

**KÖPEKLERDE KARMA AŞI UYGULAMALARININ SERUM
IgG DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Sıla Melis KOÇAK

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Turan CİVELEK**

Tez No: 2019-10267105

2019-AFYONKARAHİSAR

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KÖPEKLERDE KARMA AŞI UYGULAMALARININ SERUM IgG
DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Veteriner Hekim Sıla Melis KOÇAK

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman
Prof. Dr. Turan Civelek**

**Tez No: 2019-10267105
2019 Afyonkarahisar**

KABUL VE ONAY

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ İÇ
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.06.2019

Prof. Dr. Ebru YALÇIN

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Turan CİVELEK

Üye

Doç. Dr. Abuzer ACAR

Üye

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Sıla Melis KOÇAK'ın
"Köpeklerde Karma Aşı Uygulamalarının Serum Ig G Düzeyleri Üzerine Etkisi"
başlıklı tezi .../.../2019 günü saat Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav
Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışma sürem boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, sabırla yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Turan CİVELEK'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda halen görevlerine devam etmekte olan Doç. Dr. Abuzer ACAR hocama, Arş. Grv. Dr. Durmuş Fatih BAŞER ve Öğr. Grv. Ahmet Cihat TUNÇ'a bu süreçte yardımlarını esirgemedikleri ve destekleri için minnettarım. Bu çalışmaya katkıları için ayrıca Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda faaliyetlerine devam etmekte olan Arş. Grv. Dr. Ender UZABACI'ya teşekkürümü ayrıca belirtmek isterim. Sınıf arkadaşım, sıra arkadaşım ve çalışma arkadaşım Vet. Hek Birkan DİLİK'e bu süreçteki destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma öncesinde, esnasında ve sonrasında yanımda olan ve hep yanımda olacak olan, maddi manevi desteklerini her ne olursa olsun esirgemeyen sevgili annem Gülfer KOÇAK, babam Kanber KOÇAK ve sevgili teyzem Güler SALTIKLAR'a verdikleri emekler ve destekleri için sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Çizelgeler	vii
Resimler	viii
1. GİRİŞ	1
1.1.Genel Bilgiler	5
1.1.1. Aşı Çeşitleri	5
1.1.1.1. Konvansiyonel Aşılar	6
1.1.1.1.1. Canlı Aşılar	6
1.1.1.1.2. İnaktif Aşılar	7
1.1.1.1.3. Toksoid Aşılar	8
1.1.1.1.4. Subunit Aşılar	9
1.1.1.2. Biyoteknolojik Aşılar	9
1.1.1.2.1. Gen Mühendisliği Aşıları	9
1.1.1.2.2. DNA Aşıları	10
1.1.1.2.3. Sentetik Peptidler	11
1.1.1.2.4. Anti İdiotip Aşılar	11
1.2.Köpek Hastalıkları ve Aşılama Programları	11
1.3. Köpek Hastalıkları	13
1.3.1.Köpeklerin Coronavirus Enfeksiyonları Ve Aşılama	13
1.3.2. Köpeklerin Parvovirus Enfeksiyonları Ve Aşılama	14
1.3.3. Köpeklerin Adenovirus-1 Enfeksiyonları Ve Aşılama	16
1.3.4. Köpeklerin Distemper Virus Enfeksiyonu Ve Aşılama	17
1.3.5. Köpeklerde Kuduz Virusü Enfeksiyonları Ve Aşılama	18
1.3.6. Köpeklerde Babesioz Enfeksiyonları Ve Aşılama	19
1.3.7. Köpeklerde Bordetellozis Enfeksiyonları Ve Aşılama	20

1.3.8. Köpeklerin Lyme Enfeksiyonları Ve Aşılama	20
1.3.9. Köpeklerde Leptospirozis Ve Aşılama	21
1.4. Köpek Aşı Takvimi	21
1.5. Aşı Sonrası Antikor Ölçümü	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1 Gereç	28
2.1.1. Hayvan Materyali	28
2.2. Yöntem	29
2.2.1. Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması	29
2.2.2. İndirekt ELISA	29
2.2.3. İndirekt ELISA Testinin Uygulanması	29
2.2.4. İstatistiksel Analiz	37
3. BULGULAR	38
3.1. Çalışma Öncesi Bulgular	38
3.2. Sıfırinci (0.) Gün Bulguları	39
3.3. Yirmi Birinci (21.) Gün Bulguları	39
3.4. Kırk İkinci (42.) Gün Bulguları	40
3.5. Altmış Üçüncü (63.) Gün Bulguları	41
4. TARTIŞMA	46
5. SONUÇ	54
ÖZET	55
SUMMARY	56
KAYNAKLAR	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

CAV	Köpek adenovirüsü
CCV	Köpek coronavirüsü
CDV	Köpek distemper virüsü
CPV	Köpek parvovirüsü
DNA	Deoksiribo nükleik asit
FPV	Kedi panleukopeni virüsü
FeLV	Kedi lösemi virüsü
IgG	İmmunglobulin G
IgM	İmmunglobulin M
MLV	Modifiye canlı aşı
MVE	Mink viral enteritis

ÇİZELGELER

Çizelge 1. Aşı çeşitleri	5
Çizelge 2. Yavru kedi ve köpeklerde aşılama 6-9 haftalar arası başlama yaşları ve 3-4 hafta ara ile yapılan tekrar aşılama zamanları	12
Çizelge 3. Kullanılan köpek aşılama takvimi	22
Çizelge 4. Köpeklerde aşılama sonrası yapılan antikor ölçüm testlerinin kullanım amaçları	27
Çizelge 5. Kullanılan hayvanlara ilişkin özellikler	28
Çizelge 6. Kullanılan test kitinin prosedüründe 'S' değerleri	30
Çizelge 7. Vakaların çalışma öncesi genel muayene sonuçları	38
Çizelge 8. Vakaların 0. gün (kontrol) Elisa testi sonucu hepatitis, parvovirus ve distemper virusuna (morbilivirus) karşı koruyuculuk titresi ile Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) ve Virus Nötralizasyon (VN) değerleri	39
Çizelge 9. Aşı uygulamasının ardından yirmi bir gün sonraki serum antikor titreleri	40
Çizelge 10. Vakaların ikinci aşı uygulaması sonrası ve üçüncü aşıların uygulanmasından önceki, kırk ikinci günde ki serum antikor titreleri.	40
Çizelge 11. Vakaların üçüncü aşı uygulaması sonrası ve dördüncü aşıların uygulanmasından önceki, altmış üçüncü günde ki serum antikor titreleri.	41
Çizelge 12. Sunulan çalışma sonrası elde edilen toplam veriler	41
Çizelge 13. Hepatitis hastalığının sayı ve frekans dağılımı	42
Çizelge 14. Parvovirus hastalığının sayı ve frekans dağılımı	43
Çizelge 15. Distemper hastalığının sayı ve frekans dağılımı	43
Çizelge 16. CAV-2'nin aşı zamanlarına göre koruyuculuk durumu	44
Çizelge 17. CPV'ün aşı zamanlarına göre koruyuculuk durumu	44
Çizelge 18. CDV'ün aşı zamanlarına göre koruyuculuk durumu	45

RESİMLER

Resim 1. Canine VacciCheck Elisa test kutusu	31
Resim 2. Canine VacciCheck Elisa test kutusu içi(ambalajında)	31
Resim 3. Canine VacciCheck Elisa test kutusu(yan görünüm)	32
Resim 4. Canine VacciCheck Elisa test kutusu içeriği	32
Resim 5. Canine VacciCheck Elisa test kutusu içeriği ve serum örnekleri	33
Resim 6. Çalışmada kullanılan malzemeler(Mikro pipet, tarak, serum örnekleri)	33
Resim 7. Çalışılmış tarak örneği	34
Resim 8. Aşı uygulaması öncesi hayvanların genel muayenesi	35
Resim 9. Çalışmaya alınan hayvandan kan örneği alımı	36
Resim 10. Alınan kan örneklerinin santrifüj edilmesi	37

1.GİRİŞ

Spesifik immun yanıt oluşturmak amacıyla, bir hayvana kontrollü olarak, uygun doz ve yolla immunojen verilmesi işleme aşılama veya immunizasyon denir. Bu amaçla kullanılan biyolojik maddelere de aşı denir. Aşılamadan sonra aşıda bulunan mikrobiyal antijenlere karşı immun sistemin aktif çalışması sonucu immun yanıt oluşturulur. Eğer vücut aşıdaki etkenle ilk kez karşılaşılıyorsa primer immun yanıt oluşumu söz konusudur. Bu durumda bağışıklığın koruyucu düzeye çıkması için 1-2 haftalık bir sürenin geçmesi gerekir. Acil bağışıklık gerektiğinde, aşılamanın tek dezavatajı budur. Çoğu durumda enfeksiyon başladıktan sonra veya enfeksiyonun bulaşmış olma riski çok yüksekse aşılama yapılmaz. Ancak normal koşullarda, aşılama ile uyarılan primer immun yanıtın sonra, hayvanın ikinci kez aşılanması veya enfeksiyöz etkenle karşılaşması sekonder immun yanıtı doğurur. Bu yanıt bir kez başladıktan sonra, uzun süreli, etkili ve tekrar uygulanabilir (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994).

Hayvanların enfeksiyöz hastalıklardan yapay olarak korumak için iki temel mekanizma kullanılır. Birincisinde, enfeksiyöz hastalık etkenleri veya bunlara ait antijenler aşı şeklinde direkt olarak hayvanlara verilerek immun yanıt uyarılır. Aşılama kapsamına giren bu mekanizmada, hayvanın immun sistemi bizzat çalışarak bir immun yanıt oluşturulduğundan, kazanılan bağışıklığa yapay aktif bağışıklık denir. İkincisinde ise, başka hayvanlarda oluşturulmuş bağışıklık elemanları duyarlı hayvanlara nakledilerek kısa süreli koruma sağlanabilir. Bu işleme pasif koruma denir. Hayvanın immun sistemi çalışmadan sadece nakledilen antikorlarla sağlanan böyle bağışıklığa yapay pasif bağışıklık denir (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994).

Belirli bir enfeksiyöz hastalığı aşılama yoluyla önlemek için, özellikle göz önünde bulundurulması gereken 4 önemli kriter vardır ;

1. İmmun yanıtın hastalıktan korumayı sağlayıp sağlamadığının bilinmesi gerekir. Diğer bir deyişle eğer antijen enfeksiyonun patogenezisinde rol oynamıyorsa, buna karşı immün yanıt oluşsa bile enfeksiyondan korunmayı sağlamayacaktır. Buna karşın, bakterinin sahip olduğu antijenlerden bazılarına karşı gelişen immün yanıt etkili şekilde koruma sağlar. İşte böyle antijenlere koruyucu antijen, bu antijenlere karşı oluşan immün yanıtla sağlanan bağışıklığa da koruyucu bağışıklık denir. Bu nedenle, aşılmalarda aşının koruyucu antijenleri içermesi ve bunlara karşı hayvan vücudunda koruyucu bağışıklığın gelişip gelişmediğinin bilinmesi gerekir.

2. Aşılama ile alınan riskler, hastalığın vereceği zararlardan fazla olmamalıdır. Ayrıca antikorlar bir teşhis aracı olduğundan, gereksiz aşı uygulamaları enfeksiyonların serolojik teşhisini karıştırarak, hastalığın popülasyondan eradikasyonunu güçleştirebilir.

3. Bir aşı uygulanmadan önce, hayvanın veya popülasyonun o enfeksiyon ile karşılaşma olasılığının ne kadar olduğu göz önüne alınmalıdır. Bazı hayvanların, bazı mikroorganizmalarla tüm yaşamları boyunca karşılaşma olasılığı çok düşüktür veya hiç yoktur. Bu durumda hayvanların aşılanmaları gereksizdir.

4. Eğer aşılamada amaç, bireysel bağışıklık sağlamaktan çok, çok sayıda bireyi içeren hayvan popülasyonlarında hastalığı kontrol etmekse, sürü bağışıklığı kavramı üzerinde durulmalıdır. Sürü bağışıklığı, bir hayvan popülasyonunda belli orandaki immün hayvanlarla, popülasyonunun tümünün korunmasıdır. Sürü bağışıklığı için gerekli bağışık hayvan oranı genellikle %70-80'dir. Diğer bir deyişle, bir popülasyondaki hayvanların %70-80'ini aşılayarak, sürünün çoğunu enfeksiyondan korumak mümkündür. Çünkü, hayvanların belirli çoğunluğunun bağışık olması, enfeksiyonun yayılmasını önlemeye yeter.

Aşılamanın amacı, hayvanları infeksiyöz hastalıklardan korumak olduğuna göre, bunu en uygun yolla sağlamak için aşılar belirli niteliklere sahip olmalıdır. Bu genellikleri genel olarak şöyle sıralayabiliriz:

1.İdeal bir aşı uzun süreli bağışıklık sağlamalıdır. Aktif immunizasyon ile bazı infeksiyonlara karşı ömür boyu sürebilen bağışıklık kazanılmasına karşı, bazı infeksiyonlara karşı sadece birkaç hafta süren bağışıklık elde edilebilir. Bu, genellikle önce infeksiyonun özelliği, daha sonra aşının niteliği ile ilgili bir durumdur. Bir mikroorganizmanın yerleşim yeri, antijenik özellikleri ve hastalık oluşturma mekanizması, o etkene karşı yapılacak aşılamanın süresini belirler.

2.İdeal bir aşı güçlü bir immun yanıt oluşturmali ve etkili bir koruma sağlamalıdır. Bazı aşilar çok yüksek düzeyde koruma sağlar; bazı aşilar ise yeterli koruma sağlamaz. Ayrıca, bir mikroorganizmanın farklı serotipleri aynı hastalığa neden olmalarına karşın, çapraz koruma sağlamayabilirler. Bu bakımdan, aşiların etkili bir koruma sağlaması için, özellikle hastalığa neden olan serotiplere ait koruyucu antijenleri içermesi gerekir.

3.Uzun süreli ve güçlü bir bağışıklık sağlarken, aşının yan etkileri olmamalıdır. Ancak yan etkileri olmayan aşı bulmak hemen hemen olanaksızdır. Aşiların yan etkileri, vücuda uygulandığı yerdeki lokal bir reaksiyondan, anafilaktik şok nedeniyle ölüme kadar değişebilir.

4.Canlı aşilar, içerdığı infeksiyöz etkenden kaynaklanan bir enfeksiyona neden olmamalıdır. Canlı aşilarda bulunan zayıflatılmış mikroorganizmalar, hayvan vücuduna girdiğinde patojenitelerini tekrar kazanabilirler. Bunu önlemek için, aşı suşlarının iyi seçilmesi ve üretim aşamasında kontrollerinin iyi yapılması gerekir.

5.Aşılama ile sağlanan immun yanıt, doğal infeksiyon yanıtından ayırt edilebilmelidir. Bu, hayvan popülasyonlarındaki aşı ve enfekte hayvanlar

ayırt edilebilmesine, dolayısıyla infeksiyöz hastalıkların kontrolü ve eradikasyonuna olanak sağlar.

6.İdeal bir aşı, kolay hazırlanabilmeli ve ucuz olmalıdır. Aşı üretim tekniğinin komplike olmasının maliyeti arttıracığı unutulmamalıdır. Ayrıca aşı dayanıklı olmalıdır; kullanım süresi çok kısa olmamalı ve saha koşullarında çabuk bozulmamalıdır.

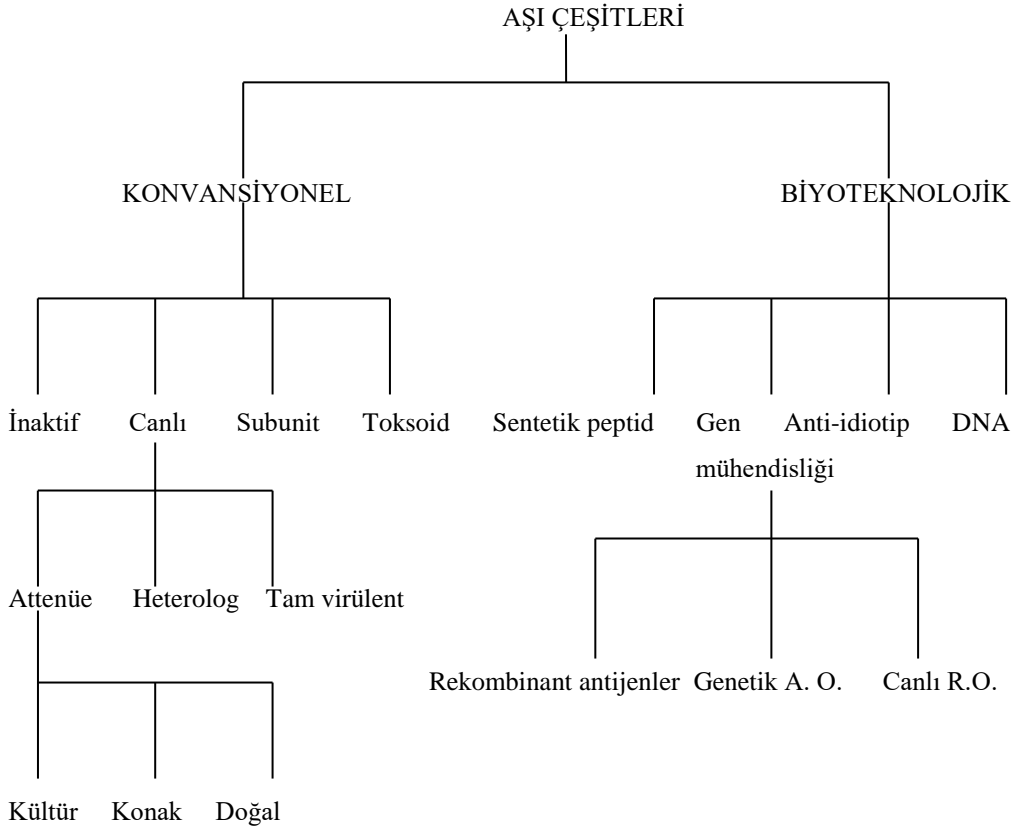
Etkili aşılar immonolojik yönden birkaç özelliğe sahip olmalıdır. Antijen sunan hücreleri uyarmalıdır. Böylece antijenler daha etkili şekilde sunulabilir, gerekli sitokinler salgılanabilir. Hem B hem T hücreleri uyatabilmeli ve bunlarda bellek hücreleri oluşturmalıdırlar. Aşıdaki antijenlerin çeşitli epitoplara karşı yardımcı ve sitotoksik T lenfositleri geliştirmelidir. Ve aşı antijenleri lenfoid dokularda uzun süre kalabilmeli, böylece antikör üreten hücreler uzun süre uyarılmalı ve bağışıklık uzun sürmelidir (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994)

1.1 GENEL BİLGİLER

1.1.1 Aşı Çeşitleri

Veteriner hekimlikte kullanılan aşı çeşitleri Çizelge 1.'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Aşı çeşitleri (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994)



1.1.1.1 Konvansiyonel Aşılar

Bu tür aşılar genellikle alışlagelmiş yöntemlerle mikroorganizmalardan ya da bunların toksinlerinden hazırlanan aşılardır (Arda ve ark., 1994).

