

Laboratuvar Hayvanlarında Tarama Programlarının Önemi ve Bazı Önemli Viral Ajanların Araştırılması

The Importance of Screening Programs in Laboratory Animals and Investigation of Several Important Viral Agents

Erdal POLAT¹
Hayrunnisa BOSTAN YÖRÜ²
Yasin KALAY³
Sebahattin AKÇA⁴



¹Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye

²Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Viroloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

³Atatürk Üniversitesi Horasan Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Erzurum, Türkiye

⁴Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, Erzurum, Türkiye



Geliş Tarihi/Received :15.05.2024
Kabul Tarihi/Accepted :01.07.2024
Yayın Tarihi/Publication Date :19.09.2024

Sorumlu Yazar/Corresponding author:
Erdal Polat

E-mail: erdal.polat@siirt.edu.tr

Cite this article: Polat E., Bostan Yörü H., Kalay Y., Akça S. (2024). The importance of screening programs in laboratory animals and investigation of several important viral agents. *Journal of Laboratory Animal Science and Practices*, 4(2), 91-100.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

Öz

Laboratuvar hayvanlarının sağlık tarama programları, biyomedikal araştırmalarda standardizasyonun sağlanması ve hem hayvanların hem de araştırma personelinin sağlığının korunması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, Hepatit E virusu (HEV), Murine hepatit virusu (MHV) ve Murine norovirus (MNV) gibi patojenlerin düzenli olarak izlenmesi, laboratuvar ortamında hijyen ve sanitasyon standartlarının geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Araştırmada, BALB/c mice ve Sprague Dawley, Wistar albino sıçanlarından oluşan rastgele seçilmiş örneklem grupları üzerinde çalışılmıştır. Deney hayvanlarından etik ilkeler çerçevesinde kan ve doku örnekleri toplanmış, laboratuvar ortamındaki ses, ışık, kafes yoğunluğu, yem ve suya erişim gibi faktörler gözlemlenerek kaydedilmiştir. Bu gözlemler, araştırmanın güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini artırmak için elzemdir. RT-PCR testleri kullanılarak HEV, MHV ve MNV için tarama yapılmış ve test edilen tüm örnekler bu patojenler yönünden negatif bulunmuştur. Bu sonuçlar, laboratuvar ortamında uygulanan hijyen ve sanitasyon protokollerinin etkinliğini göstermektedir. Ayrıca, laboratuvar araştırma merkezlerinde eğitimli personel ve kemirgen kontrol programlarının önemi vurgulanmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma, laboratuvar hayvanlarında sağlık tarama programlarının, araştırılan patojenler ve uygulanan koruma-kontrol tedbirleri ile ilişkili olarak, bilimsel araştırmaların standardını yükseltmede kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bu tür programlar, laboratuvar hayvanlarının sağlığını korumak ve araştırma sonuçlarının güvenilirliğini artırmak için hayati öneme sahiptir.

Anahtar Kelimeler: HEV, MNV, MHV, sağlık tarama programları, laboratuvar hayvanları.

ABSTRACT

Laboratory animal health screening programs are of great importance to ensure standardization in biomedical research and to protect the health of both animals and research personnel. In this context, regular monitoring of pathogens such as Hepatitis E virus (HEV), Murine hepatitis virus (MHV) and Murine norovirus (MNV) can contribute to improving hygiene and sanitation standards in the laboratory environment. In this study, randomly selected sample groups consisting of BALB/c mice and Sprague Dawley, Wistar albino rats were studied. Blood and tissue samples were collected from the laboratory animals within the framework of ethical principles, and factors such as noise, light, cage density, access to feed and water in the laboratory environment were observed and recorded. These observations are essential to increase the reliability and reproducibility of the study. RT-PCR tests were used to screen for HEV, MHV and MNV and all samples tested were negative for these pathogens. These results demonstrate the effectiveness of hygiene and sanitation protocols applied in the laboratory environment. Furthermore, the importance of trained personnel and rodent control programs in laboratory research centers was emphasized. In conclusion, this study reveals that health screening programs in laboratory animals play a critical role in raising the standard of scientific research in relation to the pathogens investigated and the protection-control measures implemented. Such programs are vital to protect the health of laboratory animals and improve the reliability of research results.

Keywords: HEV, MNV, MHV, health screening programs, experimental animals.

Giriş

Deney hayvanlarının sağlık durumları, deneysel uygulamalara zarar vermemesi açısından en uygun düzeyde olmalıdır. Deney hayvanları laboratuvarlarında hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulması yapılacak çalışmaların güvenilirliği açısından önemlidir (Çelik ve ark., 2023). Deneysel enfeksiyonların dışında laboratuvar hayvanlarında; viral etkenlerin (Sendai virusu, Lymphocytic choriomeningitis virus, Myxomavirus, Poxvirus, Papillomavirus, Rabbit hemorrhagic disease virus, Fare rotavirusu, Adenovirus vb.), bakteriyel etkenlerin (*Treponema cuniculi*, *Bacillus piliformis*, *Clostridium perfinges* Tip E, *Pasteurella multocida*, vb.) ve paraziter etkenlerin (*Passalaurus ambiguus*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Psoroptes cuniculi*, *Cheyletiella parasitovorax*, *Haemophysalis liporic* vb.) sebep olduğu hastalıklar mevcuttur (Bilgili ve Gürel, 2002; Karaman, 2015; Müftüoğlu ve Albayrak, 2019). Laboratuvar hayvanlarının yaklaşık %95'lik kısmını fareler ve ratlar oluşturur ve bunların yanı sıra sıklıkla tavşan, kobay, köpek, kedi, koyun, keçi ve maymun gibi hayvanlar da kullanılır (Dhadde, 2019; Hickman ve ark., 2017). Deney hayvanı olarak kullanılan fare, yalnızca enflamasyon, immünite ve enfeksiyonları araştırmak için değil, bunun yanında yeni tanısal, önleyici ve terapötik yaklaşımlar geliştirmek için de model olarak kullanılmaktadır (Aydın, 2022). Deney hayvanlarının viral hastalıkları, bu hayvanların yetiştirildiği laboratuvarlar ve üzerinde çalışılan deneysel araştırmalar açısından çoğu zaman büyük sorunlara yol açabilir. Viral hastalıklar deney hayvanlarında şiddetli enfeksiyona neden olmakta ve tüm koloninin ölümüne sebep olmaktadır (Müftüoğlu ve Albayrak, 2019). Bunun en iyi örneklerini *Coronaviridae* ailesi içerisinde sınıflandırılan Fare hepatit virusu (MURINE Coronavirus / Mouse Hepatitis virus / MHV), *Caliciviridae* ailesinden Murine Norovirus (MNV) ve *Hepeviridae* ailesinin bir üyesi olan Hepatit E virusu (HEV) oluşturmaktadır. Bu önemli viral etkenler yönünden laboratuvar hayvanlarında yapılan sürü tarama çalışmaları oldukça kısıtlıdır. Türkiye'de laboratuvarlarda yetiştirilen fare ve ratlarda çalışmaya dahil edilen etkenler yönünden bilindiği kadarıyla araştırmalara rastlanmamıştır, dünyada ise daha çok aşı, immünizasyon ve patogeneze belirleme çalışmalarında örnek viruslar olarak kullanılmaktadırlar (He ve ark., 2001; Li ve ark., 2001; Ward ve ark., 2006).

