


Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) ve Subtipleri

Hatice Pelin ASLIM 

Oya BULUT 

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Konya
hpelinucan@gmail.com

Öz

Sığırların Herpesvirus (BHV-1) enfeksiyonları, sığırlarda üst solunum yolu (Infectious Bovine Rhinotracheitis-IBR) ve genital kanal enfeksiyonu (Infectious Pustuler Vulvovaginitis-IPV, Infectious Pustuler Balanoposthitis-IPB)'na sebep olan bulaşıcı latent seyirli viral bir enfeksiyondur. BHV-1, sığırların yanısıra koyun, keçi gibi hayvan türlerinde ateş, solunum sayısının artması, öksürük, burun akıntısı (önce seröz daha sonra mukopurulent), burun mukozasında hiperemi, bazen konjunktivitis, salya artışı, anoreksi, süt veriminde azalma gibi klinik bulgulara yol açabilen dünya çapında oldukça yaygın bir patojendir. Ülkemizde geçmiş yıllarda yapılan virolojik ve serolojik çalışmalarda bu virusun yaygınlığı belirlenmiştir. Ancak virusun moleküler karakterizasyonu ve subtiplendirilmesi ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Bu derlemede BHV-1 ve subtiplendirilmesi hakkında detaylı bilgiler sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Bovine Herpesvirus, sığır, subtiplendirme, latent enfeksiyon

Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) and Subtypes

Abstract

Bovine Herpesvirus (BHV-1) is a latent viral infection that causes upper respiratory tract (Infectious Bovine Rhinotracheitis-IBR) and genital canal infection (Infectious Pustuler Vulvovaginitis-IPV, Infectious Pustuler Balanoposthitis-IPB) in cattle. BHV may cause clinical symptoms such as fever, increased respiratory rate, cough, runny nose (first serous then mucopurulent), hyperemia in nasal mucosa, sometimes conjunctivitis, increased saliva, anorexia, decreased milk yield in cattle, as well as sheep and goats, it is a common pathogen worldwide. The prevalence of this virus has been determined in virological and serological studies in our country in the past years. However, there are very few studies on molecular characterization and subtyping of the virus. In this review, detailed information about BHV-1 and its subtyping is presented.

Keywords: Bovine Herpesvirus, cattle, subtyping, latent infection

1. Giriş

Sığırlarda veziküler ekzantem karakterinde hastalığa neden olan Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) ilk kez Büchner ve Trommsdorf (19. yy'da) tarafından viral bir etken olarak bildirilmiştir (Muylkens ve ark., 2007). İneklerde “*Enfeksiyöz Püstüler Vulvovaginit*” (IPV) ve boğalarda “*Enfeksiyöz Püstüler Balanopostit*” (IPB) olarak bilinen BHV-1 enfeksiyonlarının belirtileri, 1910'ların başlarına kadar genital organlar ile sınırlı olarak ifade edilmiştir. Ancak o dönemde Kuzey Amerika'da respiratorik bir form daha ortaya çıkmış ve BHV-1'den ileri gelen bu şiddetli hastalık “*Infectious Bovine Rhinotracheitis*” (IBR) olarak adlandırılmıştır (Schroeder ve Moys, 1954).

Şimdiye kadar izole edilen tüm BHV-1 suşları tek bir viral türe aittir ve BHV-1.1, BHV-1.2a ve BHV-1.2b şeklinde 3 subtip olarak sınıflandırılmıştır. Çoğu BHV-1 suşu solunum sistemi veya abort vakalarında, BHV-1.2 suşu genital organ lezyonlarından izole edilmesine rağmen; tek güvenilir ayırıcı kriter restriksiyon endonükleaz enzimi ile parmak izi görüntülemesiyle (restriction endonuclease fingerprinting) yapılan viral DNA analizidir

(Engels ve ark., 1981; Metzler ve ark., 1985; Miller ve ark., 1991a; Ramakrishnan ve ark., 2018). Aslında deneysel olarak nazal yol ile BHV-1.2 suşu ile enfekte edilen sığırların solunum sistemi klinik belirtileri gösterdikleri bildirilmiş, deney grubu sığırlarda solunum enfeksiyonunun bulaştığı ifade edilmiştir (Edwards ve ark., 1991; Spilki ve ark., 2004). Diğer taraftan intrauterin inokulasyondan sonra ise düvelerde genital sistem lezyonları gözlenmiştir (Miller ve Van der Maaten, 1984). Subtip 1.2b'nin abortla bir ilişkisi olmamasına rağmen (Whetsone ve Miller, 1989; Edwards ve ark., 1990; Smith ve ark., 1995), 1.1 ve 1.2a subtipleri fötusun enfeksiyonunu içeren ve abortus ile sonuçlanan şiddetli tablo ile ilişkilidir (Miller ve ark., 1991b). Ayrıca enfekte hayvanlarda virus spermada uzun süre kalabildiği ve suni tohumlama için bu durumun risk oluşturabildiği bildirilmiştir (Yavru ve ark., 1998).

1.1. IBR'ye Sebep Olan Etkenin Tanımı

Bovine Herpesvirus-1, *Herpesviridae* ailesi içinde *Alphaherpesvirinae* alt ailesi içinde *Varicellovirus* cinsi içinde Bovine alphaherpesvirus 1 olarak tanımlanmıştır (ICTV, 2019). *Herpesviridae* ailesinin tüm üyeleri ikiozohedral kapsid simetrisine dayalı ortak bir virion morfolojisi; viral olarak kodlanmış membran proteinleri içeren bir hücre kaynaklı zarf ve kapsid ile zarfı bağlayan protein matriksi olarak bir tegumente sahiptir. Çift zincirli DNA genomu 73 “open reading frames” (ORFs)’a sahiptir (Magalhães-Junior ve ark., 2020). BHV-1, geniş bir konak aralığına, kısa bir replikasyon döngüsüne sahiptir. Başlıca nöronlarda (ama sadece burada değil) olmak üzere latent enfeksiyonlarla karakterize virüsleri içeren *Alphaherpesvirinae*'nin alt ailesi içinde yer almaktadır. BHV-1 genomu, bir D sınıfı genomu olarak düzenlenen uzun bir çift iplikçikli doğrusal DNA molekülünden yapılmıştır. D sınıfı genomları, iki eşsiz diziyi; benzersiz bir uzun (UL) ve benzersiz bir kısa (US) bölgeyi içermektedir (Muykens ve ark., 2007). BHV-1 gen repertuarının çoğunluğu, diğer *Alphaherpesvirus*'larda bulunan genlere homolog olan ve genellikle prototip herpes simpleks virüsü 1'de (HSV-1) tarif edilen ilgili genlere etiketli ORF'dan oluşmaktadır. Buna karşılık, bir gen BHV-1'e (UL0.5) özgüdür (Delhon ve ark., 2003). BHV-1 genomu glikoproteinleri kodlayan 10 gen içermektedir Bunlardan altısı; gK (UL53), gC (UL44), gB (UL27), gH (UL22), gM (UL10), gL (UL1) UL'dedir ve kalan dört tanesi ise gG (UL4), gD (UL6), gI (US7) ve gE (US8) Us'dedir (Liang ve ark., 1995; Schröder ve ark., 1997; Schröder ve Keil, 1999).

2. Hücrede BHV-1 Replikasyonu ve Patogenezi

Bovine herpesvirusların, hücreye girişi üç aşamayla gerçekleşir. İlk olarak, düşük affiniteli gB ve/veya gC ile heparan sülfat gibi hücre yüzey reseptörleri arasında bir etkileşim oluşmaktadır (Wudunn ve Spear, 1989). Ardından, hücresel spesifik reseptörlere BHV-1 gD'si bağlanır (Fiume ve ark., 2000). İmmunoglobulin ailesinin bir üyesi olan nectin-1 BHV-1'in giriş reseptörüdür. Hücre reseptörleri ve gD arasındaki yüksek affiniteli etkileşimden sonra, virion zarı ile plazma membranının füzyonuyla virusun penetrasyonu gerçekleşir. Diğer *Alphavirus*lar gibi virusun hücreye girebilmesi için esansiyel olan viral glikoproteinler gB (Gerdt ve ark., 2000), gD (Liang ve ark., 1995), heterodimer formunda gH ve gL (Meyer ve ark., 1998)'dir.

