

# Siğirlerde koyun ilişkili Ovine gammaherpesvirus-2'nin moleküler karakterizasyonu ve risk faktörlerinin belirlenmesi

## Molecular characterization and determination of risk factors of sheep-associated Ovine gammaherpesvirus-2 in cattle

Mehmet Özkan TİMURKAN<sup>1</sup> (ID), Nergis ULAŞ<sup>2</sup> (ID), Hakan AYDIN<sup>1</sup> (ID), Şükrü DEĞİRMENÇAY<sup>2</sup> (ID)

### ÖZET

**Amaç:** Malignant catarrhal fever (MCF), *Herpesvirales* takımında *Herpesviridae* ailesinde, *Gammaherpesvirinae* alt ailesinde ve *Macavirus* cinsi içerisinde bir grup virus tarafından sebep olunan sporadik seyirli ölümcül (mortal) bir hastalıktır. Macavirus cinsinde yer alan *Alcelaphine gammaherpesvirus-1* (ALHV-1) ve *Ovine gammaherpesvirus-2* (OvHV-2), MCF enfeksiyonu etiolojisinde yer alan en önemli iki patojendir. Dünya genelinde koyunların asemptomatik taşıyıcısı olduğu OvHV-2, koyunlarla yakın teması olan evcil siğirlara bulaşarak lenfoproliferatif ve ölümcül bir enfeksiyon olan MCF oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Koyun ve siğirlerin bir arada yetiştirilmesi veya pazar alanlarında bir arada satışa sunulması OvHV-2'nin saçılımında oldukça önemlidir. Bu çalışmada, 2017 yılı Kurban bayramında kurulan hayvan pazarında koyun ilişkili bir temas yaşanan bir boğada, çeşitli klinik bulgularla seyreden enfeksiyonun etiolojisinin ve risk faktörlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamızda kan ve oküler sürüntü örneklerinde virus varlığının tespiti amacıyla konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanıldı. PCR sonrası

### ABSTRACT

**Objective:** Malignant catarrhal fever (MCF), is a sporadic disease with high mortality caused by a group of viruses that are classified in *Herpesviridae*, in subfamily *Gammaherpesvirinae* and genus *Macavirus*. *Alcelaphine gammaherpesvirus-1* (ALHV-1) and *Ovine gammaherpesvirus-2* (OvHV-2), are two pathogens in the *Macavirus* genus that play an important role in the etiology of the disease. OvHV-2 of which the sheep is an asymptomatic carrier worldwide, is transmitted to cattle with close contact and results in a lymphoproliferative and fatal disease of MCF. The Husbandry of cattle and sheep together or selling of the species in animal markets in close contact has a role in spreading of OvHV-2. In this study, we aimed to investigate a bull that was purchased in a market at the 2017 Festival of Sacrifice, after 3 weeks of incubation period, that had symptoms of opacity in the eyes, nasal and ocular mucopurulent discharge and accompanying nervous system symptoms.

**Methods:** We used conventional polymerase chain reaction (PCR) to investigate virus presence in blood and swab samples. Amplicons that were obtained

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Erzurum

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum



**İletişim / Corresponding Author :** Mehmet Özkan TİMURKAN  
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji AD., Erzurum - Türkiye  
**E-posta / E-mail :** motimurkan@atauni.edu.tr

**Geliş Tarihi / Received :** 10.12.2021  
**Kabul Tarihi / Accepted :** 14.02.2022

elde edilen ampikonlar sekans reaksiyonuna tâbî tutuldu. Sekans sonrası elde edilen ham veriler Gen-Bank'ta bulunan referans sekanslarla karşılaştırıldı. Filogenetik analizler ise MEGA 5.0 programıyla gerçekleştirildi.

**Bulgular:** Kan ve sürüntü örneklerinde OvHV-2'nin tegument proteinini kodlayan gen bölgesine yönelik gerçekleştirilen PCR analizi sonrası 422-bp büyüklüğünde pozitif PCR ampikonu elde edildi. Sekans ve filogenetik analizi yapılan OvHV-2 suşunun; Hindistan, Mısır ve Irak suşları ile oldukça yakın genetik ilişkili olduğu, Almanya, Kanada, Brezilya, ve Afrika suşları ile daha uzak genetik ilişkili olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Bu çalışma sonucunda müslüman ülkelerde Kurban bayramlarında kurulan kontrolsüz hayvan pazarlarının OvHV-2 enfeksiyonun saçılımı açısından risk oluşturduğu ve satış alanlarında farklı hayvan türlerinin bir arada satışa sunulmaması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Malignant catarrhal fever, moleküler karakterizasyon, ovine gammaherpesvirus-2, Türkiye

from PCR were sequenced and raw data of reference sequences were compared to references previously recorded to GenBank. Phylogenetic analysis was performed with MEGA 5.0 software.

