

Isolation of Avipoxvirus from Pigeons

Mehmet KÜR¹, Oktay KESKİN^{2*}

¹Yaşam Veterinary Clinic, 02400, Kâhta, Adıyaman, Turkey

^{2*}Harran University Faculty of Veterinary Medicine Department of Microbiology, 63250, Şanlıurfa, Turkey

ABSTRACT

In this study, it was aimed to isolate pox virus which is the causative agent of pox disease which is commonly seen and cause serious losses in pigeons. In the study, a total of 20 nodule samples from pigeons that are clinically which are evaluated as pox nodules clinically were collected. Samples were from four different pigeon flocks each consisting of five samples. Inoculums were prepared from collected tissue samples and inoculated on the chorioallantoic membrane (CAM) of a 10 day old fertilised embryonated chicken eggs. After six to eight days after incubation, pocks were produced by the virus on CAM. Two passages were made further in order to increase the titer of the virus. DNAs were extracted from both nodules and CAM samples and isolated DNAs were amplified by PCR primers for specific for p4b gene. The presence of 578 bp amplified DNA band was regarded as positive in PCR. Nodule samples from infected pigeons were collected and for the first time pox virus from pigeons was isolated and identified molecularly in Turkey.

Keywords: Pox, Pigeon, Isolation, PCR

Güvercinlerde Çiçek Virusu İzolasyonu

ÖZ

Bu çalışmada, güvercinlerde yaygın olarak görülen ve en çok kayıp oluşturan hastalıklardan biri olan çiçek virusunun izole edilmesi amaçlandı. Çalışmada, klinik muayenede çiçek nodülü olarak değerlendirilen lezyonlar bulunan 4 farklı güvercin kümesinin her birinden 5 hayvan olmak üzere toplam 20 adet güvercinde nodül örnekleri toplandı. Toplanan doku örneklerinden inokulum hazırlanarak 10 günlük embriyolu tavuk yumurtalarında (ETY) koryoallantoik membrana (CAM) ekimler yapıldı. Yumurtalarda 6-8 gün inkubasyondan sonra CAM üzerinde poklar görüldü ve yine ETY'de 2 kez pasaj yapılarak virusun yoğunluğu artırıldı. Çiçek virusunu doğrulamak amacıyla gerek nodül örneklerinden, gerekse CAM'da görülen pok örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak p4b geninin varlığı açısından PCR ile test edildi ve 578 bp'lik bantların görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Güvercinlerde görülen çiçek enfeksiyonlarında hastalardan toplanan nodül örneklerinden güvercin çiçek virusu Türkiye'de ilk kez izole edildi ve etken moleküler olarak doğrulandı.

Anahtar Kelimeler: Çiçek, Güvercin, İzolasyon, PCR

To cite this article: Kür M, Keskin O. Isolation of Avipoxvirus from pigeons.

Kocatepe Vet J. (2021) 14(4):444-450

Submission: 25.12.2020 Accepted: 16.09.2021 Published Online: 05.12.2021

ORCID ID: MK: 0000-0002-4482-041X, OK: 0000-0002-5977-7872

*Corresponding author e-mail: okeskin@harran.edu.tr

GİRİŞ

Kanatlı çiçeği her yaşta evcil ve yabani kuşların bulaşıcı bir hastalığı olup, 200'den fazla kuş türünde rapor edilmiştir (Adebajo ve ark. 2012, Ha ve ark. 2013). Tüm kanatlı çiçek virusları dünya çapında yayılım gösteren ve DNA karakterinde genetik materyal taşıyan Poxviridae familyasının Avipox virus cinsine dahildir (Jordan ve Pattison 1996, Tripathy 1993, Tripathy ve Reed 2008, Luschow ve ark. 2004). Kanatlı çiçek etkenleri immünolojik yönden birbirine yakın dört suşa sahip olup patojenite yönünden farklılık göstermektedir. Güvercin çiçek virusu; tavuk, hindi ve güvercinler için patojen bir suştur. Güvercin çiçek virusu diğer çiçek viruslarıyla antijenik ve immünolojik yakınlığından dolayı aşı üretiminde kullanılabilir (Arda ve ark. 1994).

Çiçek virusuna karşı güvercinler cinsiyet olarak aynı duyarlılığa sahip olmalarına karşılık yavrular erginlere göre daha duyarlıdır ve hastalığı daha şiddetli geçirirler. Hastalığın inkübasyon süresi hayvanların bağışıklık, direnç ve immun sistemine göre 5-15 gün arasında değişiklik gösterebilmektedir (Arda 2007).