Raza ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, antiparaziter bir ilaç olan İvermektinin, hücreye girişte önemli olan UL42'ye etki ederek BHV-1'in çekirdeğe girişini ve replikasyonunu azalttığını göstermişlerdir. BHV-1'in en önemli tegument proteinlerinden biri, alfa genlerin trans-indükleyici faktörü (alfa-TIF) olarak bilinen VP16'dır (virion protein 16). Bu protein, (Immediate Early=IE) genlerini (alfa genleri) transaktive ederek BHV-1 gen ekspresyonunun başlatılmasından sorumludur. BHV-1 gen ekspresyonu, enfeksiyon

sırasında geçici olarak düzenlenmektedir. Gen ekspresyonu dizisi, birbirini takip eden IE, erken (E) ve geç (L) RNA şeklinde üç gen ekspresyon kinetiğini içermektedir (Wirth ve ark., 1989). Bunlar sırasıyla viral döngünün düzenlenmesi, viral DNA'nın replikasyonu ve yeni virionların morfogenezinde yer alan proteinleri kodlamaktadır (Muylkens ve ark., 2007).

IE genlerinin transkripsiyonu, VP16 ve hücrel proteinlerin kompleks oluşturması ile başlatılır. Bu kompleks BHV-1'in IE "transcription units" (IEtu1 and IEtu2)'lerinde bulunan TAATGAGCT motif'e bağlanır (Wirth ve ark., 1991; Misra ve ark., 1994). IEtu1 BICP0 ve BICP4'ü kodlar (Jones ve ark., 2006). IEtu1'in aktivasyonu ile sirküler genomu oluşturan "circ" transkripti ortaya çıkar ve viral döngü boyunca eksprese edilir (Fraefel ve ark., 1993). IEtu2 ise BICP22'yi kodlamaktadır. BICP0 esansiyel değildir fakat prodüktif enfeksiyonda önemli rol oynamaktadır. Çünkü bütün viral protomerleri aktive eder ve enfeksiyon boyunca bolca eksprese edilir. Sığırların üç major IE proteininin (BICP0, BICP4 ve BICP22) E gen ekspresyonunu aktive ettiği ve akabinde viral DNA replikasyonunun gerçekleştiği bilinmektedir (Geiser ve ark., 2005). L gen ekspresyonlarından ilki DNA replikasyonu sırasında başlatılır. Bir sonraki L gen ekspresyonu ise tamamen DNA sentezine bağlıdır. L genlerinin kodladığı yapısal bileşenler yeni progeni virusların sentezi için gereklidir. Olgun bir herpesvirus virionunun oluşması birbirini izleyen karmaşık morfogenetik aşamalar sonucunda gerçekleşmektedir. Öncelikle kapsidi oluşturacak proteinler çekirdek içerisinde bir araya toplanmaktadır. Olgunlaşma sırasında, kapsidin içindeki internal protein yapısı parçalanır ve DNA genomu paketlenir. Yüksek molekül ağırlığına sahip konkatemerler kompleks bir mekanizmayla farklı uzunluktaki genom parçalarına bölünür. Çok şekilde viral protein bu bölünme paketleme işleminde yer alır (Muylkens ve ark., 2007).

Alfaherpesvirus 'ların olgunlaşması üç aşamayla gerçekleşir (Granzow ve ark., 2001). Öncelikle primer zarf, iç nükleer membran boyunca nükleokapsidlerin tomurcuklanmasıyla elde edilir. Daha sonra primer viral zarfın dış nükleer membranla füzyonu, kapsidin sitoplazmaya translokasyonu ile sonuçlanır. Çıplak kapsid sitoplazmaya geçtikten sonra olgun tegument proteinlerini kazanır ve *trans* golgi bölmelerine tomurcuklanarak sekonder zarf elde edilir (Mettenleiter ve ark., 2006). Çeşitli elektron ve konfokal mikroskopla yapılan gözlemlere göre muhtemelen çıplak kapsidler zarflarını herhangi bir hücrede tomurcuklanarak elde edebilirler (Leuzinger ve ark., 2005).

2.1. Giriş ve Tropizm

BHV-1 girişinin doğal portalı, üst solunum yollarının veya genital kanalların müköz membranıdır. Enfeksiyon aynı zamanda konjunktival epitelyumda da aktarılabilir. Doğrudan burun buruna temas, BHV-1'in en çok gözlenen bulaşma şeklidir. Ancak kısa mesafelerde doğrudan burun buruna temas ile, hava yolu ile bulaş da bildirilmiştir (Mars ve ark., 2000). Genital enfeksiyon, çiftleşme sırasında doğrudan temas gerektirir. Genital bulaşmada ayrıca virusla kontamine olan semeninde rol oynadığı bildirilmiştir (Kupferschmied ve ark., 1986).

Bugüne kadar, yapılan çalışmalarda genital veya solunum kanalı epitelyal hücreler için BHV-1'in tropizmini destekleyen moleküler bir temel bulunmamaktadır. BHV-1.1 ve -1.2'nin (Rijsewijk ve ark., 1999; Spilki ve ark., 2004) gC'sinde saptanan varyasyonların, IPV'den IBR'ye doğru kayan suşlarda meydana gelen tropizm değişikliklerine neden olduğu kabul edilebilir.

BHV-1 abortusları gebeliğin dördüncü ayı ile sekizinci ayı arasındadır. Etkilenen plasentada karakteristik intranükleer (IN) asidofilik inklüzyon cisimcikleri görülür (Mahajan ve ark., 2013).

2.2. Girişin Mukozal Portalında Çoğalma

Hedef epitel hücrelerinin içine penetrasyondan sonra BHV-1, litik replikasyon döngüsünü ayarlamaktadır. Bu viral genlerin sıralı ifadesine karşılık gelir ve hem yeni progeni virusların üretimine hem de hücre ölümüne yol açmaktadır. BHV-1 sitopatik etki (cpe)'si hücrenin balonlaşması ve IN artışı ile karakterizedir. BHV-1 replikasyon döngüsü sırasında gerçekleşen nekroz ve apoptoz süreçleri ise hücre ölümüne sebep olur (Muylkens ve ark., 2007). BHV-1 ile enfekte olmuş hücrelerdeki hücresel protein sentezi, kısmen vhs tegument protein tarafından kapatılır (Hinkley ve ark., 2000; Koppers-Lalic ve ark., 2001).

2.3. Yayılım

Doğal giriş portalında BHV-1 enfeksiyonu, büyük miktarda virus çoğalmasıyla sonuçlanır. Yeni progeni viruslar yüksek titrelerde salgılanarak burun mukozasına dökülür ve büyükbaş hayvan sürüsü içerisinde enfeksiyonun hızla yayılmasından sorumludurlar. Temel üreme oranı (Production Ratio=R0), bir popülasyondaki enfeksiyon dinamiklerini tanımlayan bir eşik değeridir. Bu parametre, hassas popülasyonda bir primer vaka tarafından üretilen ortalama ikincil vaka sayısı olarak tanımlanır. Deneysel koşullarda, R0'ın süt sığır sürüsünde en az yedi olduğu tahmin edilmiştir (Hage ve ark., 1996). Ayrıca yeni progeni lokal yayılımı, viremi sayesinde sistemik yayılımı ve daha sonrada nöroinvazyonu kullanarak enfekte hayvana da yayılır (d'Offay ve ark., 1993; Baranowski ve ark., 1996; Wang ve ark., 2001).

2.4. İmmun Yanıt

Primer enfeksiyondan sonra non-spesifik inflamasyon ve hücresel reaksiyonlar BHV-1 enfeksiyonuna ilk cevabını oluşturur. IFN (interferon), kompleman aktivasyonu gibi non-spesifik mekanizmalar virus replikasyonu tarafından indüklenir. Erken sitokinlerin üretimi makrofajlar, polimorfonükleer nötrofiller ve büyük granüler lenfositler (sığırlarda doğal katil hücreleri gibi davranan) gibi farklı hücrelerin katılımına ve aktivasyonuna yol açar. Bu efektörler, enfekte olmuş epitelde sitokinleri salgılayarak ve virusla enfekte olmuş hücreleri öldürerek ilk antiviral dalgaları güçlendirir (Campos ve Rosi, 1986; Campos ve ark., 1989). Spesifik hücresel immunité, enfeksiyondan sonraki beşinci günde tespit edilir ve 7-10. günde zirveye ulaşır. Bu genellikle klinik bulguların iyileşmesiyle aynı zamana denk gelir (Babiuk ve ark., 1996). Spesifik yardımcı T lenfositler, makrofaj ve doğal katil hücrelerini IFN-y ve IL-2 salgılamasıyla aktive ederek ve spesifik sitotoksik T lenfositlerinin proliferasyonunu başlatarak BHV-1 ile enfekte olmuş hücrelerin parçalanmasına aracılık eder. Spesifik humoral immunité, PI 10. günden itibaren saptanabilir hale gelmektedir. Antikorlar birincil enfeksiyonun iyileşmesinde daha az önemliymiş gibi görünse de, muhtemelen hücre içermeyen virus partiküllerini nötralize etmek suretiyle enfeksiyonun hücre dışı yayılmasını önleyerek ve antikora bağımlı hücresel sitotoksitesine aracılık ederek BHV-1 enfeksiyonunun ortadan kaldırılmasında görev alırlar. Antikor yanıtı ikincil enfeksiyonların önlenmesinde ve reaktivasyonun sonuçlarının sınırlandırılmasında kritik öneme sahiptir (Babiuk ve ark., 1996). Ayrıca BHV-1'e karşı spesifik bağışıklık geliştirmiş ineklerden alınan kolostral antikorlar, yeni doğana doğumdan sonraki 15-20 gün boyunca sistemik ve ölümcül hastalığa karşı tam bir koruma sağlamaktadır (Mechor ve ark., 1987).