İlk olarak 1949'da izole edilen MHV; aerosol, direkt temas, fomitler, deneysel olarak da nakledilebilir tümörler ve transplasental yolla bulaşmaktadır (Baker, 1998; Yılmaz, 1960). MHV, 80-220 nm çapında, zarflı ve helikal simetri

yapısına sahiptir. Genom boyutu 25-31 kb olan lineer pozitif polariteli, tek sarmallı RNA molekülünden oluşur. MHV virionları; başlıca spike glikoprotein (S), zarf proteini (E), membran proteini (M) ve nükleoproteinden (N) oluşan dört yapısal protein kodlamaktadır (Zhou ve ark., 2020). Betacoronaviruslar içerisinde bazı türler (SARS-CoV, MERS-CoV ve SARS-CoV-2 vb.) beşinci bir protein olan hemaglutinin esteraz (HE) proteinini içermektedir (Cotten ve ark., 2013). MHV'nin ilk izolasyonundan bugüne kadar *mus musculus* türünde enfeksiyon oluşturabilen, organ ve doku tropizmi (solunum, gastrointestinal, karaciğer ve merkezi sinir sistemi) farklılıkları gösterebilen birçok farklı suşu belirlenmiştir. Bunlar virulan suşlar olarak tanımlanan MHV-1, MHV-2, MHV-3, MHV-JHM, MHV-A59, MHV-S ile daha az virulan suşlar olan MHV-D, MHV-DVIM, MHV-Y, MHV-RI, MHV-S ve MHV-Nu'dan oluşmaktadır (Aydın, 2022; Körner ve ark., 2020). MHV'nin farklı suşları farklı organlara tropizm gösterebilmektedir, fakat hepatit enfekte farelerde belirgin bir bulgudur. Yavru farelerde sarılığa, koordinasyon bozukluklarına ve tremorlara sebep olurken yetişkinlerde genellikle asemptomatik seyirlidir (Barthold, 1985).

1972 yılında tanımlanan (Dolin, 1978) Noroviruslar, *Caliciviridae* ailesi içerisinde sınıflandırılmaktadır. Genomu 7.5 kb uzunluğunda, zarfsız, pozitif polariteli tek sarmallı RNA viruslarıdır (Wobus ve ark., 2023). Norovirus yapısal (VP1, VP2) ve yapısal olmayan proteinleri (RNA bağımlı RNA polimeraz ve helikaz) kodlamaktadır (Cortes-Penfield ve ark., 2017). 10 genogruba ve 48 genotipe ayrılan Noroviruslar içerisinde genogrup V fare ve sıçanları enfekte eden viruslardan oluşmaktadır (ICTV, 2022). MNV, akut veya kronik bir enfeksiyona neden olabilir. Akut seyreden formunda kısa süren bir diare şekillenebilir. Kronik formunda ise kalın bağırsağa yerleşir ve aylar boyunca dışkı ile saçılır (Wobus ve ark., 2023).

1983'te tanımlanan HEV (Balayan ve ark., 1983); tek zincirli, yaklaşık 7.2 kb uzunluğunda bir genoma sahip zarfsız bir RNA virusudur. HEV, viral replikasyonda önemli role sahip ORF-1, ORF-2, ORF-3 ve ORF-4 proteinlerini içerir ve en az 8 ana genotipten oluşur (Belei ve ark., 2021; Reuter ve ark., 2020). Kemirgenlerde tespit edilen genotip HEV-3 / HEV-C1 olup bu genotipin domuz dışkısı tüketen ratlarda enfeksiyon oluşturduğu düşünülmektedir. Ratlar HEV için birincil rezervuar olarak bildirilmiştir (Porea ve ark., 2023; Yadav ve ark., 2023). Ratların karaciğer ve dışkı örneklerinden tespit edilebilen Rat HEV, spesifik bir klinik bulgu göstermemektedir (Reuter ve ark., 2020).

Bu çalışmada, deney hayvanları araştırma merkezlerinde

yer alan fare ve rat kolonilerinin en önemli patojenlerinden olan MHV, MNV ve HEV varlığının araştırılması ve sağlık tarama programları kapsamında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler

Deney Hayvanları

Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında konvansiyonel olarak yetiştiriciliği yapılan hayvanlar içerisinde rastgele seçilen 10 adet fare (BALB/c mice), iki farklı ırktan 10'ar adet rat (Sprague Dawley, Wistar albino) örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Fare ve ratlar standart laboratuvar koşullarında ($24\pm 1^\circ\text{C}$, $\%45\pm 5$ nem ve 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü) barındırıldı. Fare ve ratlar tüm çalışma boyunca ticari bir pelet diyete ve ad libitum suya erişebildi. Bu çalışma; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 2024/130 nolu kararı ve onayıyla gerçekleştirilmiştir.