**Results:** After PCR analysis of blood and swab samples, targeting the tegument protein coding region of OvHV-2, an amplicon of 422-bp was obtained. Sequencing and phylogenetical analyses revealed that OvHV-2 strain in this study was closely related to India, Egypt and Iraq strains and relatively distant to German, Canadian, Brazilian and African strains.

**Conclusion:** We conclude that, in Muslim countries unregulated animal markets which are formed during the Festival of Sacrifice have a significant risk of spread for OvHV-2 and different species should not be sold together in these areas.

**Key Words:** Malignant catarrhal fever, molecular characterization, ovine gammaherpesvirus-2, Turkey

## GİRİŞ

Malignant catarrhal fever (MCF) diğer adıyla *Coryza gangrenosa bovum* (CGB) dünya genelinde evcil ve yabani sığırların lenfoproliferatif ölümcül bir hastalığıdır. Sığırlar haricinde domuz ve rodentleri etkilediği de bildirilmektedir (1). MCF hastalığına *Ovine gammaherpesvirus-2* (OvHV-2) ve *Alcelaphine gammaherpesvirus 1* (ALHV-1) ismi verilen iki farklı virus sebep olabilmektedir. MCF enfeksiyonunun ortaya çıkışı dünya genelinde iki farklı epidemiyolojik formla gerçekleşmektedir. Afrika Formu; Afrika'da ALHV-1, virusun taşıyıcısı olan yabani antilopların kendi aralarında veya evcil sığırlara hastalığı bulaştırması yoluyla gerçekleşmektedir. Bu form yalnızca Afrika ile sınırlı kalmayıp hayvanat bahçelerine getirilen vahşi ruminantların hastalığı

taşımasıyla birçok ülkeye saçılmaktadır. Bir diğer epidemiyolojik form ise koyun ilişkili formdur ve OvHV-2 taşıyıcısı koyunların; sığır, bizon ve geyiklere virusu aktarması sonucu gerçekleşmektedir (2-3). Koyunların klinik belirti göstermeksizin taşıyıcısı olduğu OvHV-2, *gammaherpesvirinae* alt ailesinde ve *Macavirus* cinsinde yer almaktadır (3).

Tedavisi bulunmayan ve letalitesi oldukça yüksek olan MCF enfeksiyonu, dünya genelinde ekonomik açıdan önem arz etmektedir (4-5). MCF enfeksiyonu, koyunlarla beraber yetiştiriciliği yapılan sığırcılık işletmelerinde veya birlikte satışa sunulan hayvan pazarlarında risk oluşturmaktadır. Türkiye ve diğer Müslüman ülkelerde her yıl Kurban bayramı olarak isimlendirilen dini bir festival düzenlenmektedir. Bayram süresince yüzlerce sığır ve koyun aynı pazar alanında satışa sunulmaktadır. Satılmayan sığırların

bayram sonrası çiftliğe geri getirilmesi sonrasında (OvHV-2 inkübasyonunun ardından) MCF enfeksiyonu belirtileri ortaya çıkabilmekte ve sığır ölümleri görülebilmektedir. Gerek Kurban bayramı yoğunluğu sebebiyle kontrolsüz hayvan satışlarının gözlemlendiği Müslüman ülkeler olsun, gerekse her türlü kontrolsüz hayvan satışının yapıldığı ülkelerde ki durum olsun, koyun ve sığırın aynı ortamda yakın teması sonucu her zaman MCF riski bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, Türkiye'nin doğu sınırındaki ülkelerden (Suriye, Irak, vb.) Türkiye'ye doğru kontrolsüz hayvan hareketleri gerçekleşmektedir. Bunun sonucu olarak ise, son yıllarda sığırlar üzerinde yapılan epidemiyolojik araştırmalarında ortaya koyduğu üzere viral enfeksiyonlardaki artış dikkati çekmektedir (6-11). Bu nedenle, OvHV-2 ve diğer viral ajanlar için pmoleküler epidemiyolojik çalışmaların periyodik olarak yapılması gerekmektedir. Bunlara ek olarak Türkiye'de OvHV-2 üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (12-15). Türkiye'de koyun ilişkili MCF epidemiyolojisi henüz tam olarak anlaşılammıştır ve bu alandaki bilgileri genişletmek için OvHV-2'nin moleküler epidemiyolojisi hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. OvHV-2'ye karşı bağışıklık kazandırma ve hastalık kontrolü üzerine yapılacak çalışmalar açısından, Türkiye'de sığır popülasyonunda OvHV-2'nin epidemiyolojisi ve genetik karakterinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Bu çalışma ile Türkiye'de OvHV-2'nin moleküler karakterizasyonu ve biyoinformatik analizleri gerçekleştirilerek, MCF enfeksiyonu risk faktörleri bakımından irdelenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Materyal