3. Epidemiyoloji

Farklı yetiştirme yöntemlerine ve farklı coğrafi konumlara göre bölgesel insidans ve prevalans açısından önemli farklılıklar gösterse de BHV-1, hala dünya çapında yaygın bir patojendir (Ackermann ve Engels, 2006, Malla ve ark.; 2018).

BHV-1 seropozitifliği için risk faktörlerini tanımlamaya yönelik olarak çeşitli serolojik çalışmalar yapılmıştır. Buna göre yaş ve cinsiyet (sürü boyutuna göre veya erkekler dişilere oranla daha yüksek pozitifdir) gibi bazı faktörler üzerinde durulmaktadır (Solis ve ark., 2003; Boelaert ve ark., 2005). Sürüye yeni büyükbaş hayvan alımları ve sığır gösterilerine/yarışmalarına katılım gibi doğrudan hayvan temasını gerektiren durumlar BHV-1'in bulaşması için önemli risk faktörleri olarak tespit edilmiştir (van Schaik, 2001; van Schaik ve ark., 2002). Çiftliklerin kalabalık ve bakımsız olması BHV-1'in enfeksiyonlara karşı duyarlı hayvanları etkileme olasılığını artırabildiği bildirilmiştir (Noordegraaf ve ark., 2004).

Alphaherpesvirinae alt ailesinin diğer üyeleri gibi BHV-1'de duyuş ganglion nöronlarında latent enfeksiyon oluşturur. Enfekte hayvanın hayatı boyunca duyuş ganglion nöronlarında viral DNA persiste kalmaktadır ve zaman zaman reaktifte olmaktadır. Permisiv hücreler BHV-1 ile enfekte olduğunda hızlı hücre ölümü ve virus saçılımı olmaktadır (Jones, 1998). Viral gen ekspresyonu geçici olarak iki tane IE transkripsiyon birimi tarafından düzenlenir (Schwyzer ve ark., 1994). IE gen ekspresyonu hücresel bir transkripsiyon faktörü (Oct-1) ile etkileşime giren bir virion bileşeni (bTIF) tarafından stimüle edilir. Daha sonra bu protein kompleksi IE protomerlerinde bulunan TAATGARAT motiflerini bağlar. Bu da dokuya özgü faktörlerin latent enfeksiyon kurulmasına aracılık etmesini sağlamaktadır. Alpha, beta ve gamma BHV-1 genlerinin iyi düzenlenmiş bir transkripsiyonu caspaselerin ve p53'ün (tümör baskılayıcı protein) aktivasyonuna, permisiv hücrelerin ölümüne ve virion saçılımına yol açmaktadır (Devireddy ve Jones, 1999). Latent enfekte nöronlarda bulunan "latency-related transcript" (LRT), litik virus döngüsünün ve apoptozisin inhibisyonuna yol açmaktadır (Henderson ve ark., 2004). BHV-1 LR transkriplerinin bir kısmı nöronlarda bölünür veya poliadenilat eklenir. Bu transkriptler LR proteinlerine (LRP) dönüşür. LRT'de ORF-2'nin N-terminusuna karşılık gelen bir protein Western Blot ile latentlik sırasında tespit edilmiştir (Hossain ve ark., 1995). ORF-E tarafından sentezlenen bir başka peptidde latent enfekte buzağuların trigeminal ganglionlarında eksprese edildiği gösterilmiştir. LR geninin latent enfeksiyon sırasında nöronları hücre ölümünden koruma gibi bir görevi vardır (Inman ve ark., 2004).

Latentlik-reaktivasyon döngüsünde immun sisteminde görev aldığı düşünülmektedir. Liu ve ark. (2000)'in farelerde yaptıkları bir çalışmada, sitotoksik T lenfositlerin IFN- γ üretmesiyle duyuş ganglionlarda reaktivasyonun önlendiğini göstermişlerdir.

Dekzametazon (DEX) tedavisinden sonra, hücresel transkripsiyon faktörlerinin litik viral gen ekspresyonunu, belli viral protomerleri ve prodüktif enfeksiyonu indüklediği düşünülmektedir. bICP0 veya bTIF gibi BHV-1'in düzenleyici proteinlerinin stimülasyonu, latent enfekte nöronlarda normal viral gen ekspresyonunu yeniden düzenlediği tahmin edilmektedir. Bu durumda tüm viral proteinler eksprese edilir ve enfeksiyon başlatılır. Ayrıca Notch3 (tip-1 transmembran proteinlerin bir ailesi) RNA seviyeleri latentlikten reaktivasyona geçişte oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu da Notch aile üyelerinin latentlikten reaktivasyona geçişte prodüktif enfeksiyonu stimüle ettiğini göstermektedir (Jones ve ark., 2011).

BHV-1'e karşı yürütülen eradikasyon programlarında latent enfeksiyon oluşturmasından başka çeşitli zorluklar mevcuttur. Bunlardan birisi BHV-1'in tür spesifite engelini aşma kapasitesinden kaynaklanmaktadır. Doğal enfeksiyonlar sonrasında akut ve latent enfekte koyunlarda BHV-1 tespit edilmiştir. Ancak koyunlar BHV-1'in sığırlara bulaşmasında önemli bir rol oynamazlar (Hage ve ark., 1997). Koyun ve keçilerde deneysel olarak BHV-1 enfeksiyonları elde edilmiştir. Diğer taraftan, kızıl geyik BHV-1'e karşı sınırlı bir duyarlılık sergilemektedir (Thiry ve ark., 2006). Meyer ve ark. (1996)'ın yaptıkları

çalışmada tavşanların intrakonjunktival veya intranazal yolla enfekte edilebildiğini bildirmişlerdir.

4. Klinik Bulgular

BHV-1'in neden olduğu hastalığın şiddetini, BHV-1 suşunun virülensi, konağın direnç faktörleri, özellikle yaş ve potansiyel eşzamanlı bakteriyel enfeksiyon gibi çeşitli faktörler etkileyebilir (Kaashoek ve ark., 1996).

Birincil replikasyon bölgelerinde BHV-1'in neden olduğu inflamator yanıt ve epitel hasarlar söz konusudur. Nazal mukoza kızarmış görünümde olabilir. Serözden mukopurulenteye kadar değişebilen nazal akıntı, şiddetli vakalarda inspirasyonda ağır teneffüs (trakeal lümeninde nekrotik debrisin neden olduğu trakeal stridor) ve öksürükten oluşan klinik bir tablo gözlenebilir. Endoskopik olarak yapılan incelemelerde, faringeal ve trakeal mukozaların epitel görünümünün kırmızı olması ile birlikte fibrinoid eksudata gömülü ölü mukozal epitelyal hücrelerle birkaç nekrotik odak varlığı çıkarılmıştır (Muylkens ve ark., 2007).

Seronegatif ineklerde meydana gelen BHV-1 enfeksiyonlarında, solunum sisteminin enfeksiyonu sonucu abort vakaları meydana gelebilmektedir. Doğal olarak meydana gelen BHV-1 abort vakaları genellikle gebeliğin dördüncü ayından sekizinci aya kadar gözlemlenirken, deneysel olarak virusun parenteral inokulasyonu sonrasında üç aylık gebelikten önceki düvelerde embriyonik ölümlerin şekillendiği bildirilmiştir (Owen ve ark., 1964; Miller ve Maaten, 1986).

