

Evcil güvercinlerde (*Columba livia*) rotavirusların polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) tekniği ile tanısı ve karakterizasyonu

Süleyman ASLAN^a

Mehmet ÇABALAR^b

^aTarım ve Köyişleri Bakanlığı, Pınarbaşı İlçe Müdürlüğü, Kayseri, TÜRKİYE

^bYüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Bu araştırma evcil güvercinlerin dışkı örneklerinde rotavirusların polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) gümüş boyama tekniği kullanılarak belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi. Ayrıca, çalışmada tespit edilen rotavirusların elektroforetik tip karakterizasyonu yapılarak aralarındaki farklılıklar belirlendi. Rotaviruslar memeli ve kanatlı hayvan türlerinin özellikle gençlerinde gastroenteritise neden olan mikroorganizmalardır ve bu etkenler semptomatik ve asemptomatik enfeksiyonlar meydana getirirler. Bu çalışmada, sağlıklı görünümlü 289 ve ishal semptomu gösteren 34 güvercinde alınan toplam 323 dışkı örneği PAGE gümüş boyama tekniği ile incelendi. Araştırma sonucunda, sağlıklı görünümlü güvercinlerden 22 (% 7.61)'si ve ishal semptomlu güvercinlerden 11 (%32.35)'i rotavirus yönünden pozitif bulundu. Pozitif tespit edilen örneklerin 11 RNA segmentine sahip rotavirus oldukları belirlendi ve migrasyon kalıplarına göre üç farklı elektroforetik tip tespit edildi. Bu araştırma ile Türkiye'de evcil güvercinlerde rotavirusların varlığı ilk kez ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: Evcil güvercin, PAGE, Rotavirus

Detection and characterization of rotaviruses in domestic pigeons (*Columba livia*) using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) technique

Abstract: This research was conducted to determine the presence of rotaviruses in domestic pigeons using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) silver staining. Furthermore, the rotaviruses determined in this study were distinguished according to their migration patterns. Rotaviruses are established as cause of gastroenteritis especially in the young of mammals and birds species, and give rise to both symptomatic and asymptomatic infections. In this research, 323 faecal specimens that belong to 289 clinically healthy and 34 diarrhoeic pigeons were tested by PAGE silver staining technique. At the result, 22 samples (7.61 %) taken from healthy pigeons and 11 samples (32.35 %) from diarrhoeic pigeons were detected as positive for rotavirus. Positive specimens detected were characterized as typical rotavirus according to pattern of 11 RNA segments, and three different electrophoretotypes were detected. This report is the first detection of rotaviruses in faecal specimens from domestic pigeons in Turkey.

Key Words : Domestic pigeon, PAGE, Rotavirus

Aynı başlıklı Yüksek Lisans tezinden özetlenen bu araştırma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2000-VF-067 nolu proje olarak desteklenmiştir.

GİRİŞ

Günümüz insanı, yoğun şehirleşmenin verdiği çeşitli stres faktörlerinden uzaklaşmak ve kendilerini doğal ortama daha yakın hissetmek için ev ve iş ortamlarında çeşitli hayvanları besleme ihtiyacı duymaktadır. Söz konusu hayvanlar içerisinde daha kolay bakılıp beslenebilen kafes kuşları başta olmak üzere değişik türden hayvanlar bulunmaktadır. Özellikle gelişmiş ülkelerde daha fazla olmak üzere son yıllarda Türkiye'de de pet hayvanları beslemeye ilgi artmaktadır.

Van yöresinde hobi ve ticari amaçla beslenen evcil güvercinler özellikle yaşam alanlarına yakın olan balkon, çatı yada bahçenin bir bölümünde barındırılmaktadır. Bu hayvanlarda görülen enfeksiyöz hastalıklar kendileri için bir problem olmasının yanında, diğer hayvanlar ve özellikle iç içe yaşadıkları insanlar için de önem taşımaktadır. Güvercinlerde görülen başlıca enfeksiyonlar viral, bakteriyel, fungal ve paraziter etkenler tarafından meydana getirilmektedir. Viral etkenlerden rotaviruslar, memeli ve kanatlı türlerinin sindirim sisteminde ishalle karakterize enfeksiyonlar meydana getirmelerinin yanında asemptomatik olarak da bulunabilmektedir. Rotaviruslar çevre şartlarına dayanıklıdır ve aylarca enfeksiyözitelerini koruyabilirler (1). Virusun çevreye yayılmasında dayanıklılığı ve bir çok dezenfektana dirençli olması önemli rol oynar. Enfeksiyon fekal-oral yolla bulaşır ve etkenin bulaşma kaynağı gaitadır. Rotaviruslar özellikle yaşamın ilk haftalarında ölümle sonuçlanabilen şiddetli enfeksiyonlar oluşturmaktadır (2,3).

