

İnfluenza B Virüslerinin Epidemiyolojisinde Demografi, Antijenik Özellikler ve Filogenetik İlişkilerin Bağlantısı

Linking Demography, Antigenic Characteristics and Phylogenetic Relationships in the Epidemiology of Influenza B Viruses

Muhammet Ekin Azbazdar^{*,**}, Zeynep Ahsen Koçer^{*,**}

* Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, Biyotıp ve Sağlık Teknolojileri Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
** İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, Yeni Viral Hastalıklar Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

Atf/Cite as: Azbazdar ME, Koçer ZA. İnfluenza B virüslerinin epidemiyolojisinde demografi, antijenik özellikler ve filogenetik ilişkilerin bağlantısı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2025;55(1):73-92.

Öz

Amaç: Çalışmanın amacı, tam uzunlukta açık okuma çerçevesi açık erişimli GISAID veri tabanında bulunan tüm hemaglutinin (HA) gen dizilerini kullanarak, 2010-2024 yılları arasında Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşan influenza B virüslerinin filogenetik ilişkilerini araştırmaktır. Ayrıca, çalışma mevsimler arası antijenik uzaklıkları belirlemeyi ve demografik bilgilerin dahil edilmesi ile bu faktörlerin influenza B virüslerinin epidemiyolojisi üzerindeki olası etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır.

Yöntem: Türkiye, Ukrayna, Yunanistan, Bulgaristan, Gürcistan, Ermenistan, İran ve Suriye'den 2010-2024 yılları arasında veri tabanına yüklenmiş Victoria ve Yamagata soyuna ait tam uzunluktaki HA gen dizileri, MAFFT ile hizalanmış ve filogenetik yakınlıkları ultrafast bootstrap yöntemi (1000 tekrar) ile IQ-TREE arayüzünde analiz edilmiştir. Veri tabanında yer alan demografik bilgiler kullanılarak, hastalar yaş gruplarına göre kategorize edilmiştir. Aynı dizilerin antijenik bölgelerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiş ve sezonlar arası antijenik uzaklıklar Needleman-Wunsch algoritması ile hesaplanmıştır.

Bulgular: Victoria soyuna ait virüslerin 0-18 yaş arası çocuk ve gençlerde, Yamagata soyundan virüslerin 19 yaş üstü yetişkinlerde çoğunlukta olduğu belirlenmiştir. Filogenetik analizler, Victoria soyunda sezonlar arası genetik farklılıkların daha belirgin olduğunu, Yamagata soyunda bu farklılıkların daha sınırlı kaldığını göstermiştir. Bu durum, yaş faktörünün yakın coğrafyalardaki virüslerin yayılımında daha az etkili olabileceği ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, Yamagata soyundan virüslerin HA proteinlerindeki antijenik değişimlerin daha stabil olduğu, Victoria soyundan virüslerin ise daha sık ve dinamik değişimler geçirdiği saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma, farklı soylardan influenza B virüslerinin evrimsel dinamiklerinde ve epidemiyolojisinde, HA proteininin antijenik bölgelerinde meydana gelen değişikliklerin önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, Yamagata soyundan virüslerin coğrafi yayılmalarının sınırlı kalmasının ve antijenik yapılarının sezonlar arası korunmuş olmasının, bu soydan virüslerin popülasyondan silinmesine katkı sağlayabileceği öne sürülmüştür.

Anahtar kelimeler: influenza B virüsleri, hemaglutinin, filogenetik

ABSTRACT

Objective: In the present study, we aimed to investigate the phylogenetic relationships of influenza B viruses circulating in Türkiye and neighboring countries from 2010 to 2024 using full-length hemagglutinin (HA) genes available on GISAID. Additionally, we aimed to determine the antigenic distances and evaluate the potential impact of these factors and demographic data on virus epidemiology.

Methods: Full-length HA gene sequences of Victoria and Yamagata viruses from Türkiye, Ukraine, Greece, Bulgaria, Georgia, Armenia, Iran, and Syria (2010–2024) were aligned using MAFFT. Phylogenetic relationships were analyzed using IQ-TREE with the ultrafast bootstrap method (1,000 replicates). Patients were categorized into age groups based on demographic data. Antigenic distances between seasons were calculated using the Needleman-Wunsch algorithm.

Results: Victoria viruses were predominantly detected in children and adolescents (0–18 years), while Yamagata viruses were more common in adults (19 years and older). Phylogenetic analyses revealed more pronounced genetic differences between seasons for Victoria viruses, whereas Yamagata viruses showed limited variation. This suggested that age might play a less significant role in the spread of viruses within geographically close regions. Furthermore, the antigenic sites of HA proteins in Yamagata viruses were more stable, while those in Victoria viruses showed frequent and dynamic changes.

Conclusion: The study demonstrated that changes occurring in the antigenic regions of the HA protein might play a significant role in the evolutionary dynamics and epidemiology of influenza B viruses from different lineages. Moreover, the limited geographic spread and conserved antigenic structures of Yamagata viruses between seasons may contribute to their disappearance from the population.

Keywords: influenza B viruses, hemagglutinin, phylogenetics

Alındığı tarih / Received:
21.11.2024 / 21.November.2024

Kabul tarihi / Accepted:
10.02.2025 / 10.February.2025

Yayın tarihi / Publication date:
24.03.2025 / 24.March.2025

ORCID Kayıtları

M. E. Azbazdar 0000-0003-1752-3142
Z. A. Koçer 0000-0001-9178-0142

✉ zeynep.kocer@deu.edu.tr

GİRİŞ

İnfluenza virüsleri, toplum ve hayvan sağlığı üzerinde ciddi etkiler yaratan önemli viral patojenlerin başında gelmektedir. İnsanlarda dolaşımda olan influenza A ve B virüsleri, her yıl dünya çapında mevsimsel salgınlara yol açarak neredeyse bir milyona yakın vakaya neden olmaktadır⁽¹⁾. İnfluenza B virüsleri, küresel çapta salgınlara yol açmasa da dünya genelindeki mevsimsel influenza kaynaklı enfeksiyonların yaklaşık dörtte birinden sorumludur⁽²⁾. Ayrıca, influenza B enfeksiyonlarında karın ağrısı, kusma ve ishal gibi gastrointestinal belirtiler influenza A enfeksiyonlarına kıyasla daha yaygındır⁽²⁾. H3N2 alt tipli influenza A virüsleri, en yüksek solunum/kardiyovasküler ölüm oranına sahip olsa da (%8.47), H1N1 alt tipli influenza A virüslerinden (%2.83) daha yüksek oranlara sahip olan Yamagata (%5.81) ve Victoria (%3.68) soyuna ait influenza B virüsleri de dikkate değer ölçüde ölüme sebep olmaktadır⁽³⁾. Ayrıca, hastaneye yatış oranları açısından influenza B virüsleri (%50.1), 5–17 yaş grubunda H1N1 alt tipli influenza A virüsleri (%55.3) ile benzer düzeylerde seyretmektedir⁽⁴⁾. Bu bulgular, influenza B virüslerinin toplum sağlığı açısından ne denli önemli olduğunu gözler önüne serse de bu virüslerin epidemiyolojik özellikleri ve antijenik dinamikleri yeterince anlaşılamamıştır.

