

## Balıklarda viral ensefalopati ve retinopati

### Viral encephalopathy and retinopathy in fishes

A.Erdem Dönmez<sup>1\*</sup>  • Doruk Yılmaz<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yenişehir Kampüsü, 33160, Mersin, Türkiye  
\* Corresponding author: [edonmez@mersin.edu.tr](mailto:edonmez@mersin.edu.tr)

Received date: 09.03.2018

Accepted date: 30.04.2018

#### How to cite this paper:

Dönmez, A.E. & Yılmaz, D. (2018). Viral encephalopathy and retinopathy in fishes. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(3), 335-342.  
DOI:10.12714/egejfas.2018.35.3.14

**Öz:** Viral hastalıklar, hem su ürünleri yetiştiriciliğinin yapıldığı hem de doğal sucul ortamlarda biyolojik çeşitliliğin sürdürülebilirliği açısından her zaman önemli sınırlayıcı faktörlerden birisi olmuştur. Virüslerin balıklarda bazı hastalıklara neden olduğu uzunca bir süredir düşünülmekle birlikte, hücre kültürlerinin kullanılmaya başlanmasına kadar kesin tanıları gerçekleştirilememiştir. Viral nervöz nekroz olarak da adlandırılan balık viral ensefalopati ve retinopati (VER) ise dünyanın pek çok yerinde özellikle deniz kültür balıkçılığı için önemli viral kökenli hastalıklardan birisi olarak kabul edilmektedir. Nodavirüslere dahil olan virüs, larva ve juvenil bireylerde daha etkili olmakla birlikte yetişkin formlarda da hastalık oluşturabilmektedir. Yetiştiricilik sektöründe özellikle son yıllarda önemli kayıplara yol açmış ve küresel ısınma tehdidi nedeniyle de gittikçe daha önem kazanacağı tahmin edilen bir enfeksiyon halini almıştır. Bu derlemede; balıkların önemli viral hastalıklardan biri olarak değerlendirilen bu enfeksiyona ilişkin bilgiler sunulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Nodavirüs, viral ensefalopati retinopati, deniz balıkları, enfeksiyon,

**Abstract:** Viral diseases have always been one of the limiting factors in the sustainability of biodiversity, both in the aquaculture and in the natural aquatic environment. Although viruses are thought to be to cause some diseases in fish for a long time, exact diagnosis has not been achieved until the use of cell cultures has begun. The viral encephalopathy and retinopathy (VER) also known as viral nervous necrosis is considered one of the most important viral diseases in the world, especially for marine aquaculture. The virus belonging nodaviruses is more effective on larvae and juvenile individuals and can also cause infection in adult forms. In the aquaculture sector, especially in recent years has led to significant loss and also expected to become increasingly important due to the threat of global warming. In this review, information about this infection which is considered to be one of the major viral diseases of fish has been presented.

**Keywords:** Nodavirus, viral encephalopathy and retinopathy, marine fishes, infection,

## GİRİŞ

Doğal stokların azalması ve balık tüketim talebinin artması ile beraber, son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliği hızlı bir büyüme eğilimi göstermiş ve 2015 yılında dünya genelinde yaklaşık 77 milyon ton civarında bir verim elde edilmesi sağlanmıştır (Zhou, 2017). Yetiştiricilik sektörü, günümüzde gıda üretim endüstrisinin en hızlı gelişen sektörlerinden birisi olarak kabul edilmektedir. Bu sektör içerisinde, piyasa talebi ve ekonomik değer bakımından önemli bir yere sahip olan deniz balıkları yetiştiriciliği de belirgin düzeyde artış göstermektedir. Fakat bu hızlı gelişim ve yoğun üretim tarzı, yetiştirilen balık türlerinde farklı etkenlere bağlı bulaşıcı hastalıkların da artışına neden olmaktadır. Viral hastalıklar hem su ürünleri yetiştiriciliğinin yapıldığı hem de doğal ortamlardaki biyolojik çeşitliliğin sürdürülebilirliği açısından her zaman önemli düzeydeki sınırlayıcı faktörlerden birisi olmuştur. Günümüzde balıkların farklı coğrafi bölgelerde yaşayan farklı cinslerinden DNA ve RNA taşıyan pek çok virüs izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE), yayılma riskleri nedeniyle

izole edilen bazı virüslerin ve oluşturdukları hastalıkların bildirimini zorunlu tutmaktadır. Bu hastalıklar; epizootik hematopoetik nekroz (ranavirus), enfeksiyöz hematopoetik nekroz (novirhabdovirus), enfeksiyöz salmon anemisi (isavirus), koi herpesvirüs hastalığı (cyprinivirus), kırmızı fangri iridovirüs hastalığı (iridovirus), sazan bahar viremi (vesiculovirus) ve viral hemorajik septisemi (novirhabdovirus)'dir (Walker ve Winton, 2010; Kibenge vd., 2012). Viral nervöz nekroz olarak da adlandırılan balık viral ensefalopati ve retinopati (VER) de dünyanın pek çok yerinde özellikle deniz balıkları yetiştiriciliği açısından önemli viral hastalıklardan birisi olarak kabul edilmektedir. Nodavirüslere dahil olan virüs, balık larva ve juvenillerinde daha etkili olmakla birlikte ergin balıklarda da hastalık oluşturabilmektedir. Etken nöropatojenik bir karakter göstermekte ve en önemli lezyonlarını hücresel vakuolasyon ve sinir dejenerasyonu aracılığıyla merkezi sinir sisteminde ve retinada gerçekleştirilmektedir (Totlandl vd., 1999; Johansen vd., 2004).

Bu derlemede; balıkların önemli viral hastalıklardan biri olarak kabul edilen viral ensefalopati ve retinopati hakkındaki bilgiler verilmiştir.

## BALIK VİRÜSLERİ

Virüsler yalnızca canlı hücreler içerisinde çoğalabilen çok küçük enfeksiyöz ajanlar olmakla birlikte basit yapıları ve çoğalma şekilleri ile bakterilerden farklılık göstermektedir (Smail ve Munro, 2012). Yaklaşık büyüklükleri 20-400 nm arasında olup nükleik asit yapısında bir çekirdek ve etrafını saran protein bir kılıf (kapsid) ile en dışta varlığı değişkenlik gösteren lipoprotein içerikli bir zarftan oluşmaktadır. Kapsid kısmı, elektron mikroskobunda virüs yüzeyinde sivri ya da yuvarlak çıkıntılar şeklinde farkedilebilmektedir. Kabaca; küresel, kübik (ikosaedral), filamentöz, mermi, tuğla ya da kompleks formlarda gözlemlenebilirler. Nükleik asit, ya tek / çift iplikçikli DNA ya da RNA'dır (Bergman ve Fichtner, 2008). Virüslerin tanımlanmasında; DNA ya da RNA içermesi (tek ya da çift iplikçikli), kapsid simetrisi, zarfın bulunup bulunmaması, ortalama büyüklük, nükleik asidin moleküler ağırlığı, genomdaki guanin sitozin oranı, viral protein sayıları, moleküler ağırlıkları ve antijenik özellikleri ile ilaç, sıcak, soğuk ve tuzluluk dirençliliği gibi bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri göz önünde bulundurulmaktadır (Möller ve Anders, 1986). Virüslerin neden olduğu hastalıkların patojenitesi, görülen ölüm oranları ve ekonomik boyutu virüs türlerine göre de değişkenlikler göstermektedir (Workenhe vd., 2010). Su ortamı, daha dengeli bir ortam olmakla birlikte ortamdaki akıntılar virüslerin taşınımı bakımından aerosollerden daha zayıf bir etkinlik göstermektedir. Çok az sayıda balık virüsü vektör olarak arthropodları kullanmaktadır. Ayrıca su ortamında doğal rezervuar sayısı da daha azdır ve balıklar poikiloterm canlılar olduklarından sıcaklık açısından virüsün replikasyon hızı ile konak immun yanıtı da farklı düzeylerde etkilenmektedir. Balıklarda üreme sıvılarında da bol miktarda virüs bulunmakla birlikte doğrudan ebeveynlerden yavruya dikey bulaşma oranı daha düşüktür. DNA içeren herpesvirüsler ve iridovirüsler ile RNA içeren rabdovirüsler, birnavirüsler ve nodavirüslerin bu yolla bulaştıklarına dair kayıtlar bulunmaktadır. Balıklarda dikey bulaşma daha çok virüslerin yumurta yüzeyinde (transovum) ve yumurta içinde (transovaryal) yerleşmesi şeklinde gerçekleşmektedir (Brock ve Bullis, 2001; Walker ve Winton, 2010).