2017 yılı Kurban bayramı hayvan satışlarından üç hafta sonra, bir sürüdeki iki yaşlı erkek bir boğa tipik sinirsel ve solunum sistemi problemleri göstermesi şikayetiyle Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesine getirildi. Kurban bayramı sonrası virusun inkübasyon süresi ve klinik bulgular da göz önüne alınarak hayvandan alınan örnekler MCF enfeksiyonu yönünden araştırıldı. Anamnezde ilgili

hayvanın Kurban bayramı döneminde Erzurum ili kurban satış merkezinde bulunduğu, koyunlarla yakın temasta olduğu ve dönem sonunda satış için talep edilen ücretin alınmadığı gerekçesiyle işletmeye geri götürüldüğü bilgisi alındı.

### Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Rutin tanı faaliyetleri kapsamında alınan kan ve oküler sürüntü örnekleri alınarak viroloji laboratuvarına gönderildi ve burada ticari kit (GF-1 Viral Nucleic acid kit, GF-100, Vivantis, Malezya) ile viral nükleik asit izolasyonu total olarak gerçekleştirildi. Örnekler kullanılıncaya kadar -80 °C'da saklandı.

### PCR Bileşen Konsantrasyonları ve Reaksiyon Koşulları

Coryza gangrenosa bovim enfeksiyonunu yapan etken Ovine gammaherpesvirus-2 olduğundan direk PCR işlemine geçilmiştir. PCR işlemi Taq DNA polimeraz enzimi (Taq DNA Polymerase, recombinant (5 U/μL), Thermo Fisher Scientific, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Nükleik asit ekstraktlarında OvHV-2'nin tegument proteinini kodlayan gen bölgesine spesifik; primer 556 - 5'-AGTCTGGGG TATATGAATCCAGATGGCTCTC-3' ve primer 755 - 5'-AAGATAAGCACCAGTTATGCATCTGATAAA-3' primer çifti kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirildi (16). Kısaca reaksiyon bileşenleri 10 X Taq buffer (3 μl), MgCl<sub>2</sub> (25 mM ve 2,4μl), 10 mM dNTP mix (0,5 μl), primer F (10 pmol/μl, 0,5μl), primer R (10 pmol/μl, 0,5 μl), Taq DNA polimerase (5u/μl, 0,25 μl), nükleaz free Su 19,85 μl ve bu karışım üzerine ekstrakte nükleik asit DNA'dan 3μl eklenerek toplam 30 μl reaksiyon koşuluyla PCR gerçekleştirildi. Reaksiyon koşulları ise; 94 °C'de 5 dk ön denaturasyonu takiben, 94 °C'de 1 dk, 55 °C'de 1 dk ve 72 °C'de 1 dk 35 siklus ile 72 °C'de 10 dk son uzama ile reaksiyon sonlandırıldı.

PCR sonucunda elde edilen ürünleri görüntülemek için, ethidium bromide içeren (Sigma, ABD) %1'lik agaroz jel (Agarose, Sigma, ABD) hazırlandı. Agaroz jelin hazırlanmasında ve tank tamponunda Tris Asetat - EDTA (TAE) solüsyonu kullanıldı. Isı yardımıyla 0,5xTAE solüsyonu içinde çözölen agaroz, biraz

soğutulduktan sonra üzerine ethidium bromide (0,5 µg/ml, Sigma, ABD) solüsyonu eklendi. Soğutulan agaroz jel karışımı, jel tarakları yerleştirilmiş olan jel taşıyıcısına döküldü. Donan agaroz jeldeki taraklar çıkarılarak, elektroforez tankına yerleştirildi. PCR ürünleri ise yükleme boyası (6x Loading Dye, Thermo Fisher, ABD) ile karıştırılarak, tarakların çıkarılmasıyla oluşan kuyucuklara eklendi. Ürün büyüklüğünün yaklaşık olarak belirlenebilmesi için 100 bp'lik marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Fisher, ABD) solüsyonundan her bir kuyucuğa 1 µl olarak yüklendi. Daha sonra ürünler elektrik akımına tabi tutularak (8 volt/cm), yaklaşık 30 dk sonra jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmart, Fransa) ile PCR sonucu oluşan DNA bantları görüntülendi. UV ışığı altında yaklaşık 422-bp büyüklüğünde PCR bandı OvHV-2 için pozitif olarak değerlendirildi. Biyoinformatik analizlerin gerçekleştirilmesi amacıyla, pozitif PCR amplikonu, çift yönlü olarak sekanslamaya tabi tutuldu. Sekans işlemi hizmet alımı şeklinde gerçekleştirildi (Medsantek, İstanbul). Sekans sonrası alınan ham veriler GenBank'ta konfirme edildi.