İnfluenza B virüslerinin genomu, negatif-polariteli tek-sarmallı RNA molekülünden oluşan sekiz ayrı gen parçasından meydana gelmektedir. Bu gen parçalarından temel olarak PB2, PB1, PA, HA, NP, NB, NA, M1, BM2, NS1 ve NEP proteinleri üretilmektedir⁽⁵⁾. Virüs genomunun replikasyonu sırasında, RNA-bağımlı RNA-polimerazın hataya meyilli yapısı ve/veya konak bağışıklık sistemi baskısı nedeniyle amino asit değişimleriyle sonuçlanan genetik ve antijenik değişimler meydana gelebilmektedir. Viral genomda meydana gelen pozitif veya negatif seçimler, yani virüse avantaj ya da dezavantaj sağlayabilecek değişimler sonucu, viral popülasyonların antijenik ve genetik yapısının değişmesi mümkündür. Bu değişimlerden belki de en önemlisi, influenza B virüslerinin Victoria ve Yamagata olmak üzere iki farklı genetik soya ayrılmasıdır⁽⁶⁾. Ancak, 2019 yılı itibarıyla dünyayı etkisi altına alan COVID-19 pandemisi sonrası dünya genelinde Yamagata soyuna ait influenza B virüslerinde belirgin bir azalma

tespit edilmiştir^(7,8). Bu durum, Yamagata soyuna ait virüslerin popülasyondan silinmiş olabileceğini ve gelecekte yalnızca Victoria soyuna ait virüslerin enfeksiyona yol açabileceğini düşündürmektedir^(7,8).

Viral genom tarafından üretilen proteinler arasında antijenik açıdan en önemli olanı hemaglutinin (HA) proteindir. Bu nedenle, bağışıklığın sağlanmasında aşı bileşeni olarak HA proteini tercih edilmektedir⁽⁹⁾. HA proteinindeki kritik antijenik bölgeler, 120. (pozisyon 116-137), 150. (pozisyon 141-150) ve 160. (pozisyon 162-167) kıvrımlar ile 190. (pozisyon 194-202) sarmalda yer almaktadır⁽¹⁰⁻¹²⁾. Bağışıklık sistemi tarafından üretilen nötralizan antikorlar genellikle bu bölgeleri hedef aldığından, bu bölgelerde meydana gelen değişiklikler antijenik sürüklenmeye neden olarak virüsün konak bağışıklık sisteminden kaçmasını kolaylaştırabilmektedir. Epidemiyolojik açıdan değerlendirildiğinde, Victoria ve Yamagata soylarına ait virüslerin farklı evrimsel stratejiler izlediği de bilinmektedir⁽¹³⁾. Örneğin, HA geninde meydana gelen nükleotid silinmeleri, Victoria soyundaki virüslerin antijenik özelliklerini daha çok etkilerken, Yamagata soyundaki virüslerde daha az etkiye sahiptir⁽¹³⁾. Özellikle 2016-2017 influenza sezonundan itibaren Victoria soyuna ait virüslerin HA proteinlerinin antijenik bölgelerinde iki (pozisyon 162-163) ya da üç amino asitlik (pozisyon 162-164) silinmeler olmuştur⁽¹⁴⁾. Sadece birkaç sezon içerisinde baskın hale gelen bu silinmeler, Victoria soyuna ait virüslerin antijenik yapısını önemli ölçüde değiştirmiştir⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. Daha da dikkat çekici olan, üç amino asitlik silinme içeren HA proteinlerinin, aşılardan sonra insanlardan toplanan antikorlarla çarpaz reaktivitesinde belirgin bir azalma göstermesidir⁽¹⁸⁾.

İnfluenza B virüslerinin epidemiyolojisini ve yayılımını etkileyen bir diğer faktör ise Victoria ve Yamagata soylarının farklı yaş gruplarını etkilemesidir. Küresel düzeyde 12.000'den fazla virüsün incelendiği bir çalışma, Victoria soyuna ait virüs enfeksiyonlarının en sık beş yaşındaki çocuklarda görüldüğünü ortaya koymuştur⁽¹³⁾. Buna karşın, Yamagata soyuna ait enfeksiyonlar 30 yaş üstü bireylerde daha yoğun bir dağılım göstermektedir⁽¹³⁾. Aynı çalışmadaki bir diğer çarpıcı sonuç ise, Yamagata soyuna ait virüslerin kıtalar arası yayılımının, Victoria soyuna

ait virüslere göre belirgin bir şekilde daha fazla olduğudur⁽¹³⁾. Bunun sebebinin, Victoria soyuna ait virüslerin yoğunluklu olarak çocuklarda hastalık oluşturmaları ve küresel virüs yayılımında yetişkinlerin daha etkin rol oynaması olarak görülmektedir^(13,19-21). Bu görüşü destekler nitelikte, bir başka çalışmada, Yamagata soyuna ait virüslerin ev halkı arasındaki geçişkenlik riskinin tüm yaş grupları için eşit olduğu, Victoria soyuna ait virüslerde ise bu riskin 15 yaş altı çocuklarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir⁽²²⁾. İnfluenza virüs enfeksiyonlarında yüksek riskli gruplardaki kişiler, ölümlerle sonuçlanabilecek şiddetli hastalık geliştirme bakımından toplumun diğer bireylerinden daha yüksek riske sahiptir⁽²³⁾. Altı ay ila beş yaş arasındaki çocuklar, 65 yaş üstü bireyler, hamileler, bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler ve kronik tıbbi rahatsızlıkları olanlar bu gruplara dahildir⁽²³⁾. Victoria soyuna ait virüslerin yüksek riskli gruplardaki çocukları enfekte edebileceği düşünüldüğünde, bu virüslerde meydana gelen genetik ve antijenik değişimlerin takibi daha da büyük önem kazanmaktadır. Bu kapsamda “Global İnfluenza Surveillance and Response System (GISRS)” koordinatörlüğünde çalışmalarını sürdüren “Global Initiative on Sharing All İnfluenza Data (GISAID)” veri tabanına tüm ülkelerden yüklenen veriler oldukça değerlidir.