1980'lerden itibaren balıklarda virüs izolasyonu amacıyla hücre kültürlerinin kullanılmaya başlanması, modern balık virolojisinin gelişimine önemli katkılar sağlamıştır. Son yıllarda balık yetiştiriciliğinin hem tatlı hem de tuzlu sularda, üretim miktarlarının yanı sıra tür çeşitliliği bakımından da artmasıyla birlikte balıkçılık sektörü küresel ölçekte gelişim göstermeye başlamıştır. Söz konusu artış suda yaşayan virüs türlerinin balıklara bulaşması için yeni olanakların oluşmasını sağlamıştır (Crane ve Hyatt, 2011). Gerek tatlı sularda gerekse tuzlu sularda yaşayan balık türlerinde hastalık oluşturan en önemli virüs aileleri; Rhabdoviridae, Birnaviridae ve Herpesviridae aileleridir. Bunun yanı sıra Reoviridae, Coronaviridae, Picornaviridae, Adenoviridae, Papillomaviridae,

Paramyxoviridae, Retroviridae ve Iridoviridae'ye dahil virüslerin de önemli enfeksiyonlara neden oldukları tespit edilmiştir (Hetrick, 1989). 2016 yılında Kiberge ve Godoy, yetiştiriciliği yapılan balık türlerinde tanımlanan virüs gruplarını ve oluşan hastalıkları derlemiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Yetiştiriciliği yapılan balıklarda tanımlanan virüs grupları ve oluşan hastalıklar (Kiberge ve Godoy, 2016)

**Table 1.** Virus groups and their diseases identified in fish farmed (Kiberge and Godoy, 2016)

	Virüs Grubu	Karakteristik Hastalık
1	Adenovirüsler	-
2	Alloherpesvirüsler	Koi herpesvirüs hastalığı (KHVD)
3	Birnavirüsler	Enfeksiyöz pankreatik nekroz (IPN)
4	Kalısivirüsler	-
5	Sirkovirüsler	-
6	Koronavirüsler	-
7	Hepevirüsler	-
8	İridovirüsler/İrido benzeri virüsler	Lenfosistis Viral eritrositik nekroz (ENV) Epizootik Hematopoetik Nekroz (EHN)
9	Nodavirüsler/Noda benzeri virüsler	Viral ensefalopati ve retinopati (VER)
10	Ortomiksovirusler/Ortomikso benzeri virüsler	Enfeksiyöz salmon anemisi (ISA)
11	Papilloma/Polyomavirüsler	-
12	Paramiksovirusler/Paramikso benzeri virüsler	Viral epitelyal nekroz
13	Pikonavirüsler	-
14	Poksvirüsler	Sazan ödem virüsü (CEVD)
15	Rabdovirüsler	Viral hemorajik septisemi (VHS) Sazan Bahar Viremisi (SVC)
16	Reovirüsler	-
17	Retrovirüsler/Retro benzeri virüsler	Viral eritrositik enfeksiyon (VEI)
18	Togavirüsler/Toga benzeri virüsler	Pankreas hastalığı (SPDV) (SDV)
19	Totivirüsler	Kardiomyopati sendromu (CMS)

Balıklarda viral hastalıklar gerek doğal ortamlarda gerekse kültür koşullarında epizootiler şeklinde görülebilmektedir. Bu durum önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. ABD'de enfeksiyöz salmon anemisi (ISA) ve sazan bahar viremisi (SVC)'nin yol açtığı kayıpların ekonomik boyutunun 20 milyon dolar civarında olduğu belirtilmiştir. Şili'de ise 2005-2010 yılları arasında enfeksiyöz salmon anemisi nedeniyle Atlantik salmону üretim miktarlarında 300.000 tonluk bir düşüş yaşandığı kaydedilmiştir (Salgado Miranda vd., 2013)

## NODAVİRÜSLER - VİRAL ENSEFALOPATİ VE RETİNOPATİ (VER)

Nodavirüs üyeleri, kabuklu sucul canlıları ve balıkları enfekte edebilen alfa ve betanodavirüsler olmak üzere iki cinse sahiptirler (Cherif vd., 2009). Alfanodavirüsler; Nodamura Virus (NoV), Blackbeetle Virus (BBV), Flock House Virus (FHV), Boolarra Virus (BoV) izolatları olarak çoğunlukla böceklerden izole edilmişken, betanodavirüsler tatlı su ve deniz balıklarının çoğunlukla larva ve juvenil formlarından izole edilmişlerdir (Maltese ve Bovo, 2007). Dünyada Afrika kıtası dışında kalan

diğer tüm bölgelerden izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar 40'tan fazla balık türünde nodavirüslerin etkili olduğunu belirlemiştir. Söz konusu türler arasında en fazla etkilenen türlerin yassı balık türleri ile Avrupa deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) olduğu tespit edilmiştir (Bovo ve Florio, 2008; Hegde vd., 2003).

Bu virüsler, 25-34 nm çapında, küçük, zarfsız bir virion ile genomları 2 parçalı ve tek sarmallı bir RNA zincirinden meydana gelmektedir. Bazı araştırmacılar etkeni yaklaşık 5 nm'lik açık renkli bir katmanla çevrili 13-21 nm'lik elektron yoğun bir çekirdek yapı olarak tanımlamışlardır (Munday, 2003; Nishizawa vd., 2009). İki parçalı RNA'dan, RNA1 (3.1 kb) RNA polimeraz'a bağlı olduğu kabul edilen RNA'yı kodlarken, RNA2 (1.4 kb) öncü kapsid proteinini kodlamaktadır (Ucko vd., 2004; Chia vd., 2010). Farklı araştırmacılar, RNA2 segmentindeki T4 kapsid proteininin değişken bölgesinin nükleotid dizilerinin filogenetik analizi sonrasında virüsün farklı izolatlarını tanımlamışlardır. Bu izolatların sayılarını; Gagne vd., 2004 yedi adet, Vendramin vd., 2013 beş adet, Toffan vd., 2017 ise dört adet olarak belirtmişlerdir (Tablo 2). Nodavirüs izolatlarının coğrafi dağılımlarında, sıcaklığın konakçı türüne göre daha belirleyici bir faktör olduğu ileri sürülmektedir. Aslen deniz balıklarının patojen etkeni olarak kabul edilmekle birlikte *Oreochromis niloticus*, *Anguilla anguilla*, *Poecilia reticulata* ve *Parasilurus asotus* bazı tatlı su balıklarından da izole edilmişlerdir (Korsnes vd., 2005; Bigarre vd., 2009).