Infectious Vulvovaginitis'in klinik tablosunda, küçük püstüller vulvada ve vajinanın alt kısmında gözlenmektedir. Ödem ve hiperemiye neden olan plak benzeri bir şekilde tüm epitelyum üzerinde genişler ve yayılırlar. Vulva şişer ve devamlı olarak artan salgı kuyruk görüntüsü oluşturur. Hayvanlar huzursuzluk sergiler ve genellikle kafalarını çevirir. Sıcaklıklar, epitel kaybının kolaylaştırdığı sekonder enfeksiyonların şiddetine bağlı olarak maksimum 40.5 ila 41.5 °C'ye ulaşır. Yüksek sıcaklık ve klinik semptomlar sekiz günden fazla devam eder. Yeniden epitelizeasyon oldukça hızlıdır ve 14 gün sonra sağlıklı bir aşamaya ulaşır (Nandi ve ark., 2009).

Infectious Pustular Balanopostitis'in klinik semptomları üretral mukozanın preputial, penil ve bazen distal kısmı ile sınırlıdır. Hastalığın ilerlemesi, IPV için tarif edilene benzer, ancak epitelyal lezyonların iyileşmesi genellikle daha fazla zaman gerektirir. İnflamasyon sürecinin zirvesi sırasında, boğalar huzursuzluk gösterir, sıklıkla arka ayaklarını kaldırır ve başlarını yana doğru bükür. Bazı hayvanlar birkaç gün boyunca yemlerinden tamamen ayrılırlar ve bu da ciddi kilo kaybına neden olmaktadır (Nandi ve ark., 2009).

5. Teşhis

Direkt teşhiste antijenin tespit edilebilmesi için kullanılacak materyaller; kan, sperma, süt, abort materyalleri ve mukozal swaplardır (Edwards ve ark., 1983).

Virusun teşhis edilebilmesi için kullanılacak testler arasında; Virus Nötralizasyon Testi (VNT) (Wellenberg ve ark., 1998), hücre kültüründe virus izolasyonu (VI), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) (Belak ve Ballagi-Pordany, 1993; Peili ve ark., 2017), Immun Floresan (Silim ve Elazhary, 1983), İmmun Peroksidaz ve Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Collins ve ark., 1985; Peili ve ark., 2017), Pasif Hemaglutinasyon (Dannacher ve ark., 1979) gibi testler bulunmaktadır. Hücre kültürlerine uygun yöntemle yapılan inokulasyondan sonra BHV-1 yaklaşık 1-2 gün içinde virusa özgü sınırsız ve karakteristik Cowdry's A tipi inklüzyon cisimciği şeklinde CPE'ler meydana getirerek çoğalır (Fenner ve ark., 1987). Dot-blot (Xia ve ark., 1995), in situ (Winkler ve ark., 2000)

ve radioizotop (Xia ve ark., 1995), biotin (Oreshkova ve ark., 1995) veya digoxigenin (Vilcek, 1993) ile işaretli proplarla yapılan southern blot hibridizasyon (Kibenge ve ark., 1994; Xia ve ark., 1995) teknikleri nasal swap ve spermada BHV-1 varlığının ortaya konması için son dönemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. İmmünofloresan, radyoimmunopresipitasyon, immunoperoksidaz veya immunoblot analizleri için uygun monoklonal antikor (MAb)'lar kullanılarak BHV-1 alt tip 1 ve alt tip 2b ayırt edilebilir (Wyler ve ark., 1989; Rijsewijk ve ark., 1999). Viral DNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesimi (digestion) sonucunda, BHV-1 alt tipleri arasındaki farklılıklar belirlenir. Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) analizi, virionlardan veya enfekte olmuş hücrelerden DNA'nın ekstraksiyonunu, izole edilmiş DNA'nın restriksiyon endonükleazları ile kesimi ve agar jel elektroforez ile fragmentlerine ayrılmasını içerir. HindIII endonükleaz kesimi ile BHV-1 alt tiplerinin 1.2a ve 2b'nin ayrılması, üç ilgili DNA parçasının (I, K ve L) molekül ağırlığına dayanmaktadır (Metzler ve ark., 1985).

Son zamanlarda basit, ucuz, hızlı, sensitivitesi ve spesifitesi yüksek isotermler teknikler popüler olmuştur. Loop Mediated Isothermal Technique (LAMP) ve Novel Polymerase Spiral Reaction (PSR) BHV-1'in teşhisinde başarıyla kullanılmıştır. Altı primer kullanılan LAMP metodunun aksine iki primer kullanılan PSR'da kontaminasyon riskinin daha az olduğu ve optimizasyonunun daha kolay olduğu bildirilmiştir. Ayrıca PSR ile BHV-1.1 ve BHV-1.2 subtip ayırımı yapılmıştır (Malla ve ark., 2018).

Tüm genomun sekans analizi SNP'lere dayalı aşı suşundan saha suşunu ayırt etmek için gereklidir (Fulton ve ark., 2015). gC bölgesinin sekans analizi BHV-1 ve BHV-5 arasında ayırım yapabilir. gB, gD ve gM BHV-1.1 ve BHV-1.2 arasında ayırım yapılmasında kullanılabilir (Hidayati ve ark., 2018). Fusco ve ark. (2015) yaptıkları bir çalışmada, pyrosequence analizi ile US8 genini hedefleyerek BHV-1.1, BHV-1.2, BHV-5, Bubaline herpesvirus1 ve Caprine herpesvirus ayırımını yapmışlardır. Majumder ve ark. (2013) oldukça korunaklı bir bölge olan gC'yi BHV-1'in subtip ayırımında kullanmışlardır. Alternatif olarak, Muthannan ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada, tüm genom sekansı ya da saf viral DNA'nın restriction analizi çok zaman aldığı ve yoğun laboratuvar çalışmaları gerektirdiği için sadece BHV-1'de bulunan UL 0.5 genini BHV-5'den ayırımında ve BHV-1 subtiplendirmesinde kullanmışlardır.

BHV-1'e karşı gelişen spesifik antikorların teşhisinde birçok testten yararlanmak mümkündür. İndirekt hemaglutinasyon test (Trepanier ve ark., 1985) ve İmmüdifüzyon (Straub ve ark., 1982) kullanılabilmesiyle birlikte ELISA (Herring ve ark., 1980) ve VNT (Frey ve Lies, 1971) en çok tercih edilen yöntemlerdir.

Çizelge 1. Türkiye’de 2010-2018 yılları arasında BHV-1 ile ilgili yapılan çalışmalar ve sonuçları

Araştırmacılar	Yayın yılı	Yöntem	Popülasyon türü	Popülasyon sayısı	Bölge/il	Çalışmanın sonucu
Ataseven ve ark.	2010	Virus nötralizasyon tekniği	Keçi	407	Van	%0.7
Yıldırım ve ark.	2011	İndirekt ELISA	İnek	140	Kars	%61.4
Albayrak ve ark.	2012	ELISA	Manda	82	Samsun	%80,5
Ata ve ark.	2012	İndirekt ELISA	İnek	108	Burdur	%9.25
Avcı ve Yavru	2013	İndirekt ELISA	İnek	450	Konya	%72.88
Duman ve ark.	2013	Mikro nötralizasyon	Sığır	301	Konya	%7,3
Alpay ve ark.	2014	Serum nötralizasyon tekniği	Sığır Koyun Keçi	75 Sığır 161 Koyun 30 Keçi	Gökçeada	Sığır’da %58.6 Koyun’da %0.0 Keçi’de %26.6
Yavru ve ark.	2014	PCR	Sığır	63	Afyonkarahisar	%0.0
Aslan ve ark.	2015	gE bloking ELISA	Sığır	656	Kırıkkale	%41.3
Gür ve ark.	2016	Virus nötralizasyon	Sığır	1 138	Ege Bölgesi	%17.6
Yılmaz ve Çoşkun	2016	Virus nötralizasyon tekniği	Koyun	220	Kars	%2.27
Özgünlük ve Yıldırım	2017	Mikro nötralizasyon	Sığır	718	Güneydoğu Anadolu bölgesi	%40.11
Gür ve ark.	2018	Virus nötralizasyon tekniği	Sığır Koyun Keçi	226 Sığır 1 053 Koyun 277 Keçi	Afyonkarahisar	Sığır’da %32.3 Koyun’da %0.09 Keçi’de %20.9

6. Korunma Kontrol ve Eradikasyon

BHV-1 eradikasyonunda başarı elde etme için, ilk olarak tüm seropozitif sığırları sürüden çıkartarak “*IBR'den ari*” damızlık stoku geliştirilmesi önerilmektedir (Ackermann ve Engels, 2006). İtalya’da Bolzano’nun yanı sıra Finlandiya, İsveç, Norveç, Danimarka, Avusturya ve İsviçre’de “*test ve kesim*” stratejisinin başarıyla uygulandığı bildirilmiştir (Nylin ve ark., 2000; Åkerstedt ve ark 2001; Ackermann ve Engels 2006; Nuotio ve ark 2007).