Bu çalışmanın ana amacı, GISAID veri tabanına günümüze kadar yüklenmiş, açık erişimli ve tam uzunluktaki HA gen dizilerini kullanarak, farklı yıllarda Türkiye’de dolaşımda olan influenza B virüslerinin, komşu ülkelerdeki virüsler ile genetik ve antijenik benzerliklerinin yanı sıra filogenetik ilişkilerinin incelenmesi, bu sayede coğrafi yakınlığın bölgesel virüs dinamiklerine etkisine dair ilişkilerin sunulmasıdır. Bilgimiz dahilinde Türkiye’ye özgü olarak daha önce bu açıdan incelenmemiş influenza B virüslerinin antijenik özelliklerinin daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir. Böylece bu çalışma, gelecekte daha geniş coğrafyaları içeren ve ticaret yolları, uluslararası seyahat gibi farklı faktörleri dikkate alan araştırmalara temel oluşturma potansiyeline sahiptir. Bunun yanı sıra, COVID-19 pandemisi sonrası popülasyondan kaybolan Yamagata ve küresel düzeyde baskın hale gelen Victoria soyuna ait virüslerin HA proteinlerindeki antijenik değişimlerin araştırılması hedeflenmiştir.

Çalışma kapsamında ayrıca, yine GISAID veri tabanında yer alan bilgilere dayalı, çalışma grubu olarak belirlenen Yamagata ve Victoria soylarına ait influenza B virüslerinin sezonlara, ülkelere ve virüslerin saptandığı hastaların yaş gruplarına göre dağılımları incelenerek, yaş gruplarının ve coğrafi konumların virüsün epidemiyolojisine katkısının anlaşılması amaçlanmıştır. Türkiye’de dolaşımda olan influenza B virüslerini biyoinformatik yöntemlerle inceleyen bu çalışmanın, gelecekte yapılacak *in vitro* araştırmalara temel oluşturacağı düşünülmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Verinin seçim kriterleri: Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan mevsimsel influenza B virüslerinin genetik ve antijenik benzerliklerinin saptanması ve filogenetik ilişkilerinin araştırılması amacıyla, tam uzunluktaki tüm HA gen dizileri ile, var ise, bu virüslerin saptandığı hastaların yaş bilgileri, başlangıç tarihi belirtilmeksizin, GISAID veri tabanından elde edilmiştir (Erişim tarihi: 31 Ağustos 2024). Seçilen ülkelerin coğrafi olarak Türkiye’ye yakın ülkeler olmasına dikkat edilmiş ve Türkiye’nin yanı sıra sınır komşusu olan Yunanistan, Bulgaristan, Gürcistan, Ermenistan, İran ve Suriye’de dolaşımda olan influenza B virüslerinin HA gen dizileri çalışma kapsamına dahil edilmiştir. Sınır komşusu olmamasına rağmen Türkiye’nin kuzeyini temsil etmesi adına Ukrayna’da dolaşımda olan influenza B virüsleri de analizlere eklenmiştir. Yukarıda belirtilen tarihler arasında erişime açık tüm gen dizileri indirilmiş olmasına rağmen, 2009-2010 sezonu ve öncesinde yalnızca Ukrayna için veri girişi mevcuttur. Bu sebeple, çalışmaya sadece 2010-2011 sezonu ve sonrasında saptanan influenza B virüsleri dahil edilmiştir.

Virüslerin antijenik soylara, yıllara, ülkelere ve yaş gruplarına göre dağılımı: Çalışma grubu olarak belirlenen influenza B virüslerinin HA genleri soylara göre filtrelenerek GISAID veri tabanından indirilmiştir. Veri tabanında, aynı virüs suşunun klinik örnekten elde edilmiş dizisinin yanı sıra farklı pasajlarından temin edilmiş gen dizileri de bulunabileceği için, virüsler yıllara, ülkelere ve yaş gruplarına göre kategorize edilmeden önce aynı virüs için tekrar eden diziler elenmiş ve her bir virüs için sadece bir HA gen

dizisi analizlerde kullanılmıştır. Bu doğrultuda, ilk olarak klinik örnekten elde edilen dizi seçilmiş, klinik örneğe ait herhangi bir dizi yok ise en düşük sayılı hücre kültürü pasajından izole edilen virüsün HA gen dizisi tercih edilmiştir. Çalışma grubunda bulunan her bir ülkedeki virüsler: 1) soylara ve sezonlara göre ve 2) soylara ve virüslerin saptandığı hastaların yaş gruplarına (0-5, 6-10, 11-18, 19-65 ve 65 yaş üstü) göre kategorize edilmiştir. Virüslerin tespit edildiği hastalara ait herhangi bir yaş bilgisi veri tabanında belirtilmemiş ise grafiklerde “belirtilmemiş” olarak tanımlanmıştır. Tüm ülkelerdeki hastaların farklı yaş guruplarındaki sayılarının ortalaması alınarak grafiklerde belirtilmiştir. Ülkelere ve soylara göre gruplanan yaş dağılımları, yüzdesel değerlere dönüştürülerek GraphPad Prism (v10.1.0, Dotmatics) programında görselleştirilmiştir.