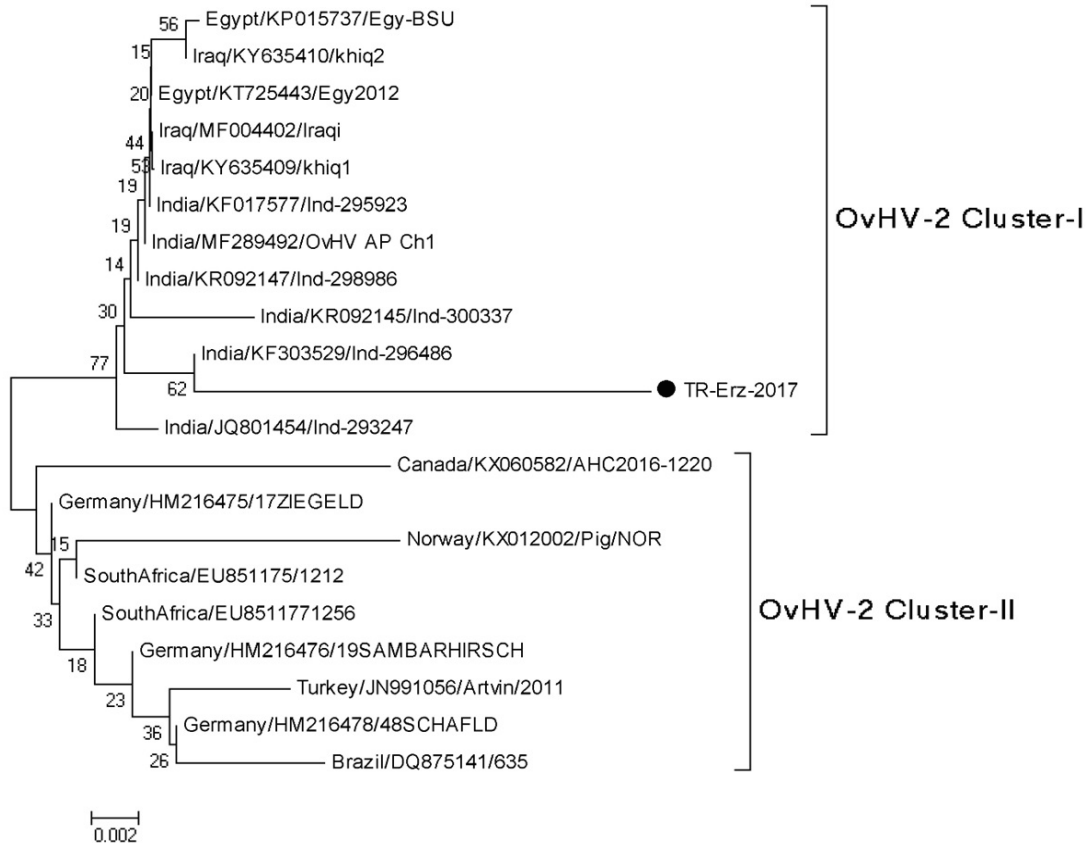
### Biyoinformatik Analizler

OvHV-2'nin 422-bp büyüklüğünde kısmi tegument protein gen dizisi, BLAST programı ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)) ile GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) veri tabanında yer alan referans dizileri ile karşılaştırıldı. Dizi hizalamaları BioEdit V7.0.5 ile yapıldı. Filogenetik ağaç, MEGA 5.0 yazılımı ile Neighbor-Joining (NJ) istatistik metodu yapıldı (17). ClustalW algoritmasına dayalı 1.000 bootstrap veri seti (replikasyon değeri, tekrar değeri) kullanılarak analiz edilen dizilerde, filogenetik uzaklık değerleri Kimura 2 parameter model kullanılarak hesaplandı. Şekil 1'de düğümlerdeki sayılar, ön yükleme değerlerini gösterirken, bar, pozisyon başına nükleotid ikamelerini temsil etmektedir.