Marker aşılarda yapılan aşılamalardan sonra, hayvanların antikor yanıtına bakıldığında, enfekte olmuş hayvan ile aşılı hayvan ayırt edilebilmektedir. Böylece hastalığı bir kez bile olsa geçirmiş olan ve etkeni saçmaya devam eden latent enfekte hayvanların tespit edilip sürüden çıkarılması, buna yönelik kontrol programlarının düzenlenmesi önemlidir. Ülkeye hayvan alımında BHV-1 yönünden ari olanların tercih edilmesi ve mümkünse hayvanlar sürüye dahil edilmeden önce kan örneklerinin alınıp Viroloji laboratuvarlarına gönderilmesi ve BHV-1 antikorları yönünden incelenmesi üzerinde durulmalıdır. Marker aşı ile bir eradikasyon programı hedeflendiğinde ise sürüde bulunan tüm hayvanlara (gebe, buzağı, seronegatif, seropozitif) gE(-) canlı marker aşı uygulanmalıdır. Aşı uygulanan hayvanlardan, serolojik yanıtın gelişmesini takiben alınan kan serumu örnekleri, gE’yi tespit üzere geliştirilen gE blocking ELISA ile test edilerek gE(-) ve gE(+) hayvanları belirlenmesi gerekmektedir. gE(-) olanlar BHV-1 yönünden doğal enfekte değil, gE(+) olanlar ise BHV-1 yönünden doğal enfekte olarak nitelendirilmektedir. Eradikasyonda özellikle yeni doğan hayvanlar (kolostrum almalarına rağmen) aşılanarak, uzun sürede BHV-1 ari sürülerin elde edilmesi hedef olmalıdır. Marker aşılamaı takiben yapılacak gE blocking ELISA ile gE(-) olarak tespit edilen hayvanların her altı ayda bir aşılalarının yenilenmesi tavsiye edilmektedir (Burgu ve Dağalp, 1999). Aşı geçmişi bilinmeyen bir hayvanın enfeksiyon geçirip geçirmediğini anlamak için çift örnekleme yapılması gerekmektedir. Şüpheli hayvanlardan serum numunesi alınır antikoruna bakılır, üç hafta sonra aynı hayvanların serumu tekrar incelenir. Eğer negatiften pozitive bir serokonversiyon veya dört katlı ya da daha fazla bir antikor artışı mevcut ise, akut enfeksiyonu kanıtladığı düşünülmektedir (OIE, 2018).

8. Sonuç

Herpesviridae familyasının bir üyesi olan BHV-1, 60 yıl önce tanımlanmış olmasına rağmen günümüzde halen küresel olarak önemli bir patojen olmaya devam etmekte, sığırların sağlığı ve refahı üzerinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Büyük gen içeriğine sahip BHV-1, iyi düzenlenmiş bir virus döngüsünün bulunması, latent enfeksiyon oluşturabileceği nöronal hücrelere bulaşabilmesi ve kolayca aktarılabilmesi nedeniyle sığır popülasyonlarında uzun süre devamlılığını korumaktadır. Sonuç olarak BHV-1, sığır konağına iyi adapte olmuş bir virustur. Yeni doğanlarda abort ve ölümcül sistemik hastalıklar, virulent suşlar yoluyla şekillenen solunum yolu enfeksiyonlarının en ciddi sonuçlarıdır. BHV-1 aşılı ile yapılan aşılama sonrası BHV-1 enfeksiyonunun klinik etkilerinin azaldığı da bir gerçektir. Bu bağlamda, BHV-1 marker aşılı yararlı olmakla birlikte tam bir çözüm sağlayamamaktadır. BHV-1 latent taşıyıcıların varlığı nedeniyle epidemiyolojik riski kontrol etmek için virusun girişi veya yeniden aktive olması ile ilgili risk faktörleri ve hijyen tedbirleri göz önünde bulundurulmalıdır. Enfeksiyon ile mücadelede latent taşıyıcıların prevalansının düşük olduğu durumlarda bu taşıyıcıları yok etmek (sürüden çıkarmak) aşılamaı göre daha güvenli bir yoldur. Son yıllarda Avrupa’da, salgınlar erken tespit edilmesi ve kontrol tedbirlerinin zamanında uygulanması, enfeksiyonun hassas sürülere yayılımını önlemeyi mümkün kılmıştır. BHV-1 ile enfekte

olmuş hayvanların hızlı ve sürekli saptanıyor olması bu bağlamda geliştirilmesi gereken bir plan olması gerektiği söylenebilir.

BHV-1 gibi latent enfeksiyona neden olan bir viral etken ile mücadele kapsamında ülke çapında hem koruma hem de enfeksiyonun kontrolü amacı ile programlı önlemlerin alınması gerektiği ifade edilebilir.

Ülkesel eradikasyon programlarının hazırlanması gerekmektedir.

Kaynakça

- Ackermann, M., Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113(3-4), 293-302. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.11.043.
- Åkerstedt, J., Tarpai, A., Mørk, T. (2001). *The surveillance and control programme for infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and infectious pustular vulvovaginitis (IPV) in Norway*. Annual Reports, Surveillance and Control Programmes for Terrestrial and Aquatic Animals in Norway, 95-107.
- Albayrak, H., Özcan, E., Beyhan, Y. E., Kurt, M., Kılıçoğlu, Y. (2012). A serological investigation of some aetiological agents associated with abortion in domestic water buffalo (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) in Samsun province of Northern Turkey. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 7(3), 155-160.
- Alpay, G., Tuncer, P., Yeşilbağ, K. (2014). Serological distribution of some viral infections in cattle, sheep and goats in an isolated island ecosystem. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 61: 43-48.
- Aslan, M. E., Azkur, A. K., Gazyağcı, S. (2015). Epidemiology and genetic characterization of BVDV, BHV-1, BHV-4, BHV-5 and Brucella spp. infections in cattle in Turkey. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 1-25. DOI: 10.1292/jvms.14-0657.
- Ata, A., Kocamüftüoğlu, M., Hasırcıoğlu, S., Kale, M., Gülay, M. Ş. (2012). Investigation of relationship between Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) infection and fertility in repeat breeding dairy cows in family-type small dairy farms. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi*, 18(4), 579-583.
- Ataseven, V. S., Başaran, Z., Yılmaz, V., Dağalp, S. B. (2010). Van bölgesi keçilerinde Parainfluenza Virus-3 (PIV-3) ve Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(1), 7-9.
- Avcı, O., Yavru, S. (2013). Investigation of Bovine Herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhea Virus and Bovine Herpesvirus-4 in a dairy herd with naturally infected in Konya. *Eurasian Journal of Veterinary Science*, 29(2), 82-86.
- Babiuk, L. A., Littel, S. D., Hurk D. V., Tikoo, S. K. (1996). Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Microbiology*, 53(1-2), 31-42.
- Baranowski, E., Keil, G., Lyaku, J., Rijsewijk, F. A., Jan, T. V. O., Pastoret, P. P., Thiry, E. (1996). Structural and functional analysis of bovine herpesvirus 1 minor glycoproteins. *Veterinary Microbiology*, 53(1-2), 91-101.
- Belak, S., Ballagi-Pordany, A. (1993). Application of the polymerase chain reaction (PCR) in veterinary diagnostic virology. *Veterinary Research Communications*, 17: 55-72.
- Boelaert, F., Speybroeck, N., Kruif, D. A., Aerts, M., Burzykowski, T., Molenberghs, G., Berkvens, D. L. (2005). Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. *Preventive Veterinary Medicine*, 69(3-4), 285-295.
- Burgu, İ., Dağalp, S. B. (1999). IBR-IPV virus enfeksiyonunun kontrol ve eradikasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 46: 263-267.
- Campos, M., Ohmann, H. B., Hutchings, D., Rapin, N., Babiuk, L. A., Lawman, M. J. (1989). Role of interferon-gamma in inducing cytotoxicity of peripheral blood mononuclear leukocytes to bovine herpesvirus type 1 (BHV-1)-infected cells. *Cellular Immunology*, 120(1), 259-269.
- Campos, M., Rossi, C. R. (1986). Cytotoxicity of bovine lymphocytes after treatment with lymphokines. *American Journal of Veterinary Research*, 47(7), 1524-1528.
- Collins, J. K., Butcher A. C., Riegel, C. A. (1985). Immune response to bovine herpesvirus type 1 infections: virus specific antibodies in sera from infected animals. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(4), 546-552.
- d'Offay, J. M., Mock, R. E., Fulton, R. W. (1993). Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. *American Journal of Veterinary Research*, 54(4), 534-539.