Maksimum olabilirlik filogenetik analizleri: Seçilim kriterlerine göre belirlenen ve GISAID veri tabanında erişime açık olan Victoria ve Yamagata soylarına ait influenza B virüslerinin nükleotid düzeyindeki genetik yakınlıkları, HA gen dizilerinin maksimum olabilirlik (maximum likelihood) filogenetik analizlerine tabi tutulması ile değerlendirilmiştir. İnfluenza B virüslerine ait tam uzunluktaki HA gen dizileri, GISAID veri tabanından soylara göre filtrelenerek indirilmiş ve Unipro UGENE (v48.0) programındaki MAFFT eklentisi kullanılarak çoklu dizi hizalamasına tabi tutulmuştur⁽²⁴⁾. Açık okuma çerçevesi dışında kalan nükleotidler çıkartılmış ve toplam uzunluğu Victoria soyu için 1758 baz ve Yamagata soyu için 1755 baz olacak şekilde hizalanmış gen dizileri elde edilmiştir. Okuma kalitesi düşük olan, yani okunmamış nükleotid sayısı ikiden fazla olan diziler ve “A”, “T”, “G” ve “C” dışında karakter içeren diziler filogenetik analiz sonuçlarının yanlış yorumlanmaması adına çalışma dışında bırakılmıştır. Maksimum olabilirlik filogenetik analizleri IQ-TREE arayüzünde⁽²⁵⁾, 1000 tekrar olacak şekilde ultrafast bootstrap (UFBoot) yöntemi⁽²⁶⁾ kullanılarak ve ModelFinder⁽²⁷⁾ ile en uygun yer değiştirme modeli seçilerek (K3Pu+F+G4) gerçekleştirilmiştir. En uygun model, test edilen modeller arasında en yüksek “Bayesian Information Criterion (BIC)” değerine sahip modelin algoritma tarafından otomatik olarak seçilmesi ile belirlenmiştir.

Son olarak, filogenetik ağaçlar Interactive Tree of Life (ITOL) (v6) arayüzünde görselleştirilmiştir⁽²⁸⁾. Bootstrap değeri %50'nin altında kalan dallar analizin güvenilirliğini artırmak amacıyla ağaçtan çıkarılmıştır.

Virüslerin HA genine göre sezon içi antijenik değişimlerinin belirlenmesi: Her bir sezondaki antijenik değişimlerin incelenmesi için maksimum olabilirlik filogenetik analizlerinde kullanılan ve hizalanmış olan HA gen dizileri, Unipro UGENE (v48.0) programı kullanılarak amino asit dizilerine çevrilmiştir⁽²⁴⁾. İnfluenza B virüslerinin HA proteinlerinin numaralandırılmasına sinyal peptidinin çıkartılması sonrası başlanmaktadır. Bu nedenle, çalışma grubundaki virüslerin HA protein numaralandırılması, 1. ve 15. amino asit pozisyonları arasındaki sinyal peptidinin çıkarılmasının ardından gerçekleştirilmiştir. Her bir soy için antijenik bölgelerin pozisyonları ayrı ayrı saptanmış ve bu pozisyonlardaki değişimler her bir sezon için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Antijenik bölgeler, literatürde yer alan bilgiler doğrultusunda belirlenmiştir⁽¹⁰⁻¹²⁾: 120. (pozisyon 116-137), 150. (pozisyon 141-150) ve 160. (pozisyon 162-167) kıvrımlar ile 190. (pozisyon 194-202) sarmal. Tespit edilen amino asit varyasyonları, sezon içerisindeki toplam virüs sayısına bölünerek varyasyonların frekansları belirlenmiştir.

Virüslerin HA genlerine göre sezonlar arası antijenik uzaklıklarının hesaplanması: Çalışma kapsamındaki Victoria ve Yamagata soyuna ait virüslerin sezonlar arası antijenik uzaklıklarının hesaplanması için Needleman-Wunsch algoritması kullanılmıştır⁽²⁹⁾. Antijenik uzaklıkları araştırmak için deneysel olarak Hemaglütinasyon İnhibisyonu (HI) testleri ve buna bağlı antijenik kartografi incelemeleri yapılmaktadır⁽³⁰⁻³²⁾. Ancak, ön verilerin hızlıca elde edilmesi için HI testlerinin yanı sıra dizi bazlı analizler ve belirli bir gendeki korunmuşluk oranlarının incelenmesi de tercih edilebilmektedir^(33,34). Bu analizler, Hamming ve Needleman-Wunsch gibi yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir⁽³⁵⁻³⁸⁾. Sezonlar arası antijenik uzaklıklar, bir sezondaki tüm virüslerin antijenik bölgelerinde saptanan ortalama değişikliklerin, bir diğer sezondaki tüm virüslerin antijenik bölgelerindeki ortalama değişikliklerin

karşılaştırılması ile belirlenmiştir. Antijenik bölgeler, literatürde yer alan bilgiler doğrultusunda değerlendirilmiştir⁽¹⁰⁻¹²⁾: 120. (pozisyon 116-137), 150. (pozisyon 141-150) ve 160. (pozisyon 162-167) kıvrımlar ile 190. (pozisyon 194-202) sarmal. Sezonlar arası antijenik uzaklıklar aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır⁽²⁹⁻³⁹⁾:

$$d(\text{dizi1}, \text{dizi2}) = \sum_{i \in \text{Antijenik Bölgeler}} \delta(\text{dizi1}[i] \neq \text{dizi2}[i])$$

$d(\text{dizi1}, \text{dizi2})$, iki dizi arasındaki toplam antijenik farklılığı ifade ederken $\delta(\text{dizi1}[i], \text{dizi2}[i])$ Kronecker delta fonksiyonu olarak tanımlanmıştır: $\delta(a, b)$ için $a \neq b$ ise 1 (uyumsuzluk), $a = b$ ise 0 (eşleşme) şeklindedir.

Farklı uzunluktaki antijenik bölgeleri karşılaştırmayı kolaylaştırmak için, elde edilen sonuçlar toplam antijenik pozisyon sayısına göre normalize edilmiştir. Elde edilen değerler 0 ile 1 arasında ölçeklendirilmiş ve antijenik uzaklık matrisi oluşturulmuştur. Bu değerlerin sıfıra yakın olması sezonlar arası antijenik uzaklığın az olduğu anlamına gelirken bire yakın olması birçok farklı pozisyonda değişim olduğunu ve antijenik uzaklığın fazla olduğunu göstermektedir. Normalizasyon ve ölçeklendirme için aşağıdaki formüller kullanılmıştır⁽³⁹⁻⁴⁰⁾:

$$\text{Normalizasyon} = \frac{d(\text{dizi1}, \text{dizi2})}{L_{\text{Antijenik Bölgeler}}}$$

$$\text{Ölçeklendirilmiş Uzaklık} = \frac{d(\text{dizi1}, \text{dizi2}) - d_{\text{minimum}}}{d_{\text{maksimum}} - d_{\text{minimum}}}$$

$L_{\text{Antijenik Bölgeler}}$ karşılaştırılan antijenik bölgelerdeki toplam pozisyon sayısını ifade ederken $d(\text{dizi1}, \text{dizi2})$ iki sezon arasındaki ham uzaklığı, d_{minimum} uzaklık matrisindeki minimum uzaklığı ve d_{maksimum} uzaklık matrisindeki maksimum uzaklığı temsil etmektedir.