1.1.1.1.1 Canlı Aşılar

Adından da anlaşabileceği gibi canlı aşıların içinde canlı mikroorganizmalar bulunur. Viruslardan, protozoonlardan ve belirli bakterilerden elde edilebilir. Çünkü, canlı mikroorganizmalar, özellikle de viruslar vücuda canlı sokulduklarında, endojen antijenler tarzında davranarak, sitotoksik T lenfositlerinin baskın olduğu hücrel immun yanıtı uyarırlar. Canlı aşılarla kazanılan bağışıklık süresinin uzun olmasının nedeni de budur. Canlı aşıların temel prensibi, immun sistemi etkili şekilde uyararak fakat hastalığa neden olmamaktır (Diker, 1998). Bazı canlı aşılar direkt olarak mukozal bölgeye verildiğinde (intranasal ve oral) koruyucu immunitiyi arttırmakta daha etkili olurlar (WSAVA, 2015).

Hastalık yapma yeteneğini kaybeden veya çok zayıflayan ancak immunojenik yeteneğini taşıyan bu mikroorganizmalara uygulanan işleme attenuasyon ve aşılar ise attenuue aşılar denir (Arda ve ark., 1994). En yaygın attenuasyon yöntemleri; patojenleri uygun olmayan veya alışık olmadıkları koşullara adapte ederek, doğal konaklarına adaptasyon özelliklerini, dolayısıyla patojenitelerini kaybettirmektir. Bu amaçla, aşı adayları doğal konakları dışında, in vitro veya in vivo ortamlarda uzun süre pasajlanırlar (Diker, 1998).

Hayvanları belli bir enfeksiyondan korumak için, o enfeksiyon etkenine antijenik benzerliği olan ve başka bir hayvan türüne adapte olmuş patojenler kullanılabilir. Böylece heterolog aşı suşu, aşılanan hayvanda hastalık oluşturmayacak, fakat immun sistemi uyaracaktır. Bazı durumlarda tam virulent mikroorganizmaları da aktif immunizasyon için kullanmak olasıdır (Diker, 1998).

Canlı aşıların avantajları: İnokulasyonu takiben hastada replike olurlar, bu nedenle inaktif aşılarından daha etkili oldukları düşünülmektedir. Maternal antikor olmaması halinde tek doz aşı uygulaması bağışıklık oluşturur. Tek dozu yüksek titrede antikor oluşumuna sebep olur. Adjuvan içermezler (Aytuğ, 2012; Arda ve ark., 1994).

Canlı aşıların dezavantajları: Latent ve gizli seyreden hastalıklar canlı aşılarla tekrar aktif hale geçebilirler. Geçici bir süre ile klinik belirti oluştururlar. 5-7 günlük yavrularda hücresel bağışıklıkta geçici bir baskılanmaya neden olabilir. Bazı modifiye canlı aşılar (MLV) yavrularda ve fütüsta ölüme neden olabilir. Bu nedenle gebelerde kullanımı kontraendikedir. İmmun yetmezliği olan hayvanlarda kullanılmamalıdır. Transport ve depolama açısından dikkatli olmak gerekir, hata yapıldığında etkisi azalabilir. (Aytuğ, 2012; Arda ve ark., 1994, WSAVA, 2015).

1.1.1.1.2. İnaktif Aşılar

İnaktif aşılar (ölü aşılar), fiziksel ve kimyasal yöntemlerle öldürülmüş mikroorganizmaları içeren aşılardır. Bakterilerden hazırlanan ölü aşılar bakterinin adı verilir. Ölü aşıların canlı aşılarından temel farkı hangi tip mikroorganizma olursa olsun ekzojen antijen şeklinde algılanmasıdır. İnaktif

aşıların temel prensibi, en az yan etki ile immun yanıtı uyarmaktır. Ancak inaktivasyon yapılırken mikroorganizmaların antijenik yapılarının bozulmaması gerekir. İnaktif aşılar da etkiyi arttırmak için adjuvant kullanımı gereklidir. Böylece vücutta daha uzun süre kalacaklar ve immun sistemi daha güçlü bir şekilde uyarabileceklerdir (Diker, 1998; WSAVA, 2015; Aytuğ, 2012).

İnaktif aşıların avantajları: Antijen yayılımı yoktur. Gebe ve gençlerde güvenlidir. Depolama ve transport güvenlidir. Koruma için minimum 1-2 hafta gerekir, tekrar uygulamalar yapılmalıdır (Aytuğ, 2012; WSAVA, 2015).

İnaktif aşıların dezavantajları: Ağrı ve anafilaksi gibi akut yan etkileri MLV'den daha fazladır. Kedilerde özellikle kuduz ve (Feline Leukemia Virus) FeLV aşıları sarkomalarla ilişkilidir (Diker, 1998; Aytuğ, 2012).

1.1.1.1.3. Toksoid Aşılar

Toksinlerin inaktive edilmesiyle toksoid aşılar elde edilir. Toksoid aşıların temel prensibi, bakteriyel toksinlerin antijenik yapılarını değiştirmeden toksik özelliklerini gidermektir. Böylece toksinler vücuda zarar vermeyecek, fakat immun yanıtı uyuracaklardır (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994).

1.1.1.1.4. Subunit Aşılar

Toksinler dışında, imfeksiyonların patogenezisinde rol oynayan fimbria ve flagella gibi bazı mikrobiyal organellerden de aşılar hazırlanabilir. Bunlara subunit aşılar denir. Mikrobiyal organellerin toksik etkileri olmadığı için, bunların inaktivasyonuna gerek yoktur. Subunit aşıda kullanılacak organeli saf olarak elde etmek yeterlidir (Diker, 1998).

1.1.1.2. Biyoteknolojik Aşılar

Biyoteknolojik yöntemler kullanılarak, konvansiyonel yollarla başarılı olunamayan infeksiyonlara karşı aşı hazırlamak, konvansiyonel aşılara göre daha etkili, daha ucuz ve daha güvenli aşuların elde edilmesi amaçlanmıştır (Arda ve ark., 1994).

1.1.1.2.1. Gen Mühendisliği Aşuları

Genetik olarak attenüe organizmalar; meydana gelen gelişmeler patojeniteyi oluşturan genlerin infeksiyöz ajanların çoğalmasını etkilemeyecek şekilde çıkarılmasını sağlayabilmektedir. Bu durum mutant aşular adını verebileceğimiz yeni bir aşının meydana gelmesini sağlamıştır. Konvansiyonel yöntemlerle yapılan attenuasyon işleminden sonra mikroorganizmaların tekrar patojente kazanma riski yüksektir ancak yeni biyoteknolojik yöntemlerle bu risk ortadan kalkmıştır (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994).

Rekombinant antijenleri; bol miktarda saf antijen elde etmek için kullanılır. Bunun için önce, istenen antijeni kodlayan DNA izole edilir. Daha sonra, bu DNA bol üreyen bir bakteriye, mayaya veya başka bir hücreye sokulur. Bu aracı organizma bol miktarda üretildiğinde, istenen proteini de bol miktarda sentezler. Bu protein de saflaştırılarak, aşı olarak kullanılır. Bu tekniğin ilk başarılı uygulaması şap aşısında gerçekleştirilmiştir (Diker, 1998).

Canlı rekombinant organizmalar; protein yapısındaki antijenleri kodlayan genleri, direk olarak başka bir organizmaya klonlanabilir ve saflaştırmak yerine, rekombinant organizma ile birlikte aşı olarak kullanılabilir. Böyle organizma ve bu yolla hazırlanan aşılar vektör aşı denir. Vektör aşılar en iyi örneklerden biri kuduz virusunun zarf glikoproteini veya G proteini genlerini içeren rekombinant vaksinia aşısıdır. Bu aşı yabani karnivorlar tarafından ağız yoluyla alındığında çok başarılı sonuçlar vermiştir. Bu yolla kuduz virusu insidensini birçok ülkede azaltmak mümkündür (Diker, 1998).

1.1.1.2.2. Dna Aşıları

Vücuda protein antijeni vermek yerine, antijeni kodlayan geni içeren DNA'yı vermektir. Bunun için, viral bir antijeni kodlayan DNA parçası bir plazmidle birleştirilir ve hayvana enjekte edilir. DNA direkt olarak özel bir teknikle hücre içine sokulur. Hücreler tarafından alınan DNA, protein ürünü haline dönüştürülür. Saf DNA ile aşılama, viral antijenlerin doğal infeksiyonlardaki gibi sentezlenmesine ve böylece antijenlerin doğal formlarında sunulmasına olanak verir. DNA aşılarının rekombinant aşılar göre üstünlüğünün bu olduğu bildirilmiştir (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994).

1.1.1.2.3. Sentetik Peptidler

Protein molekülleri büyük ve kompleks olmalarına karşın, sadece yüzeylerindeki belli epitoplara koruyucu bağışıklığı uyarmaları özelliğindedir. Diğer epitoplara korumada etkisiz hatta baskılayıcıdır. Böylece, eğer koruyucu bir epitopun amino asit yapısı biliniyorsa kimyasal yöntemlerle sentezlenebilir ve aşı olarak kullanılabilir. Sentetik aşılarda, diğer biyoteknolojik aşılardan daha güvenli olarak kabul edilirler fakat maliyetleri çok yüksektir (Diker, 1998; Arda ve ark., 1994).

1.1.1.2.4. Anti-İdiotip Aşılar

Anti-idiotip antikor üretmek için, istenen epitopa karşı oluşmuş monoklonal antikor deney hayvanlarına verilir. Hayvanlarda bu antikora karşı oluşan anti-idiotip antikorlar saflaştırılarak aşı olarak kullanılabilir. Aşılamadan sonra oluşan anti-idiotip antikorlar, antijene ve anti-idiotiplere bağlanarak koruma sağlayabilirler. Bu aşılarda deneysel olarak üretilmektedir ve henüz sahada kullanılmamaktadır (Arda ve ark., 1994).

1.2. Köpek Hastalıkları ve Aşılamaya Programı

Aşılamaların başlaması için köpeğin yaşı önemlidir. Çoğu yavru köpek hayatının ilk haftalarında maternal antikorlar tarafından korunurlar. Yavru köpeklerde pasif immunizasyon 8-12 haftalık yaşta azalır ve aktif immunizasyona izin verir. Bazı yavru köpeklerde 12 hafta ve daha büyük

yaşa kadar yüksek maternal antikorlarla korunurken; bazı yavru köpeklerde erken yaşta düşük maternal antikora sahip olurlar ve aşılamalara duyarlıdırlar (Friedrich ve Truyen, 2000).

6-8 haftalık yaşta ilk temel aşılamasının başlamasıdaaha sonra 2-4 hafta arayla 16 haftalık yaşa kadar aşılama yapılmalıdır. Bu nedenle aşılamaya başlanılan yaş ve seçilen aşilar önemlidir. Aşılama zamanları Çizelge 2.' de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Yavru kedi ve köpeklerde aşılamaya 6-9 haftalar arası başlama yaşları ve 3-4 hafta ara ile yapılan tekrar aşılama zamanları (WSAVA, 2015).

İlk Aşılama Zamanı	Temel Aşılama Takvimi
6 hafta	6 hafta, 9 hafta, 12 hafta, 16 hafta sonra 26 veya 52 hafta veya 6 hafta, 10 hafta, 14 hafta, 18 hafta sonra 26 veya 52 hafta
7 hafta	7 hafta, 10 hafta, 13 hafta, 16 hafta sonra 26 veya 52 hafta veya 7 hafta, 11 hafta, 15 hafta, 19 hafta 26 hafta veya 52 hafta
8 hafta	8 hafta, 11 hafta, 14 hafta, 17 hafta sonra 26 veya 52 hafta veya 8 hafta, 12 hafta, 16 hafta sonra 26 veya 52 hafta
9 hafta	9 hafta, 12 hafta, 15 hafta, 18 hafta sonra 26 veya 52 hafta veya 9 hafta, 13 hafta, 17 hafta sonra 26 veya 52 hafta

Bu önerilere göre aşılamaya 6 veya 7 haftalık yaşta başlanırsa 4 hafta arayla 4 temel aşı; 8 veya 9 haftalık yaşta başlarsak aynı şekilde 4 hafta arayla aşılama yapılır fakat 3 temel aşı yeterli olur. Bunun aksine bazı aşılamalar 10. hafta bitirilmelidir ve bu aşılamalar yavruların erken yaşta sosyalleşmesini amaçlamaktadır. Köpeklerin davranışsal gelişiminin doğru gelişmesinin temelinde erken sosyalleşme olduğu düşünülmektedir (Korbelik et al. 2011, AVSAB, 2008).

Özellikle yavru risk grubundaki yavru köpek sınıfları kontaminasyon riski yüksek veteriner kliniklerinden uzak tutulmalıdırlar. Alternatif olarak veteriner klinikleri kullanılacaksa önce gelen köpek gruplarından sonra

dezenfeksiyon işlemi düzenli şekilde yapılmalıdır. Amerika'da son yapılan çalışmalar gösteriyor ki Canine parvovirus tip-2 (CPV-2) için minimal risk aşılannmış sosyal gruplar arasındadır (Stepita et al. 2013).

Yavru köpek aşılamalarının parçası olan güçlendirici aşılarla başlama yaşı ise 12 haftalık ve daha büyük yaşta olmalıdır (WSAVA, 2015). Köpek aşılama programında kullanılan aşılar temel (zorunlu) ve temel olmayan (isteğe bağlı) aşılar olmak üzere gruplandırılmıştır. Küresel öneme sahip bulaşıcı hastalıklara karşı yaşam boyu koruma sağlamak amacıyla temel aşıların bütün köpeklere yapılması gerekmektedir. Temel aşılar; Canin distemper virus (CDV), Canin adenovirus tip 1 ve 2 (CAV-1 ve CAV-2), Canin parvovirus tip-2 (CPV-2) ve kuduzdur. Birçok ülkede kuduz aşısı yasal bir zorunluluktur ve uluslararası pet hayvan seyahatinde kuduz aşısının yapılmış olması zorunludur. Temel olmayan aşılar ise; Bordetella bronchiseptica, Parainfluenza, Leptospirozis ve Lyme'dır. Bir coğrafi bölgede endemik olan enfeksiyondan insan ve hayvanları korumak için o enfeksiyona karşı bütün köpekler aşılanmalıdırlar (WSAVA, 2015).

1.3. Köpek Hastalıkları

1.3.1. Köpeklerin Coronavirus Enfeksiyonları ve Aşılama

Etken *Canine Coronavirus (CCV)* olup, köpeklerin gastroenteritis ile karakterize ve yaygın görülen bir hastalığıdır. Virus izolasyonu 1971 yılında gastroenteritis şüpheli askeri köpeklerden yapılmıştır. Sebebi belli olmayan nedenlerden dolayı CCV 1970'lerin sonlarına doğru köpeklerin önemli bir hastalığı haline gelmiştir (Gill ve May, 1990). Aslında her yaştaki köpekler

infeksiyona duyarlıdır fakat 6 haftalıktan aşağıdaki köpeklerde klinik belirtiler daha yaygındır. Etken feko-oral yolla bulaşır. İnkübasyon süresi 1-4 gündür. Virus izolasyonları inokulasyonu takiben 3-14 günler arasında dışkıdan yapılır (Gill ve May, 1990). Dışkı portakal renginde, kötü kokuludur. İshalle seyrederek ve mukusludur. Dışkıda kan görülebilir. Anoreksi, depresyon ve kusma görülür. Korunmada inaktif ve MLV olarak CCV aşıları sunulmuştur. Aşıların parenteral uygulamalarında köpeklerin tercihen en az 3 aylık yaşta olması istenir. Aşı tekrarı olan 2. doz uygulama ilk uygulamadan 2-4 hafta sonra olmalıdır. Eğer yavru köpeğe ilk aşı uygulaması yapıldıysa 3 aylık yaştan sonra aşı tekrarı yapılmalıdır (Gill ve May, 1990). Yaşlı köpekler zamanla etkene karşı doğal direnç kazanırlar bu yüzden yaşlı köpeklerde aşı yapılmasına gerek yoktur. Sadece yüksek risk grubunda bulunan yavru-geç köpeklerin aşılanması önerilir (Burgu ve Akça, 2004).