Dünyanın bir çok ülkesinde ve ülkemizde insan ve bazı hayvan türlerinde rotavirus enfeksiyonları ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır (4,5,6,7,8,9,10). Ancak Türkiye'de kanatlı hayvanlarda ve özellikle evcil güvercinlerde rotavirusların varlığı ile ilgili olarak herhangi bir araştırma bildirilmemiştir. Bu araştırmada, Van yöresindeki sağlıklı görümlü ve ishal semptomlu evcil güvercinlerin (*Columba livia*) dışkı örneklerinde rotavirusların polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) tekniği kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, bu çalışma ile evcil güvercinlerde tespit edilen rotavirusların elektroforetik karakterizasyonları ortaya konulacaktır.

MATERYAL VE METOT

Gaita örnekleri

Araştırmada, Van il merkezinde güvercin besleyen 16 yetiştiricinin kafeslerinde bulunan 289 adedi klinik olarak sağlıklı görümlü ve 34 adedi ishal semptomu gösteren toplam 323 adet evcil güvercin gaitası materyal olarak kullanıldı (Tablo 1). Gaita örnekleri hayvan dışkıladıktan sonra özel kaplara alınarak kısa sürede laboratuvara getirildi ve kullanılıncaya kadar -30C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan gaitaların elde edildiği yerler ve güvercin sayısı

Sıra No	Örnekleme Yapılan Yerler	Güvercin Sayısı		Toplam
		Sağlıklı	İshalli	
01	Karşıyaka Mahallesi	18	3	21
02	Cevdet Paşa Mahallesi	12	2	14
03	Selim Bey Mahallesi	25	1	26
04	Kale Mahallesi	26	3	29
05	Meydan Senti	26	1	27
06	Mithat Paşa Mahallesi-1	11	3	14
07	Mithat Paşa Mahallesi-2	18	1	19
08	Mithat Paşa Mahallesi-3	15	-	15
09	Mithat Paşa Mahallesi-4	27	2	29
10	Mithat Paşa Mahallesi-5	1	4	5
11	Emin Paşa Mahallesi	29	2	31
12	Üniversite Kampüsü	26	-	26
13	Yeni Mahalle-1	28	2	30
14	Yeni Mahalle-2	2	9	11
15	Yeni Yol Senti	8	-	8
16	Zübeyde Hanım Mahallesi	17	1	18
Toplam		289	34	323

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

Bu yöntem üç aşamada gerçekleştirildi. Rotavirus nükleik asidinin ekstraksiyonu, elektroforezi ve gümüş nitrat boyama aşamaları Herring ve ark. (11) tarafından bildirildiği gibi yapıldı.

Rotavirus nükleik asidinin ekstraksiyonu: Bu amaçla, küçük tüplere alınan gaita örnekleri %1 sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren ekstraksiyon buffer içinde 1:4 (w/v) oranında sulandırıldı. Sonra bu karışım üzerine eşit hacimde 8-hydroxy-quinoline içeren fenol-kloroform (3:2,v/v) ilave edildi ve vortekste karıştırıldı. Emülsiyon karışım 20 dakika 4000 devirde santrifüj edildi. Süre sonunda üst berrak kısım alınarak elektroforez için kullanıldı.

Rotavirus nükleik asidinin elektroforezi: Bu aşamada elektroforez cihazının iki camı arasına % 7.5 olacak şekilde hazırlanan poliakrilamid jel

(akrilamid:bisakrilamid, 37.5:1) döküldü. İki cam arasına ekstrakte edilen örneklerin yükleneceği kuyucukları oluşturmak için özel tarak yerleştirildi. Polimerizasyonun gözlenmesinden sonra elektroforez için hazırlanan her bir örnek % 0.2 bromfenol mavisi ve % 25 sukroz içeren indikatör ile karıştırılarak, özel enjektör yardımıyla 0.04 ml kuyucuklara konuldu. Güç kaynağı 20 miliAmper (mA)'e ayarlandı ve +4C'de 16 saat süreyle elektroforez (Hoefer Scientific Instruments, USA) işlemi uygulandı.