**Tablo 2.** Betanodavirüs izolatları  
**Table 2.** Betanodavirus isolates

Izolot İsmi	Kaynak
1 Striped Jack Nervous Necrosis Virus (SJNNV)	Gagne vd., 2004; Vendramin vd., 2013; Toffan vd., 2017
2 Tiger Puffer Nervous Necrosis Virus (TPNNV)	Gagne vd., 2004; Vendramin vd., 2013; Toffan vd., 2017
3 Barfin Flounder Nervous Necrosis Virus (BFNNV)	Gagne vd., 2004; Vendramin vd., 2013; Toffan vd., 2017
4 Redspotted Grouper Nervous Necrosis Virus (RGNNV)	Gagne vd., 2004; Vendramin vd., 2013; Toffan vd., 2017
5 <i>Lates calcarifer</i> Encephalitis Virus (LcEV)	Gagne vd., 2004
6 <i>Dicentrarchus labrax</i> Encephalitis Virus (DIEV)	Gagne vd., 2004
7 Japanese Flounder Nervous Necrosis Virus (JFNNV)	Gagne vd., 2004
8 Turbot Nervous Necrosis Virus (TNNV)	Vendramin vd., 2013

Betanodavirüsler için optimum sıcaklık aralıkları, virüs izolatına ve balık türüne bağlı olarak değişiklikler gösterebilmektedir. Optimum sıcaklıklar; SJNNV için 20-25 °C, BFNNV için 15-20 °C, TPNNV için 20 °C, RGNNV için ise 25-30 °C olarak tespit edilmiştir (Yanong, 2010). Nodavirüs enfeksiyonları; viral nervöz nekroz, ensefalomyelit, ensefalopati ve retinopati gibi farklı isimlerle

tanımlanabilmektedir. Enfeksiyon ilk olarak Avustralya'da *Lates calcarifer* türü balıklarda bildirilmekle birlikte sonrasında *Oplegnathus fasciatus*, *Scophthalmus maximus*, *Dicentrarchus labrax*, *Epinephalus akara*, *Pseudocaranx dentex* *Liza ramada*, *Merlangius merlangus*, *Mugil cephalus*, *Mullus barbatus*, *Sparus aurata* gibi türlerde, Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya kıtalarında da tespit edilmiştir (Skiris vd., 2001; Giacopello vd., 2013; Banerjee vd., 2014).

Ülkemizde de ilk betanodavirüs izolasyonunun 2011 yılında Mersin ilinde yetiştirilen levreklerden gerçekleştirildiği belirtilmektedir (Özyer vd., 2014). Bazı araştırmacılar *Sciaena umbra* ve *Salmo salar*'larda etkenin hiçbir klinik belirti oluşturmadığını bildirmektedirler (Crane ve Hyatt, 2011; Shetty vd., 2012). Viral nervöz nekroz ismiyle de bilinen viral ensefalopati ve retinopati (VER), çoğunlukla deniz balıkları yetiştiriciliği koşullarında, özellikle de sıcak sularda salgınlara yol açabilen önemli viral hastalıklardan birisi olarak kabul edilmektedir. Yetiştiricilik sektöründe özellikle son yıllarda önemli kayıplara yol açmış ve küresel ısınma tehdidi nedeniyle de zararlarının gittikçe daha kritik düzeylere ulaşacağı tahmin edilen bir enfeksiyon halini almıştır (Doan vd., 2017). Glazebrook ve Campbell (1987), tarafından beyin lezyonlarıyla ilişkili ilk betanodavirus kaynaklı enfeksiyon, *Lates calcarifer* türünde belirlenmekle birlikte hastalığa ilişkin ilk detaylı tanımlama 1988 yılında Martinik'de yetiştirilen *Dicentrarchus labrax* larvaları ve yavrularında ortaya çıkan kitlesel ölümler sonrasında gerçekleştirilmiştir (Maltese ve Bovo, 2007). Hastalık etkeni virüs, ilk olarak ortaya çıktığı dönemlerde pikorna benzeri virüsler grubuna dahil edilmiş, ancak virion büyüklüğü ve genom karakteri açısından *Pseudocaranx dentex* nervöz nekroz virüsü (SJNNV) ile aynı özellikte olduğu tespit edildiğinden Nodavirüslerin bir üyesi olarak sınıflandırılmıştır (Costa ve Thompson, 2016). Hastalıkla ilgili tatlı su türlerinde daha az sayıda kayıt ve klinik bulgularına dair de daha az bilgi bulunmakla birlikte, tuzluluk virüs açısından sınırlayıcı bir faktör olarak değerlendirilmemekte ve ekonomik öneme sahip tatlı su türlerinin de hastalıktan etkilendiği belirtilmektedir (Bovo vd., 2011). Enfeksiyonda nöropatojenik bir tablo oluşturduğundan ilk olarak "levrek viral ensefaliti" ismini almıştır. Daha sonraları viral nervöz nekroz, balık viral ensefaliti ve viral ensefalit ve retinit isimleri ile de anılmaya başlayan hastalık son olarak Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü tarafından hastalığa eşlik eden histopatolojik bulgulara da dayandırılarak viral ensefalopati ve retinopati olarak adlandırılmıştır (Costa ve Thompson, 2016).

## KLİNİK BULGULAR VE BULAŞMA

Betanodavirüsler, balıklarda hem akut hem de latent enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. Latent enfeksiyonlar, biyolojik ve çevresel stres faktörleri ile ya da virüsün dikey veya yatay iletimini kolaylaştırabilmek amacıyla akut faza da dönüşebilir (Binesh, 2013). Klinik bulgular; balık türü, biyolojik gelişim evresi, hastalığın aşaması ve sıcaklığa bağlı olarak değişiklikler gösterebilmektedir. Genel olarak larva aşamasında hastalık hiperakut bir seyir izlemekte, iştahsızlık gelişimi ve sonrasında ölümler ortaya çıkmaktadır. Juvenil bireylerde özellikle yüksek su sıcaklıklarda anormal yüzmeye

davranışları ile karakterize akut bir seyir tespit edilmiştir (Souto vd., 2015). Nodavirüslerin başlıca hedef organları beyin, omurilik ve retina olmak üzere merkezi sinir sistemidir. Buna ek olarak virüs stres koşulları altında, gonadlar ve sindirim kanalı gibi organlara da ulaşip çoğalabilmektedir. İştahsızlık, pigmentasyon değişiklikleri, anormal yüzme şeklinde ortaya çıkan nörolojik belirtiler ile özellikle larva ve juvenillerde %100'lere ulaşan mortalite oranları gözlenmektedir. Yüzme bozuklukları, normal statik ve dinamik dengenin sağlanamaması, hız ve yüzme yönünün ayarlanamaması, hava kesesinin şişirilmesinin kontrol edilememesi ve bazı türlerde spinal deformite gibi belirtiler de görülebilmektedir (Oh vd., 2002; Roongkamertwongsa vd., 2005; Zorriehzahra vd., 2016; Doan vd., 2017). İç organlar incelendiğinde karaciğerde renkte açılmalar, sindirim kanalının boş olması ve bağırsakların kahverengi bir sıvı ile dolu olması dikkat çekmektedir (Terlizzi vd., 2012).