1.3.2. Köpeklerin Parvovirus Enfeksiyonları ve Aşılama

Etken *Canine Parvovirus (CPV)* olup, tüm dünyada enzootik olarak görülen, enteritis ile seyreden viral bir enfeksiyondur. İlk defa 1978'de izole edilmiştir (Appel ve ark. 1979). Enterik hastalıkların kedilerdeki feline panleukopeni virus (FPV) ve minklerdeki mink viral enteritis (MVE) ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda ise köpeklerdeki enteritis sendromlarının canin parvovirusla ilişkili olduğu saptanmıştır (Robinson ve ark., 1980). Köpek gaitasında ilk parvovirus izolasyonu 1970 yılında gerçekleşmiştir. CPV ilk defa Avrupa'da görülmüş ve hızla tüm dünyaya yayılmıştır (Parrish, 1995). Virus zamanla genetik değişime uğramıştır ve farklı suşlar ortaya çıkmıştır. İlk tanımlanmasından sonra, 1970'lerin sonlarında, orijinal virüs tipi CPV-2, monoklonal antikorlar kullanılarak ayırt edilebilecek yeni bir virüs tipi ile değiştirilmiştir. Bu yeni antijenik tip, CPV-

2a olarak adlandırılmış ve CPV-2b olarak adlandırılan başka bir mustasyon gösteren virüs tipi ile birlikte hızlıca dünyaya yayılmıştır. (Parrish ve ark., 1985, 1988). O zamandan beri, bazı antijenik farklılıklar ile ilişkili bazı başka mutasyonlar tarif edilmiştir. Bu virüslerin isimlendirilmesi uyumsuzdur ve CPV-2c virüslerinin de rapor edildiği bildirilmiştir (Ikeda ve ark., 2002; Martella ve ark., 2004). ABD’de en yaygın suş CPV-2b suşudur. Kullanılan aşılarda çoğu, 1970’lerin sonunda veya 1980’lerin başında izole edilen orijinal CPV-2 virüs tipine bağlı olarak elde edilmiş canlı virüs aşılardır ve bu aşılarda astalıkları ve hatta enfeksiyonu önleyebilen çok etkili aşılardır. Orijinal antijenik tip olan CPV-2’ye dayanan bazı aşılarda, köpekleri yeni antijenik tiplerle enfeksiyona karşı koruduğu gösterilmiştir (Yule ve ark., 1997). Virüs kontamine eşyalar ve zeminlerde 5 aydan fazla süreyle canlı kalabilir. Etken feko-oral yolla ve direk temasla olur. İnkübasyon süresi 1-10 gündür. Etkenin vücuda girişini takiben viremi evresi başlar. Kusma, kanlı ishal, iştahsızlık ve dehidrasyon enfeksiyon sonrası oluşan enteritisin tipik belirtileridir. Oniki haftalıktan küçük yavrularda ani myokardit sonucu ölüm şekillenebilir. Enteritis oluşmadan da myokarditisin görüldüğü rapor edilmiştir. Hastalığın generalize, enteritis ve myokarditis olmak üzere üç formu vardır. Doğal enfeksiyondan kurtulan köpeklerde oluşan bağışıklık en az 20 ay veya yaşam boyu sürebilmektedir. Antikor titresiyile korunma arasında pozitif bir ilişki vardır. Koruma amacıyla CPV ve FPV arasındaki ilişki tanımlanmış (Appel ve ark., 1979; Johnson ve Spradbrow, 1979), FPV, MVE ve CPV için inaktif ve MLV aşılarda uygulanmış ve bu aşılarda iyi bir bağışıklık sağlanmıştır (Pollock, 1984). Canlı aşılarda uygulanmasından 4-6 gün sonra geçici bir lenfopeni oluşur ve aşı virusunun saçılma olasılığı vardır. Erişkin köpeklerde her yıl aşılama önerilse de ikinci kez yapılan tekrardan sonra bağışıklığın 3 yıl kadar sürdüğü tespit edilmiştir. ABD’de ilk görülen salgınlarda, enfeksiyon Doberman Pincher ve Rotweiller ırkı köpeklerde diğer ırklara oranla daha sık görülmüştür (Burgu ve Akça, 2004; Schaer, 2006).

1.3.3. Köpeklerin Adenovirus-1 Enfeksiyonları (İnfeksiyöz Hepatit, İnfeksiyöz Canin Hepatit) ve Aşılama

Etken *Canin Adenovirus-1 (CAV-1)* olup, akut, ateşli ve generalize hastalık tablosuyla karakterize bir enfeksiyondur. Özellikle 1 yaşın altındaki köpekler arasında oro-nasal yolla bulaşır. Etken vücuda girdikten sonra geçici bir viremi evresi şekillenir. Virusun sitotoksik etkisi en çok karaciğer, böbrek ve gözde oluşur. İnkübasyon süresi kedilerde 2-5 günken köpeklerde hastalık tablosu değişkendir. CAV-1 enfeksiyonları dünya da yaygın olmasına karşın ABD’de çok sık görülmemektedir. İnfeksiyöz 1 yaş altındaki köpekleri etkilemesine karşın 1-21 günlük köpeklerde daha şiddetli seyredir. Klinik olarak sağlıklı görünümlü köpekler virus rezervuarı olabilirler ve 6. aya kadar idrar ve gaita ile etken saçabilirler. Klinik belirtiler ateş, taşikardi, tonsillerde büyüme, iştahsızlıktır. Koruma amacıyla (*Canin Adenovirus-2*) CAV-2 aşısı önerilir. MLV CAV-1 aşısı da vardır ancak canlı aşuların anterior uveitis ve inferior nefritise sebep olabileceği unutulmamalıdır. Ticari olarak piyasada var olan CAV-1 aşısı önerilmemektedir (Burgu ve Akça, 2004, Aytuğ, 2012). Enfeksiyonun serolojik olarak teşhisinde birçok test kullanılmakla birlikte ELISA, adenovirus antikorlarının tespitinde duyarlı, hızlı ve kısa sürede sonuç alınabilmesi sebebiyle en çok tercih edilen yöntemdir (Noon ve ark., 1979). Türkiye’de CAV enfeksiyonunu ile ilgili sınırlı çalışma vardır (Bulut ve ark., 2013; Can-Şahna ve Aslan, 2015; Gür ve Acar, 2009). Başarılı bir aşılama programı sonrası oluşan CAV-1 veya CAV-2'ye cevap veren bellek B hücrelerinin en az 4 yıl boyunca belirli bir seviyede kaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Mouzin ve ark., 2004).

1.3.4. Köpeklerin Distemper Virus Enfeksiyonu (Köpek Gençlik Hastalığı) ve Aşılama

Etken *Paramyxoviridea* ailesine bağlı olan Morbilivirusların neden olduğu progresif multifokal merkezi sinir sisteminin etkilendiği multisistemik bir hastalıktır. Akut ve kronik seyirlidir. İnkübasyon süresi 3-7 gündür. Canine Distemper Virus (CDV) enfekte köpeklerin salya ve burun akıntıları ile çevreye yayılır ve diğer köpekleri enfekte eder. Aşılama ile birlikte hastalığın yaygınlığı azalsa da aşısız genç köpeklerde salgın halinde enfeksiyona neden olur. Yapılan çalışmalarda CDV enfeksiyonu üzerinde cinsiyetin önemli olmadığı belirlenmiştir (Headley ve Graca 2000, Zarnke ve ark 2004, Avizeh ve ark 2007). CDV enfeksiyonuna karşı ırk predispozisyonunun varlığı kanıtlanmamış olsa da, dolicocephalic (uzun burunlu) türlerin, brachycephalic (kısa burunlu) türlerden daha fazla etkilendiği bildirilmiştir (Headley ve Graca 2000, Pardo 2006). Aşılama almamış tüm yaşta köpekler ve özellikle 3-6 aylık köpekler maternal antikor düzeyinin düşmesi sebebiyle çok duyarlıdır. Aşılı köpeklerde hastalık sporadik olarak oluşabilir. Aşılama almamış yavru köpeklerde öksürük, nazal ve oküler akıntı, pnömoni, ishal, dehidrasyon, iştahsızlık, kusma görülür. Nörolojik belirtiler sistemik hastalıklarla birlikte oluşsa da çoğunlukla sistemik belirtilerden sona 1-3 hafta sonra oluşur. Hemogram sonuçlarında lökopeni lökositosis dönüşür. Eğer köpek aşısız veya zayıf bir immün yanıt oluşmuşsa vücuda giren etken bütün epitelyel dokular ve merkezi sinir sistemine yayılır. Akut enfeksiyonlardan kurtulan köpeklerde 1-3 hafta içinde sinir sistemi bozuklukları görülür. Nörolojik dönemden kurtulan hastalarda epileptik kasılmalar, ritmik kasılmalar, ön ve arka bacak kaslarında güçsüzlükler görülür. Çoğu kez nöral belirtilerle taban yastığı ve burun ucu derisinde hiperkeratozisi birlikte görülür. Bu tablo 'Hard Pad Disease' olarak anılır. Yaşlı köpeklerde sistemik belirtiler oluşmadan progresif tetraparezis veya vestibular disfonksiyonla beraber subakut veya kronik ensefalitis (yaşlı köpek ensefalitisi) gelişebilir. Yaşlı köpek ensefalitisi 6 yaş ve üzerindeki

köpeklerde görme bozukluğu, progresif mental depresyon, kendi etrafında dönme ve baş dayama ile karakterize nörolojik belirtilere neden olur. Distemper hastalık enfeksiyonu geçiren köpekler enfeksiyona karşı uzun süre bağışık kalırlar. Koruma amaçlı MLV CDV aşısı kullanılır. Birçok üretici firma tarafından 6-18 haftalar arasında 3 kez aşı uygulanması önerilse de, 12 aylıkken yapılan tekrar aşısından sonra oluşan bağışıklığın 3-5 yıl sürdüğü tespit edilmiştir. Daha önceki yıllarda ortaya atılan, parvovirus ve CDV aşısının beraber yapılmasının ensefalitise yol açtığı teorisi henüz ispatlanmamıştır (Burgu ve Akça, 2004, Yarsan, 2015)

1.3.5. Köpeklerde Kuduz Virusu Enfeksiyonları ve Aşılama

Etken *Rhabdovirus* olup, köpeklerin akut seyirli, viral ve ölümcül bir hastalığıdır. Bu bulaşma ısırık yoluyla olmaktadır. Tüm dünyada yaygın olmasına rağmen İngiltere, Avustralya, İrlanda ve bazı İskandinav ülkelerinde eradikedir. İnkübasyon süresi 3-8 gündür. Kuduz klasik olarak paralitik ve saldırgan olmak üzere iki evredir. Klinik belirtide ilk olarak sinirlilik, tenha yerlere saklanma görülür. Isırık yarasının olduğu bölgede kaşıntı görülür. Köpeklerde klinik belirtilerin görülmesinden 5 gün önceye kadar salyada virus bulunur. Klinik belirtilerin ilk görüldüğü günden sonra 1-10 gün içinde klinik seyir görülür. Bu seyir 3 döneme ayrılır ama dönemler arasında net bir çizgi yoktur. Saldırgan dönemde olan köpeklerde artan huzursuzluk, ışığa ve sese karşı duyarlılık artar. Hayali objelere saldırma ve ısırma görülür. Paralitik dönemde ekstremitelerde paraliz görülür. Laringeal paraliz sonucu seste değişiklik gözlenir. Paraliz görüldükten 2-4 gün sonra solunum yetmezliğine bağlı ölüm şekillenir. Kuduz şüphesiyle getirilen hayvanlar 10 gün süreyle karantina altına alınırlar. Kuduzla mücadelede en etkili yöntem aşılama değildir. Ülkemizde kuduza karşı semple ve kelev tip aşılar kullanılmaktadır. Semple aşısı virus fiksinin keçilere intraserebral verilmesi

ve inokulasyondan 5 gün sonra agoni durumundaki keçilerin kesilerek alınan beyinlerinden hazırlanan aşı türüdür. Hazırlanan beyin süspansiyonları çeşitli yöntemlerle inaktif hale getirilir. Aşılamalar 3 aylıktan itibaren uygulanır. Kelev aşısı avianize kelev suşunun embriyolu tavuk yumurtasının corioallantoik membranına inokulasyonu ile elde edilir. Aşı inaktif ve rekombinanttır. Kedi ve köpeklere profilaktik amaçla uygulanır. Köpekler 3. aydan kediler 6. aydan itibaren aşılamaya başlanır. Aşılama Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü ve yerel yönetimlerin uygulama önerileri çerçevesinde yapılmalıdır. İlk aşı 3 aylıkken yapılır ve 1 yıl sonra tekrar uygulanır. 10 günlük karantina sürecindeki hayvanlara aşılama yapılmaz. Bu süre sonunda hayvan ölmezse aşılamaya başlanabilir (Schaer, 2006., Burgu ve Akça, 2004).

1.3.6. Köpeklerde Babesioz Enfeksiyonları ve Aşılama

Etkenleri *Babesia canis* ve *Babesia gibsoni* olup, ABD dahil birçok ülkede ve 1 yaş altındaki köpeklerde görülen kenelerle bulaşan hastalıktır. İnfeksiyon sonucu parazitlere veya eritrosit antijenlerine karşı gelişen immunolojik reaksiyonlar sonucu eritrosit yıkımı oluşur. İnkübasyon süresi 10-21 gündür. Akut anemi, ateş, halsizlik, hipoksi, hipotansif şok görülür. Anemiye ek olarak trombositopeni görülebilir. Avrupa'da *B. canis* için aşı geliştirilmiştir. ABD'de bu aşının kullanımına henüz izin verilmemiştir. Aşının korumada etkinliği %70 civarındadır. Koruma ve önlemede kenelerle mücadele gerekir (Schaer, 2006., Burgu ve Akça, 2004).

1.3.7. Köpeklerde Bordetellozis Enfeksiyonları ve Aşılama

Etkeni Gram (-) bakteri olan *Bordetella bronchiseptica*'dir. Genç köpeklerde trakeo-bronşitis ile karakterizedir. Bulaşma oro-nazal yolla olur. Barınaklarda bulunan 4 aylıktan küçük köpeklerde daha belirgin seyredir. Burun akıntısı, tıkanıklık, dispnea, siyanoz, halsizlik, iştahsızlık ile karakterizedir. İnfeksiyonun görüldüğü endemik bölgelerde yavrulara intranasal yolla aşı uygulamasına yarar vardır. Aşı, üreten firmaya bağlı olarak genellikle 2-4 haftalık yavrulara yapılmaktadır (Schaer, 2006., Burgu ve Akça, 2004). Parainfluenza-3 ile birlikte kombine aşıları da bulunmaktadır. Sadece evde yaşayan ve rutin olarak karma aşı yapılan hayvanlara düzenli olarak Bordetella aşısı yapılmamaktadır. Çünkü karma aşı içerisinde bulunan Parainfluenza 3 'e karşı oluşan koruma Bordetella'ya zemin oluşmasını engellemektedir. Ancak barınaklarda olan ya da pansiyon ve eğitime bırakılma durumlarında Bordetella aşı uygulaması önerilmektedir.

1.3.8. Köpeklerin Lyme Enfeksiyonları ve Aşılama

Etken spiroket olan *Borrelia burgdorferi* olup insanlarda olduğu gibi köpeklerde de en sık Amerika'nın kuzey doğusunda ve orta batısında görülen bir enfeksiyondur. Amerika'nın batısında da bildirilmesine rağmen insidensi düşüktür. Ülkemizde de bildirilen bir hastalıktır. Kenelerle bulaşma görülür. Bit, pire ve sivrisineklerin de doğal olarak etkeni bulundurduğu saptanmış ise de bulaşmada ki rollerinin önemsiz olduğu bildirilmiştir. Deneysel olarak infekte edilen köpeklerde, keneye temastan 2-5 ay sonra klinik belirtiler görülmüştür. Ateş, topallık, iştahsızlık, lenf yumrularında şişlikler görülmüştür. Pet hayvanlarında kene mücadelesi ve aşılama yaparak mücadele sağlanmıştır. Pire mücadelesi için lokal olarak aylık kullanılan damlaların kene mücadelesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Köpeklerde kullanıma sunulan, *Borrelia burgdorferi*'nin kendisini içeren ve dış zar proteininden rekombinant yolla elde edilen aşı olmak üzere 2 tip aşısı bulunmaktadır. Aşı infekte köpekleri tedavi

amacıyla uygulanmaz. Aşılar kene popülasyonunun çok olduğu bölgelerde, dışarıda dolaşan, avlanan köpeklere koruyucu amaçla uygulanır (Schaer, 2006., Burgu ve Akça, 2004).