Gümüş nitrat boyama: Elektroforez işlemi sonunda cam plaklar arasındaki jel özenle küvet içine alınarak gümüş boyaması yapıldı. Bu amaçla jel, % 10 etanol ve % 0.5 asetik asitten oluşan çözeltide fikze edildi. Daha sonra bu çözelti döküldü ve jel AgNO₃ çözeltisi içinde 20 dakika bekletildi. Süre sonunda, RNA bantlarının gözle

görülebilir hale gelmesi için formaldehit-sodyum hidroksit çözeltisi jelin üzerine konuldu. RNA bantlarının netleşmesinden sonra Na_2CO_3 solüsyonu ile reaksiyon tamamlandı.

BULGULAR

Araştırmada, klinik olarak sağlıklı görünen 289 ve ishal semptomu gösteren 34 evcil

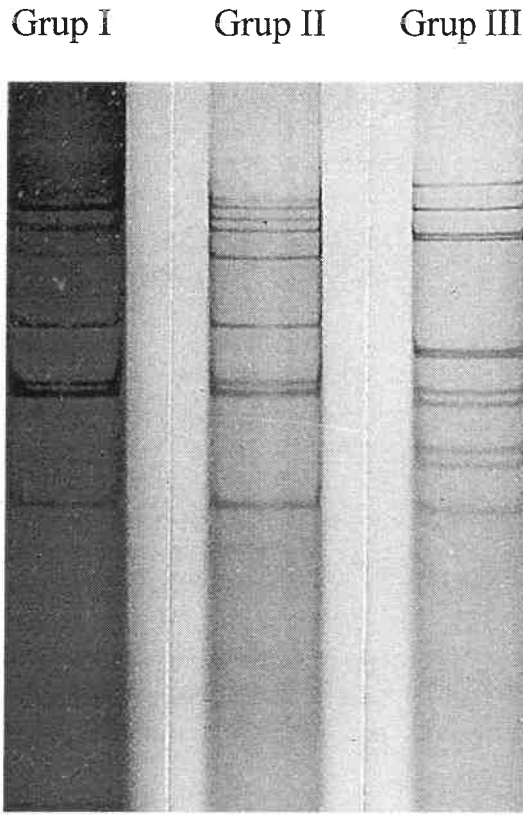
güvercinden sağlanan toplam 323 dışkı örneğinin PAGE gümüş boyama tekniği ile rotavirus yönünden incelenmesi sonucunda, sağlıklı güvercinlerin 22 (% 7.61)'si, ishalleri güvercinlerin 11 (% 32.35)'i pozitif bulundu. Doğrudan dışkıdan özütlenen viral genomun belirlenmesi ile pozitif bulunan örneklerin 11 RNA segmentine sahip rotavirus oldukları belirlendi (Şekil 1). Örneklerin elde edildikleri yerlere göre pozitiflik dağılımı Tablo 2'de gösterildi.