Histopatolojik bulgularda, immunohistokimyasal pozitif bulgular ile beyin ve retinada nekroz ve vakuolasyonlar gözlenmektedir (Patel vd., 2007; Binesh vd., 2013; Zorriehzahra vd., 2016). Söz konusu vakuolasyonların bazı durumlarda omurilikte de gözlemlendiği belirtilmektedir (Binesh vd., 2013). Elektron mikroskopik bakıda hücre sitoplazmasına yerleşmiş virüs kümelerinin varlığı da saptanabilmektedir (Johansen vd., 2004; Bitchava vd., 2007; Maeno vd., 2007; Nazari vd., 2014). *Epinephelus septemfasciatus* türünde vakuolasyon ve nekrozların daha çok beynin olfaktorik loblarındaki sinir hücrelerinde ortaya çıktığı belirtilmiştir. Bu durumu takiben mikrogliya ve makrofaj hücre infiltrasyonlarının oluştuğu da belirtilmektedir. Beyincik bölgesinde ise purkinje ve golgi hücrelerinin enfekte olduğu tespit edilmiştir. Preoptik bölge, talamus, omurilik soğanı ve omurilikte ise megalohücreler ve küçük sinir hücrelerinin çekirdeklerinin daha fazla hasar gördükleri saptanmıştır (Tanaka vd., 2004).

Su, önemli bir abiyotik vektör olarak kabul edildiğinden betanodavirüsler, doğrudan su aracılığıyla, yetiştiricilik ortamlarında ise çalışan personel, ağlar, botlar ve diğer ekipmanlar vasıtasıyla kolayca yayılabilir. Enfeksiyon açık denizlerde bir bölgeden diğerine, gelgitler, akıntılar, farklı işletmeleri ziyaret eden tekneler ve göç eden balıklar sayesinde taşınabilmektedir. Virüs asidik ortamlara ve 37 °C'ye direnç gösterebildiğinden su kuşları da potansiyel vektörler olarak kabul edilmektedir. Ayrıca virüsün Nereidae ailesine ait farklı kum kurtlarından ve enfekte çiftliklerin yakınından yakalanan Nereis cinsi kurtlardan da izolasyonları gerçekleştirilmiştir (OIE, 2017). Balıklarda hem horizontal hem de vertikal yolla bulaşmanın varlığı tespit edilmiştir. Doğada yaşayan birçok türün bu virüsün taşıyıcısı olduğu ve kültür balıklarının bu türler aracılığıyla hastalığa yakalandıkları öne sürülmektedir (Yamashita vd., 2005; Gomez, vd., 2008). *Pseudocaranx dentex*, *Dicentrarchus labrax*, *Lates calcarifer*, *Verasper moseri*, *Hippoglossus hippoglossus* ve *Epinephelus septemfasciatus* türlerinin anaçlarından yavrulara dikey bulaşım tespit edilmiştir. Horizontal bulaşma ise deneysel olarak hasta larvaların sağlıklı bireylerle doğrudan teması

neticesinde ve enfekte doku homojenatları ile izole edilen virüsün suya karıştırılması yolları ile sağlanmıştır (Castric vd., 2001). Ayrıca horizontal bulaşmanın çoğunlukla morfolojik açıdan daha gelişmiş larvalardan, enfekte olmayan daha genç yavru ve larva formlarına aktarılma şeklinde gerçekleştiği ve virüsle kontamine çevrelerin bu bulaşmayı kolaylaştırdığı belirtilmektedir (Azad vd., 2006). Laboratuvar çalışmaları betanodavirüslerin, kontamine olmuş canlı yemler (*Artemia*, *Tigriopus japonicus* ve *Acetesinte medius* gibi kabuklular) ile çığ balıklar ve yumuşakçalarla beslenme sonrasında da bulaşabildiğini göstermektedir (Yanong, 2010).

### TANI, TEDAVİ VE KONTROL

Son yıllarda betanodavirüslerin tanısı amacıyla; ışık mikroskobu, duyarlı hücre kültürleri, indirekt antikor floresan testi (IFAT), immunohistokimya ve ELISA gibi bazı farklı yöntemler kullanılır hale gelmiştir. Günümüzde ise gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve yuvalanmış polimeraz zincir reaksiyonu (Nested PCR) analizleri yalnız başlarına ya da hücre kültürleri ile birlikte kullanılarak daha etkin bir tanı yöntemi olarak kabul görmektedir. VER enfeksiyonu açısından bahsi geçen PCR protokolleri, enfeksiyonun tanımlanmasında geliştirilmiş hassasiyetlere sahiptir. Bununla birlikte, amplifikasyon sonrasında olası bulaşmalar nedeniyle hatalı pozitif reaksiyon olasılıkları daha yüksek olan ve daha fazla zaman alan prosedürlerden agar jel elektroforez ve etidyum bromid boyama gibi yöntemler de hâlâ kullanılmaktadır (Dalla Valle vd., 2005). Işık mikroskobu bulguları arasında, beyinde, omurilikte ve/veya retinadaki vakuollerin görünümü önemli bir bulgudur. Elektron mikroskopunda virüs, vakuolleşmiş hücrelerle ve dizi veya kümeler halinde intrasitoplazmik parakristalin yapılarla birlikte gözlemlenebilir. Doğrulamaya için histopatolojik, immunohistokimyasal boyama ve hücre kültürlerinde izolasyon aşamalarından sonra PCR yöntemi uygulanmalıdır. RT-PCR, klinik olarak etkilenen balıklarda en hızlı ve etkin tanı yöntemidir. Nested PCR ise özellikle latent enfekte balıklarda tanı için faydalıdır. *Ophicephalus striatus* türü balıkların beyin dokularından elde edilen SSN-1 ve E-11, hani balıkları (*Epinephelinae* spp.)'nin yüzgeç dokularından elde edilen GF-1 ve kalkan balığı (*Scophthalmus maximus*)'nin kuyruk yüzgeci dokularından elde edilen TV-1 ve TF hücre kültürlerinin betanodavirüsler için uygun hücre kültürleri olduğu saptanmıştır (Nakai vd., 2009). Enfekte *Gadus morhua* ve *Epinephelus coioides* türlerinde, beyin dokusu homojenatlarının SSN-1 hücre kültürlerine inokulasyonunda 7 gün içinde sitopatolojik etkilerin (CPE) geliştiği tespit edilmiştir (Johnson vd., 2002; Roongkamertwongsa vd., 2005). CPE gelişiminin başlangıcında hücre kültürlerinin bazı alanlarında yuvarlak, granüler, refraktif hücrelerin oluştuğu, sonrasında bu görünümün üst katmandaki tüm hücrelere yayıldığı ve en sonunda da hücre tabakalarının tamamen dejenerasyon olarak hücrelerin ortam içerisinde yüzer duruma geldiği tespit edilmiştir (Parameswaran vd., 2008). Nodavirüslere karşı gelişen antikorlar, ELISA yöntemi kullanılarak *Pseudocaranx dentex*,

*Dicentrarchus labrax*, *Verasper moseri* ve *Lates calcarifer* türlerinin erişkin bireylerinin serumlarından izole edilmiştir (Poisa Beiro vd., 2008).