- Dannacher, G., Perrin, M., Perrin, B. (1979). Use of a technique of passive haemagglutination for the detection of antibodies against the virus of infectious rhinotracheitis in cattle. *Recueil de Medecine Veterinaire*, 155: 633-637.
- Delhon, G., Moraes, M. P., Lu, Z., Afonso, C. L., Flores, E. F., Weiblen, R., Kutish, G. F., Rock D. L. (2003). Genome of bovine herpesvirus 5. *Journal of Virology*, 77(19), 10339-10347. DOI: 10.1128/JVI.77.19.10339-10347.2003.
- Devireddy, L. R., Jones, C. J. (1999). Activation of caspases and p53 by bovine herpesvirus 1 infection results in programmed cell death and efficient virus release. *Journal of Virology*, 73(5), 3778-3788. DOI: 10.1128/JVI.73.5.3778-3788.1999.
- Duman, R., Yavru, S., Bulut, O., Avcı, O. (2013). Sığırlarda Bovine Herpesvirus-1 enfeksiyonlarının Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ve Mikronötralizasyon Testi ile karşılaştırmalı tespiti. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2: 129-136, Erzurum.
- Edwards, S., Chasey, D., White, H. (1983). Experimental infectious bovine rhinotracheitis: Comparison of four antigen detection methods. *Research of Veterinary Science*, 34: 42-45.
- Edwards, S., Newman, R. H., White, H. (1991). The virulence of British isolates of bovid herpesvirus 1 in relationship to viral genotype. *British Veterinary Journal*, 147(3), 216-231.
- Edwards, S., White, H., Nixon, P. (1990). A study of the predominant genotypes of bovid herpesvirus 1 found in the UK. *Veterinary Microbiology*, 22: 213-223.
- Engels, M., Steck, F., Wyler, R. (1981). Comparison of the genomes of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis virus strains by restriction endonuclease analysis. *Archives of Virology*, 67: 169-174.
- Fenner, F., Bachman, P. A., Gibbs, E. P. J., Murphy, F. A., Studdert, M. J., White, D. O. (1987). *Herpesviridae. Veterinary Virology*. By Academic Press. Inc. Chapter 19, 339-373, London.
- Fiume, G. C., Cocchi, F., Menotti, L., Lopez, M. (2000). The novel receptors that mediate the entry of herpes simplex viruses and animal alphaherpesviruses into cells. *Medical Virology*, 10: 305-319.
- Fraefel, C., Wirth, U. V., Vogt, B., Schwyzer, M. (1993). Immediate-early transcription over covalently joined genome ends of bovine herpesvirus 1: the circ gene. *Journal of Virology*, 67(3), 1328-1333.
- Frey, H. R., Lies, B. (1971). Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopatogenen VD-MD Virus stammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotitermethode. *Zentbl. Veterinary Medicine*, 18: 61-71.
- Fulton, R. W., d'Offay, J. M., Eberle, R., Moeller, R. B., Campen, H. V., O'Toole, D., Chase, C., Miller, M. M., Sprowls, R., Nydam, D. V. (2015). Bovine herpesvirus-1: evaluation of genetic diversity of subtypes derived from field strains of varied clinical syndromes and their relationship to vaccine strains. *Vaccine*, 33(4), 549-58. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.11.033.
- Fusco, G., Amoroso, M. G., Gesualdi, M. N., Viscardi, M. (2015). Development of a pyrosequencing assay for the typing of alphaherpesviruses. *MethodsX*, 2: 47-52. DOI: 10.1016/j.mex.2015.01.001.
- Geiser, V., Zhang, Y., Jones, C. (2005). Analysis of a bovine herpesvirus 1 recombinant virus that does not express the bICP0 protein. *Journal of General Virology*, 86(7), 1987-1996. DOI: 10.1099/vir.0.80921-0.
- Gerdts, V., Beyer, J., Lomniczi, B., Mettenleiter, T. C. (2000). Pseudorabies virus expressing bovine herpesvirus 1 glycoprotein B exhibits altered neurotropism and increased neurovirulence. *Journal of Virology*, 74(2), 817-827. DOI: 10.1128/JVI.74.2.817-827.2000.
- Granzow, H., Klupp, B. G., Fuchs, W., Veits, J., Osterrieder, N., Mettenleiter T. C. (2001). Egress of alphaherpesviruses: Comparative ultrastructural study. *Journal of Virology*, 75(8), 3675-3684. DOI 10.1128/JVI.75.8.3675-3684.2001.
- Gür, S., Acar, A., Gençay, A., Kale, M., Yılmaz, S. (2016). Ege Bölgesinde Infectious Bovine Rhinotracheitis virus enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 1-10.
- Gür, S., Erol, N., Yapıcı, O., Kale, M., Tan, M. T., Turan, T., Çakmak, M. A., Tosun C., Yılmaz, S., Acar, A., Özenli, I., Gür, C. (2018). The role of goats as reservoir hosts for bovine herpes virus 1 under field conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 51: 753-758. DOI: 10.1007/s11250-018-1746-9.
- Hage, J. J., Schukken Y. H., Barkema, H. W., Benedictus, G., Rijsewijk, F. A., Wentink, G. H. (1996). Population dynamics of bovine herpesvirus 1 infection in a dairy herd. *Veterinary Microbiology*, 53: 169-180.

- Hage, J. J., Vellema, P., Schukken, Y. H., Barkema, H. W., Rijsewijk F. A., Van O. J. T., Wentink, G. H. (1997). Sheep do not have a major role in bovine herpesvirus 1 transmission. *Veterinary Microbiology*, 57: 41-54.
- Henderson, G., Perng G. C., Nesburn A. B., Wechsler S. L., Jones, C. (2004). The latency related gene encoded by bovine herpesvirus 1 can suppress caspase 3 and caspase 9 cleavage during productive infection. *Journal of NeuroVirology*, 10(1), 64-70.
- Herring, A. J., Nettleton, P. F., Burrels, C. (1980). A micro-enzymelinked immunosorbent assay for the detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Veterinary Research*, 107: 155-156.
- Hidayati, D. N., Untari, T., Wibowo, M. H., Akiyama, K., Asmara, W. (2018). Cloning and sequencing gB, gD, and gM genes to perform the genetic variability of bovine herpesvirus-1 from Indonesia. *Veterinary World*, 11(9), 1255-1261. DOI: 10.14202/vetworld.2018.1255-1261.
- Hinkley, S., Ambagala, A. P., Jones, C. J., Srikumaran, S. (2000). A vhs-like activity of bovine herpesvirus-1. *Archives Virology*, 145: 2027-2046.
- Hossain, A., Schang, L. M., Jones, C. (1995). Identification of gene products encoded by the latency-related gene of bovine herpesvirus 1. *Journal of Virology*, 69: 5345-5352.
- Hou, P., Wang, H., Zhao, G., He, C., He, H. (2017). Rapid detection of infectious bovine Rhinotracheitis virus using recombinase polymerase amplification assays. *Veterinary Research*, 13: 386. 1-9. DOI: 10.1186/s12917-017-1284-0.
- ICTV, (2019). *Virus Taxonomy: 2019. Release*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/91/herpesviridae Erişim Tarihi: 11.11.2020.
- Inman, M., Zhou, J., Webb, H., Jones, C., (2004) Identification of a novel bovine herpesvirus 1 transcript containing a small open reading frame that is expressed in trigeminal ganglia of latently infected cattle. *Journal of Virology*, 78(10), 5438-5447. DOI: 10.1128/JVI.78.10.5438-5447.2004.
- Jones, C. (1998). Alphaherpesvirus latency: its role in disease and survival of the virus in nature. *Advances in Virus Research*, 51: 47-99.
- Jones, C., Geiser, V., Henderson, G., Jiang, Y., Meyer, F., Perez, S., Zhang, Y. (2006). Functional analysis of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) genes expressed during latency. *Veterinary Microbiology*, 113(3-4), 199-210. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.11.009.
- Jones, C., Silva, L. F., Sinani, D. (2011). Regulation of the latency–reactivation cycle by products encoded by the bovine herpesvirus 1 (BHV-1) latency-related gene. *Journal of NeuroVirology*, 17: 535-545. DOI: 10.1007/s13365-011-0060-3.
- Kaashoek, M. J., Straver, P. H., Van, R. E., Quak, J., Van, O. J. T. (1996). Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects. *Veterinary Research*, 139(17), 416-421. DOI: 10.1136/vr.139.17.416.
- Kibenge, F. S. B., Harris, L. M., McKenna, P. K., Wadowska, D., Yason, C. V. (1994). Amplification of strains of bovine herpesvirus 1 by use of polymerase chain reaction with primers in the thymidine kinase region. *American Journal of Veterinary Research*, 55(9), 1206-1212.
- Koppers-Lalic, D., Rijsewijk, F. A., Verschuren, S. B., van Gaans-Van den Brink J.A., Neisig, A., Resing, M. E., Neeffjes, J., Wiertz, E. J. (2001). The UL41-encoded virion host shuto (vhs) protein and vhs-independent mechanisms are responsible for down-regulation of MHC class I molecules by bovine herpesvirus 1. *Journal of General Virology*, 82(9), 2071-2081. DOI: 10.1099/0022-1317-82-9-2071.
- Kupferschmied, H. U., Kihm, U., Bachmann, P., Müller, K. H., Ackermann, M. (1986). Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen: A case report. *Theriogenology*, 25: 439-443.
- Leuzinger, H., Ziegler, U., Schraner, E. M., Fraefel, C., Glauser, D. L., Heid I., Ackermann, M., Mueller, M., Wild, P. (2005). Herpes simplex virus 1 envelopment follows two diverse pathways. *Journal of Virology*, 79(20), 13047-13059. DOI: 10.1128/JVI.79.20.13047-13059.2005.
- Liang, X., Pyne, C., Li, Y., Babiuk, L. A., Kowalski, J. (1995). Delineation of the essential function of bovine herpesvirus 1 gD: an indication for the modulatory role of gD in virus entry. *Virology*, 207(2), 429-441. DOI: 10.1006/viro.1995.1102.
- Liu, T., Khanna, K. M., Chen, X., Fink, D. J., Hendricks, R. L. (2000). CD8(+) T cells can block herpes simplex virus type 1 (HSV-1) reactivation from latency in sensory neurons. *Journal of Experimental Medicine*, 191(9), 1459-1466. DOI: 10.1084/jem.191.9.1459.
- Magalhães-Junior, M. J., Baracat-Pereira, M. C., Pereira, L. K. J., Vital, C. E., Santos, M. R., Cunha, P. S., Fernandes, K. M., Bressan, G. C., Fietto, J. L. R., Silva-Júnior, A., Almeida, M. R. (2020). Proteomic and