Örnek Toplama

Canlı hayvanlar tartılmış, ardından sevofluran anestezisi ile sedasyon uygulanmış ve intrakardiyak kan örnekleri antikoagülanlı kan tüpleri içerisine toplanmıştır. Fare ve ratlardan kan alındıktan hemen sonra servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edilmiş ve hedef organları (karaciğer, dalak, bağırsak) elde etmek için abdominal laparotomi yapılmıştır. Kan örnekleri 2000 rpm'de $+4^\circ\text{C}$ de 10 dk santrifüj edildikten sonra plazma ve lökosit tabakası toplanarak steril tüplere alınmıştır.

Ayrıca hayvanların karaciğer, bağırsak ve dalak organlarından 3'er gram doku örneği alınarak parçalanmış ve sonrasında phosphate buffered saline ile lizis buffer içerisinde ekstraksiyon işlemi için hazır hale getirilmiştir.

Nükleik Asit İzolasyonu

Homojenizasyonu ve ön hazırlığı tamamlanan örneklerden viral RNA izolasyonu amacıyla Viral Nükleik Asit (DNA/RNA) İzolasyon Kiti (Hibrigen-Türkiye) kullanılmıştır. Toplanan doku örneklerine kit içerisinde belirtilen doku işleme prosedürü uygulanmıştır.

RT-PCR Analizi

Nükleik asit süspansiyonundan komplementer DNA'nın (cDNA) eldesi amacıyla First Strand cDNA Synthesis kiti (Thermo Fisher Scientific-ABD) üreticinin protokolüne göre kullanıldı. Fare örneklerinden elde edilen cDNA'ların HEV, MHV ve MNV yönünden Tablo1'de belirtilen spesifik PCR primer çiftleri kullanılarak analizi gerçekleştirildi. HEV ve MNV tespiti amacıyla ORF2 gen bölgesi, MHV tespiti amacıyla NC gen bölgesi tespiti hedeflenmiştir (Fallahi ve ark., 2019; Huang ve ark., 2002; Kim ve ark., 2011).

Agaroz Jel Elektroforezi

PCR amplikonları %1'lik agaroz jel hazırlanıp elektroforez işlemi ile analiz edilerek UV ışık altında sırasıyla 348, 399 ve 547 bp büyüklüğündeki bantlar sırasıyla HEV, MHV, MNV yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

Tablo1. HEV, MHV ve MNV spesifik PCR primer dizisi, RT-PCR için belirlenmiş annealing dereceleri ve replike olan genomun büyüklüğü bilgileri.

Table1. HEV, MHV and MNV specific PCR primer sequences, annealing degrees determined for RT-PCR and size of the replicating genome.

		kaydedildi.			
	Primer	Sequence 5'-3'	Uzunlu k(bp)	Anne aling	Ref.
HEV	3156N	AATTATGCC(T)CAGTAC(T)CGG(A)	731	42	(Huang ve ark., 2002)
	3157N	CCCTA(G)TCC(T)TGCTGA(C)GCATTCTC			
	3158N	GTT(A)ATGCTT(C)TGCATA(T)CATGGCT			
	3159N	AGCCGACGAAATCAATTCTGTC	348	42	
MHV	MurHepV-F	CAGCAGTGTTTTGGAAAGAGAG	399	52	(Fallahi ve ark., 2019)
	MurHepV-R	TGGGCTTTGCAACGCTTA			
MNV	Murine NoroV-allF	AGCGGCCAGGATCTTGTTC	547	56	(Kim ve ark., 2011)
	Murine NoroV-allR	AAGACTCATCACCCGGGCTG			

Bulgular

Laboratuvar hayvanları kullanım, üretim ve araştırma merkezlerinde uygulanan biyogüvenlik önlemleri ve sağlık tarama programları, bu merkezlerin sürekliliği ve standardizasyonu açısından hayati önem taşımaktadır. Popülasyon sağlığının idamesi bilimsel sonuçların standardizasyonunun yanı sıra, araştırmacı ve hayvan bakımından sorumlu çalışanların sağlığı açısından da oldukça önemlidir.

Araştırmamızda, Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde yetiştiriciliği yapılan BALB/c mice, Sprague Dawley ve Wistar albino ırkı ratlarda, HEV, MNV ve MHV patojenlerinin varlığının araştırılması ve uygulanan sağlık tarama programının etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirdi. (Araştırmamız, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde yetiştirilen BALB/c mice, Sprague Dawley ve Wistar albino ırkı ratlarda HEV, MNV ve MHV patojenlerinin varlığının araştırılması ve uygulanan sağlık tarama programının etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi. Bu kapsamda laboratuvar biyogüvenlik koşulları ile alakalı tespitler yapılarak

Araştırma merkezinde rutin biyogüvenlik uygulamaları arasında; haşere ve yabancı rodent mücadelesi amacıyla profesyonel hizmet alımı (bina dışı ve içerisinde kafes uygulamaları ve sprey ilaçlama), tıbbi atıkların muhafazası amacıyla kullanılan derin dondurucular, kesici ve delici atıklar amacıyla özel atık kutuları, tıbbi atıkların kontrolü ve uzaklaştırılması amacıyla hazırlanmış iş akışı ve hizmet alımı, laboratuvar ve uygulama alanları dezenfeksiyon programları, işçi ve araştırmacılara yönelik laboratuvar kullanım talimatlarına uyumun düzenli takibi, vb. biyogüvenlik tedbirlerinin uygulandığı, kayıt defterleri ve takip çizelgelerine bakılarak belirlendi.