1.3.9. Köpeklerde Leptospirozis ve Aşılama

Leptospirosis, dünya çapında önemli bir zoonozdur. Etken *Leptospira interrogans*'tir. Leptospira'nın patojenik türlerine ait spiroketler ile enfeksiyonun bulaşması tipik olarak, enfekte hayvanların idrarıyla doğrudan veya dolaylı temastan kaynaklanır. Ayrıca ısırık yarası, enfekte doku, placentel ve veneral yolla da gerçekleşir. Leptospira enfeksiyonu ile ilişkili klinik bulgular anoreksi, kusma, uyuşukluk, kas ağrısı, dehidrasyon, sarılık, karın ağrısı, ishal, kanlı ile karakterize subklinikten akut hastalığa kadar uzanır. Renal yetmezlik semptomatik köpeklerde baskın bulgudur, küçük bir yüzdesi de karaciğer hastalığı kanıtı gösterir (Greene, 1998., Minke ve ark., 2009). Enfeksiyonu atlatan köpekler aralıklı olarak etkeni aylarca saçarlar. Enfeksiyon kedilerde de görülür fakat prevalansı köpekler kadar yüksek değildir. Dışarıda yaşayan erişkin köpeklerde sık görülür. *Leptospira canicola* ve *Leptospira icterohaemorrhagiae* serotiplerini içeren inaktif aşısı vardır. Bu aşılar başlıca Amerika'da kullanılır. Aşı risk altındaki köpeklere uygulanır. Yılda 1 kez yapılan aşılama yetersiz kalabileceği için yılda 2 kez uygulamada yarar vardır. Risk altındaki köpeklere ilk aşılar 2-3 kez 2-3 hafta arayla daha sonra yılda 2 kez tekrar yapılmasında fayda vardır (Schaer, 2006., Burgu ve Akça, 2004).

1.4. Köpek Aşılama Takvimi

Köpekler için kullanılan aşılama takvimleri Çizelge3.'de sunulmuştur.

Çizelge 3. Köpeklerde kullanılan aşılama takvimi (WSAVA, 2015; Aytuğ, 2012, Schaer, 2006)

Aşı	16 Haftalıktan Küçük Yavru Köpeklerde İlk Aşılama	16 Haftalıktan Büyük Erişkin Köpeklerde İlk Aşılama	Tekrarlama	Yorum Ve Öneriler
Canin Distemper Virüs Aşısı MLV(modifiye canlı virus aşısı)	Tek doz olarak 2, 3 ve 4. Haftalarda 3 kez uygulanır.	Tek Doz	Yılda 1 Kez	<i>Mutlaka önerilmektedir.</i> Yıllak aşılama önerilmesine rağmen MLV ile aşılanmış köpeklerde 7 yıl ve 5 yıl koruma sağlamıştır. Erişkin köpeklerde aşı 3 yılda 1 uygulanabilir.
rCanine Distemper Virüsü Aşısı(Rekombinant aşısı)	Tek doz olarak 2, 3 ve 4. Haftalarda 3 kez uygulanır.	3-4 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	<i>Mutlaka önerilmektedir.</i> MLV distemper aşısıyla dönüşümlü olarak yapılabilir. rCDV aşısı steril immunitite oluşturmaz ve bağışıklık sistemi oturmamış yavrularda immunitiyi sağlamak daha uzun sürebilir. Bağışıklık süresi 1 yıldır.
Distemper measles Köpek gençlik kızamık aşısı (MLV)	6-12 haftalar arasında sadece tek doz olarak uygulanır. Bir doz MLV veya rekombinant distemper aşısından sonra 14-16 haftalar arasında yapılabilir.	12 haftadan büyük dişi veya 16 haftadan büyük köpeklere uygulanmaz	Önerilmez	<i>İsteğe bağlı kullanılır. Rutin aşılamalarda önerilmektedir.</i> Yavrularda geçici bir süre bağışıklık sağlamak amacıyla yapılır.
Canine Adenovirus-1 (CAV-1) MLV veya inaktif virus aşısı	12 haftalığa kadar her 3-4 haftada 1 doz	3-4 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	<i>Önerilmemektedir.</i> İHC ABD’de yaygın değildir. Hepatitis-Mavi göz reaksiyonu riski vardır. CAV-2 ile aşılanan köpeklerde kros reaksiyon sonucu CAV-1 ‘e karşı korur.

Canin Adenovirus-2 (CAV-2) MLV veya inaktif aşısı	Tek doz olarak 2, 3 ve 4. aylarda 3 kez uygulanır.	MLV yapılırsa tek doz , inaktif aşı yapılırsa 3-4 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	Önerilmektedir. CAV-1 ve CAV-2 arasında kros korunma sağlayan antijenler vardır. Genellikle distemper aşısı ile kombine edilir. Günümüzde bu aşı monovalan bulunmaktadır. MLV CAV-2 ile aşılanan köpeklerin 7 yıl sonra dahi CAV-1'e karşı korunduğu kanıtlanmıştır.
Parainfluenza virus (CpiV) MLV	Tek doz olarak 2, 3 ve 4. aylarda 3 kez uygulanır.	Tek doz	Yılda 1 kez	Önerilmektedir. Genellikle CDV ve CAV ile kombine edilir. Piyasada monovalan aşısı yoktur. Topikal uygulanan aşının bağışıklık süresi 1 yıldır.
Bordotella bronchiseptica (inaktif bakterin) Sadece parenteral yolla	6-8 haftalar arasında 1 doz ve 10-12 haftalar arasında ikinci doz yapılır.	2-4 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	İsteğe bağlı uygulanır. Bağışıklık süresi bilinmemektedir.
Bordotella bronchiseptica (canlı avirüent bakterin) + Parainfluenza virus(MLV) Kombine bir aşıdır sadece topikal (intranasal) yolla uygulanır.	2 haftalık yavrulara tek doz uygulanır.	Tek doz önerilmesine rağmen koşul bildirilmemiştir.	Yılda 1 kez. Eğer kalabalık yerlerde yaşıyorsa aşılandıktan sonra 6 ay geçmişse tekrar edilebilir.	İsteğe bağlı. Kennel, barınak ve risk popülasyonundaysa bu yerlere ilk girişten önce yapılabilir. Aşılanmış köpeklerde nadiren 3-10 gün sürebilen hapşırık, öksürük ne nasal akıntı görülebilir. Antibakteriyel tedavi uygulanabilir. Bağışıklık süresi Bordotella için 10 ay kadardır. Topikal uygulanan aşı trekeobronşit için iyi bir lokal bağışıklık sağlar.
Canine Parvovirus (MLV)	Tek doz olarak 2, 3 ve 4. aylarda 3 kez uygulanır.	Tek doz önerilir Fakat 3-4 hafta arayla iki doz yapılması uygundur.	Yılda 1 kez	Mutlaka önerilmektedir. Her yıl önerilmesine rağmen bu aşının yapıldığı köpeklerin 7 yıl sonra dahi bağışık kalır

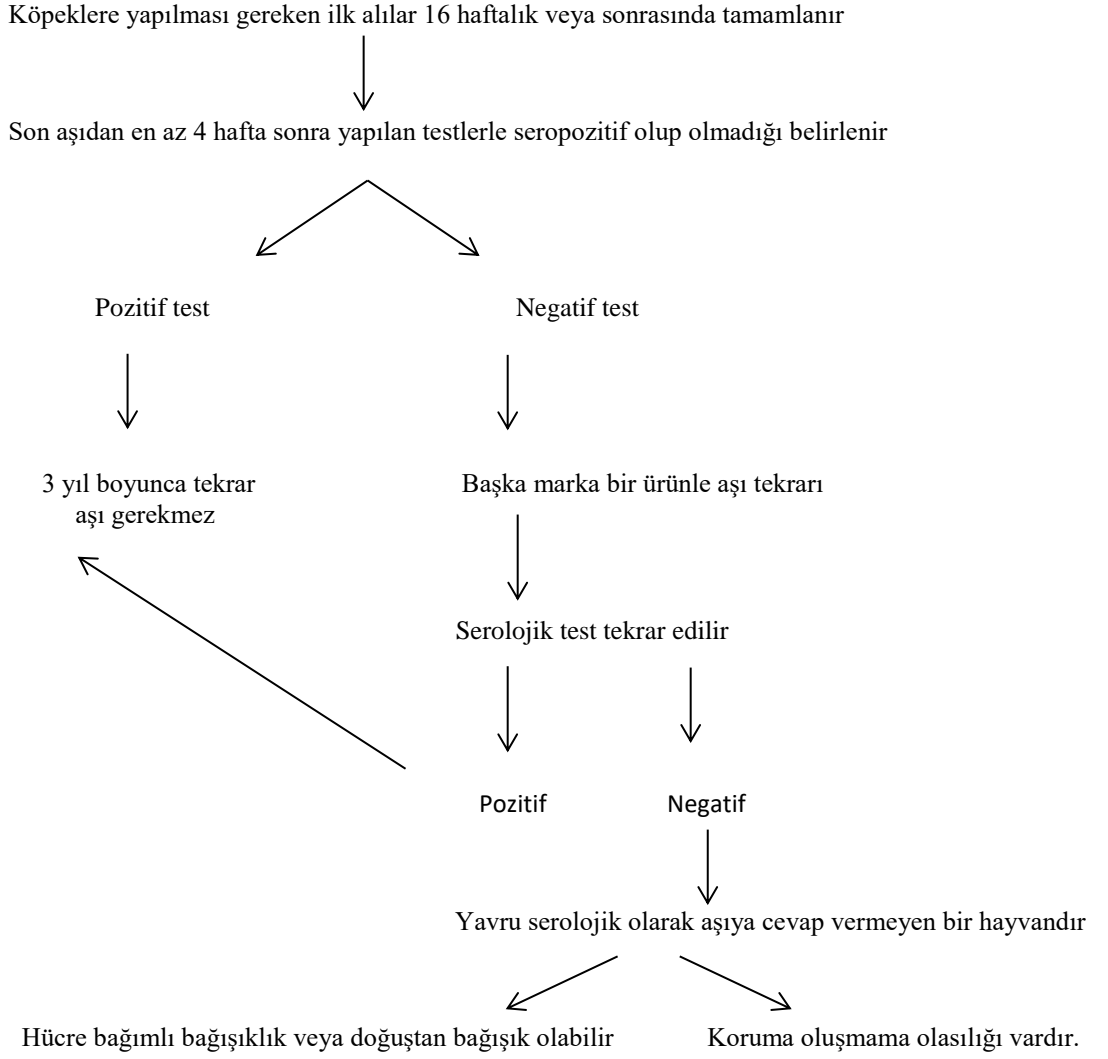
<p>Bordetella bronchiseptica (canlı avirulent bakterin) + Parainfluenza virus(MLV) + Canine Adenovirus-2 (MLV) Kombine bir aşıdır. Topikal uygulanır.</p>	8 haftalıktan büyüklere tek doz. 8 haftalıktan önce uygulanmaz.	Tek doz	Yılda 1 kez	<p><i>Aşı içinde bulunan etkenlerden birine karşı riskli ortamda bulunan köpeklere önerilmektedir.</i> Topikal uygulanan aşı trekeobronşit için iyi bir lokal bağışıklık sağlar. Bağışıklık süresi tekli uygulanan aşılar kadardır.</p>
<p>Canine parvovirus (inaktif)</p>	Tek doz olarak 2, 3 ve 4. aylarda 3 kez uygulanır	2-3 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	<p><i>Önerilmektedir.</i> MVL CPV'ye alternatif bir aşıdır. 16 haftalığa kadar olan yavrularda maternal antikorla etkileşim söz konusudur. Her yıl aşılınması önerilse de aşılanan yavruların 16 ay bağışıklık kaldığı bildirilmiştir.</p>
<p>Borrelia burgdorferi (Lyme) (inaktif bakterin)</p>	12. haftada ilk aşı yapılır ve 3-4 hafta sonra tekrar edilir.	3-4 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	<p><i>İsteğe bağlı.</i> Lyme hastalığının prevalansı bölge ve ülkelere göre değişir. Bu nedenle yüksek risk olan bölgelerde, barınaklarda ve kene enfestasyonlarının sık olduğu alanlarda yaşayan köpeklere uygulanır.</p>
<p>Borrelia Burgdorferi (rLyme) Rekombinant aşı</p>	9. haftada ilk aşı yapılabilir ve 2-3 hafta sonra tekrar edilir.	3-4 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	<p><i>İsteğe bağlı.</i> Yapılış şekli ve kapsadığı hayvanlar Lyme inaktif bakterin aşısındaki gibidir. Fakat bu aşı inaktif bakterin aşıya göre daha güvenlidir ve ateş oluşturmaz.</p>
<p>Giardia lamblia (inaktif aşı)</p>	İlk doz 8. haftada uygulanır ve 2-3 hafta sonra ikinci doz	2-3 hafta arayla 2 doz	Yılda 1 kez	<p><i>Rutin olarak önerilmemektedir.</i> Aşı oosit saçılımını önler. Giardiazisin insanlardaki sebebi aslen kontamine sulardır.</p>

<p>Canine Coronavirus (CCV) MLV</p>	<p>2-4 haftalarda başlanır ve 12 haftalığa kadar 2-3 haftada bir aşılanır Ayrıca 6. Haftada başlanarak 12. Haftalığa kadar 2-3 haftada bir inaktif aşılanır.</p>	<p>Eğer canlı aşı yapılırsa tek doz . İnaktif aşı yapılırsa 2-3 hafta arayla 2 doz</p>	<p>Yılda 1 kez</p>	<p>Önerilmemektedir. Köpeklerde klinik Coronavirus enfeksiyonlarının sıklığı fazla değildir. Bu nedenle rutin aşılamalar önerilmez. Klinik coronavirus enfeksiyonu 6 hft. önce ve hafif belirtilerle seyredir. Zamanla kendiliğinden düzelebilir. Hayvan barınaklarında pek fazla yarar sağlamadığı ve karlı olmadığı için önerilmez.</p>
<p>Leptospira interrogans (L. Canicola) ve L.İcterohaemorrhagiae ile kombine inaktif bakterin aşısı</p>	<p>12. ve 16. Haftalarda 2 doz 12 haftadan küçük köpeklere uygulanmaz.</p>	<p>2-4 hafta arayla 2 doz</p>	<p>Yılda 1 kez</p>	<p>Bazı yazarlar yüksek risk altındaki köpeklere her 6 ayda bir tekrarlanmasını önermektedir. 12 haftalıktan küçüklerde aşı reaksiyonları görülebilir hatta bu reaksiyonlar 9 haftalıktan küçüklerde daha ciddidir. Rutin aşılamalar 12 haftalıktan sonra yapılmalıdır.</p>
<p>Rabies-Kuduz (1 yıllık) İnaktif aşı</p>	<p>3. ayda tek doz</p>	<p>Tek doz</p>	<p>Yılda 1 kez</p>	<p>Mutlaka yapılmalıdır. MLV yoktur. İlk yapılan kuduz 1 yıllık kuduz aşısından sonra 3 yıllık kuduz aşısı yapılabilir.</p>
<p>Rabies-Kuduz (3 yıllık) İnaktif aşısıdır.</p>	<p>İlk ve tekrar aşılamalarda 1 yıllık kuduz aşısına alternatif olarak kullanılabilir. 3. Ayda tek doz</p>	<p>İlk ve tekrar aşılamalarda 1 yıllık kuduz aşısına alternatif olarak kullanılabilir. Tek doz uygulanır.</p>	<p>İlk aşılamadan 1 yıl sonra yapılır. İlk aşılamadaki köpeğin yaşı farketmez</p>	<p>Uygulama ve aşı programları Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğünün kurallarına göre yapılır. Amerika'da bu durum bölgeye göre değişir. İlk yapılan 1 yıllık kuduz aşısından sonra 3 yıllık kuduz aşısı yapılabilir.</p>

1.5. Aşı Sonrası Antikor Ölçümü

Antikor titresi ölçüm testleri temel aşıların koruma sürelerini göstermede kullanılabilir. CDV, CPV-2 CAV-1 ve CAV-2 gibi aşılarla karşı oluşan koruyucu antikorların çoğu köpekte birkaç yıl korunduğu bilinmektedir ve bu gözlemi çok sayıda deneye dayalı araştırma desteklemektedir(Bohm ve ark., 2004, Mouzin ve ark., 2004, Schultz 2006, Mitchell ve ark., 2012). Schultz. (2006) yaptığı çalışmada koruyucu titrelerin izole köpeklerde en az 9 yıl kaldığını belirtir. Bu nedenle antikorun eksik olduğu durumlarda, bazıları bağışıklık hafızası tarafından korunsa da, tıbbi bir neden bulunmadıkça köpekler yeniden aşılanmalıdır. Temel olmayan aşılarından sonra yapılacak serolojik testlerle antikorların belirlenmesi faydalı bir uygulama değildir, çünkü bu antikorlar serumda kısa süre kalırlar. Ayrıca Leptospira ve Parainfluenza gibi temel olmayan aşılar için serumdaki antikorlarla bunların sağladığı koruma arasında düşük bir korelasyon vardır(Hartman ve diğerleri 1984, Klaasen ve ark., 2003, Ellis & Krakowka 2012, Martin ve ark., 2014). Köpeklerdeki kuduz hastalığı söz konusu olduğunda, serumdaki antikorlar aynı şekilde incelenmez. Uluslararası evcil hayvan seyahati düzenlemelerine göre, koruyucu kuduz antikorlarının varlığı laboratuvar testiyle belirlenmelidir (0.5IU/ml'den fazla olmalıdır). Kuduz serolojileri sadece belirli laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilmektedir. CDV, CAV ve CPV-2 gibi temel aşılar ile ilgili serolojik testler yavrularda koruyucu bağışıklığın gelişip gelişmediğini takip etmek, yetişkin köpeklerde tekrar aşılarının aralığını belirlemek ve barınaklarda enfeksiyon salgınlarını önlemekte kullanılabilir. Çizelge 4.'de köpeklerde aşılamalar sonrası uygulanan antikor ölçüm testlerinin kullanım amaçları gösterilmiştir.