VER virüsü farklı çevresel koşullara karşı çok dirençlidir ve deniz suyunda uzun süre yaşamda kalabilir. Yatay yolla bulaşmasını önlemek için, sodyum hipoklorit, benzalkonyum klorür, iyot, asit peroksijen ve ozon gibi virüsü inaktive edebildiği tespit edilmiş dezenfektanların kullanımı etkilidir (Nakai vd., 2009). Isıl işlem, ultraviyole ışını ve ozon uygulamasının, SBNNV izolatını etkili bir şekilde inaktive ettiği belirlenmiş fakat formalin, etanol, metanol, eter ve kloroformun ise virüsün inaktivasyonunda daha az etkili olduğu saptanmıştır (Costa ve Thompson, 2016). Japonya Deniz Tarım Derneği (JASFA), 1990 yılında *Pseudocaranx dentex* larvalarında VER ile ilgili araştırmasında ve virüs taşıyan damızlıkların eliminasyonunu sağladıktan sonra döllenmiş yumurtaları ve yetiştirme suyunu dezenfekte ederek hastalığın kontrolünü gerçekleştirmeyi başarmıştır. Ayrıca anti-RNA viral aktivitesine sahip bir guanozin analogu olan ribavirin (1-P-D-ribofuranozil-1,2,4-triazol-3-karboksamit, 1)'in betanodavirüs enfeksiyonu için etkinliği araştırıldığında RGNNV RdRp ile etkileşime girerek viral enfeksiyonu in vitro olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir. Enfeksiyonun erken aşamalarında bitkisel bir polifenol olan oligonol'un, virüse bağlı gelişen CPE, virüs üretimi ve viral protein ekspresyonunu azalttığı tespit edilmiş ve betanodavirüs replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Antimikrobiyal peptidlerin (AMP) de konakçının bağışıklık tepkisini modüle edebileceği, betanodavirüs bulaşımı balıkların tedavisinde alternatif bir yol olarak düşünülmelerini sağlamıştır. Tilapia hepsidin 1-5 (TH1-5) ve epinedikin-1 (Epi-1) isimli iki farklı AMP tipinin bazı balık türlerine uygulanması sonrasında, TH1-5'in enfeksiyon sırasında viral yükü azaltmaya yardımcı olduğu belirlenirken, Epi-1 uygulamasının enfeksiyon sırasında ve sonrasında virüsleri ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (Moriyama vd., 2008; Ichinose vd., 2013; Costa ve Thompson, 2016). Ayrıca endozomal asidifikasyon inhibitörleri ve gimnemagenol (*Gymnema sylvestre* bitkisi özütü) ile bir triterpen glikozid olan saponin'in betanodavirüs enfeksiyonunu inhibe edebildiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (Ichinose vd., 2013).

Aşılama birçok virüs enfeksiyonunda umut verici sonuçlar sağlamakla birlikte VER enfeksiyonunda öncelikle larva ve yavru balıklar etkilendiğinden ve bu balıkların boyutları ile bağışıklık sistemleri yeterince gelişmemiş olduğundan, oluşan korunmanın yeterli olmadığı belirtilmektedir. Buna rağmen aşı ve aşılama çalışmaları sürdürülmektedir. *Escherichia coli* bakterisine rekombinant viral kapsid proteininin eklendiği, bakulovirüs ekspresyon vektör sistemine virüs benzeri partiküllerin eklendiği veya inaktive virüs içeren uygulamaların hastalığın kontrolünde etkili olabileceği belirtilmektedir. Avirüent sucul birnavirüs primer enfeksiyonlarının da ikincil olarak gelişen betanodavirüs enfeksiyonlarında koruyucu olabildiğinin farkedilmesiyle akuabirnavirüs inaktive aşılar ile çift aşılamanın, hastalığın önlenmesinde yararlı olduğu belirtilmektedir (Nakai vd., 2009). VER'e karşı deneysel aşı

denemelerinin çoğunluğu duyarlı türler arasında ekonomik açıdan değerli kabul edilen *Epinephelus* spp.'lerde uygulanmıştır. Ayrıca araştırmalar, formalin ile inaktive aşılardan enjeksiyon yoluyla uygulanmalarının levreklerde daldırma aşılama uygulamalarına göre mücadelede daha güvenli ve etkili olabileceğini göstermektedir (Nunez Ortiz vd., 2016). Levreklerde nodavirüsün kapsid proteininden türetilmiş sentetik peptidlerin ise yeterli düzeyde koruyucu etki sağlamadığı belirlenmiş, betanodavirüs kapsid proteinlerini kodlayan yapılar ile üretilmiş DNA temelli aşılardan ise yine levrek ve kalkan gibi balıklarda zayıf da olsa bir koruma oluşturduğu tespit edilmiştir (Thiery vd., 2006).

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Viral ensefalopati ve retinopati enfeksiyonu, Avrupa Birliği'nin balık hastalıkları gözetim ve kontrol mevzuatı değerlendirme listesine eklenmemiş olmakla birlikte, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından önemli hastalıklar sınıfına dahil edilmiştir (Barja, 2004). Ülkemizde balıklardan ilk betanodavirüs örneği 2011 yılında Özyer vd., (2014) tarafından Mersin ilinde yetiştirilen levreklerden izole edilmiş ve izole edilen virüsün % 99 oranında RGNNV izolatu ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte Uluslararası Akdeniz Yüksek Zirai Etütler Merkezi (CIHAEM), 2004 yılında Türkiye'nin de dahil edildiği ve Akdeniz'e kıyısı olan 9 ülkeye ait 27 farklı araştırma laboratuvarından temin ettikleri verileri bir araya getirerek hazırlanmış oldukları raporda bu ülkelerin tamamında nodavirüslerin varlığını bildirmiştir (Barja, 2004). Ayrıca Akdeniz'de orfoz balığının popülasyon değişimlerini gözlemek amacıyla kurulmuş olan orfoz çalışma grubu (Groupe d'Etude du Merou), içlerinde Türkiye'nin de yer aldığı Akdeniz kıyısında bulunan 12 ülkede nodavirüslerin izole edildiği bilgisini vermektedir (GEM, 2015). Bunlara ek olarak Avrupa Balık Hastalıkları Ulusal Referans Laboratuvarları Birliği, 2013 - 2016 yılları arasında bu enfeksiyonun gelişimini izlemeye almış ve levrek-çipura balıkları üretimi ile ekonomisinde yol açtığı kayıplar nedeniyle özellikle deniz balıkları yetiştiriciliği açısından son yıllardaki en önemli hastalık sorunu olduğunu ifade etmektedir (Olesen ve Vendramin, 2017). Bu nedenlerle, 2016 yılı rakamlarına göre toplam yetiştiricilik üretiminin yaklaşık % 60'ını deniz balıkları üretiminin oluşturduğu ve Avrupa ülkeleri arasında yapılan değerlendirmede levrek ve çipura üretimi miktarlarında ilk üç sıra içerisinde yer alan Türkiye için bu enfeksiyon daha da önemli bir hâl almaktadır (BSGM, 2017; Vendramin, 2017).

Son yirmi yıl içerisinde viral ensefalopati ve retinopati enfeksiyonu ile ilgili 100'den fazla makale yayınlanmıştır. Bu durum betanodavirüsler ile ilgili özellikle tanı ve kontrol yöntemlerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlamıştır. Örneğin bir araştırmada iki farklı nodavirüs serotipinin (RGNNV ve SJNNV) aralarında gerçekleşen gen aktarımı sonrasında ortaya çıkan virüs tipinin, çipuralarda daha güçlü bir enfeksiyona neden olduğu tespit edilmiştir. Üstelik virüsün tanımlanmış serotiplerinin bu balıkların larva aşamalarında etkin olduğu bilinirken, söz konusu yeni tipin yetişkin balıklarda da enfeksiyona neden olduğu saptanmıştır (Vendramin vd.,

2014). Bununla birlikte, virüsün moleküler özellikleri, konak tür ile virüs arasındaki etkileşimler ve doğal ortamlardaki aktarım mekanizmalarının daha detaylı olarak ortaya konabilmesi için yeni çalışmalara gereksinim vardır. Bu hastalıkla mücadelede her hastalıkta olduğu gibi öncelikle koruyucu önlemlerin alınması daha yararlı olacaktır. Deniz balıkları üreticileri ve sektör çalışanlarının hastalık konusunda bilgilendirilmeleri ve özellikle balık nodavirüslerinin dikey yolla bulaşımını önlemek için spesifik patojen içermeyen damızlıkların seçilmesinin sağlanmasına yönelik çalışmalar başlıca hedef olmalıdır. Bunun yanında hastalığın daha şiddetli olarak seyrettiği larvalarda periyodik olarak virüs taramalarına yönelik çalışmaların yapılması önemlidir.