Ayrı alanlarda yetiştiriciliği yapılan fare ve ratlarda; stres belirtileri (aşırı hareketlilik, kıl örtüsünde kabarma, kanibalizm, delirium, vb.), kafes yoğunluğu, klinik semptomlar ve buldukları ortamın ses şiddeti ve ışık miktarı açısından dış bakıda herhangi bir olumsuzluk belirlenmedi. Stres sebebi olabilecek ışık (lüx) ve ses şiddeti (desibel) ölçümlerinin kayıt defterlerinde de yer aldığı ve normal değerlerde olduğu belirlendi (ortalama 285 lüx ve 60 desibel). Üretim ve araştırma alanlarında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık uygulandığı, anlık ısı ve nem göstergelerinin ise 18-21°C ve %45-48 (üretim alanları arasında) bağıl neme sahip olduğu gözlemlendi. Ancak

herhangi bir çevresel zenginleştirmenin uygulanmadığı belirlendi. Ayrıca yem ve suya erişimin ad libitum olarak sağlandığı gözlemlendi. Rodent üretim alanlarından rastgele seçilen kafeslerden alınan fare ve ratların kan ve doku örneklerinde HEV, MNV ve MHV patojenlerinin varlığı RT-PCR analizi ile araştırıldı. Analiz sonucunda kan ve doku örneklerinin tamamı HEV, MNV ve MHV patojenleri yönünden negatif olduğu belirlendi.

Tartışma

Deney hayvanları varlığı ve üretimi, bilimsel çalışmalar açısından çok önemli bir yere sahiptir. Bir ürünün (ilaç, aşı, gıda katkı maddesi, kozmetik ürünleri vb.) insanlara veya hayvanlara uygulanmadan önce terapötik etkisi, oluşturduğu immünizasyonu, toksik ve letal dozların belirlenmesi, haricen veya parenteral uygulama yollarının denenmesi gibi konularda deney hayvanları vazgeçilmez bir unsurdur (Domínguez-Oliva ve ark., 2023).

Bu kapsamda çalışılacak biyolojik veya kimyasal maddenin gerçek etkilerinin görülebilmesi için deney hayvanlarının sağlıklı olmaları ve bu sağlığın sürdürülebilir, kontrol edilebilir olması elzemdir. Laboratuvar hayvanları araştırma ve üretim merkezlerinde ortaya çıkabilecek enfeksiyonlar hayvan refahını ve hayvanlardaki mikrobiyolojik varlığı göz önünde bulundurma gerekliliğini vurgular. Bu ajanlar; hayvanların refahını, deneysel değişkenliği ve bilimsel araştırmaların güvenilirliğini doğrudan etkileyebilir. Bu nedenle, hayvanların mikrobiyolojik yönden izlenmesi ve kontrol edilmesi önem arz etmektedir (Mansfield ve ark., 2010). Bu kapsamda şüphe edilen viral, bakteriyel, paraziter ve fungal ajanların laboratuvardaki hayvanlarda 3R (refinement, replacement, reduction) özelinde test edilmesi gerekmektedir. Viral ajanlar; hücre kültürüne inokülasyon, PCR, serolojik testler, antijen tespiti gibi yöntemlerle teşhis edilebilmektedir (Manivannan ve ark., 2024). Bu çalışmada da varlığı araştırılan etkenler yönünden RT-PCR test yöntemi tercih edilmiştir. Laboratuvar hayvanları için uygulanacak sağlık izleme programları içerisine dahil edilebilecek viral ajanlar: Sendai virusu, Lenfositik koriomenenjit virusu, MHV'nin enterotropik varyantları veya Ectromelia virusu'dur (Buchheister ve Bleich, 2021). Bu virus türleri düzenli olarak taranabilir ve programa şüphe duyulan başka viral, bakteriyel, paraziter ve fungal ajanlar eklenebilir. Çalışmamızda bahsedilen viruslar içerisinden MHV, MNV ve

HEV araştırılmıştır.

Belirli biyolojik parametrelere sahip olduğu bilinen deney hayvanlarının kullanımı, deneysel sonuçların tekrarlanabilirliğini sağlamak için önemlidir. Sağlık izleme programlarının temel amacı, araştırmada kullanılan hayvanların mikrobiyolojik durumu hakkındaki bilgileri ortaya çıkarmaya ve bilimsel, yasal ve refah gereksinimleri karşılamaya yardımcı olmaktır. Kemirgenler ve tavşanlar arasında birçok mikroorganizma grubu enfeksiyonlara neden olabilir. Ancak, çoğu enfeksiyon açık klinik belirtilere yol açmaz. Bu nedenle, hastalık semptomlarının klinik olarak görülmemesi sadece sınırlı bir tanısal değer taşır (Buchheister ve Bleich, 2021). Ancak, gizli enfeksiyonlar, hayvan deneylerinin sonuçlarını önemli ölçüde etkileyebilir. Laboratuvar hayvanlarının fizyolojisi üzerinde mikroorganizmalar davranış değişiklikleri, büyüme oranı, bağıl organ ağırlığı ve bağışıklık yanıtının değişmesi gibi birçok farklı etkiye yol açabilir (Sellers ve ark., 2012; Nicklas ve ark., 1999). Klinik ve gizli enfeksiyonlar, bilimsel sonuçların sapmasına neden olarak, biyolojik ve deneysel farklılıkları artırabilir ve deney hayvanı kullanımında artışa neden olabilir. Nakledilebilir tümörler, dokular, hücre hatları veya embriyolar ve gametler gibi biyolojik materyallerin kontaminasyonu, hayvanlarda gizli enfeksiyonların bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Mahabir ve ark., 2008; Nicklas ve ark., 1993). Bu kontaminasyon, yeni hayvanlara veya kullanılan malzemelere bulaşabilir (Fox ve ark., 2007). Çalışma grubu araştırdığımız viral etkenler yönünden negatif bulunmuştur. Bu durum araştırma merkezleri açısından istenilen bir durumdur.