Tablo 2. PAGE yöntemi ile tespit edilen rotavirus pozitiflik dağılımı

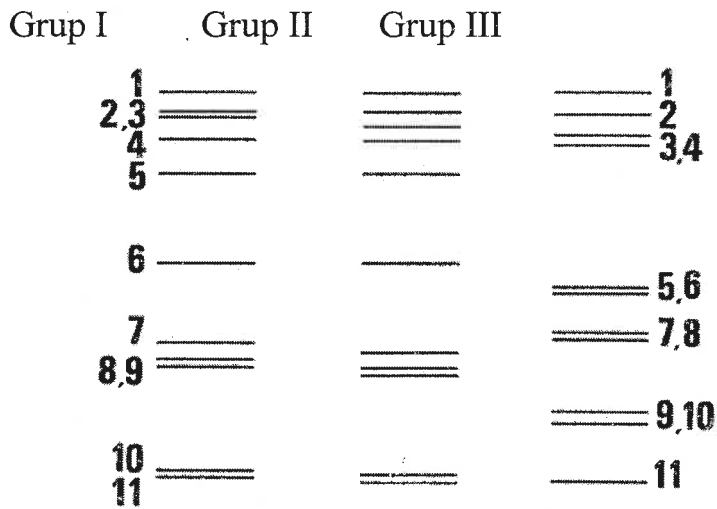
Sıra No	Sağlıklı Güvercin		İshalleri Güvercin		Toplam	
	a/b	%	a/b	%	a/b	%
01	1/18	5.55	0/3	-	1/21	4.76
02	3/12	25.00	2/2	100	5/14	35.71
03	1/25	4.00	1/1	100	2/26	7.69
04	2/26	7.69	0/3	-	2/29	6.89
05	7/26	26.92	0/1	-	7/27	25.92
06	1/11	9.09	1/3	33.33	2/14	14.28
07	0/18	-	0/1	-	0/19	-
08	0/15	-	-	-	0/15	-
09	2/27	7.40	2/2	100	4/29	13.79
10	0/1	-	1/4	25	1/5	20.00
11	4/29	13.79	2/2	100	6/31	19.35
12	0/26	-	-	-	0/26	-
13	0/28	-	0/2	-	0/30	-
14	0/2	-	1/9	11.11	1/11	9.09
15	0/8	-	-	-	0/8	-
16	1/17	5.88	1/1	100	2/18	11.11
Toplam	22/289	7.61	11/34	32.35	33/323	10.21

a: rotavirus pozitif gaita sayısı

b: test edilen gaita sayısı



Şekil 1. Poliakrilamid jelde rotavirus RNA segment profilleri



Şekil 2. Rotavirus RNA segment profillerinin diagramatik görüntüleri

PAGE tekniği kullanılarak yapılan bu çalışmada 11 RNA segmentinin jeldeki migrasyon kalıbına göre üç elektroforetik tip tespit edildi (Şekil 2). Bunlar grup I, grup II ve grup III olarak isimlendirildi. Pozitif olarak belirlenen rotavirusların 6'sının grup I, 16'sının grup II ve 11'inin grup III migrasyon kalıbı sergiledikleri belirlendi.

Gruplardaki RNA segmentlerinin jeldeki dizilişi 5 kısımda incelendi. Grup I'de I. kısımda ilk 4 segmentte 2. ile 3. bitişik olarak yer aldılar, II. kısımda 5. segment, III. kısımda sadece 6. segment, IV. kısımda üçlü 7., 8. ve 9. segmentler ve V. kısımda 10. ile 11. segmentler yer aldı. Grup II'de I. kısımda ilk 4 segment ayrı, II. kısımda 5. segment, III. kısımda sadece 6. segment, IV. kısımda üçlü segmentler olarak ifade edilen 7., 8. ve 9. segmentler ve V. kısımda birbirine bitişik durumda bulunan 10. ile 11. segmentler yer aldı. Grup III'de I. kısımda ilk 4 segmentte 3. ile 4. bitişik, II. kısımda 5. ve 6. segment, III. kısımda 7. ve 8. segmentler, IV. kısımda 9. ile 10. segmentler ve V. kısımda sadece 11. segment yer aldı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Rotaviruslar farklı türden memeli ve kanatlı hayvanlarda akut ishal, dehidrasyon, kilo kaybı ve depresyonla karakterize semptomatik veya asemptomatik enfeksiyonlara neden olurlar (1,2). Dünyada yaygın olan rotavirusların enfeksiyon spektrumunda yeni doğan bebek, buzağı, tay, kuzu, domuz, maymun, geyik, kedi, köpek ile hindi, tavuk, sülün ve güvercin yer almaktadır (1,3,12,13). Rotaviruslar, erişkin hayvanlarda subklinik enfeksiyona, yeni doğan hayvanlarda ise çoğunlukla klinik enfeksiyona neden olmaktadır (1). Buzağuların % 42'sinde enfeksiyon subklinik seyrederken, % 52'sinde semptomatik seyrettiği bildirilmiştir (14).