Sezonlar arası antijenik uzaklıkların istatistiksel ilişkilerini değerlendirmek amacıyla korelasyon matrisi analizi yapılmıştır. Bu analiz, GraphPad Prism (v10.1.0, Dotmatics) uygulaması kullanılarak gerçekleştirilmiş ve Pearson korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Pearson r değerleri, iki değişken arasındaki doğrusal ilişkiyi ifade etmekte ve -1 ile 1 arasında değişmektedir: -1 değeri negatif doğrusal

bir ilişkiyi, 1 değeri pozitif doğrusal bir ilişkiyi, 0 ise iki değişken arasında doğrusal bir ilişki olmadığını belirtir. Bu katsayıların istatistiksel anlamlılığı, p-değerleri ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık dereceleri, p-değerlerine göre şu şekilde sınıflandırılmıştır: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Korelasyon matrisi sonuçları yine GraphPad Prism (v10.1.0, Dotmatics) uygulaması ile görselleştirilmiş ve verilerin daha kolay yorumlanabilmesi için ısı harita (heatmap) formatında sunulmuştur.

BULGULAR

Influenza B virüslerinin ülkelere, sezonlara, hasta yaş gruplarına ve soylara göre incelenmesi: Bu çalışmada, 2010-2024 yılları arasında dolaşımda olan influenza B virüslerinin Türkiye ve komşu ülkelerdeki filogenetik ilişkilerinin yanı sıra HA geninde meydana gelen antijenik değişimlerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu bilgiler, GISAID veri tabanında yer alan demografik verilerle ilişkilendirilerek influenza B virüslerinin epidemiyolojisi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan HA gen dizileri, veri tabanından soylara göre filtrelenerek indirilmiş, soylara, ülkelere, sezonlara ve hasta yaş gruplarına göre sayısal olarak değerlendirilmiştir.

HA gen dizileri ülkelere göre incelendiğinde, verilerin büyük bir kısmının Ukrayna'dan yüklendiği ($n=356$) tespit edilmiştir. Türkiye ($n=113$), Yunanistan ($n=117$), Bulgaristan ($n=90$), Gürcistan ($n=63$), Ermenistan ($n=43$), İran ($n=29$) ve Suriye'den ($n=14$) yüklenen diziler, Ukrayna'yı takip etmektedir (Tablo 1). Tüm sezonlar dikkate alındığında, GISAID veri tabanına Ukrayna (237/356), Yunanistan (59/117), Bulgaristan (63/90), Gürcistan (40/63) ve Suriye'den (14/14) yüklenmiş dizilerde Victoria soyuna ait virüslerin baskın olduğu, Türkiye (70/113), Ermenistan (29/43) ve İran'dan (20/29) yüklenmiş dizilerde ise Yamagata soyunun daha fazla olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Soyların sezonlara göre dağılımı incelendiğinde, Victoria soyuna ait virüslerin çoğu sezonda (8/13) baskın olduğu görülmüştür (Tablo 1). Çalışmaya dahil edilen ülkelerden GISAID veri tabanına yüklenen Victoria soyuna ait HA gen dizisi en fazla 2016-2017

Tablo 1. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan influenza B virüslerinin ülkelere, sezonlara ve soylara göre dağılımları

Sezon	Ülkeler/Virüs Sayıları ^a															
	Türkiye		Ukrayna		Yunanistan		Bulgaristan		Gürcistan		Ermenistan		İran		Suriye	
	V	Y	V	Y	V	Y	V	Y	V	Y	V	Y	V	Y	V	Y
2023-2024	4		64	1	10		3									
2022-2023	1		21		7		25				5		3		14	
2021-2022			3													
2019-2020	4		12		8		10		11		6		1			
2018-2019	1	1			2	5			3			5	1	2		
2017-2018	1	36	56	17		33	2	16		9		22		2		
2016-2017	12	7	51	4	19		2		11		3		1	2		
2015-2016	15		3		8		20		7				1	2		
2014-2015		10			67		14		5		8				5	
2013-2014	3	6			7					4					3	
2012-2013					23		1		6	3	2		2	1	3	
2011-2012		1	3		4	5			4							
2010-2011	2	9	24		1		1		1				1	1		
TOPLAM	43	70	237	119	59	58	63	27	40	23	14	29	9	20	14	
	113		356		117		90		63		43		29		14	

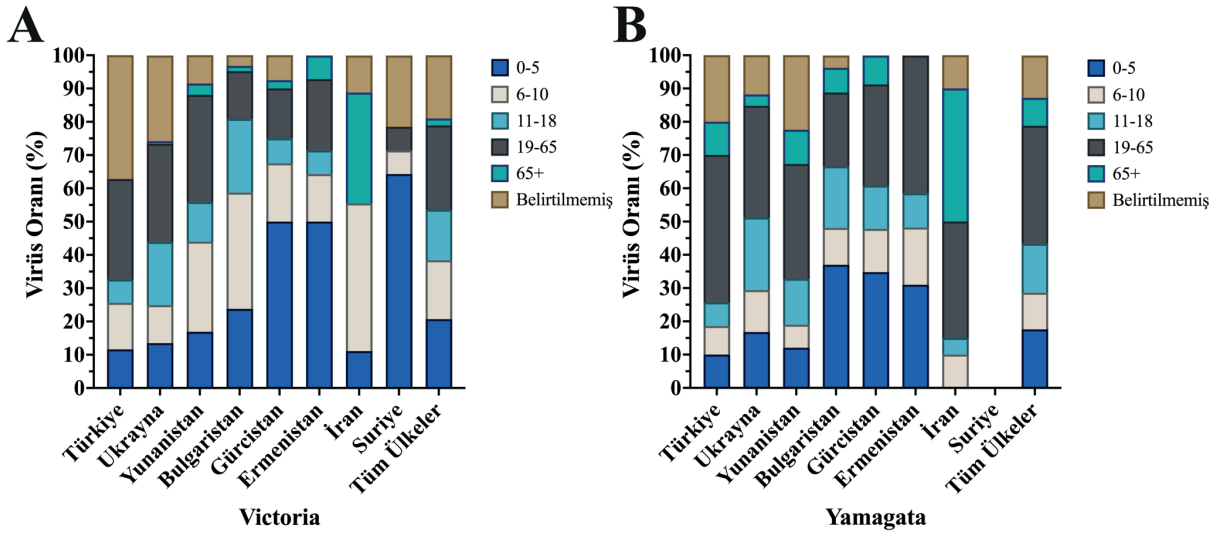
^aVictoria ve Yamagata soylarına ait virüslerin sayıları her bir ülke için sırasıyla V ve Y sütunlarında belirtilmiştir.