Çizelge 4. Köpeklerde aşılamalar sonrası yapılan antikor ölçüm testlerinin kullanım amaçları (WASAVA, 2015).



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Çalışma materyalini; Afyonkarahisar ve Bursa ilindeki bazı özel veteriner kliniklerine getirilen 45-60 gün yaşlarındaki, sağlıklı ve ilk defa aşılacak olan, farklı ırk ve cinsiyette 10 yavru köpek oluşturdu. Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 49533702/16 sayılı ve 14.02.2018 tarihli etik kurul onayı sonrası çalışmaya başlandı. Kullanılan hayvan materyali Çizelge 5.'de sunulmuştur. Aşılama öncesi köpeklerin genel muayeneleri yapıldı. Genel muayenelerinde, beden ısısı, respirasyon, pulzasyon, mukoz membran, kapillar dolum süreleri değerlendirildi. Herhangi bir patolojik bulguya rastlanmayan köpekler çalışmaya dahil edildi. Ateş, halsizlik, genel durum bozukluğu, kusma gibi semptom gösteren köpekler çalışmaya dahil edilmedi. Muayene prosedürü tekrar aşılama öncesi aynı şekilde uygulandı. Aynı gün antiparaziter uygulamalar (Praziquantal, Tenizol®, Fipronil, Fiproes®) yapıldı. Köpeklere 21 gün ara ile 3 tekrar olmak üzere toplam 4 karma aşı (Boehringer Ingelheim Eurican® DHPPi2 L) uygulandı. Her tekrar öncesi kan alımı yinelendi (0.gün, 2. ve 3. rapel öncelerinde).

Çizelge 5. Kullanılan hayvanlara ilişkin özellikler.

Vaka	İrk	Yaş (gün)	Cinsiyet
1.	Rottweiler	60	Dişi
2.	Melez	45	Dişi
3.	Golden retriever	60	Dişi
4.	Maltese terrier	60	Erkek
5.	İspanyol cocker	60	Erkek
6.	Maltese terrier	60	Dişi
7.	Melez	60	Erkek
8.	Melez	60	Dişi
9.	Jack russell	60	Erkek
10.	Jack russell	60	Erkek

2.2 Yöntem

2.2.1.Kan Serum Örneklerinin Hazırlanması

Antiparaziter uygulamaları takip eden yedi gün sonra tüm köpeklerden aşılama öncesi (0. gün/ kontrol) vena sefalika antebrahi'den biyokimya tüpüne (BD Vacutainer®) kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dk (rpm)'da 10 dk süre ile santrifüj edildi.

2.2.2. İndirekt ELISA

Hazırlanan kan serum örneklerinde, CAV-2, CPV ve CDV'ye karşı gelişen antikorların (spesifik IgG) varlığı araştırıldı. Bu amaçla ticari olarak temin edilen Biogal's Imminocomb Canine Enfeksiyöz Hepatit, Parvovirus, Distemper IgG Antikor Quick ELISA test kiti (Immunocomb Canine VacciCheck®, Kibbutz Galed, 1924000 Israel) kullanıldı.

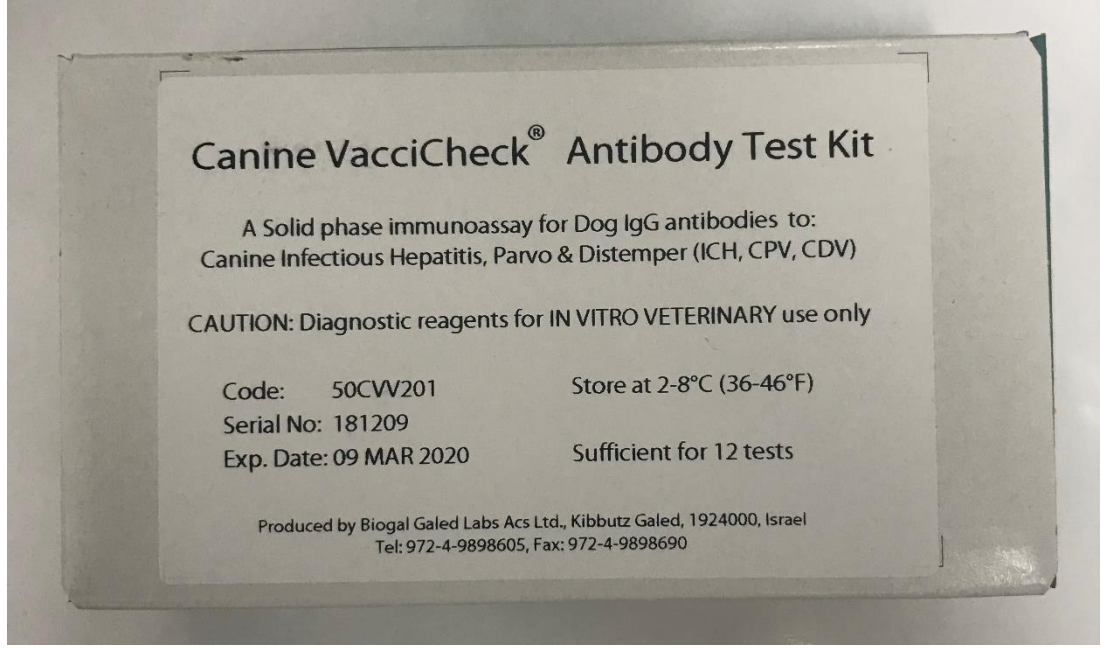
2.2.3. İndirek ELISA Testinin Uygulanması

Çalışmada kullanılan ELISA test kiti prospektüsünde yazıldığı şekilde uygulanmıştır. ImmunoComb test kiti normal koşullarda 2-8 derece arasında muhafaza edildi. Testi yürütmeden önce, kit kartondaki tüm kit bileşenlerini çıkararak geliştirme plakasını

oda sıcaklığına getirildi. Test 20-25 °C sıcaklığında yapıldı. Testin ilk adımı, serum plazma veya kanın tamamından numune almak ve çok bölmeli geliştirme plakasının A sırasına bırakılarak başlandı. Pipet veya kapillar tüp yardımı ile tam kan testi için 10 µl, serum veya plazma için 5 µl örnek kullanıldı. Kullanmadan önce geliştirme plakası sallandı ve reaktifler karıştırıldı. A sırasındaki koruyucu aliminyum örtüyü delmek için cımbız kullanıldı. Her bir numune için bir boşluk kullanıldı. A satırındaki bir boşluğa numune bırakıldı. Reaktiflerin karışması için birkaç kez pipetaj yapıldı. Tarak koruyucu ambalajından çıkartıldı. Gereken test sayısı kadar dış kullanıldı. A boşluğuna yerleştirilen tarak 5 dakikalığına inkübasyona bırakıldı. B sırasındaki diğer boşluğu kapatan folyoyu delmek için cımbız kullanıldı ve tarak B boşluğunda 2 dakika inkübasyona bırakıldı. C sırasındaki diğer boşluğu kapatan folyo cımbız yardımıyla delindi ve tarak C boşluğunda 5 dakika inkübasyona bırakıldı. D sırasındaki boşluk cımbız yardımıyla delindi ve tarak D boşluğunda 2 dakika inkübasyona bırakıldı. E sırasındaki boşluk cımbız yardımıyla delindi ve tarak E boşluğunda 2 dakika inkübasyona bırakıldı. F sırasındaki folyoyu delmek için cımbız kullanıldı ve tarak F boşluğunda 5 dakika inkübasyona bırakıldı. F satırında renk değişimi tamamlandıktan sonra tarağı renkleri sabitlemek için 2 dakika tekrar E satırına yerleştirildi. Sonra tarak çıkartıldı ve sonuçları okumadan önce 5 dakika kurumaya bırakıldı. Bu prosedürler her hayvanın her serum örneği için tekrarlanmıştır. Elde edilen renk değerleri prospektüste yazan ‘S’ skalasına göre değerlendirilmiştir. Prospektüste bildiren ‘S’ değerleri Çizelge 6’da sunulmuştur.

Çizelge 6. Kullanılan test kitinin prosedüründe ‘S’ değerleri

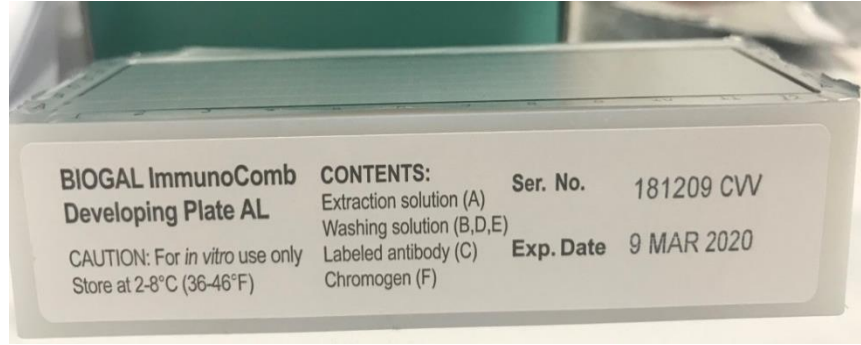
ICH (CAV)	CPV	CDV
S0 / Negatif	S0 / Negatif	S0 / Negatif
<S1 / Negatif	<S1 / Negatif	<S1 / Negatif
S2 / Zayıf Pozitif	S2 / Zayıf Pozitif	S2 / Zayıf Pozitif
≥ S3 / Pozitif	≥ S3 / Pozitif	≥ S3 / Pozitif
S4 / Pozitif	S4 / Pozitif	S4 / Pozitif
≥ S5 / Yüksek Pozitif	≥ S5 / Yüksek Pozitif	≥ S5 / Yüksek Pozitif
S6 / Yüksek Pozitif	S6 / Yüksek Pozitif	S6 / Yüksek Pozitif



Resim 1. Canine VacciCheck Elisa test kutusu



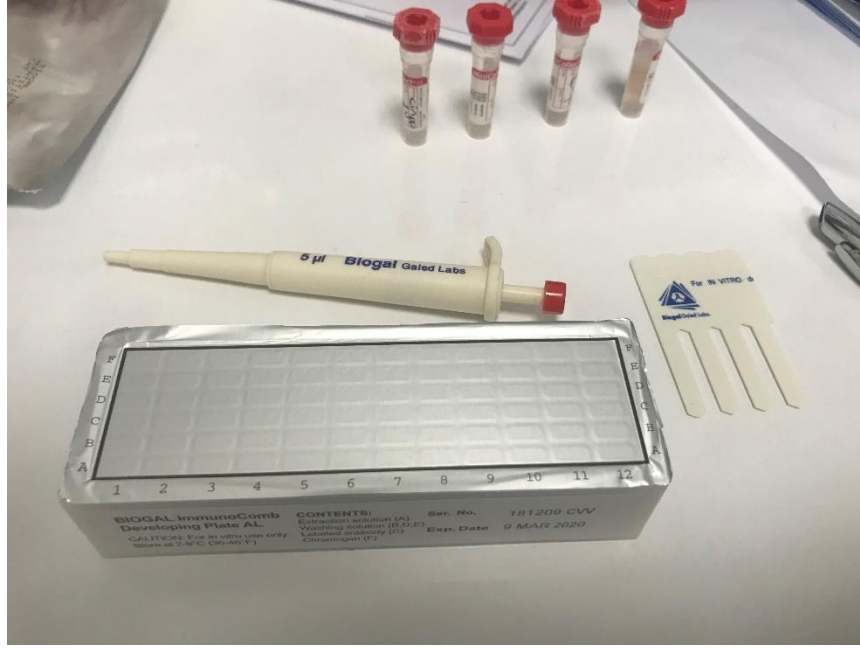
Resim 2. Canine VacciCheck Elisa test kutusu içi(ambalajında)



Resim 3. Canine VacciCheck Elisa test kutusu(yan görünüm)



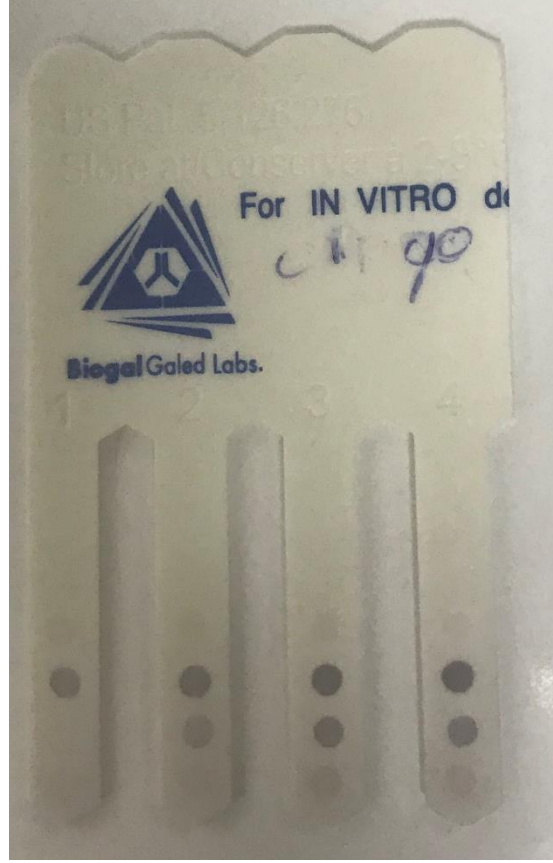
Resim 4. Canine VacciCheck Elisa test kutusu içeriği



Resim 5. Canine VacciCheck Elisa test kutusu içeriği ve serum örnekleri



Resim 6. Çalışmada kullanılan malzemeler (Mikro pipet, tarak, serum örnekleri)



Resim 7. Çalışılmış tarak örneği



Resim 8. Aşı uygulaması öncesi hayvanların genel muayenesi



Resim 9. Çalışmaya alınan hayvandan kan örneği alımı



Resim 10. Alınan kan örneklerinin santrifüj edilmesi

2.2.4 . İstatistiksel Analiz

Öncelikle sonuçlar genel olarak (dört ölçüm zamanı olarak) karşılaştırıldı. Burada dört test zamanı arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Uygulanan yöntem Cochran Q testidir. Ölçüm zamanları ikili olarak Mc Nemar testi ile karşılaştırılmıştır. Testlerin tamamında $p < 0,005$ anlamlılık düzeyi olarak alınmıştır. Bulgular kayıt altına alındı ve çıkan sonuçlar istatistiksel olarak (IBM® SPSS® Statistics 22) değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen 10 hayvanın, çalışma öncesi, sırası ve sonrasında klinik ve laboratuvar bulguları ve istatistiksel sonuçları incelendi.

3.1. Çalışma öncesi bulgular

Çalışma öncesinde vakaların, genel muayene parametreleri değerlendirildi. Bu amaçla, beden ısısı, solunum sayısı, mukoz membranlar, kapillar dolma süresi, pulzasyon ve iştah durumları incelendi. Bulgular Çizelge 7’de sunulmuştur. Sağlıklı olduğu görülen vakaların, antiparaziter uygulamaları yapıldı. Çalışmadan çıkartılan hayvan bulunmamaktadır.

Çizelge 7. Vakaların çalışma öncesi genel muayene sonuçları

	Beden ısısı T °C	Respirasyon sayısı/ dakika	Mukoz membranlar	Kapillar dolum zamanı (saniye)	Pulzasyon / dakika	İştah
1.	38.8	44	N	1-2	96	+
2.	37.6	40	N	2-3	92	+
3.	39.1	45	N	1-2	97	+
4.	38.4	40	N	2-3	86	+
5.	37.9	38	N	1-2	84	+
6.	38.3	41	N	2-3	89	+
7.	39.2	38	N	2-3	87	+
8.	39.3	44	N	1-2	90	+
9.	38.7	35	N	1-2	82	+
10.	38.5	39	N	2-3	95	+

3.2. Sıfıncı (0.) gün bulguları

Hayvanların aşılama öncesinde, kan serumlarından Elisa testi ile antikor tayinleri değerlendirildi. Buna ilişkin sonuçlar Çizelge 8.'de sunulmuştur.

Çizelge 8. Vakaların 0. gün (kontrol) Elisa testi sonucu hepatitis, parvovirus ve distemper hastalığına karşı koruyuculuk titresi ile Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI) ve Virus Nötralizasyon (VN) değerleri

	Hepatitis (ICH) / VN titresi	Parvovirus (CPV) / HI titresi	Distemper (CDV) / VN titresi
1.	S5 / 1:64	S1 / 1:40	S2 / 1:16
2.	S0 / <1:4	S0 / <1:40	S1 / <1:8
3.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S3 / 1:32
4.	S0 / 1:4	S0 / <1:40	S1 / <1:8
5.	S0 / 1:4	S0 / <1:40	S0 / <1:8
6.	S0 / 1:4	S0 / <1:40	S2 / 1:16
7.	S2 / 1:8	S2 / 1:40	S3 / 1:32
8.	S0 / 1:4	S1 / <1:40	S1 / <1:8
9.	S0 / 1:4	S0 / <1:40	S0 / <1:8
10.	S1 / 1:4	S1 / <1:40	S0 / <1:8

S; skala değeri (S0 en düşük koruyuculuk, S6 en yüksek koruyuculuk değeri)

3.3. Yirmi Birinci (21.) Gün Bulguları

Karma aşı (DHPPİ+L) yapılmasının ardından, yirmi bir gün sonra, vakaların kan serumları alınarak, Elisa testi ile antikor titreleri ölçüldü. Alınan sonuçlar Çizelge 9'da sunulmuştur.