## KAYNAKÇA

- Azad, I.S., Shekhar, M.S., Thirunavukkarasu, A.R. & Jithendran, K.P. (2006). Viral nerve necrosis in hatchery produced fry of Asian seabass *Lates calcarifer* sequential microscopic analysis of histopathology. *Diseases of Aquatic Organisms*, 73, 123-130. DOI: [10.3354/dao073123](https://doi.org/10.3354/dao073123)
- Banerjee, D., Hamod, M.A., Suresh, T. & Karunasagar, I. (2014) Isolation and characterization of a nodavirus associated with mass mortality in Asian seabass (*Lates calcarifer*) from the west coast of India. *Virus Disease*, 25(4), 425-429. DOI: [10.1007/s13337-014-0226-8](https://doi.org/10.1007/s13337-014-0226-8)
- Barja, J.L. (2004). Report about fish viral diseases. In P. Alvarez-Pellitero, J.L. Barja, B. Basurco, F. Berthe, A.E. Toranzo (Eds.), *Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories* (pp 91-102). Zaragoza: CIHEAM.
- Bergman, S.M. & Fichtner, D. (2008). Diseases caused by virus: Viral Diseases in Salmonids. In J. C. Eiras, H. Segner, T. Wahli & G.B. Kapoor (Eds.), *Fish Diseases Volume I* (pp 41-87). Enfield: Science Publishers.
- Bigarre, L., Cabon, J., Baud, M., Heimann, M., Body, A., Liefbrig, F. & Castric, J. (2009). Outbreak of betanodavirus infection in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in fresh water. *Journal of Fish Diseases*, 32, 667-673.
- Binesh, C.P. (2013). Genetic characterization of betanodavirus isolates from Asian Seabass *Lates calcarifer* (Bloch) in India. *Archives Virology*, 158: 1543-1546. DOI: [10.1007/s00705-012-1554-x](https://doi.org/10.1007/s00705-012-1554-x)
- Binesh, C.P., Renuka, K., Malaichami, N. & Greeshma, C. (2013). First report of viral nervous necrosis induced mass mortality in hatchery reared larvae of clownfish, *Amphiprion sebae* Bleeker. *Journal of Fish Diseases*, 36 (12): 1017-1020. DOI: [10.1111/jfd.12001](https://doi.org/10.1111/jfd.12001)
- Bitchava, K., Xylouri, E., Fragkiadaki, E., Athanassopoulou, F., Papanastassopoulou, M. & Sabatakou, O. (2007). First Incidence of Clinical Signs of Nodavirus Infection in Sea Bream, *Sparus aurata* L. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah*, 59(1), 3-9.
- Bovo, G., Gustinelli, A., Quaglio, F., Gobbo, F., Panzarin, V., Fusaro, A., Mutinelli, F., Caffara M. & Fioravanti, M.L. (2011). Viral encephalopathy and retinopathy outbreak in freshwater fish farmed in Italy. *Diseases of Aquatic Organisms*, 96, 45-54. DOI: [10.3354/dao02367](https://doi.org/10.3354/dao02367)
- Bovo, G. & Florio, D. (2008). Viral Diseases of Cultured Marine Fish. In J. C. Eiras, H. Segner, T. Wahli & G.B. Kapoor (Eds.), *Fish Diseases Volume I* (pp 185-202). Enfield: Science Publishers.
- Brock J.A. & Bullis R. (2001) Disease prevention and control for gametes and embryos of fish and marine shrimp. *Aquaculture*, 197, 137-159.
- BSGM. (2017). Su Ürünleri İstatistikleri. Alıntılanma adresi: [www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf](http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf) (18.04.2018)
- Castric, J., Thiery, R., Jeffrey, J., Kinkelin, P. & Raymond, J.C. (2001). Sea bream *Sparus aurata*, an asymptomatic contagious fish host for nodavirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, 47, 33-38. DOI: [10.3354/dao047033](https://doi.org/10.3354/dao047033)
- Cherif, N., Thiery, R., Castric, J., Biacchesi, S., Bremont, M., Thabti, F., Limem, L., & Hammami, S. (2009). Viral encephalopathy and retinopathy of *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata* farmed in Tunisia. *Veterinary Research Communications*, 33, 345-353. DOI: [10.1007/s11259-008-9182-3](https://doi.org/10.1007/s11259-008-9182-3)
- Chia, T.J., Wu, Y.C., Chen, J.Y. & Chi, S.C. (2010). Antimicrobial peptides (AMP) with antiviral activity against fish nodavirus. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(3), 434-439. DOI: [10.1016/j.fsi.2009.11.020](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.11.020)
- Costa, J.Z. & Thompson, K.D. (2016). Understanding the interaction between Betanodavirus and its host for the development of prophylactic measures for viral encephalopathy and retinopathy. *Fish & Shellfish Immunology*, 53, 35-49. DOI: [10.1016/j.fsi.2016.03.033](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.03.033)
- Crane, M. & Hyatt, A. (2011). Viruses of Fish: An Overview of Significant Pathogens. *Viruses*, 3, 2025-2046. DOI: [10.3390/v3112025](https://doi.org/10.3390/v3112025)
- Dalla Valle L., Toffolo, V., Lamprecht, M., Maltese, C., Bovo, G. Belvedere, P. & Colombo, L. (2005). Development of a sensitive and quantitative diagnostic assay for fish nervous necrosis virus based on two-target real-time PCR. *Veterinary Microbiology*, 110(3-4), 167-179. DOI: [10.1016/j.vetmic.2005.07.014](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.07.014)
- Doan, Q.K, Vandeputte, M., Chatain, B., Morin, T. & Allal, F. (2017). Viral encephalopathy and retinopathy in aquaculture: a review. *Journal of Fish Diseases*, 40, 717-742. DOI: [10.1111/jfd.12541](https://doi.org/10.1111/jfd.12541)
- Giacoppello, C., Foti, M., Bottari, T., Fisichella, V. & Barbera, G. (2013). Detection of viral encephalopathy and retinopathy virus (VERV) in wild marine fish species of the South Tyrrhenian Sea (Central Mediterranean). *Journal of Fish Diseases*, 36(9), 819-21. DOI: [10.1111/jfd.12095](https://doi.org/10.1111/jfd.12095)
- GEM, (2015). Nodavirus infections in the grouper. Alıntılanma adresi: [http://www.gemlemerou.org/cms/images/stories/GEM/Accueil/Nodavirus\\_infection\\_Grouper.pdf](http://www.gemlemerou.org/cms/images/stories/GEM/Accueil/Nodavirus_infection_Grouper.pdf) (17.04.2018).
- Gagne, N., Johnson, S. C., Cook-Versloot, M., MacKinnon, A. M. & Olivier, G. (2004). Molecular detection and characterization of nodavirus in several marine fish species from the northeastern Atlantic. *Diseases of Aquatic Organisms*, 62, 181-189. DOI: [10.3354/dao062181](https://doi.org/10.3354/dao062181)
- Glazebrook, J.S. & Campbell, R.S.F. (1987). Diseases of Barramundi (*Lates calcarifer*) in Australia. J.W. Copeland, D.L. Gray (Eds.), *Management of wild and cultured sea bass/barramundi (Lates calcarifer)*, Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia, pp.204-209
- Gomez, D.K., Baeck, G.W., Kim, J.H., Choresca, C.H. & Park, S.C. (2008). Molecular detection of betanodaviruses from apparently healthy wild marine invertebrates. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97, 197-202. DOI: [10.1016/j.jip.2007.10.012](https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.10.012)
- Hegde, A., Teh, H.C., Lam, T.J. & Sin, Y.M. (2003). Nodavirus infection in freshwater ornamental fish, guppy, *Poecilia reticulata* comparative characterization and pathogenicity studies. *Archives Virology*, 148, 575-586. DOI: [10.1007/s00705-002-0936-x](https://doi.org/10.1007/s00705-002-0936-x)
- Hetrick, F.M. (1989). Fish viruses. In B.Austin & D.A.Austin (Eds.), *Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish* (pp 216-239). Chichester: Ellis Horwood.