Bu çalışmanın da konusu olan viral etkenler (MNV, MHV, HEV) sağlığını sürdürmek istediğimiz deney hayvanları için önemli patojenlerdir. MNV; endemik seyirli olması, immun sistem hücrelerini ve çok çeşitli dokuları enfekte edebilmesi, her zaman semptom göstermemesinden dolayı fark edilmesinin güç olması nedenleriyle laboratuvar farelerinde araştırılmıştır (Henderson, 2008). MNV araştırılmasına yönelik ilk çalışma 2005 yılında vahşi tip farelerde antikör varlığına yönelik yapılmıştır (Hsu ve ark., 2005). Bu ilk çalışmada elde edilen pozitifliğin ardından dünyada laboratuvar farelerinde serolojik ve virolojik açıdan varlığı araştırılan bir etken haline gelmiştir (Hsu ve ark., 2005, 2006; Karst ve ark., 2003; Manuel ve ark., 2008; Perdue ve ark., 2007). Türkiye'de fare ve ratlarda MNV araştırılmasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Amerika'da 28 adet bağışıklığı yetersiz farede yapılan çalışmada, enfeksiyon sonrası farelerde hepatit, pnömoni, pleural ve periton boşluklarında yangı gözlemlenmiştir (Ward ve ark., 2006). İngiltere'de ise WT ve Stat1^{-/-} farelerinde MNV tespit edilmiş ve asemptomatik seyrettiği bildirilmiştir. WT farelerde MNV'nin karaciğer lezyonlarıyla ilişkili olarak uzun süre farelerde kalıcılığını devam ettirdiği saptanmıştır (Shortland ve ark., 2014). Bu çalışmalar MNV'nin bağışıklığı yetersiz farelerde etkenin varlığının ve enfeksiyonun kalıcılığının önemini vurgulamaktadır. Asemptomatik seyirli hastalıklardan biri olan MNV çalışma konumuza dahil edilmiştir. Çalışmamızda sağlık tarama programlarında istenilen bir sonuç olarak negatiflik elde edilmiştir. Semptom oluşturmayan bir enfeksiyöz ajan olması ve enfekte farelerde uzun süre varlığını devam ettirebilmesi nedeniyle sağlık tarama programları içerisinde bulundurulmalıdır.

Bu çalışma kapsamında taraması yapılan ve laboratuvar fareleri için önem arz eden diğer bir etken MHV'dir. Bu virus vahşi ve laboratuvar farelerinde; karaciğeri enfekte etmesinin yanı sıra enterik ve solunum sistemi hastalığına, merkezi sinir sistemine tropizm göstermesi sebebiyle ensefalitise neden olabilir (Aydın, 2022; Bender ve Weiss, 2010; Matthews ve ark., 2002). MHV, coronavirus olması itibari ile sadece laboratuvar hayvanlarının bir patojeni olarak değil aynı zamanda SARS-CoV-2 ve COVID-19 çalışmaları için de örnek virus olarak çalışılmıştır (Grabherr ve ark., 2021; Körner ve ark., 2020; Tangudu ve ark., 2007). MHV, farelerde yerleşim gösterdiği doku ve organlar itibari ile klinik tablo oluşturur fakat bu klinik tablo virusun suşu ve genetik karakteri, vücuda giriş yolu, konağın yaşı ve bağışıklık durumuna göre çeşitlilik göstermektedir (Aydın, 2022). Bu çalışmanın yapıldığı araştırma merkezindeki fare ve ratlarda herhangi bir klinik bulgu mevcut değildi. Fakat MHV, konağın bağışıklık durumunun iyi olması durumunda klinik bulgu göstermeyebilir ve deney hayvanları laboratuvarında büyük bir tehdit oluşturabilir. Klinik bulgu göstermeden fare ve rat kolonilerinde varlığını sürdürebilmesi sebebiyle MHV bu çalışmada da araştırıldı ve istenilen bir sonuç olan negatiflik elde edildi.

Bu çalışmada araştırılan bir diğer etken HEV'dir. HEV bazı türlerde zoonotik öneme sahip olmasına rağmen laboratuvar hayvanlarında bu durum bildirilmemiştir. Dünyada ve ülkemizde HEV varlığı genellikle insanlarda

araştırılmakta ve potansiyel taşıyıcısı domuz olarak bildirilmektedir. Fakat Türkiye'de domuz yetiştiriciliğinin her bölgede yaygın olmaması sebebiyle potansiyel başka taşıyıcıların varlığı tartışma konusudur. (Aydın ve ark., 2016). Bu kapsamda laboratuvar ve vahşi tip farelerde HEV varlığı araştırılması önem arz etmektedir. Türkiye'de HEV yönünden farelerde yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamışken, dünyada aşı araştırmaları kapsamında farelerin enfekte edildiği çalışmalar mevcuttur (He ve ark., 2001; Li ve ark., 2001). Vahşi fareler insanların yaşam alanlarında sıklıkla yer alarak insanlar tarafından oluşan atıklarla beslenebilmektedirler. Dolayısıyla laboratuvar hayvanlarının yetiştirildiği ve üretiminin yapıldığı merkezlerin çevresinde doğal olarak bulunabilmektedir. Bu merkezlerde yem maddelerinin bulunması vahşi fareleri çekmektedir. Dolayısıyla konvansiyonel yetiştiriciliği yapılan hayvanlarla vahşi kemirgenlerin olası temasını mümkün kılmaktadır. Bu temasın sağlanması durumunda vahşi kemirgenlerin taşıdığı patojenlerin laboratuvar hayvanlarına aktarımı söz konusu olmaktadır. Bu nedenle laboratuvar hayvanları araştırma ve yetiştirme merkezlerinde düzenli olarak vahşi kemirgenlere ve haşerelere yönelik koruyucu önlemler alınmaktadır. Çalışmamızın yapıldığı Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde vahşi kemirgenlerle de aktarılabilecek patojenlere rastlanılamaması, ilgili koruma ve kontrol tedbirlerinin başarıyla uygulanmasının sonucu olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen 1 fare, 2 rat türünden (BALB/c mice, Sprague Dawley, Wistar albino) 10'ar adet seçilerek örneklem oluşturulmuş ve bu farelerin kan, karaciğer, bağırsak ve dalak dokularından RT-PCR testi yapılmıştır. Bu test sonucunda aranan etkenler yönünden pozitiflik bulunamamıştır. Bakteriyel ve paraziter yönden araştırma yapılmamış olması çalışmamızın eksik yönüdür. İleride yapılacak sürü sağlığı taramasına yönelik çalışmalarda mutlaka bakteriyel ve paraziter yönden araştırma yapılması gerekmektedir.