## BULGULAR

Ülkemizde kurulan bazı hayvan satış merkezlerinde hayvan satışları bir arada (sığır-koyun) gerçekleşmektedir. Özellikle Kurban bayramında

bu durum daha kontrolsüz olabilmektedir. 2017 yılı Kurban Bayramı hayvan satışları sonrasında koyun ve sığırların bir arada tutulması sonucu meydana geldiği düşünülen MCF vakası moleküler ve filogenetik analizlerle ortaya konmuştur. Klinik olarak MCF'nin sinirsel ve solunum formunu birlikte gösteren bir sürüdeki iki yaşındaki sığırın her iki gözünde ve burnunda purulent akıntı mevcuttu. Kan ve sürüntü örnekleri OvHV-2 yönünden PCR ile araştırılarak pozitiflik tespit edildi. Çalışmamızdan elde ettiğimiz tegument proteini kısmi sekansının ve dünyadan ve ülkemizden GenBank'tan elde edilen OvHV-2 referans dizilerin filogenetik analizi sonucu (Şekil 1), OvHV-2 suşlarının (koyun ilişkili suş) iki farklı dalda kümelenildiği görüldü. Çalışmaya yani filogeniye dahil edilen suşlar ülkemizin coğrafik konumu gereği orta doğu/Asya ve Avrupa kıtasında bulunan ülkelerin suşlarından seçilmiştir. Bu amaçla Irak, Mısır, Hindistan olmak üzere Asya kıtasından ve Almanya, Norveç gibi Avrupa ülkelerinden ve Kanada ve Brezilya gibi uzak coğrafyadaki ülkelere de suşlar seçilerek filogeni oluşturulmuştur. Kısmi tegument proteini ile ülkemizden Artvin (JN991056) ilinden bir suş filogeniye dahil edilmiştir. OvHV-2 Tegument proteinin kısmi sekansında çalışmaya dahil edilen suşların iki farklı cluster oluşturduğu dikkat çekmiştir. Bu clusterlara çalışmamızda cluster I ve cluster II isimlerini verdik. Hindistan, Mısır ve Irak suşları ile çalışmamızda belirlediğimiz OvHV-2 suşunun oldukça yakın filogenetik yakınlık (aynı cluster, cluster-I) sergilediği belirlenirken, Almanya, Kanada, Brezilya, Norveç ve Güney Afrika ile kısmen uzak ilişkili olduğu (cluster-II) belirlendi. Ayrıca çalışmamızda belirlediğimiz OvHV-2 suşunun daha önce Türkiye'den bildirilen suşla (JN991056, Artvin2011) uzak ilişkili olduğu belirlendi. OvHV-2 suşumuzun BLAST analizleri sonucu, Gen-Bank'ta yer alan diğer OvHV-2 sekansları ile %98-100 oranında benzerlik gösterdiği belirlendi. Çalışmada tespit edilen suşumuz GenBank'ta MT253536 accession numarası ve "Ovine gammaherpesvirus 2 strain TR-Erz-2017" adıyla yer almaktadır.



**Şekil 1.** OvHV-2 tegument gen dizilerinin filogenetik ağacı. MEGA5, neighbor-joining yöntemi, ClustalW algoritmasına dayalı 1.000 bootstrap veri seti kullanılarak analiz edilen diziler.

Çalışma suşumuzun filogenetik yeri yuvarlak şekil ile gösterilmiştir (●).

Düğümlerdeki sayılar, ön yüklem değerlerini gösterir. Bar, pozisyon başına nükleotid ikamelerini temsil eder.

## TARTIŞMA

Malignant catarrhal fever sığırların sporadik ve lethal karakter sergileyen bir viral hastalığıdır. Ülkemizde daha önce bildirimleri sınırlı olan bu hastalığın risk faktörlerinin ve epidemiyolojisinin belirlenmesi, hastalığın eradikasyonu ve bağışıklama çalışmaları açısından önem taşımaktadır. OvHV-2 taşıyıcısı olan koyunların yetiştiricilik açısından sığırların yetiştirilme alanlarından uzak olmalı, satışa sunulan hayvanlar için ayrı alanlar planlanmalı ve farklı meralarda otlatılması zorunluluğunu doğurmaktadır. Bu ve olası risk faktörleri günümüzde daha sağlıklı yürütülmeye çalışılsa da zaman zaman bu tür risk faktörlerinin göz ardı edilmesi

sonucu koyun ilişkili OvHV-2 enfeksiyonu sonucu sığır ölümleri gözlenmektedir. Özellikle müslüman ülkelerde Kurban bayramı süresince kontrolsüz hayvan satış alanlarının kurulması OvHV-2'ye bağlı MCF enfeksiyonlarının sporadik yayılım göstermesinin aksine daha fazla yayılmasına sebep olmakla birlikte bu hastalığın eradikasyonunun önüne geçmektedir. OvHV-2'nin moleküler yöntemlerle araştırıldığı ve risk faktörlerine dikkat çekildiği bu çalışmada koyun ilişkili OvHV-2 suşu tespit edilmiştir. OvHV-2'nin teşhisinde ve moleküler karakterizasyon çalışmalarında konvansiyonel PCR analizi en hızlı ve güvenilir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Moleküler karakterizasyonu yapılan OvHV-2 suşlarının iki farklı grupta (cluster) toplandığı görülmüştür.