Bulaşma, kanatlı hayvanların tüysüz bölgelerinde infekte derideki lezyon veya kabukların düşerek yine deri veya mukoza yoluyla gerçekleşir. Özellikle fazla hayvan barındırılan kümeslerde hayvanların tüysüz deri bölgelerinde meydana gelen sıyrık veya yaralar, virusun vücuda girmesinde önemli rol oynar. Sağlam deri ve mukozalardan virus vücuda giremez (Eleazer ve ark. 1983, Docherty ve ark. 1991, Arda ve ark. 1994, Jordan ve Pattison 1996, Tripathy ve Reed 2008). Sivrisineklerin hastalığın mekanik vektörleri

olarak rol oynadığı bildirilmektedir (Van-Riper ve Forrester 2007).

Klinik olarak etkilenen kuşlar bağışıklık ve duyarlılığına göre farklılık göstermekle beraber deri formu, difterik form ve sistemik form olmak üzere üç formu vardır (Arda 2007, Kulich ve ark. 2008, Atkinson ve ark. 2010).

Bu çalışmada, güvercinlerde yaygın olarak görülen ve en çok kayıp oluşturan hastalıklardan biri olan çiçek virusunun izole edilmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji anabilim dalına teşhis ve tedavi amacıyla getirilen güvercinlerden klinik olarak çiçek teşhisi konulan hayvanlardan tedavi esnasında alınan yara kabukları kullanıldı. Bu amaçla 4 farklı güvercin kümesinden, her bir kümeden 5 hayvan olmak üzere toplam 20 adet güvercin, klinik muayenede yüz ve göz çevresinde bulunan ve çiçek nodülü olarak değerlendirilen doku örnekleri toplandı. Numuneler steril bir pens yardımı ile alınarak virus transport medyum (0,5 ml) bulunan eppendorf tüplerine alındı. Numuneler virus izolasyonu amacıyla inokulumun hazırlanmasına kadar -20°C'de saklandı. Bu kümeslerdeki toplam güvercin sayıları Tablo 1'de verilmiştir. Çalışma için, 20.06.2016 tarih 2016/18 sayılı izin belgesi, DOLLVET Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır. Ayrıca yazarlar Araştırma ve Yayın Etiğine uyulduğunu beyan etmişlerdir.

Tablo 1. Güvercin sayıları

Table 1. The numbers of pigeons

Kümes Coop	Toplam Güvercin sayısı Total number of pigeons	Çiçek şüpheli lezyon tespit edilen güvercin sayısı Numbers of pigeons with suspicious pox lesions	Numune alınan güvercin sayısı Number of pigeons sampled
A	35	8	5
B	27	9	5
C	28	5	5
D	30	11	5
Toplam	120	33	20

Virus İzolasyonu

Çiçek lezyonlarından toplanan örnekler, her işletmeden alınan numuneler bir araya toplanarak 4 farklı örnek havuzunun her birinden 10'ar adet ETY'ye ekim yapıldı. Çiçek viruslarını üretmek için, çiçek aşısı yapılmayan ve geçmişte çiçek görüldüğüne

dair bilgi bulunmayan bir işletmeden ticari olarak temin edilen 2 günlük ETY'leri kullanıldı. İnokulasyon yapıldıktan sonra ETY'leri 37°C ve %55 nem olan kuluçka makinasında tutuldu ve her gün canlılık kontrolleri yapıldı. CAM'a ekimlerin yapılması

amacıyla öncelikle doku örneklerinden inokulumlar hazırlandı. Bu amaçla her örnek havuzundaki doku örnekleri tartıldı ve steril bir havanda steril kum ile ezilerek steril PBS ile %20 oranında süspansiyon haline getirildi. Doku homojenatı 1500 rpm'de 15 dakika santrifüje edildi. Hazırlanan doku süspansiyonu süpernatantına bakteriyel kontaminasyonu önlemek amacıyla penisilin (10000 IU/ml) ve streptomisin (10000 µg/ml) ilave edilerek 37°C'de 45 dakika bekletildi (Gilhare ve ark. 2015, Kabir ve ark. 2015).

Hazırlanan inokulumdan, canlılık muayenesi yapılan 10 günlük ETY'lere ekim yapıldı. Bu amaçla ETY'nin hava boşlukları bir kurşun kalemle işaretlenerek orta kısmından bir yumurta delici ile uygun büyüklükte bir delik açıldı. Steril 1 ml'lik bir tüberkülin enjektörü kullanılarak 0.5 ml hazırlanan inokulumdan CAM üzerine damlatıldı ve iğne ile CAM çizildi. Daha sonra açılan delikler kapatılarak yumurtalar 37 °C'de 6-8 gün inkube edildi. Bu arada her gün 2 kez yumurtaların canlılık kontrolleri yapıldı. İnkubasyon sonunda yumurtalar buzdolabında +4°C'de 2 saat tutularak embriyolar öldürüldü. Daha sonra hava keseleri tarafından kabuklar açılarak CAM çiçek poklarının varlığı açısından değerlendirildi (Kabir ve ark. 2015).