Dünyada, kanatlı türlerinde rotavirus enfeksiyonlarının varlığının belirlenmesine yönelik çeşitli araştırmalar bildirilmiştir

(15,16,17,18). Theil ve ark. (18) tarafından hindi kümesinden toplanan 79 barsak içeriğinin rotavirus yönünden PAGE tekniği ile incelenmesi sonucu 41 (% 51.9) örnek pozitif bulunmuştur. Reynold ve ark. (10), bir gün ile 5 haftalık 91 hindi kümesinden toplanan barsak içeriklerini elektron mikroskopi (EM) ve PAGE teknikleri ile virus varlığı yönünden incelemişler ve sürülerin % 78'inde astrovirus, % 22'sinde rotavirus, % 5'inde enterovirus ve % 2'sinde reovirus tespit etmişlerdir. Legrottaglie ve ark. (17), PAGE tekniği ile yaptıkları çalışmada sülünlerde tek tip rotavirus RNA profili belirlediklerini ifade etmişlerdir. Yason ve Schat (19), enteritis problemlili 6 hindi kümesinden 5'inde, 13 tavuk kümesinin 6'sında ve 2 sülün kümesinde rotavirus tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Kang ve ark.(20), klinik olarak enteritis semptomlu hindi kümeslerinde yaptıkları çalışmada 8 farklı elektroforetik tipte rotavirus belirlemişlerdir. Saif ve ark. (21), ishal semptomlu 33 hindiden 31'inde PAGE tekniği ile 2 elektroforetik tip belirlemişlerdir. Mc Nulty ve ark. (22) ise, aynı yöntem ile tavuklarda 4 elektroforetik tip tespit etmişlerdir. Gough ve ark. (23), sülünlerde tespit ettikleri rotavirusların RNA profilindeki 10. ile 11. segmentlerin diğer kanatlı rotavirus RNA segmentlerinden farklı olduğunu ve bunların daha çok memeli rotavirus RNA profiline benzer olduğunu ifade etmişlerdir. Mori ve ark.(24), güvercin ve hindi rotaviruslarını deneysel olarak farelere oral yolla vererek enfekte etmeleri sonucunda, güvercin rotavirusunun farelerde ishale neden olduğunu fakat hindi rotavirusunun verildiği farelerde ise hiçbir hastalık semptomunun görülmediğini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar (24), kanatlı rotaviruslarının memeli hayvanlara geçebileceğini bu deneysel çalışma ile ortaya

koyduklarını, fakat doğal şartlarda böyle bir geçişin kesin olarak bilinmediğini ifade etmişlerdir.

Türkiye'de kanatlı türlerinde rotavirus enfeksiyonlarının varlığının belirlenmesine yönelik herhangi bir araştırma bildirilmemiştir. Bu çalışmada, klinik olarak sağlıklı 289 ve ishal semptomlu 34 güvercinde toplanan 323 dışkı örneğinin PAGE tekniği ile rotavirus yönünden incelenmesi sonucunda, 33 (%10.22) örnekte rotavirus tespit edilmiştir. Pozitif bulunan örneklerin 22 (% 7.61) 'sinin sağlıklı güvercine, 11 (% 32.35) 'inin de ishalleri güvercine ait olduğu belirlenmiştir. Dünyada, güvercinlerde rotavirus enfeksiyonlarının varlığının belirlenmesine yönelik az sayıda araştırma bildirilmiştir (15,25,26). Gough ve ark. (25), ishal semptomu gösteren 3-4 aylık yarışçı güvercinlerin dışkılarında EM ile tespit ettikleri rotavirusların varlığını PAGE yöntemi ile doğrulamışlardır. Vindevogel ve ark. (26) yaptıkları çalışmada, 75 postacı güvercinin % 10.7'sinin sığır rotavirusuna karşı seropozitif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Minamoto ve ark. (15), Japonya'da topladıkları 55 adet güvercin gaitasını tripsinle muamele ettikten sonra MA-104 hücre kültürüne inokule ederek rotavirus izolasyonuna gitmişler ve 2 adet dışkı örneğini pozitif bulmuşlardır. Aynı çalışmada (15) pozitif bulunan örnekler PAGE tekniği ile incelenerek migrasyon kalıplarının memeli rotaviruslarından farklılığı belirlenmiş ve elde edilen RNA segment profiline göre 5. segmentin 6. segmentten uzak olması, 10. segment ile 11. segmentin birbirlerine yakınlığından dolayı kanatlı rotaviruslarına benzediği ortaya konulmuştur.

PAGE tekniği kullanılarak yapılan bu çalışmada, 11 RNA segmentinin jeldeki migrasyon

profillerine göre üç elektroforetik tip belirlendi. Bunlar grup I, grup II ve grup III olarak isimlendirildi. Pozitif olarak belirlenen rotavirusların 6'sı grup I, 16'sı grup II ve 11'i grup III içerisinde değerlendirildi.