Sürdürülebilir sağlık taramaları ile deney hayvanı kullanımı gerektiren bilimsel çalışmaların sonuçları daha doğru, güvenilir olacak ve bilimsel araştırmanın standardını yükseltecektir (Uludağ, 2019). Geleneksel deneylerde, hayvanlar sıklıkla tek bir belirli hastalığın belirtilerini

gösteren modeller seçilerek kullanılır. Bunun aksine sürdürülebilir sağlık taramaları, hayvanların genel sağlığını izlemeyi, korumayı ve deneysel araştırmaların daha güvenilir sonuçlar üretmesini amaçlar. Ancak bu taramalarda karşımıza çıkacak bazı zorluklar vardır. Bu zorluklar; hangi etkenlerin, parametrelerin rutin olarak kontrol edilmesi gerektiği, laboratuvar içerisinde farklı türlerin mevcudiyeti ve bu türler için farklı hastalıkların önem arz etmesi, yapılacak rutin taramaların maliyeti, bu taramalar esnasında oluşturulacak strestir (Çelik ve ark., 2023). Bu çalışmada kullanılan hayvan türleri rastgele kafesler içerisinden seçilmiş ve yapılan tüm işlemler anestezi altında gerçekleştirilmiş olup stres ve ağrı durumu minimize edilmiştir.

Sonuç

Sonuç olarak, deney hayvanlarında sürdürülebilir sağlık taramalarının etik ve bilimsel standartlara uygun olarak yürütülmesi, bilimsel araştırmaların kalitesini ve toplumun sağlık alanındaki ilerlemesini desteklemektedir. Bu süreçte, hayvan refahının korunması ve etik ilkelerin gözetilmesi, araştırmaların meşruiyetini ve kabul edilebilirliğini artırmaktadır. Deney hayvanları yetiştirilen ve uzun süreli bulunduran her kurumun laboratuvar hayvan sağlık tarama programının oluşturulması ve uygulanması oldukça önemlidir ve araştırma merkezlerinde çalışan personelin sağlığı açısından da bu hayvanların sağlığı oldukça önemlidir. Dolayısıyla bu merkezlerde hayvan sağlığının sürdürülebilir olması için uygulanan haşere ve vahşi kemirgenlerle mücadele tedbirlerine dikkat edilmelidir. Koruyucu tedbirlerin ve sağlık tarama programlarının maliyeti yüksek görünebilir, ancak araştırma projesinin toplam maliyetine göre düşük kalacaktır. Uzun vadede rutin olarak taraması yapılan etkenler yönünden elde edilecek pozitif veya negatif veriler sayesinde araştırma merkezlerindeki toplam maliyet düşürülecek ve tasarruf sağlanmış olacaktır (Timurkan ve Acar, 2021). Gelecekte, bu alandaki teknolojik gelişmeler ve etik tartışmaların, deney hayvanları üzerinde yapılan sağlık taramalarının daha da iyileştirilmesine katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır (Karar numarası: 2024/130).

Yazar Katkıları: Konsept – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Tasarım – E.P., H.B.Y., Y.K.; Denetim – E.P., H.B.Y., Y.K.; Veri Toplama ve/veya İşleme – E.P.; Analiz ve/veya Yorum – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Literatür Taraması – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Yazma – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Eleştirel İnceleme – E.P.,

H.B.Y.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Finansal Destek: Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval for this study was obtained from Atatürk University Animal Experiments Local Ethics Committee (Decision number: 2024/130).

Author Contributions: Concept – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Design – E.P., H.B.Y., Y.K.; Supervision – E.P., H.B.Y., Y.K.; Data Collection and/or Processing – E.P.; Analysis and/or Interpretation – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Literature Review – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Writing – E.P., H.B.Y., Y.K., S.A.; Critical Review – E.P., H.B.Y..

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The authors declare that they have no competing interest.

Funding: The authors declared that this study received no financial support.

Kaynaklar

- Aydin, H., Uyanik, M. H., Karamese, M., & Timurkan, M. O. (2016). Seroprevalence of hepatitis E virus in animal workers in nonporcine consumption region of Turkey. *Future Virology*, 11(10), 691-697. <https://doi.org/10.2217/fvl-2016-0075>.
- Aydin, H. (2022). Fare hepatit virusu (MHV) üzerine bir derleme. *Laboratuvar Hayvanları Bilimi ve Uygulamaları Dergisi*, 2, 42-48.
- Baker, D. G. (1998). Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(2), 231-266. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.231>.
- Balayan, M. S., Andjaparidze, A. G., Savinskaya, S. S., Ketiladze, E. S., Braginsky, D. M., Savinov, A. P., & Poleschuk, V. F. (1983). Evidence for a Virus in Non-A, Non-B Hepatitis Transmitted via the Fecal-Oral Route. *Intervirology*, 20(1), 23-31. <https://doi.org/10.1159/000149370>.
- Barthold, S.W. (1985). Mouse Hepatitis Virus Infection, Liver, Mouse. In Jones, T. C., Mohr, U. (Eds.), *Monographs on Pathology of Laboratory Animals* (pp. 187-216). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-96910-2_25.
- Belei, O., Ancusa, O., Mara, A., Olariu, L., Amaricai, E., Folescu, R., Zamfir, C. L., Gurgus, D., Motoc, A. G., Stânga, L. C., Strat, L., & Marginean, O. (2021). Current paradigm of hepatitis E virus among pediatric and adult patients. *Frontiers in Pediatrics*, 9, 721918. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.721918>.
- Bender, S. J., & Weiss, S. R. (2010). Pathogenesis of murine coronavirus in the central nervous system. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 5(3), 336-354. <https://doi.org/10.1007/s11481-010-9202-2>.