ETY'lerine pozitif kontrol için ticari olarak temin edilen canlı çiçek aşısı (NOBILIS) ile CAM'a inokulasyon yapıldı. Negatif kontrol olarak ise steril fizyolojik tuzlu su inokule edildi. Pozitif ve negatif kontrol ETY'ler diğerleri ile aynı koşullarda inkubasyona kaldırıldı.

Moleküler Tanı

DNA İzolasyonu

Gerek toplanan nodüllerden, gerekse yapılan ekimler sonucunda pokların görüldüğü CAM örneklerinden ticari olarak temin edilen QIAamp DNA Mini Ekstraksiyon kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) uygulama protokülüne göre kullanılarak genomik DNA izole edildi. Testte pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere, ticari bir tavuk çiçeği aşısından da (NOBILIS) DNA aynı kit kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

PCR Analizi

Bu amaçla kanatlı çiçeği virusu HP444 suşunun p4b geni için spesifik olan ve Lee ve Lee (1997) tarafından bildirilen primerler kullanılarak PCR'da 578 bp'lik bir DNA amplikasyonu hedeflendi. Kullanılan primerler (forward 5'-CAGCAGGTGCTAAACAACA-3' ve reverse primer olarak 5'-CGGTAGCTTAACGCCGAATA-3') ticari olarak (Invitrogen, ABD) temin edildi ve kullanım için 10 pmol olacak şekilde hazırlandı.

PCR, Kabir ve ark. (2015)'nin bildirdiği yöntemle gerçekleştirildi. Bu amaçla her örnek için toplam 25 µl çalışma hacmi olacak şekilde reaksiyon karışımı 2,5 µl 10X LA buffer (TaKaRa, Japonya), 1,0 µl 50mM MgCl₂ (Bio-Rad, ABD), 1,5 µl 10mM dNTP (Bio-

Rad, ABD), 0,2 µl LA taq (TaKaRa, Japonya), 1,5 µl spesifik forward primer, 1,5 µl reverse primer, 10 µl viral DNA ve 6,8 µl dH₂O eklenerek hazırlandı. Tüpler thermocycler (Thermo Scientific) gözlerine yerleştirilerek 94°C'de 5 dakika ilk denatürasyondan sonra 35 döngü 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 48°C'de 90 saniye bağlanma, 60°C'de 120 saniye uzama ve son olarak da 60°C'de 10 dakika final uzaması olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR sonunda elde edilen amplikonlar %2' lik agaroz jelde 100 Voltta koşturuldu ve elektroforez sonucu ayrılan bantlar UV transilluminatorde görüntülendi.