Cluster-I Ortadoğu ve Cluster-II Avrupa kökenli suşlardan oluşmaktadır. Ülkemiz coğrafik olarak Asya ve Avrupa kıtası arasında bir köprü konumundadır. Dolayısıyla zaman zaman bu coğrafik özellikten dolayı tespit edilen suşlar -hayvan hareketleri sayesinde- bazen Asya kıtasındaki ülkelerin suşlarına bazen de Avrupa kıtasındaki ülkelerin suşları ile yakın ilişkili olarak belirlenmektedir. Şekil-1'de sunulan filogenetik analizde çalışmamızdan elde edilen OvHV-2 suşu (TR-Erz-2017) Ortadoğu ülkeleri suşlarıyla aynı grupta yer aldığı ortaya konmuştur.

Ülkemizde MCF enfeksiyonunun varlığını bildiren veya tespit edilen suşların moleküler karakterizasyonunun yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada 4 yaşındaki dişi sığırdan tespit edilen MCF olgusunda makroskopik olarak göz kapaklarında ve konjonktivada ödem ve tüm lenf yumrularında şişlik belirlenmiş olup virusun varlığı patolojik analizlerle birlikte moleküler olarak ortaya konulmuş ancak bioinformatik karakterizasyonu yapılmamıştır (4). Kırbaş ve ark., (12) tarafından yapılan bir çalışmada ise PCR ile OvHV-2 tespit edilen bir olguda beyin, karaciğer, omurilik, kalp, üst solunum yolları ve lenfoid dokular patolojik olarak incelenmiş ancak virusun moleküler karakterizasyonu yapılmamıştır.

Turan ve ark., (18) tarafından Türkiye'de Sivas ve Elazığ illerinde yapılan çalışmada ise MCF pozitif olgularda filogenetik analizler gerçekleştirilerek OvHV-2'nin aminoasit değişimleri ve sekans varyasyonları ortaya konulmuştur. Yapılan bir diğer moleküler çalışmada çalışmamızın yapıldığı Erzurum ilinin komşusu olan Kars ilinde ise OvHV-2 varlığı bildirilerek, tespit edilen suşlar arasındaki filogenetik farklılıklar ortaya konmuştur (13). Ülkemizde yapılan bir diğer moleküler çalışmada ise sığır ve koyunlarda OvHV-2'nin glikoprotein ve tegument geni PCR ile ortaya konularak sekans analizleri yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada OvHV-2 suşları arasında sınırlı oranda genetik varyasyon tespit edilmiştir (19). MCF enfeksiyonu ile vitamin D arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir dahiliye çalışmasında ise, MCF enfeksiyonlu sığırlarda D vitamininin arttığı bildirilmiştir (20). Ülkemizde hastalığın prevalansını araştırmak için MCF üzerine sınırlı sayıda serolojik

çalışma yer almaktadır. Aslında enfeksiyon lethal seyretse de sınırlı sayıda hayatta kalan sığırlarda serolojik çalışmalar da yapılmıştır. Yavru ve ark. (21) tarafından 189 sığır üzerinde gerçekleştirilen serolojik araştırmada %12.16 oranında prevalans belirlenmiştir. Yeşilbağ (15) tarafından dört farklı lokasyonda gerçekleştirilen serolojik tabanlı çalışmada OvHV-2 prevalansı ise sığırlarda %15, koyunlarda %97.5 ve keçilerde ise %96.0 oranında belirlenmiştir. Bu oran ülkemizde MCF enfeksiyonunun yaygınlığının önemli bir orana sahip olduğunu ve risk faktörleri üzerine yapılacak çalışmaların önemini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte seropozitiflik belirlenen sığırların MCF enfeksiyonu ile enfekte olduktan sonra iyileştikleri veya sub-klinik olarak atlattıkları anlamına gelmektedir.