- Bilgili, A., & Gürel, Y. (2002). Laboratuvar hayvanlarının hastalıklarının sağaltımı. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 13(1), 77-88.
- Buchheister, S., & Bleich, A. (2021). Health monitoring of laboratory rodent colonies—Talking about (r)evolution. *Animals*, 11(5), 1410. <https://doi.org/10.3390/ani11051410>.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). Norovirüs virüs sınıflandırması. <https://www.cdc.gov/norovirus/lab/virus-classification.html>.
- Cortes-Penfield, N. W., Ramani, S., Estes, M. K., & Atmar, R. L. (2017). Prospects and challenges in the development of a norovirus vaccine. *Clinical therapeutics*, 39(8), 1537–1549. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.07.002>.
- Cotten, M., Watson, S. J., Kellam, P., Al-Rabeeah, A. A., Makhdoom, H. Q., Assiri, A., Al-Tawfiq, J. A., Alhakeem, R. F., Madani, H., AlRabiah, F. A., Hajjar, S. A., Al-nassir, W. N., Albarrak, A., Flemban, H., Balkhy, H. H., Alsubaie, S., Palser, A. L., Gall, A., Bashford-Rogers, R., Memish, Z. A. (2013). Transmission and evolution of the Middle East respiratory syndrome coronavirus in Saudi Arabia: A descriptive genomic study. *The Lancet*, 382(9909), 1993–2002. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61887-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61887-5).
- Çelik, A., Baksi, N., & Güneli, M. E. (2023). Deney hayvanları araştırmalarında standardizasyonun yeri ve önemi: geleneksel derleme. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 49(1), 125-132. <https://doi.org/10.32708/uutfd.1216412>.
- Dhadde, S. (2019). Commonly used laboratory animals in experimental pharmacology. *Handbook of Experimental Pharmacology*.
- Dolin, R. (1978). Norwalk agent-like particles associated with gastroenteritis in human beings. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 173(5 Pt 2), 615-619.
- Domínguez-Oliva, A., Hernández-Ávalos, I., Martínez-Burnes, J., Olmos-Hernández, A., Verduzco-Mendoza, A., ve Mota-Rojas, D. (2023). The importance of animal models in biomedical research: current insights and applications. *Animals*, 13(7), 1223. <https://doi.org/10.3390/ani13071223>.
- Fallahi, R., Abedini, F., & Shokri, G. R. (2019). Molecular detection of mouse hepatitis virus in laboratory mouse colonies. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 11(2). <https://doi.org/10.22067/veterinary.v11i2.77631>.
- Fox, J. G. (2007). The mouse in biomedical research. American College of Laboratory Animal Medicine.
- Grabherr, S., Ludewig, B., & Pikor, N. B. (2021). Insights into coronavirus immunity taught by the murine coronavirus. *European Journal of Immunology*, 51(5), 1062-1070. <https://doi.org/10.1002/eji.202048984>.
- He, J., Hayes, C. G., Binn, L. N., Seriwatana, J., Vaughn, D. W., Kuschner, R. A., & Innis, B. L. (2001). Hepatitis E virus DNA vaccine elicits immunologic memory in mice. *Journal of Biomedical Science*, 8(2), 223–226. <https://doi.org/10.1007/BF02256416>.
- Henderson, K. S. (2008). Murine norovirus, a recently discovered and highly prevalent viral agent of mice. *Lab Animal*, 37(7), 314-320. <https://doi.org/10.1038/labon0708-314>.
- Hickman, D. L., Johnson, J., Vemulapalli, T. H., Crisler, J. R., & Shepherd, R. (2017). Commonly used animal models. *Principles Of Animal Research For Graduate And Undergraduate Students*, 117-175. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802151-4.00007-4>.
- Hsu, C. C., Riley, L. K., Wills, H. M., & Livingston, R. S. (2006). Persistent infection with and serologic cross-reactivity of three novel murine noroviruses. *Comparative Medicine*, 56(4), 247-251.
- Hsu, C. C., Wobus, C. E., Steffen, E. K., Riley, L. K., & Livingston, R. S. (2005). Development of a microsphere-based serologic multiplexed fluorescent immunoassay and a reverse transcriptase PCR assay to detect murine norovirus 1 infection in mice. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(10), 1145-1151. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.10.1145-1151.2005>.
- Huang, F. F., Haqshenas, G., Guenette, D. K., Halbur, P. G., Schommer, S. K., Pierson, F. W., Toth, T. E., & Meng, X. J. (2002). Detection by reverse transcription-pcr and genetic characterization of field isolates of swine hepatitis e virus from pigs in different geographic regions of the united states. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(4), 1326-1332. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.4.1326-1332.2002>.
- ICTV, 2024. Norovirus cinsi. <https://ictv.global/report/chapter/caliciviridae/caliciviridae/norovirus>.
- Jones, T. C., Popp, J. A., & Mohr, U. (1997). Digestive System. *Monographs on Pathology of Laboratory Animals*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-96910-2_25.
- Karaman, M. (2015). Microbiological standardization in small laboratory animals and recommendations for the monitoring. *Journal of Clinical And Analytical Medicine*, 6(5). <https://doi.org/10.4328/jcam.2195>.
- Karst, S. M., Wobus, C. E., Lay, M., Davidson, J., & Virgin, H. W. (2003). STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science*, 299(5612), 1575-1578. <https://doi.org/10.1126/science.1077905>.
- Kim, J. R., Seok, S. H., Kim, D. J., Baek, M.-W., Na, Y.-R., Han,