BULGULAR

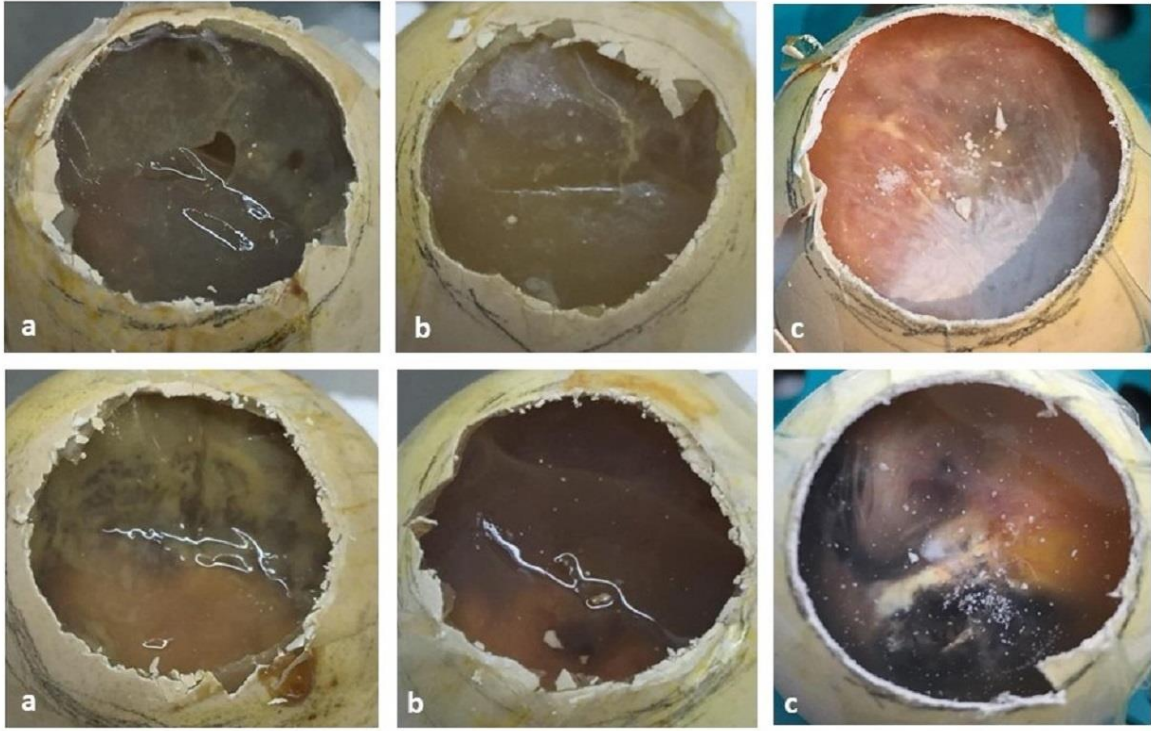
Virus İzolasyonu

Çiçek lezyonlarından ETY'lerin CAM'ına ekimler yapıldıktan sonra inkubasyonun ilk 24 saatinde veya inkubasyon süresince her hangibir embriyoda ölüm görülmedi. 6-8 günlük inkubasyon süresi sonunda yumurtalar buzdolabında +4°C'de 2 saat tutularak embriyolar öldürüldü. İnkulasyon yapılan ETY'lerinin CAM'ları, pozitif ve negatif kontrol ETY'lerin CAM'ları ile karşılaştırılarak CAM üzerinde pokların oluşması veya kalınlaşma görülmesi çiçek virusu açısından şüpheli olarak değerlendirildi. Virus titresinin artırılması için CAM örneklerinin bir kısmından inokulum hazırlanarak yeniden ETY'nin CAM'ına ekimler yapılarak 2 kez pasajlandı. Her bir işletmeye ait örnek havuzlarından yapılan ekimlerin hepsinde CAM'da çiçek virusu bulguları olarak kabul edilen kalınlaşma ve pokların oluşumu saptandı

Moleküler Tanı

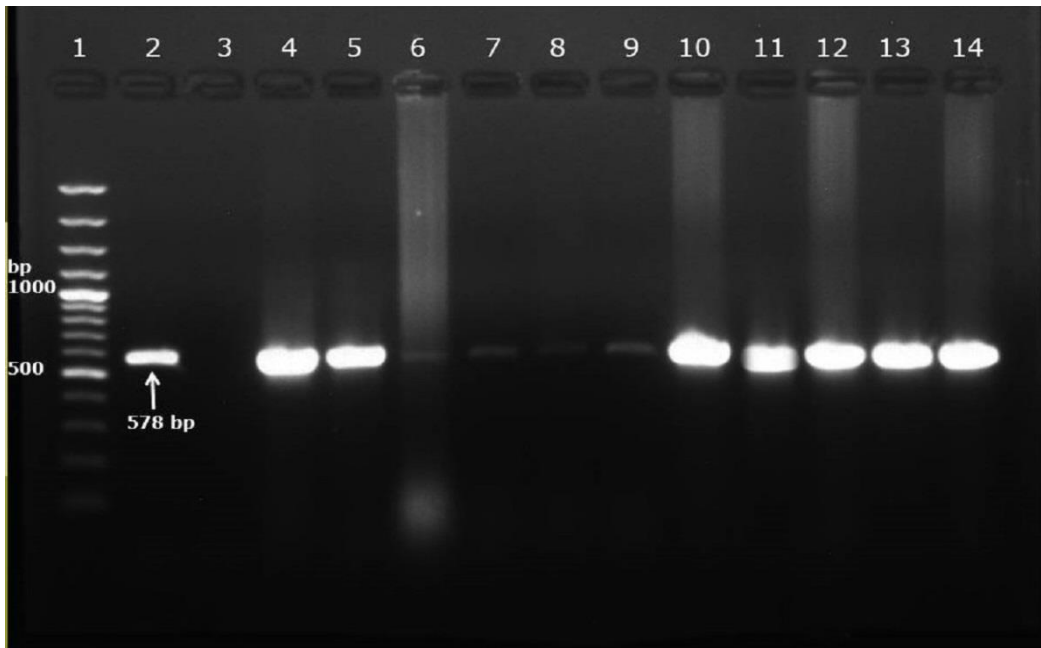
Bu amaçla direkt doku örneğinden ve daha sonra pozitif olarak değerlendirilen CAM örneklerinden yapılan birinci ve ikinci pasajlar olmak üzere her 3 aşamada pozitif olarak saptanan CAM örneklerinde PCR için DNA izolasyonu yapılarak virusun varlığı moleküler olarak doğrulandı.