Çizelge 9. Aşı uygulamasının ardından yirmi bir gün sonraki serum antikor titreleri

	Hepatitis (ICH)/ VN titresi	Parvovirus (CPV)/ HI titresi	Distemper (CDV)/ VN titresi
1.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S3 / 1:32
2.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S3 / 1:32
3.	S5 / 1:64	S5 / 1:320	S4 / 1:64
4.	S5 / 1:64	S0 / < 1:40	S2 / 1:16
5.	S5 / 1:64	S2 / 1:40	S2 / 1:16
6.	S2 / 1:8	S1 / <1:40	S2 / 1:16
7.	S5 / 1:64	S2 / 1:40	S3 / 1:32
8.	S4 / 1:32	S2 / 1:40	S1/ <1:8
9.	S5 / 1:64	S2 / 1:40	S2 / 1:16
10.	S3 / 1:16	S2 / 1:40	S1 / <1:8

3.4. Kırk İkinci (42.) Gün Bulguları

Yirmi birinci gün antikor titreleri değerlendirildikten sonra vakalara ikinci karma (DHPPi+L) aşıları uygulandıktan sonra, üçüncü aşılama öncesinde kan serumlarından antikor titreleri değerlendirildi. Alınan sonuçlar Çizelge 10'da sunulmuştur. Değerlendirme sonrasında, üçüncü aşı uygulaması gerçekleştirildi.

Çizelge 10. Vakaların ikinci aşı uygulaması sonrası ve üçüncü aşıların uygulanmasından önceki, kırk ikinci günde ki serum antikor titreleri.

	Hepatitis (ICH) / VN titresi	Parvovirus (CPV) / HI titresi	Distemper (CDV) /VN titresi
1.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
2.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
3.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S5 / 1:128
4.	S6 / 1:128	S4 / 1:160	S3 / 1:32
5.	S5 / 1:64	S5 / 1:320	S4 / 1:64
6.	S4 / 1:32	S4 / 1:160	S3 / 1:32
7.	S5 / 1:64	S5 / 1:320	S4 / 1:64
8.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S2 / 1:16
9.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S2 / 1:16
10.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S3 / 1:32

3.5. Altmış Üçüncü (63.) Gün Bulguları

Üçüncü kez aşı uygulaması yapılmış olan vakaların, dördüncü aşılama öncesinde ki kan serumu antikor titreleri Çizelge 11’de sunulmuştur.

Çizelge 11. Vakaların üçüncü aşı uygulaması sonrası ve dördüncü aşıların uygulanmasından önceki, altmış üçüncü gündeki serum antikor titreleri.

	Hepatitis (ICH)/ VN titresi	Parvovirus (CPV)/ HI titresi	Distemper (CDV)/VN titresi
1.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
2.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
3.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S5 / 1:128
4.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
5.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
6.	S5 / 1:64	S5 / 1:320	S5 / 1:128
7.	S5 / 1:64	S5 / 1:320	S4 / 1:64
8.	S5 / 1:64	S5 / 1:320	S4 / 1:64
9.	S6 / 1:128	S5 / 1:320	S4 / 1:64
10.	S5 / 1:64	S4 / 1:160	S4 / 1:64

Sunulan çalışma sonucunda elde edilen verilen tamamı tek bir tablo halinde Çizelge 12’de sunulmuştur.

Çizelge 12. Sunulan çalışma sonrası elde edilen toplam veriler.

		0.gün	21.gün	42.gün	63.gün
Köpek 1	<i>Hepatitis</i>	S5 / 1:64	S5 / 1:64	S6 / 1:128	S6 / 1:128
	<i>Parvovirus</i>	S1 / 1:40	S4 / 1:160	S5 / 1:320	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S2 / 1:16	S3 / 1:32	S4 / 1:64	S4 / 1:64
Köpek 2	<i>Hepatitis</i>	S0 / <1:4	S5 / 1:64	S6 / 1:128	S6 / 1:128
	<i>Parvovirus</i>	S0 / <1:40	S4 / 1:160	S5 / 1:320	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S1 / <1:8	S3 / 1:32	S4 / 1:64	S4 / 1:64
Köpek 3	<i>Hepatitis</i>	S5 / 1:64	S5 / 1:64	S6 / 1:128	S6 / 1:128
	<i>Parvovirus</i>	S4 / 1:160	S5 / 1:320	S5 / 1:320	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S3 / 1:32	S4 / 1:64	S5 / 1:128	S5 / 1:128
Köpek 4	<i>Hepatitis</i>	S0 / 1:4	S5 / 1:64	S6 / 1:128	S6 / 1:128
	<i>Parvovirus</i>	S0 / <1:40	S0 / <1:40	S4 / 1:160	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S1 / <1:8	S2 / 1:16	S3 / 1:32	S4 / 1:64

Köpek 5	<i>Hepatitis</i>	S0 / 1:4	S5 / 1:64	S5 / 1:64	S6 / 1:128
	<i>Parvovirus</i>	S0 / <1:40	S2 / 1:40	S5 / 1:320	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S0 / <1:8	S2 / 1:16	S4 / 1:64	S4 / 1:64
Köpek 6	<i>Hepatitis</i>	S0 / 1:4	S2 / 1:8	S4 / 1:32	S5 / 1:64
	<i>Parvovirus</i>	S0 / <1:40	S1 / <1:40	S4 / 1:160	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S2 / 1:16	S2 / 1:16	S3 / 1:32	S5 / 1:128
Köpek 7	<i>Hepatitis</i>	S2 / 1:8	S5 / 1:64	S5 / 1:64	S5 / 1:64
	<i>Parvovirus</i>	S2 / 1:40	S2 / 1:40	S5 / 1:320	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S3 / 1:32	S3 / 1:32	S4 / 1:64	S4 / 1:64
Köpek 8	<i>Hepatitis</i>	S0 / 1:4	S4 / 1:32	S5 / 1:64	S5 / 1:64
	<i>Parvovirus</i>	S1 / <1:40	S2 / 1:40	S4 / 1:160	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S1 / 1:8	S1 / <1:8	S2 / 1:16	S4 / 1:64
Köpek 9	<i>Hepatitis</i>	S0 / 1:4	S5 / 1:64	S5 / 1:64	S6 / 1:128
	<i>Parvovirus</i>	S0 / <1:40	S2 / 1:40	S4 / 1:160	S5 / 1:320
	<i>Distemper</i>	S0 / <1:8	S2 / 1:16	S2 / 1:16	S4 / 1:64
Köpek 10	<i>Hepatitis</i>	S1 / 1:4	S3 / 1:16	S5 / 1:64	S5 / 1:64
	<i>Parvovirus</i>	S1 / <1:40	S2 / 1:40	S4 / 1:160	S4 / 1:160
	<i>Distemper</i>	S0 / <1:8	S1 / <1:8	S3 / 1:32	S4 / 1:64

Aşılamalar sonrası elde edilen istatistik bulguları Çizelge 13, Çizelge 14 ve Çizelge 15’de sunulmuştur. Buna göre CAV için; 0. gün %20 olan koruculuk seviyesi birinci aşı sonrası %90, ikinci aşı sonrası %100’e ulaşmış ve üçüncü aşı sonrası sabit kalmıştır. CPV için; 0. gün %10 olan koruculuk seviyesi birinci aşı sonrası %30, ikinci aşı sonrası %100’e ulaşmış ve üçüncü aşı sonrası sabit kalmıştır. CDV için; 0. gün %20 olan koruculuk seviyesi birinci aşı sonrası %40, ikinci aşı sonrası %80’e ulaşmış ve üçüncü aşı sonrası %100’e ulaşmıştır.

Çizelge 13. CAV-2’nin çalışmadaki hayvanlarda aşılama sonrası sayı ve frekans dağılımı

<i>Hepatitis</i>	Sayı/ Yüzde (%)	0. Gün	21. Gün (1. Aşı sonrası)	42. Gün (2. Aşı sonrası)	63. Gün (3. Aşı sonrası)
S0	n / %	6 (%60)	0 (%0)	0 (%0)	0(%0)
S1	n / %	1 (%10)	0 (%0)	0(%0)	0 (%0)
S2	n / %	1 (%10)	1 (%10)	0 (%0)	0 (%0)
S3	n / %	0 (%0)	1 (%10)	0 (%0)	0 (%0)
S4	n / %	0 (%0)	1 (%10)	1 (%10)	0 (%0)
S5	n / %	2 (%20)	7 (%70)	5 (%50)	4 (%40)
S6	n / %	0 (%0)	0 (%0)	4 (%40)	6 (%60)

Çizelge 14. CPV'nin çalışmadaki hayvanlarda aşılama sonrası sayı ve frekans dağılımı

<i>CPV</i>	Sayı/ Yüzde (%)	0. Gün	21. Gün (1. Aşı sonrası)	42. Gün (2. Aşı sonrası)	63. Gün (3. Aşı sonrası)
S0	n / %	5 (%50)	1 (%10)	0 (%0)	0(%0)
S1	n / %	3 (%30)	1 (%10)	0(%0)	0 (%0)
S2	n / %	1 (%10)	5 (%50)	0 (%0)	0 (%0)
S3	n / %	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
S4	n / %	1 (%10)	2 (%20)	5 (%50)	1 (%10)
S5	n / %	0 (%0)	1 (%10)	5 (%50)	9 (%90)
S6	n / %	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)

Çizelge 15. CDV'nin çalışmadaki hayvanlarda aşılama sonrası sayı ve frekans dağılımı

<i>CDV</i>	Sayı/ Yüzde (%)	0. Gün	21. Gün (1. Aşı sonrası)	42. Gün (2. Aşı sonrası)	63. Gün (3. Aşı sonrası)
S0	n / %	3 (%30)	0 (%0)	0 (%0)	0(%0)
S1	n / %	3 (%30)	2 (%20)	2 (%20)	0 (%0)
S2	n / %	2 (%20)	4 (%40)	0 (%0)	0 (%0)
S3	n / %	2 (%20)	3 (%30)	3 (%30)	0 (%0)
S4	n / %	0 (%0)	1 (%10)	4 (%40)	8 (%80)
S5	n / %	0 (%0)	0 (%0)	1 (%10)	2 (%20)
S6	n / %	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)

CAV -2 için koruyuculuk durumunun aşılama zamanlarına göre karşılaştırılmasına yönelik Cochran's Q testi sonuçları Çizelge 16.'da sunulmuştur. Koruyuculuk durumu aşılama zamanlarına göre anlamlı bir farklılık göstermiştir. 2-3 arasındaki aşılama programında anlamlı bir farkın ($p=0,5$) ortaya çıkmamasının nedeni $n=10$ bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 16. CAV-2'nin aşı zamanlarına göre koruyuculuk durumu

CAV	<S3	≥ S3
0. gün (0)	8 (%80)	2 (%20)
21. gün (1)	1 (%10)	9 (%90)
42. gün (2)	0 (%0)	10 (%100)
63. gün (3)	0 (%0)	10 (%100)

		Farklılık
Cochran's testi=21,480 Sd=3 P<0.001	Q	0-1 0-2 0-3

CPV için koruyuculuk durumunun aşılarda zamanlarına göre karşılaştırılmasına yönelik Cochran's Q testi sonuçları Çizelge 17.'de sunulmuştur Koruyuculuk durumu aşılarda zamanlarına göre anlamlı bir farklılık göstermiştir.

Çizelge 17. CPV'ün aşı zamanlarına göre koruyuculuk durumu

CPV	<S3	≥ S3
0. gün (0)	9 (%90)	1 (%10)
21. gün (1)	7 (%70)	3 (%30)
42. gün (2)	0 (%0)	10 (%100)
63. gün (3)	0 (%0)	10 (%100)

		Farklılık
Cochran's testi=23,294 Sd=3 P<0,001	Q	0-2 0-3 1-2 1-3

CDV için koruyuculuk durumunun aşılarda zamanlarına göre karşılaştırılmasına yönelik Cochran's Q testi sonuçları Çizelge 18.'de sunulmuştur Koruyuculuk durumu aşılarda zamanlarına göre anlamlı bir farklılık göstermiştir.

Çizelge 18. CDV'ün aşı zamanlarına göre koruyuculuk durumu

<i>CDV</i>	<S3	≥ S3
0. gün (0)	8 (%80)	2 (%20)
21. gün (1)	6 (%60)	4 (%40)
42. gün (2)	2 (%20)	8 (%80)
63. gün (3)	0 (%0)	10 (%100)

	Farklılık
Cochran's Q testi=17,143 Sd=3 P=0,001	0-2 0-3

4.TARTIŞMA

Daha önce immün yanıtı yönelik olarak yapılan çalışmalarda, çeşitli ırklarda yavru köpekler kullanılmıştır. Bunlar; Beagle, Rotweiler, Amerinkan Pitbull Terrier, Doberman Pincher, Alman Çoban Köpeği, Toy Poodle, İspanyol Cocker , Shih Tzu, Jack Russel, Golden Retriever, Pomeranian ve melez ırkları kapsamaktadır (Glickman ve ark., 1985; Houston ve ark., 1996; Waner ve ark., 1998; Cramer ve ark., 2011; Mila ve ark., 2014). Houston (1996) çalışmasında Rottweiller, Amerikan Terrier, Doberman Pincher ve Alman Çoban Köpeklerinin CPV için yüksek risk grubunda; Toy Poodle ve İspanyol Cockerların ise melez ırklara nazaran daha düşük risk grubunda olduğunu göstermiştir. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada; on adet yavru köpek kullandık. Bunlar; Rotweiler, Golden Retriever, Maltese Terrier, İspanyol Cocker, Shih Tzu, Jack Russell ve melez ırklardı. Bu vakaların bir kısmını bazı yavru köpek viral hastalıkları için yüksek risk grubunda olan köpek ırkları; bir kısmını ise daha düşük risk grubunda olan köpek ırkları oluşturmuştur.

Annelerinden intrauterin ya da kolostrum ile yeterli maternal antikor almamış yavrular en duyarlı grubu oluşturmaktadırlar (Apel ve Summer 1999, Murphy ve ark 1999). Köpekler için maternal antikor transferi, öncelikle yavru hayatının ilk 2 günü boyunca kolostrumun bağırsak emilimi ile gerçekleşir(Buonavoglia ve ark. 1992). Maternal antikorlarla yapılan etkileşim, genç köpeklerde öncelikle köpek parvovirüs (CPV) olmak üzere diğer yavru köpek viral hastalıkları için aşılama başarısızlığının ana nedeni olarak kabul edilmektedir. Çünkü maternal antikorlar aşısındaki virüsü etkisizleştirir (Pollock ve Carmichael, 1982). Bu en sık görülen nedendir. Eğer son aşı 16 haftalıkken veya daha sonrasında yapılırsa, maternal antikor seviyesi azalır (Friedrich & Truyen 2000) ve bir çok yavru da aşı başarılı olup bağışıklık geliştirir. Bu nedenle sadece bir tane aşı programı tüm köpekler için kullanılmaması önerilmektedir. Bu sorun, immünizasyon stratejileri geliştirme girişimleri, yaklaşık altı haftalıktan itibaren 16-18 haftalık yaşa kadar birden fazla aşı uygulaması ile aşılanabilir. Düşük maternal antikora sahip yavrular altı haftadan önce aşılanabilir. Fakat Friedrich & Truyen (2000) yaptıkları çalışmada yüksek titrede

maternal antikor taşıyan yavruların 12 haftalık yaştan önce aşıya cevap vermeyeceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmaya paralel olarak sunulan çalışmada da düşük antikor titrelili köpeklerde prosedüre uygun olarak yapılan aşılamaya ile düşük maternal antikor seviyesi olan 12 haftalıktan küçük köpeklerin aşıya yanıt verdikleri belirlendi.

Waner ve ark. (1996) yaptıkları çalışmalarda, gebe köpeklerin doğumunda bir hafta önce anneyi aşılayıp, yavruya ise altıncı haftada ilk aşı uygulamış, tekrar aşılamalar üçer hafta ara ile yapılmış ve de bunların oluşturduğu immun yanıtı değerlendirmişlerdir. Day ve ark. (2010)'a göre ise, aşı protokolü olarak, yavru köpeğe 6 ve 9 haftalık yaşlar arasında aşılamaya programının başlamasının uygun olduğunu belirtmişlerdir. Sonrasında ise, iki ila dört hafta arayla, aşıların tekrarlarının yapılmasını önermektedir. Minke ve ark. (2009) yaptıkları çalışmalarda 8-9 haftalık yavru köpeklere dörder hafta ara ile aşı uygulaması yapmıştır. WSAVA (2015) belirttiği aşılamaya programında temel aşıya ilk olarak 6-8 haftalar arasında başlamayı ve her 2-4 haftalık aralıklarla 16. hafta ve sonrasına kadar devam etmeyi önermektedir. Bu nedenle bir yavruya yapılacak temel aşı sayısı, aşıya başlama yaşıyla ve seçilen aşılamaya aralıklarıyla belirlenecektir. Bu öneriye göre, eğer aşıya 6.-7. haftalarda başlandıysa, 4 haftalık aralıklarla 4 temel aşı, 8-9. haftada başlandıysa 4 haftalık aralıkta 3 temel aşı yapılmalıdır. Buna karşın, çoğu aşının prospektüsü başlangıçta 2 doz temel aşı uygulamasını önermektedir. Bazı ilaçlar da 10. haftada bitirmek üzere ruhsatlanmıştır. 2 doz temel aşının 2. dozu 10 haftalıkken yapılır. Bunun altında yatan neden, enfeksiyon riskini azaltıp yavru köpeklerin erken sosyalleşmesini sağlamaktır. WSAVA (2015) önerilen aşı programında erken sosyalleşmenin köpeklerin davranışları üzerindeki olumlu etkisini kabul etmektedir (Korbelik ve ark. 2011, AVSAB 2008). Yavru köpekler eğitime katılacaksa, gerekli önlemler alınmalı, köpeğin bulunduğu yerdeki diğer köpeklerin sağlıklı ve tam aşıları olduğundan emin olunmalıdır. Yakın bir zamanda ABD'de yapılan bir araştırma sonucunda, aşıları yavrular eğitime katıldığında bunlar için minimum düzeyde CPV2 riski bulunduğu görülmüştür (Stepita ve ark. 2013). WSAVA (2015) önerilen aşı programında temel aşı serisinin sonuncu uygulamasının 16. hafta ve sonrasında yapılmasını önermektedir. Benzer olarak sunulan bu çalışmada da 8 haftalık yaşlarda

iken aşılama programı başlatıldı ve üçer hafta aralıklar ile aşuların tekrarları uygulandı.