- phosphoproteomic analyses reveal several events involved in the early stages of bovine herpesvirus 1 infection. *Archives of Virology*, 165(1), 69-85. DOI: 10.1007/s00705-019-04452-1.
- Mahajan, V., Banga, S., Deka, D., Filia, G., Gupta, A. (2013). Comparison of diagnostic tests for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion. *Journal of Comparative Pathology*, 149(4), 391-401. DOI: 10.1016/j.jcpa.2013.05.002.
- Majumder, S, Pandey, A. B, Ramakrishnan, M. A. (2013). Genetic characterization of complete open reading frame of glycoprotein C gene of bovine herpesvirus 1. *Veterinary World*, 6: 897-900. DOI: 10.14202/vetworld.2013.897-900.
- Malla, J. A., Chakravarti, S., Gupta, V., Chander, V., Sharma, G. K., Qureshi S., Mishra, A., Gupta, V. K., Nandi S. (2018). Novel Polymerase Spiral Reaction (PSR) for rapid visual detection of Bovine Herpesvirus 1 genomic DNA from aborted bovine fetus and semen. *Gene*, 644: 107-112. DOI: 10.1016/j.gene.2017.11.004.
- Mars, M. H., de Jong, M. C., van Maanen, C., Hage, J. J., van Oirschot, J. T. (2000). Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. *Veterinary Microbiology*, 76(1), 1-13. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00218-2.
- Mechor, G. D., Rousseaux, C. G., Radostits, O. M., Babiuk, L. A., Petrie, L. (1987). Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinated cows. *Canadian Journal Veterinary Research*, 51(4), 452-459.
- Mettenleiter, T. C., Klupp, B. G., Granzow, H. (2006). Herpesvirus assembly: a tale of two membranes. *Current Opinion in Microbiology*, 9(4), 423-429. DOI: 10.1016/j.mib.2006.06.013.
- Metzler, A. E., Matile, H., Gassmann, U., Engels, M., Wyler, R. (1985). European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Archives of Virology*, 85: 57-69.
- Meyer, G., Hanon, E., Georgette, D., Pastoret, P. P., Thiry, E. (1998). Bovine herpesvirus type 1 glycoprotein H is essential for penetration and propagation in cell culture. *Journal of General Virology*, 79(8), 1983-1987. DOI: 10.1099/0022-1317-79-8-1983.
- Meyer, G., Lemaire, M., Lyaku, J., Pastoret, P. P., Thiry, E. (1996). Establishment of a rabbit model for bovine herpesvirus type 5 neurological acute infection. *Veterinary Microbiology*, 51(1-2), 27-40. DOI: 10.1016/0378-1135(96)00016-8.
- Miller, J. M., Maaten, V. D. (1986). Experimentally induced infectious bovine rhinotracheitis virus infection during early pregnancy: effect on the bovine corpus luteum and conceptus. *American Journal of Veterinary Research*, 47(2), 223-228.
- Miller, J. M., Van der Maaten, M. J. (1984). Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. *American Journal Veterinary Research*, 45(4), 790-794.
- Miller, J. M., Whetstone, C. A., Van der Maaten, M. J. (1991a). Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. *American Journal Veterinary Research*, 52: 458-461.
- Miller, J. M., Whetstone, C. A., Bello, L. J., Lawrence, W. C. (1991b). Determination of ability of a thymidine kinase-negative deletion mutant of bovine herpesvirus-1 to cause abortion in cattle. *American Journal Veterinary Research*, 52: 1038-1043.
- Misra, V., Bratanich, A. C., Carpenter, D., O'Hare P. (1994). Protein and DNA elements involved in transactivation of the promoter of the bovine herpesvirus (BHV) 1 IE-1 transcription unit by the BHV alpha gene transinducing factor. *Journal of Virology*, 68(8), 4898-4909.
- Muthannan, A. R., Chetan, Y. P., Arfa, F., Chandrasekar, S., Mageswary, R., Deenanath, A., Rukhsana, B., Dhanavelu, M., Sukdeb, N., Gupta, V. K. (2018). Differentiation of bovine herpesvirus 1 subtypes based on UL0.5 gene sequencing. *Indian Virological Society*, 29(1), 106-108. DOI: 10.1007/s13337-018-0422-z.
- Muylkens, B, Thiry, J, Kirten, P, Schynts, F, Thiry, E. (2007). Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Research*, 38(2), 181-209. DOI: 10.1051/vetres:2006059.
- Nandi, S., Kumar, M., Manohar, M., Chauhan, R. S. (2009). Bovine Herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research*, 10(1): 85-98. DOI: 10.1017/S1466252309990028.
- Noordegraaf, V. A., Labrovic, A., Frankena, K., Pfeifer, D. U., Nielen, M. (2004). Simulated hazards of losing infection-free status in a Dutch BHV1 model. *Preventive Veterinary Medicine*, 62(1), 51-58. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2003.09.001.