Grup I'de, I. kısımda ilk 4 segmentte 2. ile 3. bitişik olarak yer almışlar, II. kısımda 5. segment, III. kısımda sadece 6. segment, IV. kısımda üçlü segmentler 7., 8. ve 9. segmentler ve V. kısımda 10. ile 11. segmentler yer almıştır. Todd ve McNulty (27) tarafından kanatlılarda belirlenen elektroforetik migrasyon kalıbı ile Legrottoğlie ve ark. (17)'nin sülünlerde belirlediği migrasyon kalıbı, bu çalışmada grup I olarak ifade edilen migrasyon kalıbına benzemektedir.

Grup II'de, I. kısımda ilk 4 segment ayrı, II. kısımda 5. segment, III. kısımda sadece 6. segment, IV. kısımda üçlü segmentler halinde 7., 8. ve 9. segmentler ve V. kısımda birbirine bitişik durumda bulunan 10. ile 11. segmentlerin yer aldığı belirlendi. Minamoto ve ark. (15), yabani güvercinlerde belirledikleri migrasyon kalıbı ile Gough ve ark. (25)'nin yarışçı güvercinlerde saptadıkları migrasyon kalıbı, bu çalışmada grup II olarak belirlenen kalıbını desteklemektedir. Farklı kanatlı türlerinde yapılan çalışmalarda grup I ve II'ye benzer migrasyon kalıplarının belirlendiği bildirilmektedir. (20,23,27,28).

Grup III'de I. kısımda ilk 4 segmentte 3. ve 4. bitişik, II. kısımda 5. ve 6. segmentler, III. kısımda 7. ve 8. segmentler, IV. kısımda 9. ile 10. segmentler ve V. kısımda sadece 11. segment saptandı. McNulty ve ark (22), tavuklarda belirledikleri ve elektroforetik tip 4 olarak ifade ettikleri migrasyon kalıbı ile bu çalışmada grup III olarak saptanan migrasyon kalıbına benzediği tespit edildi.

Sonuç olarak, bu çalışmada evcil güvercinlerin (*Columba livia*) dışkı örneklerinde PAGE tekniği kullanılarak rotavirusların varlığı ve bunların elektroforetik karakterizasyonları yapılarak kanatlı rotavirusları ile uyumlulukları

belirlendi. Ayrıca, rotavirusların evcil güvercinlerde hem semptomatik ishal olgularına, hem de asemptomatik enfeksiyonlara neden olabileceği sonucuna varıldı. Bu araştırma ile Türkiye'de evcil güvercinlerde rotavirusların varlığı ilk kez ortaya konuldu.

KAYNAKLAR

- 1 Fenner JF, Gibbs JPE, Murphy AF, Rott R, Studdent JM, White OD: Reoviridea, Veterinary Virology, 2nd Ed. Academic Press, INC, London, (1993).
- 2 Donelli G, Superti F: The rotavirus genus, Comp Immun Microbiol Infect Dis, 17: 305-320, (1994).
- 3 McNulty MS: Rotavirus infections, Virus infections of birds, Editors, JB McFerran and MS McNulty. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, (1993).
- 4 Burgu İ, Akça Y, Alkan F, Özkul A, Karaoğlu T: Yenidoğan ishalleri buzağularda rotavirusların elektron mikroskopi (EM), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) teknikleri ile çabuk teşhisi ve antijenik karakterizasyonu, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 42: 491-498, (1995).
- 5 Burgu İ, Akça Y, Alkan F, Özkul A, Karaoğlu T, Yeşilbağ K, Oğuzoğlu TÇ, Dağalp SB, Tan MT: Klinik olarak sağlıklı veya diyare semptomlu koyunlarda rotavirus enfeksiyonunun enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) teknikleri ile araştırılması, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 46: 143-147, (1999).
- 6 Özkul A, Yeşilbağ K, Karaoğlu T, Burgu İ: Electrophoretotypes of bovine rotaviruses detected in Turkey, Turk J Vet Anim Sci, 26: 359-362, (2002).
- 7 Huq MI, Rahman ASMM, Al-sadiq A, Al-sahri A, Alim ARMA: Rotavirus as an important cause of diarrhoea in a hospital for children in Dammam, Saudi Arabia, Ann Trop Pediatr, 7: 173-176, (1987).
- 8 Bulgin MS, Ward AC, Barret DP, Lane VM: Detection of rotavirus and coronavirus shedding in two beef cow herds in Idaho, Can Vet J, 30: 235-239, (1989).
- 9 Hoshino Y, Wyatt RG, Greenberg HB, Flores J, Kapikian AZ: Serotypic similarity and diversity of rotaviruses of mammalian and avian origin as studied by plaque-reduction neutralization, J Infect Dis, 149: 694-702, (1984).
- 10 Reynolds DL, Saif YM, Theil KW: A survey of enteric viruses of turkey poults, Avian Dis, 31: 89-98, (1987).
- 11 Herring AJ, Inglis HF, Ojeh CK, Snodgrass RD, Menzies JD: Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver stained polyacrylamide gels, J Clin Microbiol, 16: 473-477, (1982).
- 12 Çabalar M, Voyvoda H, Sekin S: Virological and serological examinations for rotaviruses in diarrhoeic calves, YYÜ Vet Fak Derg, 11: 18-21, (2000).
- 13 Boynukara B, Çabalar M, Gülhan T, Aslan S: Prevalence of Escherichia coli K99 and rotavirus in Turkish Van Cats, British Small Animal Veterinary Association (BSAVA) 44th Annual Congress, Scientific Proceedings 5-8 April, ICC Birmingham, UK, (2001).
- 14 McNulty MS, Logan EF: Longitudinal survey of rotavirus infection in calves, Vet Rec, 113: 333-335, (1983).