Moleküler tanı için belirtilen koşullarda elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde koşturularak 578 bp bantların varlığı yönünden değerlendirildi. Buna göre gerek direkt dokudan izole edilen DNA örnekleri, gerekse birinci ve ikinci pasajda pozitif olarak değerlendirilen CAM numunelerinden izole edilen DNA örnekleri olmak üzere her 4 işletmeden elde edilen örneklerin tamamında 578 bp'lik amplikonlar yönünden pozitif olarak değerlendirildi. Negatif sonuç elde edilmedi.



Şekil 1. a: Nodüllerden yapılan ekim sonucunda oluşan pok lezyonları, b: Birinci pasaj sonucunda oluşan pok lezyonları, c: İkinci pasaj sonucunda oluşan pok lezyonları.

Figure 1: a: Pocks formed after inoculation from nodules, b: Pocks formed after first passage, c: Pocks formed after second passage.



Şekil 2: Güvercinlerden izole edilen çiçek viruslarına ait PCR ürünlerinin agaroz jeldeki spesifik bantlarını gösteren elektroforez sonuçları. L1= 100 bp DNA Marker, L2= Pozitif kontrol, L3= Negatif kontrol, L4-5= Nodül dokusundan direkt DNA izolasyonu ile PCR, L6-9= İlk ekimde CAM örneklerinden DNA izolasyonu ile PCR, L10-11= Birinci pasajda CAM örneklerinden DNA izolasyonu ile PCR, L12-14= İkinci pasajda CAM örneklerinden DNA izolasyonu ile PCR.

Figure 2: Agarose gel electrophoresis of DNA products generated by PCR. L1= DNA molecular weight marker (100 bp), L2= Positive control, L3= Negative control, L4-5= DNA extraction from skin lesions, L6-9= DNA extraction from CAM after first inoculation, L10-11= DNA extraction from CAM after first passage, L12-14= DNA extraction from CAM after second passage.

TARTIŞMA

Güvercin çiçeği, aşılammamış duyarlı güvercinlerde yaygın olarak görülen viral bir hastalıktır.

Bilinen yaklaşık 9000 farklı kuş türünden 232 türde doğal çiçek enfeksiyonu rapor edilmiştir. (Audarya ve ark. 2018).

Lee ve Lee (1997)'de, tavuk çiçeğinin tanısında PCR tekniğinin uygulanması için 3'ü ticari aşı suşu ve 3'ü de lokal izolat olan 6 farklı suş ile 4b gen sekansını belirlemek üzere dizayn edilen primerleri kullanarak 578 bp uzunluğunda ampikonları saptayan bir PCR uygulamışlardır. Araştırmacılar çalışmada elde ettikleri verilere dayanarak uyguladıkları PCR tekniğinin tavuk çiçeğinin saptanmasında hızlı, spesifik ve yüksek derecede duyarlı bir teşhis aracı olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Prukner-Radovic ve ark. (2006)'nın Hırvatistan'da tavuk, güvercin ve hindilerde görülen çiçek vakalarında deri lezyonlarından virüsü izole etmek için 11 günlük ETY'lerin CAM'ına inokule etmişler, 7 gün inkubasyondan sonra beyaz renkli fokal pok lezyonlarının veya membranda yaygın bir kalınlaşmanın olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Daha sonra bu lezyonlardan DNA ekstarksiyonu yaparak PCR 4b geni yönünden 578 bp'lik ampikonların görülmesini pozitif olarak değerlendirmişlerdir.

Manorolla ve ark. (2010)'nın güvercinlerin de içinde yer aldığı farklı kanatlılarda çiçek virusunun moleküler biyolojik karakterizasyonu için yaptıkları çalışmada 11 günlük ETY'lerin CAM'ına ekim yaparak 7 gün inkubasyondan sonra değerlendirmişlerdir. Deri lezyonlarından DNA izolasyonu yaparak p4b geni açısından PCR uygulamışlardır. Yapılan jel elektroforezde 578 bp'lik bant görülen örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Abdallah ve Hassanin (2013)'nin, Mısır'da farklı kanatlı türlerinden izole edilen APV'lerin saptanması ve moleküler karakterizasyonu için yaptıkları çalışmada tavuk, hindi ve güvercinlerden izolasyon için aşılammamış bir sürüden elde edilen ETY'lerde CAM'a ekim yaparak ilk ekimde veya ikinci pasajda CAM üzerinde pokların görüldüğünü, bu poklardan ve direkt olarak deri lezyonlardan DNA izolasyonu yapılarak p4b geni açısından PCR yapılarak 578 bp bantların görülmesini pozitif olarak değerlendirildiğini bildirmişlerdir.