- J.-H., Kim, T.-H., Park, J.-H., Turner, P. V., Chung, D. H., & Kang, B.-C. (2011). Prevalence of murine norovirus infection in Korean laboratory animal facilities. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(5), 687-691. <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0226>.
- Körner, R. W., Majjouti, M., Alcazar, M. A. A., & Mahabir, E. (2020). Of mice and men: The coronavirus mHv and mouse models as a translational approach to understand SARS-CoV-2. *Viruses*, 12(8), 880. <https://doi.org/10.3390/v12080880>.
- Li, T., Takeda, N., & Miyamura, T. (2001). Oral administration of hepatitis E virus-like particles induces a systemic and mucosal immune response in mice. *Vaccine*, 19(25-26), 3476-3484. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(01\)00059-7](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(01)00059-7).
- Mahabir, E., Bauer, B., & Schmidt, J. (2008). Rodent and germplasm trafficking: risks of microbial contamination in a high-tech biomedical world. *Institute for Laboratory Animal Research*, 49(3), 347-355. <https://doi.org/10.1093/ilar.49.3.347>.
- Manivannan, R., Chidambaram, T., Gopal, R., & Ebenezer, K. S. (2024). Microbial diseases of laboratory animals and its monitoring tools. *Journal of Advances in Microbiology*, 24(2), 31-46. <https://doi.org/10.9734/jamb/2024/v24i2794>.
- Mansfield, K. G., Riley, L. K., & Kent, M. L. (2010). Workshop summary: detection, impact, and control of specific pathogens in animal resource facilities. *Institute for Laboratory Animal Research*, 51(2), 171-179. <https://doi.org/10.1093/ilar.51.2.171>.
- Manuel, C. A., Hsu, C. C., Riley, L. K., & Livingston, R. S. (2008). Soiled-bedding sentinel detection of murine norovirus 4. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 47(3), 31-36.
- Matthews, A., Weiss, S., & Paterson, Y. (2002). Murine hepatitis virus-A model for virus-induced CNS demyelination. *Journal of Neurovirology*, 8(2), 76-85. <https://doi.org/10.1080/13550280290049534>.
- Müftüoğlu, B., & Albayrak, H. (2019). Fare, sıçan ve tavşanların viral hastalıkları. *Turkish Veterinary Journal*, 1(2), 84-89.
- Nicklas, W., Kraft, V., & Meyer, B. (1993). Contamination of transplantable tumors, cell lines, and monoclonal antibodies with rodent viruses. *Laboratory Animal Science*, 43(4), 296-300.
- Nicklas, W., Homberger, F. R., Illgen-Wilcke, B., Jacobi, K., Kraft, V., Kunstyr, I., & Pohlmeier-Esch, G. (1999). Implications of infectious agents on results of animal experiments: Report of the Working Group on Hygiene of the Gesellschaft für Versuchstierkunde-Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS). *Laboratory animals*, 33(suppl 1), 39-87.
- Perdue, K. A., Green, K. Y., Copeland, M., Barron, E., Mandel, M., Faucette, L. J., Williams, E. M., Sosnovtsev, S. V., Elkins, W. R., & Ward, J. M. (2007). Naturally occurring murine norovirus infection in a large research institution. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 46(4), 39-45.
- Porea, D., Raileanu, C., Crivei, L. A., Gotu, V., Savuta, G., & Pavio, N. (2023). First detection of hepatitis E virus (Rocahepevirus ratti Genotype C1) in synanthropic Norway rats (*Rattus norvegicus*) in Romania. *Viruses*, 15(6), 1337. <https://doi.org/10.3390/v15061337>.
- Reuter, G., Boros, Á., & Pankovics, P. (2020). Review of hepatitis E virus in rats: evident risk of species Orthohepevirus C to human zoonotic infection and disease. *Viruses*, 12(10), 1148. <https://doi.org/10.3390/v12101148>.
- Sellers, R. S., Clifford, C. B., Treuting, P. M., & Brayton, C. (2012). Immunological variation between inbred laboratory mouse strains: Points to consider in phenotyping genetically immunomodified mice. *Veterinary Pathology*, 49(1), 32-43. <https://doi.org/10.1177/0300985811429314>.
- Shortland, A., Chettle, J., Archer, J., Wood, K., Bailey, D., Goodfellow, I., Blacklaws, B. A., & Heeney, J. L. (2014). Pathology caused by persistent murine norovirus infection. *The Journal of General Virology*, 95(Pt 2), 413-422. <https://doi.org/10.1099/vir.0.059188-0>.
- Tangudu, C., Olivares, H., Netland, J., Perlman, S., & Gallagher, T. (2007). Severe acute respiratory syndrome coronavirus protein 6 accelerates murine coronavirus infections. *Journal of Virology*, 81(3), 1220-1229. <https://doi.org/10.1128/jvi.01515-06>.
- Timurkan, M. Ö., & Acar, G. (2021). Laboratuvar hayvanlarında sindirim sistemine yerleşen bazı önemli viral enfeksiyonlar. *Journal of Laboratory Animal Science And Practice*, 1(1), 8-16.
- Uludağ, Ö. (2019). Hayvan deneyi çalışmalarında etik kuralların tarihçesi ve önemi. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 1401-1413. <https://doi.org/10.30569/adiyamansaglik.482098>.
- Ward, J. M., Wobus, C. E., Thackray, L. B., Erexson, C. R., Faucette, L. J., Belliot, G., Barron, E. L., Sosnovtsev, S. V., & Green, K. Y. (2006). Pathology of immunodeficient mice with naturally occurring murine norovirus infection. *Toxicologic Pathology*, 34(6), 708-715. <https://doi.org/10.1080/01926230600918876>.
- Wobus, C. E., Peiper, A. M., McSweeney, A. M., Young, V. L., Chaika, M., Lane, M. S., Lingemann, M., Deerain, J. M., Strine, M. S., Alfajaro, M. M., Helm, E. W., Karst, S. M., Mackenzie, J. M., Taube, S., Ward, V. K., & Wilen, C. B. (2023). Murine norovirus: Additional protocols for basic and antiviral studies. *Current Protocols*, 3(7), e828.

<https://doi.org/10.1002/cpz1.828>.

Yadav, K. K., Boley, P. A., Lee, C. M., Khatiwada, S., Jung, K., Laocharoensuk, T., Hofstetter, J., Wood, R., Hanson, J., & Kenney, S. P. (2023). Rat hepatitis E virus (HEV) cross-species infection and transmission in pigs. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2023.07.06.547957>.

Yılmaz, S. (1960). Yurdumuzda yavru atan koyunlardan izole edilen *Listeria monocytogenes*. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(2), 136-144.

Zhou, Y., Hou, Y., Shen, J., Huang, Y., Martin, W., & Cheng, F. (2020). Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV-2. *Cell Discovery*, 6, 14. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0153-3>.