- Nuotio, L., Neuvonen, E., Hyytiäinen, M. (2007). Epidemiology and eradication of infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) virus in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49(3), 1-6. DOI: 10.1186/1751-0147-49-3.
- Nylin, B., Strøger, U., Rønsholt, L. (2000). A retrospective evaluation of a bovine herpesvirus-1 (BHV-1) antibody ELISA on bulk-tank milk samples for classification of the BHV-1 status of Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 47(1-2), 91-105. DOI: 0.1016/S0167-5877(00)00163-X.
- OIE Terresmanuel, (2018). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019*. Chapter 3.4.11. [https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis](https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/Infectious%20bovine%20rhinotracheitis/infectious%20pustular%20vulvovaginitis) (NB: Version adopted in May 2017)
- Oreshkova, S. F., Glotov, A. G., Spermaikhin, V. I., Minenkova, O. O., Puzyrev, A. T., Tikunova, N. V., Baturina II, Peterenko, V. A., IL'ichev, A. A. (1995). Detection of bovine infectious rhinotracheitis virus by hybridization using nonradioactive DNA-ptobes. *Vopr Virusol*, 40(6), 279-282.
- Owen, N. V., Chow, T. L., Molello, J. A. (1964). Bovine fetal lesions experimentally produced by infectious bovine rhinotracheitis virus. *American Journal of Veterinary Research*, 25: 1617-1626.
- Özgünlük, İ., Yıldırım, Y. (2017). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki sığırlarda Bovine Herpes Virus 1 (BHV 1) ve Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) enfeksiyonlarının serolojik olarak araştırılması. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(2), 152-157. DOI: 10.31196/huvfd.390122.
- Ramakrishnan, M. A., Pundkar, C. Y., Fayaz A, Sekar, S. C., Mageswary, W., Ashokkumar, D., Bano, R., Muthuchelvan, D., Nandi, S., Gupta, V. K. (2018). Differentiation of bovine herpesvirus1 subtypes based on UL0.5 gene sequencing. *Virus Disease*, 29(1), 106-108. DOI: 10.1007/s13337-018-0422-z.
- Raza, S., Shahin, F., Zhai, W., Li, H., Alvisi, G., Yang, K., Chen, X., Chen, Y., Chen J., Hu, C. J. M. (2020). Ivermectin inhibits Bovine Herpesvirus 1 DNA polymerase nuclear import and interferes with viral replication. *Microorganisms*, 8(3), 409. DOI: 10.3390/microorganisms8030409.
- Rijsewijk, F. A., Kaashoek M. J., Langeveld J. P., Meloen R., Judek J., Bienkowska, S. K., Maris-Veldhuis, M. A., van Oirschot, J. T. (1999). Epitopes on glycoprotein C of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) that allow differentiation between BHV-1.1 and BHV-1.2 strains. *Journal of General Virology*, 80(6): 1477-1483. DOI: 10.1099/0022-1317-80-6-1477.
- Schröder R. J., Moys, M. D. (1954). An acut respiratory infection of dairy cattle. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 125: 471-472.
- Schröder, C., Keil, G. M. (1999). Bovineherpesvirus 1 requires glycoprotein H for infectivity and direct spreading and glycoproteins gH(W450) and gB for glycoprotein D independent cell to cell spread. *Journal of General Virology*, 80(1), 57-61. DOI: 10.1099/0022-1317-80-1-57.
- Schröder, C., Linde, G., Fehler, F., Keil, G. M. (1997). From essential to beneficial: glycoprotein D loses importance for replication of bovine herpesvirus 1 in cell culture. *Journal of Virology*, 71(1), 25-33.
- Schwzyer, M. Wirth, U. V., Vogt, B., Fraefel, C. (1994). bICP22 of bovine herpesvirus 1 is encoded by a spliced 1.7 kb RNA which exhibits immediateearly and late transcription kinetics. *Journal of General Virology*, 75(7), 1703-1711. DOI: 10.1099/0022-1317-75-7-1703.
- Silim, A., Elazhary, M. A. S. Y. (1983). Detection of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea in the nasal epithelial cells by the direct immunofluorescence technique. *Canadian Journal Of Comparative Medicine*, 47(1), 18-22.
- Smith, G. A., Young, P. L., Reed, K. C. (1995). Emergence of a new bovine herpesvirus 1 strain in Australian feedlots. *Archives of Virology*, 140: 599-603.
- Solis-Calderon, J. J., Segura-Correa, V. M., Segura-Correa, J. C., Alvarado-Islas, A. (2003). Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, 57(4), 199-208. DOI: 10.1016/S0167-5877(02)00230-1.
- Spilki, F. R., Esteves, P. A., de Lima, M., Franco, A. C., Chiminazzo, C., Flores, E. F., Weiblen, R., Driemeier, D., Roehe, P. M. (2004). Comparative pathogenicity of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) subtypes 1 (BHV-1.1) and 2a (BHV-1.2a). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 24(1), 43-49. DOI: 10.1590/S0100-736X2004000100010.
- Straub, O. C., Wettke, K., Weiland, F. (1982). Seuchenhaftes Auftreten von IBR-IPV Virus Aborten. *Tierarztl Umschau*, 37: 613-617.
- Thiry, J., Keuser, V., Muylkens, B., Meurens, F., Gogev, S., Vanderplasschen, A., Thiry, E. (2006). Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Veterinary Research*, 37(2), 169-19. DOI: 10.1051/vetres:2005052.

- Trepanier, P., Seguin, C., Bastien, Y., Boulay G., Lussier, G., Trudel, M. (1985). Hemagglutinating activity associated with bovine herpesvirus type 1. *Veterinary Microbiology*, 10(6), 517-523. DOI: 10.1016/0378-1135(85)90060-4.
- van Schaik, G. (2001). Risk and economics of disease introduction to dairy farms. *Tijdschr. Diergeneeskd*, 126(12), 414-418.
- van Schaik, G., Schukken, Y. H., Nielen, M., Dijkhuizen, A. A., Barkema, H. W., Benedictus, G. (2002). Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study. *Preventive Veterinary Medicine*, 54(3), 279-289. DOI: 10.1016/S0167-5877(02)00004-1.
- Vilcek, S. (1993). Detection of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) genome by PCR. *Journal of Virological Methods*, 41(2), 245-248. DOI: 10.1016/0166-0934(93)90132-B.
- Wang, P., Hurley, D. J., Braun, L. J., Chase, C. C. L. (2001). Detection of bovine herpesvirus-1 in peripheral blood mononuclear cells eight months postinfection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 13: 424-427. DOI: 10.1177/104063870101300512.
- Wellenberg, G. J., Verstraten, E., Mars, M. H., Van Oischoot, J. T. (1998). Detection of bovine herpesvirus1 glycoprotein E antibodies in individual milk samples by enzyme-linked immunosorbent assays. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(2), 409-413. DOI: 10.1128/JCM.36.2.409-413.1998.
- Whetsone, C. A., Miller, J. M. (1989). Two different strains of an alphaherpesvirus can establish latency in the same tissue of the host animal: evidence from bovine herpesvirus 1. *Archives of Virology*, 107: 27-34.
- Winkler, M. T., Doster, A., Jones, C. (2000). Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. *Journal of Virology*, 74(11), 5337-5346. DOI: 10.1128/JVI.74.11.5337-5346.2000.
- Wirth, U. V., Vogt, B., Schwyzer, M. (1991). The three major immediate-early transcripts of bovine herpesvirus 1 arise from two divergent and spliced transcription units. *Journal of Virology*, 65(1), 195-205.
- Wirth, U. V., Gunkel, K., Engels, M., Schwyzer, M. (1989). Spatial and temporal distribution of bovine herpesvirus 1 transcripts. *Journal of Virology*, 63(11), 4882-4889.
- Wudunn, D., Spear, P. G. (1989). Initial interaction of Herpes Simplex Virus with cells is binding to Heparan Sulfate. *Journal of Virology*, 63(1), 52-58.
- Wyller, R., Engels, M., Schwyzer, M. (1989). *Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV1)*. In: *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs*. (G. Wittmann, Ed.). Kluwer Academic Publishers, 1-72, Boston.
- Xia, J. Q., Yason, C. V., Kibenge, F. S. (1995). Comparison of dot blot hybridization, polymerase chain reaction, and virus isolation for detection of Bovine Herpesvirus tip-1 (BHV-1) in artificially infected bovine sperm. *Canadian Journal Of Veterinary Research*, 59(2), 102-109.
- Yavru, S., Avcı, O., Kale, M. (2014). Serologic and virologic investigation of BHV-1, BVDV and BHV-4 in cattle with metritis. *Animal Veterinary Science*, 2(5), 142-145.
- Yavru, S., Öztürk, F., Şimşek, A., Yapıkçı, O., Yıldız, C. (1998). Suni ve tabii tohumlamada kullanılan boğaların spermalarından virus izolasyonu. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(2), 39-46.
- Yıldırım, Y., Yılmaz, V., Kalaycıoğlu, A. T., Dağalp, S. B., Majarashın, A. R. F., Çelebi, Ö., Akça, D. (2011). An investigation of a possible involvement of BVDV, BHV-1 and BHV-4 infections in abortion of dairy cattle in Kars District of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(6), 879-883. DOI: 10.9775/kvfd.2011.623.
- Yılmaz, V., Çoşkun, N. (2016). Investigation of Bovine Herpes Virus Type 1 infection in sheep in the Kars Province of Turkey. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(1), 40-43.