı Sonrası Bağışıklık Yanıt Üzerine Etkileri
Proje : Hasan ERDOĞAN
Yürütücüsü
Proje Ekibi : Gökhan SARIDAĞ

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması : İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan

Prof. Dr. Tüphan DOST
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Deniz ÇOBAN
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye

Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN
Üye

Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ
Üye

Vet. Hek. Dr. Birgül ÜNAL
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülçe GÜLER
Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Yurdagül ALTINBAŞ
Üye

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

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gökhan SARIDAĞ
T.C. Kimlik No. : 32158013496
Doğum Yeri ve Yılı : Aydın/1993
Adres : Müskebi Mah. Yavaşlar sk. No:6 Bodrum/MUĞLA
Telefon Numarası : 05424491737
e-mail Adresi : vetgokhansaridag@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce
Bölüm : Veteriner/İç Hastalıkları
Yüksek Lisans Yaptığı Üniversite : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Yüksek Lisans Dönemi : V. Dönem

EĞİTİM BİLGİLERİ		
2000-2007	Akçaova İ.Ö.O	İLKOKUL
2007-2011	Akçaova Lisesi	LİSE
2011-2016	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi	ÜNİVERSİTE
2017-2019	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner/İç Hastalıkları Yüksek Lisans	YÜKSEK LİSANS