Offerman ve ark. (2013)'nin yaptıkları filogenetik çalışmada, Güney Afrika'da güvercinlerin de aralarında bulunduğu farklı kanatlı türlerinden avipox virüsleri 10-11 günlük ETY'lerin CAM'ında üretmişler ve p4b genini saptayan primerleri kullanarak PCR yapmışlardır.

Abd El-Samie ve ark. (2015), Mısır'ın farklı bölgelerinde çiçek lezyonu bulunan güvercinlerden topladıkları deri lezyonlarından 11 günlük ETY'lerde CAM'a ekim yapmışlar ve 2. pasajda tipik pokların gözlemlendiğini bildirmişlerdir. İzole edilen suşlarda p4b genini saptamaya yönelik olarak PCR

uygulamışlar ve 578 bp'lik bantları saptayarak sonucu çiçek yönünden pozitif bulmuşlardır.

Kabir ve ark. (2015), Bangladeş'te görülen bir salgında tavuk ve güvercinlerden çiçek virusunu izole etmek için salgın görülen bölgenin 6 farklı noktadan lezyon görülen 40'ar adet hayvandan örnek toplamışlardır. Araştırmacılar 10 günlük ETY'lerde CAM'a ekimler yapmışlar ve 5-6 günlük inkubasyondan sonra CAM'da karakteristik pokların oluştuğunu, pasajlarla virus konsantrasyonunun artırdığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar poklardan DNA izolasyonu yapmış ve p4b genini saptamak açısından PCR uygulamışlardır. 578 bp'lik bantların görülmesi ile güvercinlerde incelenen 40 örnekten 35'inde pozitiflik belirlemişlerdir.

Masola ve ark. (2015), evcil güvercinlerden avipox virus izolasyonu için 17 güvercinde örnek alarak 10 günlük ETY'lerde CAM'a ekimler yapmışlar ve 5-7 gün inkube ettikten sonra CAM'ları, tipik pokların oluşumu, membranda kalınlaşma ve hemoraji yönünden değerlendirmişlerdir. Ayrıca moleküler olarak virüsü belirlemek amacıyla p4b genini belirlemeye yönelik primerler kullanarak 578 bp bant veren örnekleri pozitif olarak değerlendirmişlerdir.

Rahman ve ark. (2019)'nin tavuk, hindi ve güvercinlerde görülen doğal salgın olaylarından nodüler lezyon örnekleri toplayarak virus izolasyonu için 10-12 günlük ETY'lerde CAM'a ekimler yapmışlar 5-6 günlük inkubasyondan sonra CAM'da kalınlaşma ve pokların oluşumu incelenmiş, ayrıca pasajları yapılarak virus yoğunluğu artırılmıştır. Moleküler tanı için virüsün p4b genini saptamaya yönelik primerler kullanarak 578 bp'lik bantların görüldüğü örnekleri pozitif kabul etmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri saha suşlarının hastalığa karşı etkili bir aşı hazırlanmasında kullanılabilceğini, ayrıca elde edilen PCR ürünlerinin de sekanslama ve filogenetik analiz için kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Mosad ve ark. (2019), tavuk, güvercin ve hindilerde avipoxvirüslerin saptanmasında agar jel presipitasyon, indirekt immunperoksidaz ve PCR tekniklerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar PCR tekniğinin teşhiste kullanılabilcek en yeterli test olduğunu bildirmişlerdir.

About Soud ve ark. (2020), PCR ile p4b genini saptayarak doğruladıkları lokal bir kanatlı çiçeği virusunun antijenik ve genomik karakterizasyonunu yaptıkları çalışmada virüsü 4 kez pasajlamışlar ve her pasajda virüsün titresinin yükseldiğini ve oluşan pokların daha belirgin hale geçtiğini bildirmişlerdir.

Abd El Hafez ve ark. (2021), güvercin çiçeğinin izolasyonu ve moleküler olarak saptanması için yaptıkları çalışmada güvercinlerin baş bölgesi ve vücudun tüysüz bölgelerinden topladıkları nodül örneklerinden izolasyon için ETY'lerinde CAM'a inokulasyon yapmışlar ve CAM'da oluşan pok lezyonlarından DNA izolasyonu yapmışlardır. Araştırmacılar p4b geninin varlığını 578 bp'lik bantların varlığı ile göstermişlerdir.