Çalışmamızda filogeniye dahil ettiğimiz ülkeler açısından dünyadaki çalışmalarda da benzer durumlar tespit edilmiştir. Sood ve ark. (2014) Hindistan'da koyun ilişkili MCF olgusunda virusun iki farklı gen bölgesini PCR analizi ile kanıtlamışlardır. NJ yöntemiyle yaptıkları filogeni de tespit edilen suşun dünyanın başka yerlerinde rapor edilen diğer OvHV-2 ile yakın genetik ilişkide olduğunu bildirmişlerdir (22). Abd El Rahman ve ark. (2020) Mısır'da yaptığı bir çalışmada 427 sığır örneği incelemiş 18 pozitiflik tespit etmişlerdir. Etkilenen tüm sığırların, klinik olarak belirti göstermeyen koyunlarla temas halinde yetiştirildiğini vurgulamışlar ve tahmini morbidite ve vaka ölüm oranları sırasıyla %4.2 ve %72.2 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında tespit edilen tüm Mısır örneklerinin ORF27 nükleotid dizisinin aynı olduğunu, ancak ülkelere komşu olan Afrika ve Akdeniz'in diğer bölgelerinde bulunan viruslardan farklı olduğunu bildirmişlerdir (23). Khudhair ve ark. (2019) yaptığı bir çalışmada Irak'ta 23 hayvandan aldıkları numulardan 2 tanesinde OvHV-2 pozitifliği tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızdan farklı bir filogeni software (T-coffee) ile yapılan NJ analizde tespit edilen suşların ülke coğrafyasına yakın ülkelere alınmış suşlarla (Almanya, Mısır ve Hindistan) yakın olsa da Türkiye, İtalya, Kanada ve Brezilya suşları ile uzak olduğunu bildirmişlerdir (24). Pesca ve ark. (2019) yaptığı bir çalışmada İtalya'da bir buzağıda tespit edilen suşun sürekli koyunlarla yakın temasta

olduğunu bildirmiştir. Tespit edilen suşun daha önceden yine italyan ve İngiliz suşlarıyla yakın çıkmasını ülke genelinde epidemiyolojik veri eksikliğe ve hastalığın nüksetmesine bağlamışlardır (25). Tüm bu bilgiler ışığında çevre ülkelerde de hastalığın var olduğu ve sadece koyun ilişkili durumların değil hayvan hareketlerinin kontrollü yapılması gerekliliği vurgulanabilir.

Çeşitli hayvan türlerini etkilenen Macavirus'lar (AIHV-1, AIHV-2, CpHV-2, ibex-MCFV, MCFV-muskox, MCF-WTD, OvHV-2), domuz, fare ve geyiklerde de enfeksiyon oluşturmaktadır. Çin'de 2015 yılında geyiklerde ortaya çıkan lenfoproliferatif karakterde semptomlar gösteren ölümcül bir salgında OvHV-2 sorumlu ajan olarak bulunmuştur (1). Dünyanın çeşitli ülkelerinde yetiştiriciliği yapılan farklı ruminant türlerinde, örneğin Yeni Zelanda ve Çin'de yüksek

potansiyelde geyik yetiştiriciliği yapılan işletmelerde MCF büyük kayıplara yol açmıştır (1, 26).

Sonuç olarak, enfeksiyöz hastalıkların takibi, biyolojisinin ve patogenezinin belirlenmesi, risk faktörlerinin ortaya konulması açısından moleküler ve bioinformatik çalışmalar oldukça önem arz etmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalar sınırlı olup, kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Henüz etkili bir aşısı bulunmayan MCF enfeksiyonundan korunma ve kontrol tedbirlerinin başında koyunlarla sığırların aynı ortamda bulundurulmaması, hayvanat bahçelerinde yabani ruminantlarla evcil ruminantların temasının engellenmesi ve kontrollü hayvan satış alanlarının oluşturularak risk faktörlerinin bertaraf edilmesi önerilmektedir.

## ETİK KURUL ONAYI

\* Bu çalışma, Etik Kurul İzni gerektirmemektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Zhu H, Sun N, Li Y, Feng T, Jiang L, Yu X, et al. Malignant catarrhal fever: An emerging yet neglected disease in captive sika deer (*Cervus nippon*) herds in China. *Transbound Emerg Dis*, 2020; 67(1): 149-58.
2. OIE (2021). Alcelaphine Herpesvirus 1 and Ovis Herpesvirus 2. (Erişim tarihi 30 Aralık 2021) <https://www.oie.int/app/uploads/2021/05/alcelaphine-herpesvirus-1-or-ovine-herpesvirus-2-infection-with.pdf>
3. MacLachlan N.J, Edward J. *Veterinary and Zoonotic Viruses*. Fenner's Veterinary Virology. 5th ed. Academic Press, San Diego, California, 2017; 210-2.
4. Avcı H, İpek E, Babaoğlu AR, Epikmen ET, Aydoğan A. Malignant Catarrhal Fever caused by Ovine Herpesvirus-2 in a cow. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 2020; 31 (1): 82-6.
5. Plowright W. Malignant Catarrhal Fever Virus, in *Virus Infections of Ruminants*, 3rd ed In: Dinter Z, Morein B, editors. New York: Elsevier Science; 1990; 123-50.
6. Aydın H, Timurkan MO, Acar-Kirmizi G. Sequence analysis of Turkish field strains of bovine torovirus shows unique amino acid changes in the partial M gene. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2019; 9(3): 129-34.