- Ichinose, T., Musyoka, T.M., Watanabe, K. & Kobayashi, N. (2013). Evaluation of antiviral activity of Oligonol, an extract of *Litchi chinensis*, against betanodavirus. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(6), 254-260. DOI: [10.5582/ddt.2013.v7.6.254](https://doi.org/10.5582/ddt.2013.v7.6.254)
- Johansen, R., Grove, S., Svendsen, A.K., Modahl, I. & Dannevig, B. (2004). A sequential study of pathological findings in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), throughout one year after an acute outbreak of viral encephalopathy and retinopathy. *Journal of Fish Diseases*, 27, 327-341. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2004.00548.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00548.x)
- Johnson, S.C., Sperker, S.A., Leggiadro, C.T., Groman, D.B., Griffiths, S.G., Ritchie, R.J., Cook, M.D. & Cusack, R.R. (2002). Identification and Characterization of a Piscine Neuropathy and Nodavirus from Juvenile Atlantic Cod from the Atlantic Coast of North America. *Journal of Aquatic Animal Health*, 14(2), 124-133. DOI: [10.1577/1548-8667\(2002\)014](https://doi.org/10.1577/1548-8667(2002)014)
- Kibenge, F.S.B., Godoy, M.G., Fast, M., Workenhe, S. & Kibenge, M.J.T. (2012). Countermeasures against viral diseases of farmed fish. *Antiviral Research*, 95(3), 257-281. DOI: [10.1016/j.antiviral.2012.06.003](https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.06.003)
- Kibenge, F.S.B. & Godoy, M.G., (2016). *Aquaculture Virology*. London: Academic Press.
- Korsnes, K., Devold, M., Nerland, A.H. & Nylund, A. (2005). Viral encephalopathy and retinopathy (VER) in Atlantic salmon *Salmo salar* after intraperitoneal challenge with a nodavirus from Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 68, 7-15. DOI: [10.3354/dao068007](https://doi.org/10.3354/dao068007)
- Maeno, Y., De La Pena, L.D. & Cruz-Lacierta, E.R. (2007). Susceptibility of Fish Species Cultured in Mangrove Brackish Area to Piscine Nodavirus. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 41(1), 95-99. DOI: [10.6090/jarq.41.95](https://doi.org/10.6090/jarq.41.95)
- Maltese, C. & Bovo, G. (2007). Viral encephalopathy and retinopathy. *Ittiopatologia*, 4, 93-146.
- Moriyama, K., Suzuki, T., Negishi, K., Graci, J.D., Thompson, C.N., Cameron, C.E., & Watanabe, M. (2008). Effects of Introduction of Hydrophobic Group on Ribavirin Base on Mutation Induction and Anti-RNA Viral Activity. *Journal of Medical Chemistry*, 51, 159-166. DOI: [10.1021/jm7009952](https://doi.org/10.1021/jm7009952)
- Möller, H. & Anders, K. (1986). *Diseases and parasites of marine fishes*. Kiel: Möller.
- Munday, B. (2003). *Viral encephalopathy and retinopathy-disease strategy manual*. East Brisbane: Fisheries Research and Development Corporation.
- Nakai, T., Mori, K., Sugaya, T., Nishioka, T., Mushiaki, K. & Yamashita, H. (2009). Current Knowledge on Viral Nervous Necrosis (VNN) and its Causative Betanodaviruses. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 61(3), 198-207.
- Nazari, A., Hassan, M. D., Bovo, G., Zor riezahra, M. J., Azmi, T. I. & Arshad, S.S. (2014). Pathogenicity of viral nervous necrosis virus for Guppy fish, *Poecilia reticulata*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(1), 168-177.
- Nishizawa, T., Takami, I., Kokawa, Y. & Yoshimizu, M. (2009). Fish immunization using a synthetic double stranded RNA Poly(I:C), an interferon inducer, offers protection against RGNNV, a fish nodavirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, 83, 115-122. DOI: [10.3354/dao02001](https://doi.org/10.3354/dao02001)
- Nunez Ortiz, N., Pascoli, F., Picchietti, S., Buonocore, F., Bernini, C., Toson, M., Scapigliati, & G., Toffan, A. (2016). A formalin in activated immunogen against viral encephalopathy and retinopathy (VER) disease in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): immunological and protection effects. *Veterinary Research*, 47(1), 89-99. DOI: [10.1186/s13567-016-0376-3](https://doi.org/10.1186/s13567-016-0376-3)
- Oh, M.J., Jung, S.J., Kim, S.R., Rajendran, K.V., Kim, Y.J., Choi, T.J., Kim, H.R., & Kim, J.D. (2002). A fish nodavirus associated with mass mortality in hatchery-reared red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 211, 1-7. DOI: [10.1016/S0044-8486\(01\)00877-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00877-8)
- Olesen, N. J. & Vendramin, N. (2017). Overview of the disease situation and surveillance in Europe in 2016. In N.J. Olesen N.G.Andersen (Eds.), *21st Annual Workshop of the National Reference Laboratories for Fish Diseases 2017* (pp. 11-13). Lyngby, Denmark. Bildiriler Kitabı.
- OIE. (2017). Viral encephalopathy and retinopathy. Alıntılanma adresi: [www.oie.int/index.php?id=2439&L=0&htmfile=chapitre\\_viral\\_encephalopathy\\_retinopathy.htm](http://www.oie.int/index.php?id=2439&L=0&htmfile=chapitre_viral_encephalopathy_retinopathy.htm). (20.02.2018)
- Özyer, B.Ö., Kalaycı, G., İnçoğlu, Ş., Pekmez, K., & Küçükali, Y. (2014). The first isolation of betanodavirus from cultured seabass in Turkey. *Bornova Veteriner Bilimleri Dergisi*, 36(50), 13-17.
- Panzarin, V., Toffan, A., Abbadi, M., Buratin, A., Mancin, M., Braaen, S., Olsen, C.M., Bargelloni, L., Rimstad, E. & Cattoli, G. (2016). Molecular Basis for Antigenic Diversity of Genus Betanodavirus. *PLOS ONE*, 11(7), 1-18. DOI: [10.1371/journal.pone.0158814](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158814)
- Parameswaran, V., Rajesh Kumar, S., Ishaq Ahmed, V.P. & Sahul Hameed, A.S. (2008). A fish nodavirus associated with mass mortality in hatchery-reared Asian Sea bass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 275, 366-369. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2008.01.023](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.023)
- Patel, S., Korsnes, K., Bergh, O., Vik Mo, F., Pedersen J. & Helge Nerland, A. (2007). Nodavirus in farmed Atlantic cod *Gadus morhua* in Norway. *Diseases of Aquatic Organisms*, 77, 169-173. DOI: [10.3354/dao01842](https://doi.org/10.3354/dao01842)
- Poisa Beiro, L., Dios, S., Montes, A., Aranguren, R., Figueras, A. & Novoa, B. (2008). Nodavirus increases the expression of Mx and inflammatory cytokines in fish brain. *Molecular Immunology*, 45, 218-225. DOI: [10.1016/j.molimm.2007.04.016](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.04.016)
- Roongkamertwongsa, S., Kanchanakhan, S., Danayadol Y. & Direkbusarakom, S. (2005). Identification of a betanodavirus isolated from viral nervous necrosis disease in red-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) cultured in Thailand using PCR and sequence analysis. In P. Walker, R. Lester & M.G. Bondad-Reantaso (Eds.), *Diseases in Asian Aquaculture V* (pp. 207-216). Manila: Asian Fisheries Society.
- Salgado Miranda, C., Elizabeth Loza-Rubio, Edith Rojas-Anaya & Gary García-Espinosa. (2013). Viral vaccines for bony fish: past, present and future. *Expert Review of Vaccines*, 12(5): 567-578. DOI: [10.1586/erv.13.38](https://doi.org/10.1586/erv.13.38)
- Shetty, M., Maiti, B., Santhosh, K.S., Venugopal, M.N. & Karunasagar, I. (2012). Betanodavirus of Marine and Freshwater Fish: Distribution, Genomic Organization, Diagnosis and Control Measures. *Indian Journal of Virology*, 23(2), 114-123. DOI: [10.1007/s13337-012-0088-x](https://doi.org/10.1007/s13337-012-0088-x)
- Skliris, G.P., Krondiris, J.V., Sideris, D.C., Shinn, A.P., Starkey, W.G. & Richards, R.H. (2001). Phylogenetic and antigenic characterization of new fish nodavirus isolates from Europe and Asia. *Virus Research*, 75(1), 59-67. DOI: [10.1016/S0168-1702\(01\)00225-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(01)00225-8)
- Smail, D.A. & Munro, A.L.S. (2012). The virology of the teleosts. In R.J.Robert (Ed.), *Fish Pathology* (pp 186-292) New York: Bailliere Tindall.
- Souto, S., Merour, E., Biacchesi, S., Bremont, M., Oliveira, J.G. & Bandin, I. (2015). In vitro and in vivo characterization of molecular determinants of virulence in reassortant betanodavirus. *Journal of General Virology*, 96, 1287-1296. DOI: [10.1099/vir.0.000064](https://doi.org/10.1099/vir.0.000064)
- Tanaka S., Takagi M. & Miyazaki T. (2004). Histopathological studies on viral nervous necrosis of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* Thunburg, at the growout stage. *Journal of Fish Diseases*, 27, 385-399. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2004.00559.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00559.x)
- Terlizzi, A., Tedesco, P. & Patarnello, P. (2012). Spread of Pathogens from Marine Cage Aquaculture - A Potential Threat for Wild Fish Assemblages Under Protection Regimes. *Health and Environment in Aquaculture*, 12, 403-414. DOI: [10.5772/30826](https://doi.org/10.5772/30826).
- Thiery, R., Cozien, J., Cabon, J., Lamour, F., Baud, M. & Schneemann, A. (2006). Induction of a Protective Immune Response against Viral Nervous Necrosis in the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* by Using Betanodavirus Virus - Like Particles. *Journal of Virology*, 80(20), 10201-10207. DOI: [10.1128/JVI.01098-06](https://doi.org/10.1128/JVI.01098-06)
- Toffan, A., Pascoli, F., Pretto, T., Panzarin, V., Abbadi, M., Buratin, A., Quaratesan, R., Gijón, D. & Padrós, F. (2017). Viral nervous necrosis in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) caused by reassortant betanodavirus RGNNV/SJNNV: an emerging threat for Mediterranean aquaculture. *Scientific Reports*, 7, 1-12. DOI: [10.1038/srep46755](https://doi.org/10.1038/srep46755)
- Totlandl G. K., Grotmol, S., Morita, Y., Nishioka, T. & Nakai, T. (1999). Pathogenicity of nodavirus strains from striped jack *Pseudocaranx dentex* and Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*, studied by waterborne