Yapılan bu çalışmada da, yukarıda bildirilen araştırmacıların sonuçlarıyla uyumlu olarak ETY'lerde CAM'a ekimler yapılarak virus izole edilmiştir. CAM'da kalınlaşma veya pokların oluşumu yapılan pasajlarla daha belirgin olacak şekilde saptanmıştır. Yine araştırmacıların verileriyle paralel olarak gerek deri lezyonlarından, gerekse pok lezyonları bulunan CAM örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak p4b geninin saptanması için uygulanan PCR sonucunda 578 bp'lik bantlar saptanmıştır. Ayrıca araştırmacıların Abdallah ve Hassanin (2013) ve Kabir ve ark. (2015)'nin bildirdiği verilere paralel olarak bu çalışmada da, gerek CAM'da oluşan pokların sayısı ve gerekse moleküler olarak saptanan bantların belirginliğinden anlaşılacağı üzere pasajlama ile virus yoğunluğunun artmış olduğu belirlenmiştir.

Sanchez ve ark. (2012), güvercin çiçeğine karşı, ticari olarak bulunan heterolog tavuk çiçek aşısının koruyucu etkinliğini homolog aşılarının koruyucu etkinliği ile karşılaştırmak için yaptıkları çalışmada, güvercinlerde güvercin çiçek virusu suşu ile hazırlanan homolog aşıların, ticari heterolog tavuk çiçeği aşılarına göre çok daha iyi koruma sağladığını bildirmişlerdir. Bu nedenle büyük bir evcil güvercin popülasyonu bulunan Türkiye'de, henüz ruhsatlı bir ticari güvercin çiçek aşısının da bulunmadığı göz önüne alındığında, bu çalışmada Türkiye'de ilk kez izole edilen güvercin çiçek virusunun yerli bir aşı hazırlanması açısından önemi büyüktür.

Ayrıca elde edilen suş ile yapılacak filogenetik çalışmalar da diğer kanatlı çiçek virusları ile yakınlıklarının belirlenmesi açısından önemlidir.

SONUÇ

Sonuç olarak güvercinlerde görülen çiçek enfeksiyonlarında hastalardan alınan nodül örneklerinden ETY'lerde güvercin çiçek virusu Türkiye'de ilk kez izole edilmiş ve moleküler olarak etken doğrulanmıştır. Daha sonra yapılacak etkili bir koruyucu aşı hazırlanması ve etkenin filogenetik özelliklerinin belirlenebilmesi çalışmaları için virusunun izole edilmiş olması önem taşımaktadır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik Kurul Bilgileri: Çalışma için, 20.06.2016 tarih 2016/18 sayılı izin belgesi, DOLLVET Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır. Ayrıca yazarlar Araştırma ve Yayın Etiğine uyulduğunu beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (HÜBAP) tarafından 17052 proje numarası ile desteklenmiştir.

Açıklama: Bu makale 1. Yazarın aynı adlı yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