sezonu için bulunurken (n=99), Yamagata soyuna ait virüsler için en fazla dizinin 2017-2018 sezonunda yüklendiği belirlenmiştir (n=135) (Tablo 1). Bununla birlikte, Yamagata soyuna ait diziler 2018-2019 sezonunda belirgin bir düşüş yaşamış (n=13) ve bu sezondan sonra yalnızca 2023-2024 sezonunda Ukrayna'dan yüklenen bir HA dizisi tespit edilmiştir (Tablo 1). Ancak, söz konusu dizi kalite kriterlerini karşılamadığı için filogenetik ve antijenik analizlerde kullanılamamıştır.

Veri tabanına yüklenmiş HA gen dizilerinin ait olduğu hastaların yaş bilgileri incelenmiş ve yaş grupları 0-5, 6-10, 11-18, 19-65 ve 65 yaş üstü olarak kategorize edilmiştir. Grafiklerde, virüs soyları temel alınarak yaş gruplarına göre dağılımlar görselleştirilmiştir (Şekil 1). Bazı hastaların yaş bilgisi veri tabanında yer almadığı için bu grup "belirtilmemiş" olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 1).

Victoria soyuna ait virüslerin saptandığı hastalarda tüm ülkelerde genel dağılıma bakıldığında, %53.7 ile en geniş grubu 0-18 yaş arasındaki çocuk ve gençlerin oluşturduğu gözlemlenmiştir (Şekil 1A). Ancak ülkeler bazında incelendiğinde, virüs saptanan hastaların yaş gruplarında farklı dağılımlar gözlenmiştir. Yunanistan, Türkiye ve Ukrayna'da, en yüksek oranlar 19-65 yaş aralığında gözlemlenmiştir (sırasıyla %32.2, %30.2 ve %29.5) (Şekil 1A). Öte yandan, Bulgaristan ve İran'da en yüksek oranlar 6-10 yaş grubunda görülürken (sırasıyla %34.9 ve %44.4), Gürcistan, Ermenistan ve Suriye'de en yüksek oranlar 0-5 yaş grubunda gözlemlenmiştir (sırasıyla %50, %50 ve %64.3) (Şekil 1A).

Yamagata soyuna ait virüsler 18 yaş altı veya üstü olarak incelendiğinde, Ukrayna (%51.3), Bulgaristan (%66.7), Gürcistan (%60.9) ve Ermenistan'da (%58.6) 0-18 yaş grubundaki hastaların (0-5, 6-10 ve 11-18



Şekil 1. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan influenza B virüslerinin elde edildiği hastalara ait GISAID veri tabanında bulunan yaş bilgileri. Victoria (A) ve Yamagata (B) virüslerinin saptandığı hastaların yaşları beş farklı grupta kategorize edilmiştir (0-5 yaş: koyu mavi, 6-10 yaş: bej, 11-18 yaş: açık mavi, 19-65 yaş: gri ve 65 yaş üstü: turkuaz). Herhangi bir yaş bilgisi veri tabanında belirtilmemiş hastalara ait virüslerin oranı kahverengi ile gösterilmiştir. Türkiye dışındaki ülkeler toplam virüs sayılarına göre soldan sağa doğru sıralanmış, tüm ülkelerdeki hastaların ortalamasını gösteren bulgular son sütunlarda verilmiştir.

yaş); Türkiye (%54.3), Yunanistan (%44.8) ve İran'da (%75) ise 19 yaş üstü hastaların (19-65 ve 65 yaş üstü) çoğunluğu oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 1B). Ancak, hastalar alt kategorilere ayrıldığında (0-5, 6-10, 11-18, 19-65 ve 65 yaş üstü), Türkiye, Ukrayna, Yunanistan, Ermenistan ve İran'da çoğunluk 19-65 yaş grubunda iken (sırasıyla %44.3, %33.6, %34.5, %41.4 ve %35), Bulgaristan ve Gürcistan'da çoğunluk 0-5 yaş grubundadır (sırasıyla %37 ve %34.8) (Şekil 1B). Tüm ülkelerdeki hastaların ortalaması alındığında ise, %43.9 ile 19 yaş üstündeki hastaların daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 1B).

Türkiye'de dolaşımda olan influenza B virüslerinin komşu ülkelerdeki virüslerle filogenetik yakınlıkları:

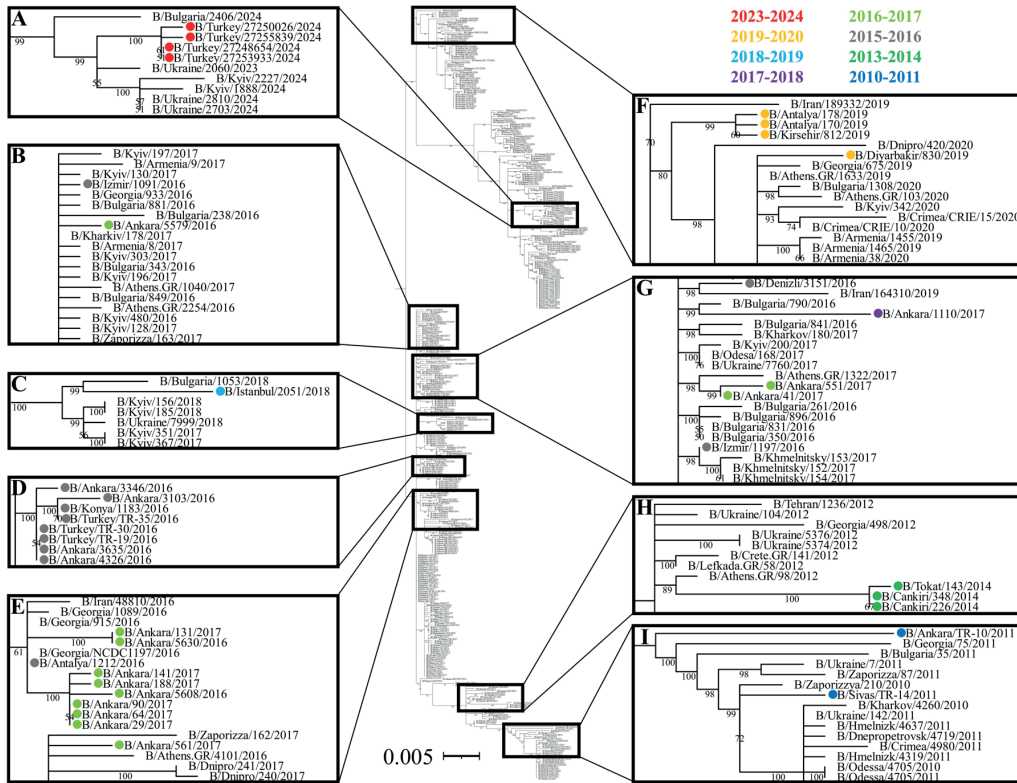
Türkiye ve seçim kriterlerine uygun tüm ülkelerde farklı sezonlarda saptanmış Victoria (n=386) ve Yamagata (n=331) soylarına ait influenza B virüslerinin HA gen dizileri, genetik benzerliklerinin araştırılması amacıyla maksimum olabilirlik filogenetik analizlerine tabi tutulmuştur. Analizler, Türkiye'de saptanmış Victoria (n=39) ve Yamagata (n=69) soylarına ait virüslerin, komşu ülkelerdeki virüsler ile genetik yakınlıklarını incelemenin yanı

sıra, çalışma grubundaki tüm virüslerin yıllara ve soylara özgü viral dinamiklerini ortaya koymuştur. Suriye'ye ait Yamagata soyundan hiçbir HA gen dizisi veri tabanında bulunmadığından, bu ülke analizlere dahil edilememiştir.

Türkiye'deki Victoria soyuna ait virüslerin sekiz farklı sezonda dolaşım gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 2). 2022-2023 sezonunda Türkiye'de dolaşımda olan HA gen dizisi kalite kriterlerini karşılamadığı için bu sezon için filogenetik analizlerde herhangi bir değerlendirme yapılamamıştır. Çalışmaya dahil edilen Victoria soyuna ait tüm HA dizileri ile yapılan filogenetik analizler, virüslerin genel olarak genetik açıdan ülkelere göre farklılık göstermediğini, ancak 2015-2018 yılları hariç, sezonlara göre farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (Şekil 2). 2023-2024 sezonunda Türkiye'de saptanan dört virüs, aynı kladda yer aldığı Bulgaristan ve Ukrayna'daki virüslere genetik benzerlik göstermiştir (Şekil 2A). 2019-2020 sezonunda, bir virüsün aynı sezondaki diğer üç virüsten genetik olarak az da olsa farklılık gösterdiği ve bu sezondaki virüslerin, İran, Gürcistan, Yunanistan, Bulgaristan, Ukrayna ve Ermenistan'da

dolaşımda olan virüslerle genetik olarak yakın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2F). 2018-2019 ve 2017-2018 sezonlarında Türkiye’den yüklenen virüs HA dizilerinin, Bulgaristan’daki virüslerin HA dizilerine genetik olarak daha yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 2C ve 2G). Ayrıca, 2017-2018 sezonunda Türkiye’de saptanan virüsün, 2015-2017 sezonlarında ülkede dolaşımda olan virüsler ile genetik benzerlik taşıdığı gösterilmiştir (Şekil 2G). Filogenetik analizler, 2016-2017 sezonunda dolaşımda olan virüslerin üç klada ayrıldığını ve genetik açıdan oldukça çeşitli bir yapı sergilediğini göstermektedir (Şekil 2B, 2E ve 2G). Bu sezondaki virüslerden birinin Ukrayna, Ermenistan, Gürcistan, Bulgaristan ve Yunanistan’daki virüslerle (Şekil 2B), iki virüsün Yunanistan’daki bir virüsle (Şekil 2G), dokuz virüsün ise İran, Gürcistan, Yunanistan ve Ukrayna’daki virüslerle genetik olarak yakın olduğu