Yapılan çalışmalarda daha iyi bir immun yanıt elde etmek amacıyla modifiye canlı aşının (MLV) kullanımını önermişlerdir (Waner ve ark. (1998), Cramer ve ark. (2011)). Sunulan birçok çalışmada MLV temel aşularına cevap veren köpeklerin birkaç yıl boyunca güçlü bir bağışıklık sistemi oluştuğunu göstermiştir (Bohm ve ark. (2004), Mouzin ve ark. (2004), Schultz (2006) ve Mitchell ve ark. (2012)). Greene ve ark. (2001) yaptığı çalışmada köpeklere uygulanan multivalan aşuların neden olabileceği problemleri bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada, beşli MLV aşı kullanılmıştır. Minke ve ark. (2009) Leptospirozis ile ilgili beagle yavruları üzerinde yaptıkları çalışmada iki doz L. İnterrogans icterohaemorrhagiae ve canicola'nın inaktive edilmiş kültürlerinden hazırlanan, bütün hücreli, adjuvanlanmamış bir aşı olan EURICAN1 L'nin rutin üretim partileri kullanılmıştır ve EURICAN1 DHPPi2 L aşı uygulamasının, hem klinik leptospirosise hem de böbrek hastalıkları taşıyıcı aşamasına karşı hızlı başlangıçlı ve uzun süreli koruma sağladığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, kontrol grubundaki hayvanlar ise leptospirozise karşı aşılanmamış ve aşılanmış köpeklerle birlikte tutulmuştur. Kontrol yavrularında, % 60'a varan mortalite tespit edilmiş ve Leptospira enfeksiyonu ile uyumlu klinik bulgular göstermişlerdir. Leptospira suşları içeren multivalan aşuların, köpeklerde leptospirozis ve leptospirozisin insanlara zoonotik geçişini önlemede güçlü bir araç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada da aynı ticari marka ve aynı içeriklere sahip aşı kullanılmıştır.

Immunglobulin G (IgG) ile kıyaslandığında Immunglobulin M (IgM) tipi antikorlar akut enfeksiyonda, beklenenden daha erken kaybolmakta ayrıca primer enfeksiyon, re-enfeksiyon veya reaktivasyon ayırımında yetersiz kalmaktadırlar. Bu durumda tek bir serum örneğinde spesifik IgG aviditesinin hesaplanması enfeksiyon hastalıklarının tanısına yardımcı olur. Spesifik IgG antikorların aviditesinin saptanması; aglütinasyon, radyo-immunassay, kompleman fiksasyon, ELISA, immunfloresans, elektroblotting ve elektroforez gibi çeşitli yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir (Gutierrez ve Maroto (1996). Waner ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada köpeklerde CPV ve CDV'e karşı aşılama sonrası oluşan IgM ve IgG

antikorlarının titrelerini Immunocomb ELISA test kiti ile ölçmüş ve immünofloresan deneyinden (IFA) elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Multivalent aşı ile aşılanmış sekiz yavrudan yedisinde CPV'e ait IgM antikorları ilk kez aşılandıktan yedi gün sonra tespit edilmiş ve bu değerler dokuz ila 16 gün arasında yüksek değerde kalmıştır. 23 gün sonra sekiz yavrudan altısında hala yüksek titrede IgM mevcutken bu sayı 30 gün sonra bire düşmüştür. Aynı çalışmada yedi gün sonra sekiz yavrudan ikisinde düşük olan IgG titreleri dokuz gün sonra bütün yavrularda yüksek seviyede ölçülmüş ve bu değerler deney boyunca sabit kalmıştır. Sunulan çalışmada üçer haftalık çoklu ölçümler ve tekrar aşılama yapıldığı için ELISA testi ile IgG antikor titre ölçümleri yapılmıştır.

Kliniklerde köpek viral hastalıklarının tespitinin pahalı ve zaman alıcı olduğunu için klinisyenler tarafından çok kullanılmamaktadır. Ancak klinik koşullar altında kullanımı basit bir ELISA kitinin bulunması, klinisyenlerin hastalığın erken döneminde serum örneği ile tanıya gitmesine yardımcı olmaktadır. Çalışmamızda kullanılan nokta ELISA tekniğinin CPV ve CDV hastalıklarında IgG antikorlarının tespitinde güvenilir ve yarı-kantitatif bir testtir. Bu test ile CPV, CDV ve CAV antikorunun tespiti ve aşılama sonrası oluşan immun yanıtlar ölçülebilmektedir. Nokta ELISA test kitinin standart hemagglütinasyon inhibisyon (HI) testine paralel sonuçlar ortaya koyduğu bildirilmiştir. Kullanılan test aynı zamanda 6-16 haftalık kritik evredeki yavruların bağışıklık durumunun değerlendirilmesinde de kullanılabilir (Waner ve ark., 2003).

Waner ve ark. (1996) yaptığı çalışmada yavru ve yetişkin köpeklerde CPV için HI değerlerinin 1:40 ila 1: 640 arasında olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, ELISA kiti ile HI aralığında 1:10 ila 1:40 veya 1: 1,280 ila 1: 10,240 arasındaki antikor titrelerini kesin olarak belirlemenin mümkün olmadığına değinilmiştir. Nedeni bu aralıklardaki ELISA test kiti renk yoğunlukları benzer olmasıdır. Ancak bu durum yavrularda bağışıklığın değerlendirilmesindeki parametreler içinde önemli değildir. Çünkü 1:10 ila 1:40'lık HI antikor titreleri yetersiz bağışıklık kanıtıdır ve bu düşük titrelere sahip olan çoğu yavru aşılanabilir. Chappius (1998) yaptığı çalışmada HI titresinin CPV için 1:64 ile 1:80 arasında olan yavru köpeklerin maternal antikor

seviyesinin azaldığı ve çevrede virüs bulunması durumunda hastalanabileceğini göstermiştir. 1:80 ve üstü titreler koruyucu olarak kabul edilmektedir (McCartney ve ark. 1988). Bohm ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada serolojik sonuçları üç kategoride sınıflandırma yaparak değerlendirmiştir. CPV için bu değerler HI sonuçlarınca 1:64 duyarlı düşük titre, 1:64 ila 1:128'den az titre muhtemelen korunmuş ve 1:128'den fazla titreler koruyucu olarak tanımlanmıştır. CDV ve CAV için bu değerler SN sonuçlarına göre 1:16 veya daha az olan köpekler duyarlı düşük titre; 1:16 ve 1:64 arasında olanlar muhtemelen korunmuş ve 1:64'ten fazla titreleri koruyucu kabul edilmiştir. CDV'ye karşı VN değerleri 1:16 ila 1:32 arasındaki titrelerin koruyucu olduğu kabul edilmiştir (Olson ve diğerleri 1988, 1997, Coyne ve ark. 2001). Kullandığımız ELİSA testi IFA değerlerine sahip, altın standartlarla eş ölçüm yapabilen bir test olmakla birlikte daha önce yapılan titre ölçüm testlerinin HI ve VN testleri ile ortak değerlere sahiptir. Nötralizasyon ve HI testi, enfeksiyona karşı korunmanın ölçülmesinde altın standart olarak kabul edilirken, serum titresi, korunmanın derecesi hakkında bilgi verir (Gençay ve ark 2004, Woma 2008). ImmunoComb ELİSA testinde 'S' skorları S0-S6 arasında olmaktadır. Minimum koruyucu titre değeri S3 olarak bildirilmiştir. S3 minimum koruma değerleri CPV için 1:80 HI titresine ; CAV için 1:16 VN titresine ve CDV için 1:32 VN titresine karşılık gelmektedir. Bu titrelerin altındaki değerler duyarlı, eşit değerler muhtemelen korunmuş ve üzeri değerler ise koruyucu olarak kabul edilmektedir. Sunulan çalışmada üçer aşı sonrasında başarılı bir immun yanıt sağlanmıştır.

Bohm ve ark. (2004) 197 adet yaşları 10 ila 14 haftalık olan yavru köpekler ile yaptıkları çalışmada antikör titrelerini CPV için HI, CDV ve CAV-2 için ise SN testleri baz alarak ölçülmüştür. Aşılamalarından önce, 197 yavrudan 54'ünde koruyucu CPV titresine, 53'ünde sınır titre ve 90'ında düşük titre ölçülmüştür. Tek bir modifiye canlı aşı uygulamasından sonra 156'sında koruyucu titre, 30'unda sınır titre ve 11'inde düşük titreye ölçülmüştür. CDV için 194 yavrudan 16'sında koruyucu titre, 12'sinde sınır titre ve 166'sında düşük titre ölçülmüştür. Tek bir dozdan sonra 162'sinde koruyucu titre, 24'ünde sınır çizgisi titre ve sekizinde düşük CDV titreleri ölçülmüştür. CAV için aşılanmadan önce, 198 yavrudan 25'inde koruyucu titre, 13'ünde sınır titre ve 160'ında düşük titre ölçülmüştür. Tek bir aşılamadan sonra,

125'inde koruyucu titre, 20'sinde sınır titre ve 53'ünde düşük CAV titreleri ölçülmüştür. Sunulan çalışmada benzer olarak aşılamalardan önce CPV için bir hayvanda koruyucu titre dokuz hayvanda düşük titre; CDV için iki hayvanda sınır titresini sekiz hayvanda düşük titre; CAV için iki hayvanda koruyucu sekiz hayvanda düşük titreler ölçülmüştür. Tek doz MLV aşısı uygulaması sonrası CPV için üç hayvanda koruyucu yedi hayvanda düşük titre; CDV için bir hayvanda koruyucu üç hayvanda sınır altı hayvanda düşük titreler ölçülmüştür. İlk aşılama sonrası koruyuculuk seviyeleri yetersiz kalsa da kontrol grubuna göre yükselmiştir. Waner ve ark. (1996) 10 gebe Beagle ile yaptıkları çalışmada; annelere gebeliklerinin 30.-40. günleri arasında MLV CDV ve CPV aşısı uygulamış ve her batında doğan yavrulardan rastgele seçilen dörder yavruya da hayatlarının 6. Ve 9. Haftalarında aynı aşığı üçer hafta aryla olmak üzere uygulayıp oluşan CPV antikor titresini ELİSA test kiti ile ölçmüş ve HI ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda CPV için 1:10 ile 1:40 arasında HI titrelerine sahip yavruların %95'i başarıyla aşılanabilmiş, 2 yavrunun ise 1:80'lik bir maternal antikor titresine sahip olduğu ve bu seviyenin aşının etkisini azalttığını belirtilmiştir. Aşılama sonrası oluşan titrelerdeki önemli artışlar, aşılama cevap veren yavrularda 6 ve 9 haftalarda açıkça gösterilmiştir. Antikor seviyelerindeki artışlar hem HI testi hem de ELISA ile gösterilmiştir. Yapılan çalışmaya paralel olarak sunulan çalışmada 9 haftalıkken yapılan ikinci aşılama sonrası, tüm yavruların CPV'nin çeşitli suşlarına karşı koruyucu olarak kabul edilen serum antikor titrelerine sahip olduğunu belirtilmiştir. Sunulan çalışmada da benzer olarak, 8 ve 11 haftalık yaşlarda yapılan iki doz MLV aşısı sonrası on hayvanın tamamında 1:160 ila 1:320 HI değerlerinde sahip olduğu ve koruyuculuk oluştuğu verileri elde edilmiştir. Üçüncü aşısı ise koruyuculuk seviyelerini yükseltmiştir.

Bergman ve ark. (2006) 40 adet dörder haftalık her iki cinsiyetten de beagle yavruları ile yaptığı çalışmada ilk gruba adjuvanlı ikinci gruba ise adjuvanlanmamış MLV aşısı uygulamaları yaparak CPV, CDV ve CAV-2'ye karşı oluşan antikor titreleri ölçülmüştür. Kan örnekleri dört, altı, yedi, 10, 11, 12 ve 14. haftalarda alınmıştır. CPV'ye karşı 1:80'den fazla bir HI titresini ve CDV ve CAV-2'ye karşı 1:8'den fazla virüs nötralizasyonu (VN) titresini pozitif olarak kabul edilmiştir. Her

aşılardan dört hafta sonra ve aralarda toplanan kan örnekleri ile antikor titre ölçümleri yapılmıştır Grup 1'deki bütün yavruların, altı haftalıkken ilk aşılardan sonra CPV'e cevap verdiği, ancak grup 2'deki yavruların üçünün cevap veremediği bildirilmiştir. Çalışmada her iki gruptaki köpeklerin 10 haftadaki ikinci aşılardan sonra titre üzerinde dört kat bir artış göstermiştir ve CPV'ye karşı 1:256 veya daha fazla HI titresi geliştirmiştir. Bu çalışma Larson ve Schultz (1997) çalışmasında 10 haftalıkken yapılan aşı sonucu köpeklerin CPV'ye %100 yanıt verdiği; Mockett ve Stahl (1995) ve Hoskins ve ark. (1995) tarafından yapılan çalışmada 9 haftalıkken yapılan aşı sonucu yavruların %100'nün aşıya yanıt verdiği çalışmaları ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda da diğer çalışmalara paralel olarak ikinci aşılardan sonra yeterli koruyuculuk sağlanmıştır.

Her iki aşının CDV fraksiyonlarına verilen yanıtların tatmin edici olduğu kabul edilmektedir. Grup 1'deki bütün köpekler altıncı haftadaki ilk aşılarda CDV bileşenine cevap vermiş, ancak grup 2'deki bir köpek yavrusu yanıt verememiştir. Her iki gruptaki bütün köpekler, 10 haftadaki ikinci aşılardan sonra titre üzerinde dört kat bir artış göstermiş ve CDV'ye karşı 1:32 veya daha yüksek koruyucu VN titreleri geliştirmiştir. Grup 1'deki yavruların bu sonuçları, Bergman ve Stahl (1996) 9 haftalık yaşta aşıya %100 yanıt veren çalışması ve Bergman (1997) 10 haftalık yaşta aşıya %100 yanıt veren çalışması ile aynı sonuca varılmaktadır. Sunulan çalışmada bu çalışmadan farklı olarak ikinci aşılama sonrası iki hayvan(8 ve 9 numara) 1:16 düşük seviye VN seviyelerinde kalmış olup üçüncü bir aşıya ihtiyaç duyulmuştur. Negatif test sonucu, köpeğin çok az miktarda antikora sahip olduğunu veya hiç antikorun bulunmadığını ve tekrar aşılamanın önerildiğini gösterir (Mouzin ve ark., 2004). Yanlış negatif ya da doğru negatif sonuçlar gözetmeksizin negatif sonuç veren bir hayvanın hiçbir antikora sahip olmadığı ve enfeksiyona duyarlı olduğu kabul edilmektedir. Sunulan çalışmada yapılan üçüncü aşılama sonrası minimum koruyucu değerleri 1:64 ve üzeri bulunmuş olup bütün hayvanlarda koruyuculuk sağlanmıştır.

Bergman ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada her iki gruptaki bütün köpekler, CAV-2 fraksiyonu ile aşılarmaya 10 haftalıkken cevap vermiş, ancak adjuvansız modifiye canlı aşı uyguladığı grupta (grup1) iki yavru ve adjuvanlı modifiye canlı aşı

uyguladığı grupta (grup 2) bir köpekte titreleri düşük olarak ölçülmüştür. Grup 1'de kullanılan aşının CAV-2 fraksiyonu ile yapılan bir çalışmada, aşılamadan sonra titreler 36 ay boyunca izlenmiş, tüm köpek yavruları aşılamaya serolojik olarak cevap vermiş, ancak bunların büyük bir kısmı aşılamadan dört hafta sonra düşük veya saptanamayan titrelere sahipken ve aşılamadan dört ila 12 hafta sonra titrede önemli bir artış göstermiş böylece CAV-1 ile mücadeleye karşı yeterince korunmuş oldukları gösterilmiştir. Dolayısıyla çalışmada üç yavruda gözlenen düşük titreler, aşılamaya karşı oluşan cevabın bir işareti olmayabilir. Sunulan çalışmada bir köpek (6 numaralı) ilk aşılama sonrası CAV için yeterli yanıt oluşturamamış fakat ikinci aşılama sonrası koruyucu değerlere sahip hale gelmiştir. Bunun nedeni bireysel bağışıklık olabileceği gibi dört haftadan kısa süreli yapılan ölçümler de olabilmektedir. (Bergman ve ark. 2006) Sunulan çalışmada ikinci MLV karma aşı sonrası on hayvanda koruyucu düzeyde bağışıklık sağlanmıştır.