- Abd El Hafez MS, Shosha EAE-M, Ibrahim SM.** Isolation and molecular detection of pigeon pox virus in Assiut and New Valley governorates. *J Virol Methods.* 2021; 293: 114142.
- Abd El-Samie HA, Mohamed HS, Al-Bakry IM, Manal A.** Genomic Characterization of Pigeon Pox Virus in Egypt. *Zag Vet J.* 2015; 43(1): 94-101.
- Abdallah FM, Hassanin O.** Detection and molecular characterization of avipoxviruses isolated from different avian species in Egypt. *Virus Genes.* 2013; 46:63-70.
- Aboul Soud EA, Ibrahim AI, Abd El-Moaty DAM, Kafafy MH, Abbas AM.** Antigenic and Genomic Characterization of Local Fowlpox Virus Isolate in 2017. *JAVS.* 2020; 5(3): 31-39.
- Adebajo MC, Akinyede O, Shittu IA.** Seroprevalence of fowl pox antibody in indigenous chickens in Jos North and South council areas of Plateau State, Nigeria, Implication for vector vaccine. *ISRN Vet Sci, Article.* 2012; ID 154971: 4 pages.
- Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür, M.** Çiçek ve Difteri Hastalığı, In: Kanatlı Hayvan Hastalıkları, Üçüncü baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye. 1997; pp. 163-166.
- Arda M.** Poxviridae Familyası, In: Kafes Kuşları Hastalıkları (Kanaryalar, Muhabbet Kuşları, Papağanlar), Ayban Matbaacılık ve Yayıncılık, Ankara, Türkiye. 2007; pp. 188-193.
- Atkinson CT, Wiegand KC, Triglia D, Jarvi ST.** Efficacy of Commercial Canarypox Vaccine for Protecting Hawaii Amakihi from Field Isolates of Avipoxvirus. Hawaii Cooperative Studies Unit Technical Report. 2010; HCSU-01.
- Audarya SD, Riyesh T, Kumar N, Chhabra D, Sikrodia R, Sharda R, Barua S, Garg UK.** Molecular Diagnosis of a Cutaneous Form of Pox in Pigeons at Mhow in Madhya Pradesh, India. 2018; *IJCMA*, 7(9): 1318-1323.
- Docherty DE, Long RIR, Flickinger EL, Locke LN.** Isolation of poxvirus from debilitating cutaneous lesions on four immature Grackles. *Avian Dis.* 1991; 35: 244-247.
- Eleazer TH, Harrel JS, Blalock HG.** Transmission studies involving a wet fowl pox isolate. *Avian Dis.* 1983; 27: 542-544.
- Gilhare VR, Hirpurkar SD, Kumar A, Naik SK, Sahu T.** Pock forming ability of fowl pox virus isolated from layer chicken and its adaptation in chicken embryo fibroblast cell culture. *Vet World.* 2015; 8(3): 245-250.
- Ha HJ, Alley M, Howe L, Gartrell B.** Evaluation of the pathogenicity of avipoxvirus strains isolated from wild birds in New Zealand and the efficacy of a fowl pox vaccine in passerines. *Vet Microbiol.* 2013; 165(3-4): 268-274.
- Jordan FTW, Pattison M.** Fowl Pox and Other Avian Poxes, In: Poultry Diseases, Fourth edition, W.B. Saunders Company Ltd., London, England. 1996; pp. 166-172.
- Kabir L, Haque ME, Borty SC, Mustafa K, Kamal MM, Khasruzzaman AKM, Khan SR, Islam MA.** Isolation and Molecular Dedection of Fowl Pox and Pigeon Pox Viruses from Recent Outbreak in Bangladesh. *Indian J L Sci.* 2015; 5(1): 1-7.
- Kulich P, Roubalova E, Dubska L, Sychra O, Šmid B, Literak I.** Avipoxvirus in blackcaps (*Sylvia atricapilla*). *Avian Pathol.* 2008; 37(1): 101-107.

- Lee LH, Lee KH.** Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowl poxvirus infection. *J Virol Methods.* 1997; 63: 113-119.
- Luschow D, Hoffmann T, Hafez HM.** Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. *Avian Dis.* 2004; 48: 453-462.
- Manorolla G, Pisoni G, Sironi G, Rampin T.** Molecular biological characterization of avian poxvirus strains isolated from different avian species. *Vet Microbiol.* 2010; 140: 1-8.
- Masola SN, Mzula A, Mwege ED, Kasanga CJ, Wambura PN.** Detection and Genetic Characterization of an Avipox Virus Isolate from Domestic Pigeon (*Columba livia domestica*) in Morogoro Region, Eastern Tanzania. *AIR.* 2015; 3(5): 460-469.
- Mosad SM, El-Tholoth M, El-Kenawy AA.** Conventional and Molecular Detection of Avipoxviruses from Chickens, Pigeons and Turkeys. *Mans Vet Med J.* 2019; 20(1): 85-91.
- Offerman K, Carulei O, Gous TA, Douglass N, Williamson AN.** Phylogenetic and histological variation in avipoxviruses isolated in South Africa. *JGV.* 2013; 94: 2338-2351.
- Prukner-Radovic E, Lüschow D, Grozdanic IC, Tisljar M, Mazija H, Vranesic D.** Isolation and Molecular Biological Investigations of Avian Poxviruses from Chickens, a Turkey and a Pigeon in Croatia. *Avian Dis.* 2006; 50: 440-444.
- Rahman S, Islam MA, Islam MS, Nazir KHMNH, Khan MSR.** Isolation and molecular detection of Avipoxvirus from field outbreaks in Mymensingh, Bangladesh. *JAVAR.* 2019; 6(1): 54-59.
- Sanchez A, Valdes LM, Rangel LE, Cobos-Marin L.** Evaluation of the effect of a pigeon poxvirus autogenous vaccine. *Arch Med Vet.* 2012; 44: 81-86.
- Tripathy DN, Reed WM.** Pox, In: *A laboratory manual for the Isolation, Identification and characterization of avian pathogens*, Ed; Dufour-Zavala, L., Fifth Edition, American Association of Avian pathologists, New York, USA. 2008; pp. 116-119.
- Tripathy DN.** Avipox viruses, In: *Virus infection of birds; Poxviridae*, Ed; McFerran JB, McNulty MS., Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Holland. 1993; pp. 5-15.
- Van-Riper C, Forrester DJ.** Avian pox, In: *Infectious Diseases of Wild Birds*, Ed: Thomas N, Hunter DB, Atkinson CT., Black Well Publishing Professional, Ames, Iowa, USA. 2007; pp. 131-176.