- 15 Minamoto N, Oki K, Tomita M, Kinjo T, Suzuki Y: Isolation and characterization of rotavirus from feral pigeon in mammalian cell cultures, *Epidemiol Infect*, 100: 481-492, (1988).
- 16 Kang SY, Nagaraja KV, Newman JA: Rapid coagglutination test for detection of rotaviruses in turkeys, *Avian Dis*, 29: 640-648, (1985).
- 17 Legrottaglie R, Rizzi V, Agrimi P: Isolation and identification of avian rotavirus from pheasant chicks with signs of cecal enteritis, *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 20: 205-210, (1997).
- 18 Theil KW, Reynolds D, Saif YM: Comparison of immune electron microscopy and genome electrophoretotyping techniques for detection of turkey rotaviruses and rotaviruslike viruses in intestinal contents, *J Clin Microbiol*, 23: 695-699, (1986).
- 19 Yason CV, Schat KA: Isolation and characterization of avian rotaviruses, *Avian Dis*, 29: 499-508, (1985).
- 20 Kang SY, Nagaraja KV, Newman JA: Electrophoretic analysis of rotaviruses isolated from turkeys, *Avian Dis*, 30: 794-801, (1986).
- 21 Saif LJ, Saif YM, Theil KW: Enteric viruses in diarrheic turkey poults, *Avian Dis.*, 29: 798-811, (1985).
- 22 McNulty MS, Todd D, Allan GM, McFerran JB, Greene IA: Epidemiology of rotavirus infection in broiler chickens: Recognition of four serogroups, *Arch Virol*, 81: 113-121, (1984).
- 23 Gough RE, Wood GW, Collins MS, Spackman D, Kemp J, Gibson LAC: Rotavirus infection in pheasant poults, *Vet Rec*, 116: 295, (1985).
- 24 Mori Y, Sugiyama M, Takayama M, Atoji Y, Masegi T, Minamoto N: Avian-to-mammal transmission of an avian rotavirus: Analysis of its pathogenicity in a heterologous mouse model, *Virology*, 288: 63-70, (2001).
- 25 Gough RE, Cox WJ, Devay J: Isolation and identification of rotavirus from racing pigeons, *Vet Rec*, 130: 273, (1992).
- 26 Vindevogel H, Dagenais L, Lansival B, Pastoret PP: Incidence of rotavirus, adenovirus and herpesvirus in pigeons, *Vet Rec*, 109: 285-286, (1981).
- 27 Todd D, McNulty MS: Electrophoretic variation of avian rotavirus RNA in polyacrylamide gels, *Avian Pathol*, 15: 149-159, (1986).
- 28 Reynolds DL, Saif YM, Theil KW: Demonstration of rotavirus and rotavirus-like virus in the intestinal contents of diarrheic pheasant chicks, *Avian Dis*, 31: 376-379, (1987).