5.SONUÇ

Bugüne kadar köpeklerin kan serumlarında CPV antikorları başta olmak üzere, yavru köpek viral hastalıklarının kantitatif tayini için piyasada mevcut bir test bulunmamaktadır. Bu amaçla kullanılacak testler HI tekniği ve Nötralizasyon tekniğidir, “altın standart” olarak kabul edilmekte ve yalnızca belirli laboratuvarlarda bulunmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, köpeklerde serum CPV, CDV ve CAV antikorlarının, yeni doğan yavrudan alınan kan serumları üzerinde ticari olarak temin edilebilen, klinik bazlı bir ELISA kullanılarak laboratuvar ekipmanlarının minimum miktarı ile kantitatif olarak ölçülebileceğini göstermiştir. ELISA ile maternal antikor seviyesi ölçülebilmekte, başarılı veya başarısız aşılanmış yavru belirlenebilmekte ve daha güvenilir ve uygun maliyetli bir aşılama programı sağlanabilmektedir. Sunulan çalışmayla üçer hafta ara ile yapılan üç MLV köpek karma aşısının yavruarda yeterli koruyuculuk sağladığı belirlenmiş ve yapılan testler ile koruma düzeyi ortaya konulmuştur. Bununla beraber yapılan çalışmada üçüncü karma aşidan sonra istatistiki bir fark olmasada, CDV ve CPV için S4 ve S5 seviyelerinde koruyucu düzeylere sahip hayvanlar bulunmaktadır. Bu koruyuculuk seviyelerini arttırmak amacıyla hassas ırklara dört veya beş karma aşı uygulaması yapılabilir. Titre kontrolü ile aşılama sonrası oluşan bireysel immün yanıt ölçülebilir.

ÖZET**KÖPEKLERDE KARMA AŞI UYGULAMALARININ SERUM
IgG DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Aşılammamış her köpeğin viral hastalıklara yakalanma riski bulunmaktadır. Bu hastalıklar yüksek mortalite ve morbilite ile seyretmektedir. Bu çalışmanın amacı; köpeklerde CAV, CPV ve CDV için karma aşılama sonrası oluşturulan IgG miktarlarının ölçülmesi ve koruculuğun ortaya koyulmasıdır. Bu amaçla Afyonkarahisar ve Bursa illerindeki bazı özel kliniklere getirilen 45-60 günlük, farklı ırk ve farklı cinsiyetteki 10 yavru köpek kullanıldı. Yavru köpeklere aşılamalarda bir hafta önce endo ve ektoparaziter uygulamaları yapıldı. Antiparaziter uygulamalar sonrasında genel muayenelerinde herhangi bir problem olmayan köpeklerde aşılama programı başlatıldı. Bu amaçla köpeklerde üçer hafta ara ile dörder karma aşı yapıldı ve her aşılama öncesinde kan alınarak üç karma aşı sonrası oluşan serum IgG seviyeleri nokta ELISA yöntemiyle tespit edildi.

Yapılan ELISA testi sonuçlarında CAV için; 0. Gün %20 olan koruculuk seviyesi birinci aşı sonrası %90, ikinci aşı sonrası %100'e ulaşmış ve üçüncü aşı sonrası sabit kalmıştır. CPV için; 0. Gün %10 olan koruculuk seviyesi birinci aşı sonrası %30, ikinci aşı sonrası %100'e ulaşmış ve üçüncü aşı sonrası sabit kalmıştır. CDV için; 0. Gün %20 olan koruculuk seviyesi birinci aşı sonrası %40, ikinci aşı sonrası %80'e ulaşmış ve üçüncü aşı sonrası %100'e ulaşmıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada; antikor ölçüm testlerinin yapılmasının aşı sayısını ve bağışıklık durumunu belirlemede yardımcı olduğu gösterilmiştir. Antikor ölçüm testlerinin yapılamadığı durumlarda üç karma aşının yeterli olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aşılama, İmmünglobulin, Corona, Distemper, Parvoviral Enteritis

SUMMARY

THE EFFECT OF MIXED VACCINATION ON SERUM IgG LEVELS IN DOGS

Each non-vaccinated dog has a risk of developing viral diseases. These diseases have high mortality and morbidity. The aim of this study is; CAV, CPV and CDV in dogs after mixed vaccination for the measurement of IgG amounts and put forth the guardianship. For this purpose, in the provinces of Afyonkarahisar and Bursa, some private clinics were brought to the 45-60 daily, different races and other gender 10 puppies were used. Endo and ectoparasites were applied to puppy dogs one week before vaccination. After antiparasitic applications, vaccination program was started in dogs without any problems in their general examinations. For this purpose, four mixed vaccines were made with three week intervals in each dog and serum IgG levels were determined by dot ELISA.

In the ELISA test results, for CAV; preservation level of 20% before vaccination, reached 90% after first vaccination, 100% after second vaccination and remained stable after third vaccination. For CPV; preservation level of 10% before vaccination, reached 30% after first vaccination, 100% after second vaccination and remained stable after third vaccination. For CDV; preservation level of 20% before vaccination, reached 40% after first vaccination, 80% after second vaccination and reached 100% after third vaccination.

As a result, in this study; antibody measurement tests have been shown to be helpful in determining the number of vaccines and immunological status. Three mixed vaccines were found to be sufficient in the absence of antibody measurement tests.

Keywords: Vaccination, Immunoglobulin, Corona, Distemper, Parvoviral Enteritis

KAYNAKLAR

- APPEL, M.J.G., F.W. SCOTT, L.E. CARMICHAEL. (1979). Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Veterinary Record* 105 :156–159.
- APPEL M .J. G., SUMMERS B. A. (1999). Canine distemper: Current Status. Recent Advances in Canine Infectious Diseases.
- APPEL, M. J., SCOTT, F. W., & CARMICHAEL, L. E. (1979). Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *The Veterinary Record*, 105(8), 156-159
- ARDA, M., MINBAY, A., AYDIN, N., AKAY, O., IZGUR, M., DIKER, S., (1994). İmmunoloji, Ankara.
- AVSAB (American Veterinary Society of Animal Behavior) (2008). Position statement on puppy socialization.
- AYTUG, N., (2012). Ekim. Köpek ve Kedilerin İç Hastalıkları 2.Baskı
- BERGMAN, J. G. H. E., MUNIZ, M., SUTTON, D., FENSOME, R., Ling, F., & Paul, G. (2006). Comparative trial of the canine parvovirus, canine distemper virus and canine adenovirus type 2 fractions of two commercially available modified live vaccines. *Veterinary Record*, 159(22), 733–736.
- BERGMAN, J. G. H. E., STAHL, M. (1996). A comparative study with the distemper component of two commercially available vaccines. Proceedings of the 21st Annual Congress of the World Small Animal Veterinary Association. Jerusalem, Israel, October 20 to 23, Syf. 414
- BERGMAN, J. G. H. E., STAHL, M. (1997). Comparative study of the distemper component of 3 different vaccines. Proceedings of the 22nd Annual Congress of the Federation of European Companion Animal Veterinary Associations. Birmingham, UK, April 3 to 6, Syf. 225

- BOHM M, THOMPSON H, WEİR A, HASTED AM, MAXWELL NS, HERRTAGE ME (2004). Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. *The Veterinary Record* 154: 457–463
- BULUT O., YAPICI O., SİMSEK A., ATLI K., (2013). The serological and virological investigation of canine adenovirus infection on the dogs. *The Sci World J*, 8,1-6.
- BUONAVOGLIA C., TOLLIS M., BUONAVOGLIA D, PUCCINI A. (1992). Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 15:281-283.
- BURGU, İ., AKÇA, Y. (2004). *Viroloji-2*, Ankara
- CAN SAHNA K., ASLAN O., Köpek İdrar ve Plazma Örneklerinde Canine Adenovirus (CAV) Antijeninin ELISA ile Araştırılması. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4 (2) 45-47; 2015.
- CHAPPUIS, G. (1998). Neonatal immunity and immunisation in early age: lessons from veterinary medicine. *Vaccine*, 16(14-15), 1468–1472.
- COYNE M. J., BURR J. H., YULE T. D., HARDİNG M. J., TRESNAN D. B., MCGAVİN D. (2001). Duration of immunity in dogs after vaccination or naturally acquired infection. *The Veterinary Record* 149: 509–515.
- DAY M. J., HORZİNEK M. C. ve SHULTZ R. D. (2010). Guidelines for the Vaccinations of Dogs and Cats. *Journal of the Small Animal Practice*, syf : 5.
- DE CRAMER, K. G. M., STYLIANIDES, E., & VAN VUUREN, M. (2011). Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Veterinary microbiology*, 149(1-2), 126-132.
- DIKER, S., (1998). *İmmunoloji* 1.Baskı
- ELLIS, J. A. & KRAKOWKA, G. S. (2012). A review of canine parainfluenza virus infection in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 240, 273-284

- FRIEDRICH, K., TRUYEN, U. (2000). Untersuchung der wirksamkeit von parvovirusimpfstoffen und der effektivitat zweier impfschemata. *Praktischer Tierarzt* 81, 988-994 Friend, S. C., Birch, C.
- GILL, M. A., MAY, S. W. (1990). *U.S. Patent No. 4,904,468*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- GLICKMAN, L. T., DOMANSKI, L. M., PATRONEK, G. J., & VISINTAINER, F. (1985). Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *J Am Vet Med Assoc*, 187(6), 589-594.
- GUR S., ACAR A. (2009). A retrospective investigation of canine adenovirus (CAV) infection in adult dogs in Turkey. *Journal of the South African Veterinary Association*. 80(2): 84–86.
- GREENE, C.E. (Ed.). (1998). *Infectious Disease of the Dog and Cat*. 2nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp. 273–281.
- GREENE, C. E., SCHULTZ, R. D., & FORD, R. B. (2001). Canine vaccination. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 31(3), 473-492.
- GUTIERREZ J, MAROTO C. (1996). Are IgG antibody avidity assays useful in the diagnosis of infectious diseases? A review. *Microbios*; 87: 113-21.
- HARTMAN, E. G., VAN HOUTEN, M., FRÍK, J. F., & VAN DER DONK, J. A. (1984). Humoral immune response of dogs after vaccination against leptospirosis measured by an IgM- and IgG-specific ELISA. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 7(3-4), 245–254.
- HEADLEY SA, GRACA DL. (2000). Canine distemper. Epidemiological findings of 250 cases. *Braz J Vet Res Anim Sci.*; 37: 1-9.
- HOSKINS, J. D., TAYLOR, H. W. & GOURLEY, K. R. (1995). Challenge trial of a new attenuated canine parvovirus vaccine. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 9, 197

- HOUSTON, D. M., RIBBLE, C. S., & HEAD, L. L. (1996). Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208(4), 542-546.
- IKEDA, Y., NAKAMURA, K., MIYAZAWA, T., TOHYA, Y., TAKAHASHI, E., MOCHIZUKI, M. (2002). Feline host range of canine parvovirus: recent emergence of new antigenic types in cats. *Emerg. Infect. Dis.* 6, 341–346.
- JOHNSON, R.H., P.B. SPRADBROW. (1979). Isolation from dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleucopaenia. *Australian Veterinary Journal* 55:151.
- KLAASEN H. L. B. M., MOLKENBOER M.J.C.H., VRIJENHOEK M.P., KAASHOEK M. J. (2003). Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalent inactivated vaccine. *Veterinary Microbiology* 121-132.
- KORBELIK, J., RAND, J. S. & MORTON, J. M. (2011). Comparison of early socialization practices used for litters of small-scale registered dog breeders and nonregistered dogs breeders. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 239, 1090-1097.
- LARSON, L. J. & SCHULTZ, R. D. (1997). Comparison of selected canine vaccines for their ability to induce protective immunity against canine parvo virus infection. *American Journal of Veterinary Research* 58, 360- 363
- MARTELLA, V., CAVALLI, A., PRATELLI, A., BOZZO, G., CAMERO, M., BUONAVOGLIA, D., NARCISI, D., TEMPESTA, M., BUONAVOGLIA, C., 2004. A canine parvovirus mutant is spreading in Italy. *J. Clin. Microbiol.* 42, 1333–1336.
- MARTIN, L. E. R., WIGGANS, K. T., WENNOGLE, S. A., CURTIS, K., CHANDRASHEKAR, R., LAPPIN, M. R. (2014). Vaccine-associated *Leptospira* antibodies in client-owned dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 28(3), 789-792.

- MCCARTNEY, L., THOMPSON, H., MCCANDLISH, I. A. P. & CORNWELL, H. J. C. (1988) Canine parvovirus: interaction between passive immunity and virulent challenge. *Veterinary Record* 122, 573-576
- MILA, H., FEUGIER, A., GRELLET, A., ANNE, J., GONNIER, M., MARTIN M., ROSSING L., CHASTANT-MAILLARD, S. (2014). Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Preventive Veterinary Medicine*, 116(1-2), 209–213.
- MINKE J.M., BEY R., TRONEL J. P., LATOUR S., COLOMBET G., YVOREL J., CARIÖU C., GUIÖT A.L., COZETTE V., GUIÖAL P.M. (2009). Onset and duration of protective immunity against clinical disease and renal carriage in dogs provided by a bi-valent inactivated leptospirosis vaccine. *Veterinary Microbiology* 137 (2009), 137–145.
- MITCHELL, S. A., ZWIJNENBERG, R. J., HUANG, J. et al. (2012) Duration of serological response to canine parvovirus-type 2, canine distemper virus, canine adenovirus-type 1 and canine parainfluenza virus in client-owned dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal* 90, 468-473
- MOCKET, A. P., STAHL, M. S. (1995) Comparing how puppies with passive immunity respond to three canine parvovirus vaccines. *Veterinary Medicine* 90, 430-438
- MOUZIN D. E, LORENZEN M. J, HAWORTH J. D., KING V.L. (2004). Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224: 55–60.
- MURPHY, A. F., GIBBS, J. E., HORZINEC, C. M., & STUDDERT, J. M. (1999). Foot and Mouth Disease. *Veterinary Virology. 3rd edition California, Academic press USA*, 512-537.
- NOON, K. F., ROGUL, M., BINN, L. N., KEEFE, T. J., MARCHWICKI, R. H., THOMAS, R., DE, B. C. (1979). An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of canine antibodies to canine adenoviruses. *Laboratory animal science*, 29(5), 603-609.

- OLSON, P., FINNSDOTTIR, H., KLINGEBORN, B. & HEDHAMMER, Å. (1997) Duration of antibodies elicited by canine distemper virus vaccinations in dogs. *Veterinary Record* 141, 654-655.
- OLSON, P., KLINGEBORN, B., HEDHAMMER, Å. (1988) Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus-1, and canine distemper virus in dogs with known status of immunization: Study of dogs in Sweden. *American Journal of Veterinary Research* 49, 1460-1466.
- PARDO I. D. (2006). Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected North American dogs. University of Missouri-Columbia, Master of Science Thesis.
- PARRISH, C. R. (1990). Emergence, natural history, and variation of canine, mink, and feline parvoviruses. *Advances in Virus Research* 38 p:403–450.
- PARRISH, C. R. (1995). Pathogenesis of feline panleukopenia virus and canine parvovirus. *Bailliere's clinical haematology*, 8(1), 57-71.
- PARRISH, C. R., O'CONNELL, P. H., EVERMANN, J. F., CARMICHAEL, L. E. (1985). Natural variation of canine parvovirus. *Science* 230, 1046–1048.
- PARRISH, C.R., HAVE, P., FOREYT, W.J., EVERMANN, J.F., SENDA, M., CARMICHAEL, L.E. (1988). The global spread and replacement of canine parvovirus. *J. Gen. Virol.* 69, 1111–1116.
- POLLOCK, R. V.H. (1982). Experimental canine parvovirus infection in dogs. *Cornell Veterinarian* 72:103–119. 1984. The parvoviruses: Part II. Canine parvovirus. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 6 p:653–664.
- POLLOCK, R. V. H., CARMICHAEL L. E. (1982). Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline and interference with vaccination. *J Am Vet Med Assoc* 180:37-42.
- SCHAER, M., (2006). Köpek ve Kedilerin Klinik Hekimliği.

- SCHULTZ, R. D. (2006). Duration of immunity for canine and feline vaccines: A review. *Veterinary Microbiology* 117: 75–79.
- STEPITA, M. E., BAIN, M. J. & KASS, P. H. (2013) Frequency of CPV infection in vaccinated puppies that attended puppy socialization classes. *Journal of the American Animal Hospital Association* 49, p:95-100
- WANER, T., NAVEH, A., SCHWARZ N., BEN Meir, BABICHEV Z., CARMICHAEL L. E. (1998). Assessment of immunization response to canine distemper virus vaccination in puppies using a clinic-based enzyme-linked immunosorbent assay. *The Veterinary Journal* 1998, 155, 171-175
- WANER, T., MAZAR, S., NACHMIAS, E., KEREN-KORNBLATT, E., & HARRUS, S. (2003). Evaluation of a dot ELISA kit for measuring immunoglobulin M antibodies to canine parvovirus and distemper virus. *Veterinary Record*, 152(19), 588–591.
- WANER, T., NAVEH, A., WUDOVSKY, I., & CARMICHAEL, L. E. (1996). Assessment of maternal antibody decay and response to canine parvovirus vaccination using a clinic-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 8(4), 427-432.
- WSAVA Vaccination Guidelines. (2015).
- YARSAN, E. (2015). *Kedi ve Köpek Hekimliği*. Editör: Prof.Dr.Ender Yarsan. Güneş Kitabevi, Ankara. ISBN: 978-975-277-590-9.
- YULE, T.D., ROTH, M.B., DREIER, K., JOHNSON, A.F., PALMER-DENSMORE, M., SIMMONS, K., FANTON, R., 1997. Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease. *Vaccine* 15, 720–729.