- challenge of yolk-sac larvae of both teleost species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 38, 169-175. DOI: [10.3354/dao038169](https://doi.org/10.3354/dao038169)
- Ucko, M., Colomi, A. & Diamant, A. (2004). Nodavirus infections in Israeli mariculture. *Journal of Fish Diseases*, 27, 459-469. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2004.00565.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00565.x)
- Vendramin, N., Patamello, P., Toffan, A., Panzarin, V., Cappelozza, E., Tedesco, P., Terlizzi, A., Terregino, C. & Cattoli, G. (2013). Viral Encephalopathy and Retinopathy in groupers (*Epinephelus* spp.) in southern Italy: a threat for wild endangered species. *BMC Veterinary Research*, 9(20), 1-7. DOI: [10.1186/1746-6148-9-20](https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-20)
- Vendramin, N., Toffan, A., Mancin, M., Cappelozza, E., Panzarin, V., Bovo, G., Cattoli, G., Capua, I. & Terregino, C. (2014). Comparative pathogenicity study of ten different betanodavirus strains in experimentally infected European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 37, 371-383. DOI: [10.1111/jfd.12117](https://doi.org/10.1111/jfd.12117)
- Vendramin, N. (2017). Update on fish disease situation in the Mediterranean basin. Alıntılama adresi: [http://www.eurl-fish.eu/-/media/Sites/EURL-FISH/english/activities/annual%20meetings/21st-AW-2017/Presentations/Session-1/Niccol-Vendramin\\_Mediterranean.ashx?la=da](http://www.eurl-fish.eu/-/media/Sites/EURL-FISH/english/activities/annual%20meetings/21st-AW-2017/Presentations/Session-1/Niccol-Vendramin_Mediterranean.ashx?la=da) (18.04.2018)
- Walker, P.J. & Winton, J.R. (2010). Emerging viral diseases of fish and shrimp. *Veterinary Research*, 41, 51. DOI: [10.1051/vetres/2010022](https://doi.org/10.1051/vetres/2010022)
- Workenhe S.T., Rise M.L., Kibenge, M.J., & Kibenge F.S. (2010). The fight between the teleost fish immune response and aquatic viruses. *Molecular Immunology*, 47(16), 2525-2536. DOI: [10.1016/j.molimm.2010.06.009](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.06.009)
- Yamashita, H., Fujita, Y., Kawakami, H. & Nakai, T. (2005). The Efficacy of Inactivated Virus Vaccine against Viral Nervous Necrosis (VNN). *Fish Pathology*, 40(1), 15-21. DOI: [10.3147/jfsfp.40.15](https://doi.org/10.3147/jfsfp.40.15)
- Yanong, R.P.E. (2010). Viral Nervous Necrosis (Betanodavirus) Infections in Fish. Alıntılama adresi: <http://edis.ifas.ufl.edu/fa180> (20.02.2018).
- Zhou, X. (2017). An Overview of Recently Published Global Aquaculture Statistics. Alıntılama adresi: <http://www.fao.org/3/a-i7171e.pdf> (17.04.2018).
- Zorriehzahra, M.E.J., Ghasemi M., Ghiasi, M., Karsidani S.H., Bovo, G., Nazari, A., Adel, M., Arizza, V. & Dhama, K. (2016). Isolation and confirmation of viral Nervous necrosis (VNN) disease in golden grey mullet (*Liza aurata*) and leaping mullet (*Liza saliens*) in the Iranian waters of the Caspian Sea. *Veterinary Microbiology*, 190, 27-37. DOI: [10.1016/j.vetmic.2016.04.023](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.023)