7. Çomaklı S, Sağlam YS, Timurkan MÖ. Comparative detection of bovine herpesvirus-1 using antigen ELISA, immunohistochemistry and immunofluorescence methods in cattle with pneumonia. *Turk J Vet Anim Sci*, 2019; 43(3): 306-3.
8. Özkaraca M, Timurkan MÖ. Immunohistochemistry and PCR methods for the diagnosis of BVDV in cattle with pneumonia in Erzurum Region. *Van Vet J*, 2016; 27(2): 85-8.
9. Timurkan MÖ, Aydın H, Belen S. The detection and molecular characterization of bovine respiratory coronavirus infection by RT-PCR in Erzurum. *Atatürk Üniversitesi J Vet Sci*, 2015; 10(3): 186-92.
10. Timurkan MÖ, Özkaraca M, Aydın H, Sağlam YS. The detection and molecular characterization of lumpy skin disease virus, northeast Turkey. *Int J Vet Sci*, 2016; 5(1): 44-7.
11. Timurkan MO, Aydın H. Cirit atlarında influenza A virus enfeksiyonunun serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Atatürk Üniversitesi J Vet Sci*, 2019; 14(1): 71-7.
12. Kirbas A, Oruc E, Ozkanlar Y, Sozdutmaz I, Aktas MS, Saglam YS. Sheep-associated malignant catarrhal fever: First report in a calf in Northeastern Turkey. *Isr J Vet Med*, 2013; 68(3): 195-200.
13. Yildirim Y, Bilge-Dağalp S, Yılmaz V, Faraji Majarashin A. Molecular characterisation of ovine herpesvirus type 2 (OvHV-2) in Turkey. *Acta Vet Hung*, 2012; 60(4): 521-7.
14. Yazici Z, Arslan HH, Gumusova S, Meral Y, Albayrak H. Occurrence of ovine herpesvirus type-2 infection in sheep and cattle in Samsun Province, Turkey. *DTW. Dtsch Tierarztl*, 2006; 113(9): 348-50.
15. Yeşilbağ K. Seroprevalence of malignant catarrhal fever-related gammaherpesviruses in domestic ruminants in Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 2007; 39(5): 363-8.
16. Baxter SI, Pow I, Bridgen A, Reid HW. PCR detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. *Arch Virol*. 1993; 132: 145-59.
17. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28: 2731-9.
18. Turan T, Isidan H, Atasoy MO, Sozdutmaz İ, Bulut H. Genetic diversity of ovine herpesvirus 2 strains obtained from malignant catarrhal fever cases in Eastern Turkey. *Virus Res*, 2020; 276: 197801.
19. Oğuzoğlu TÇ, Salar S, Adıgüzel E, Demirden C, Ülgenalp O. Detection and characterisation of sheep-associated malignant catarrhal fever infection from ruminants by using tegument and gB gene sequences of OvHV-2. *J Vet Res*, 2020; 87(1): 1-4.
20. Dabak M, Dabak DO, Karapinar T, Bulut H. Vitamin D status in cattle with malignant catarrhal fever. *J Vet Med Sci*, 2012; 74(1): 125-8.
21. Yavru S, Şimşek A, Yapıcı O, Bulut O, Avcı O. Determination of prevalence of malignant catarrhal fever by using competitive inhibition ELISA in domestic cattle. *Bionature*, 2018; 38(3): 214-8.
22. Sood R, Khandia R, Bhatia S, Hemadri D, Kumar M, Patil SS, et al. Detection and molecular characterization of naturally transmitted sheep associated malignant catarrhal fever in cattle in India. *Trop Anim Health Prod*. 2014; 46(6): 1037-43.
23. Abd El Rahman S, Ateya A, El-Beskawy M, Wernike K, Hoffmann B, Eschbaumer M. Field observations and genetic characterization of sheep-associated malignant catarrhal fever in Egypt, 2018. *Vet Sci*. 2020; 7(4):201.
24. Khudhair YI, Ayyez HN, Hussain MH. Phylogenetic analysis of ovine herpes virus-2 (OHV-2) in malignant catarrhal fever infected cattle in AL-Qadisiyah of Iraq. *Iraqi J Vet Sci*, 2019; 33(1): 51-8.
25. Pesca C, Gobbi M, Palombi C, Forte C, Pavone S, Stazi M, Pela M, Cruciani D, D'Avino N. Bovine malignant catarrhal fever: case reporting in Central Italy. *Vet Ital*, 2019; 55: 279-83.
26. McAllum HJ, Mavor NM, Hemmingsen P. A malignant catarrhal fever-like disease in red deer (*Cervus elaphus*) in New Zealand. *N Z Vet JI*, 1982; 30(7): 99- 101.