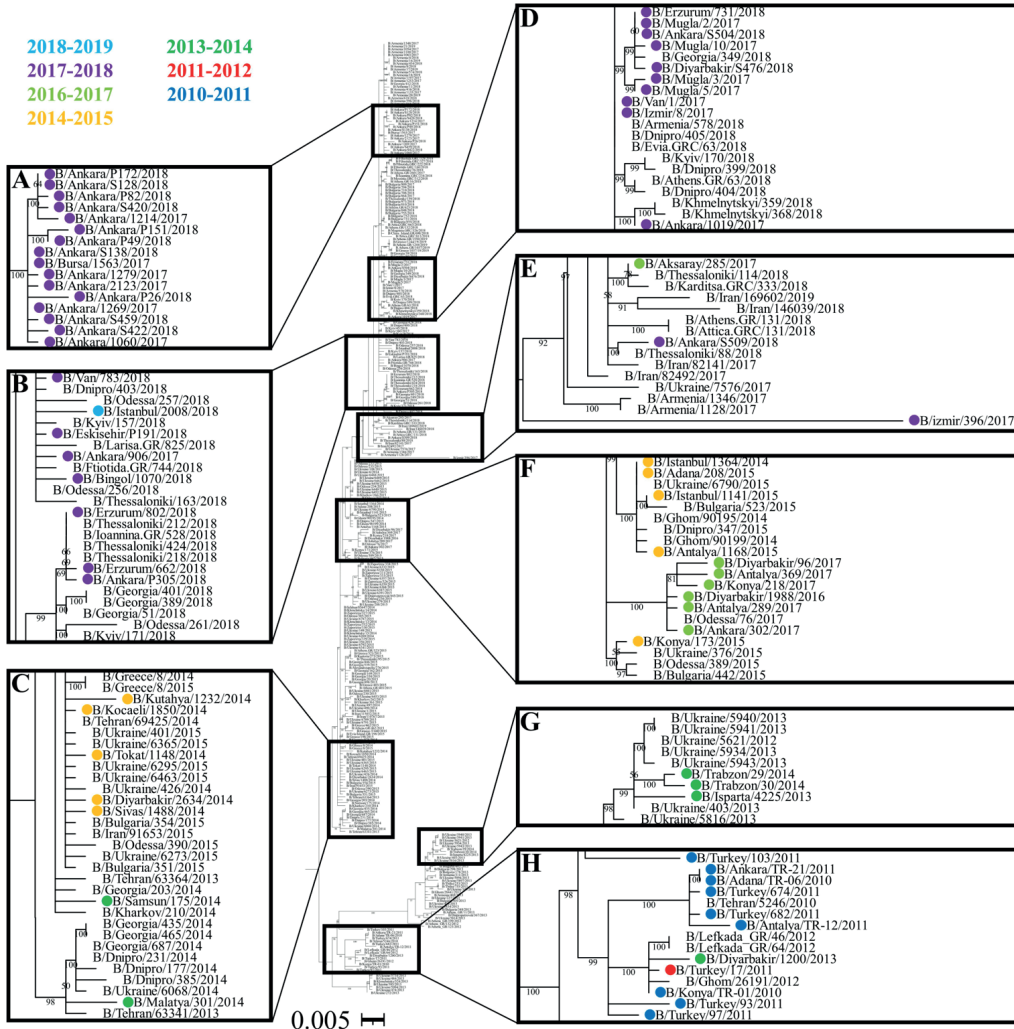
belirlenmiştir (Şekil 2E). 2015-2016 sezonundaki sekiz virüsün ayrı bir klada ayrıldığı (Şekil 2D), iki virüsün 2016-2017 ve 2017-2018 sezonlarındaki virüslerle genetik yakınlık gösterdiği (Şekil 2G) ve bir virüsün 2016-2017 sezonundan virüslerin çoğunluğu oluşturduğu bir klada yer aldığı (Şekil 2E) belirlenmiştir. Ayrıca, 2015-2016 sezonunda Türkiye’de dolaşımda olan virüslerin aynı veya farklı sezonlarda Ukrayna, Ermenistan, Gürcistan, Bulgaristan, Yunanistan, İran’da dolaşımda olan virüsler ile genetik yakınlık gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 2D, 2E ve 2G). Son olarak, 2013-2014 sezonunda Türkiye’de dolaşımda olan virüslerin Yunanistan’daki, 2010-2011 sezonunda dolaşımda olan virüslerin ise Ukrayna, Bulgaristan ve Gürcistan’daki virüslerle genetik olarak yakın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2H ve 2I).



Şekil 2. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan Victoria soyuna ait virüslerin HA genlerine göre filogenetik ilişkileri. Çalışma kapsamındaki influenza B virüslerinin HA genleri GISAID veri tabanından indirilmiştir ve maksimum olabirlik (maximum likelihood) yöntemi ile filogenetik analize tabi tutulmuştur. Analiz, IQ-TREE arayüzünde, UFBoot kullanılarak ve ModelFinder ile en uygun model seçilerek (K3Pu+F+G4) gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç ITOL kullanılarak görselleştirilmiştir. Türkiye’de saptanan her bir Victoria soyuna ait virüs kutucuklar içerisinde detaylı gösterilmiştir (A-I). 2022-2023 sezonu için kırmızı (A), 2019-2020 sezonu için turuncu (F), 2018-2019 sezonu için açık yeşil (C), 2017-2018 sezonu için mor (G), 2016-2017 sezonu için yeşil (E), 2015-2016 sezonu için gri (B, D, E, G), 2013-2014 sezonu için koyu yeşil (H) ve 2010-2011 sezonu için koyu mavi (I) daireler virüs isimlerinin önlerine eklenmiştir. Her bir sezon için renk açıklaması şeklinin sağ üst bölümünde verilmiştir. Bootstrap değeri %50’nin üstünde olan dallar analiz kapsamında tutulmuş ve her bir dala ait bootstrap değeri dalların yanına eklenmiştir. Bootstrap değeri %50’nin altında kalan dallar ise analizin güvenilirliğini artırmak amacıyla ağaçtan çıkarılmıştır. Filogenetik ağacın altında belirtilen ölçek, 0.005 nükleotid değişimi olan mesafeyi temsil etmektedir.

Türkiye'deki Yamagata soyuna ait virüslerin yedi farklı sezonda dolaşımında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3). Çalışma grubundaki Yamagata soyuna ait tüm HA dizileri ile yapılan filogenetik analizler, virüslerin genel olarak genetik açıdan hem ülkelere hem de 2014-2019 yılları arasında sezonlara göre farklılık göstermediğini ortaya çıkarmıştır (Şekil 3). 2018-2019 sezonunda bir virüs, 2017-2018 sezonundaki virüslerle aynı kladda yer almış ve Ukrayna'daki virüslerle genetik yakınlık göstermiştir (Şekil 3B).

2017-2018 sezonuna ait virüslerin dört farklı klada dağıldığı ve beş ülkedeki (Yunanistan, Ermenistan, Gürcistan, İran ve Ukrayna) virüslerle genetik olarak yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 3A, 3B, 3D ve 3E). 2016-2017 sezonuna ait virüsler üç ülkedeki (İran, Yunanistan ve Ukrayna) virüslerle genetik yakınlık göstermiştir (Şekil 3E ve 3F). Yine aynı sezonda Türkiye'de dolaşımında olan bir virüs, 2017-2018 sezonunda yine Türkiye'de dolaşımında olan bir virüs ile aynı kladda yer alırken, geriye kalan altı virüs



Şekil 3. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımında olan Yamagata soyuna ait virüslerin HA genlerine göre filogenetik ilişkileri. Çalışma kapsamındaki influenza B virüslerinin HA genleri GISAID veri tabanından indirilmiş ve maksimum olabilirlik (maximum likelihood) yöntemi ile filogenetik analize tabi tutulmuştur. Analiz, IQ-TREE arayüzünde, UFBoot kullanılarak ve ModelFinder ile en uygun model seçilerek (K3Pu+F+G4) gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç ITOL kullanılarak görselleştirilmiştir. Türkiye'de saptanan her bir Yamagata soyuna ait virüs kutucukları içerisinde detaylıca gösterilmiştir (A-H). 2018-2019 sezonu için açık mavi (B), 2017-2018 sezonu için mor (A, B, D, E), 2016-2017 sezonu için açık yeşil (E, F), 2014-2015 sezonu için turuncu (C, F), 2013-2014 sezonu için koyu yeşil (C, G, H), 2011-2012 sezonu için kırmızı (H) ve 2010-2011 sezonu için koyu mavi (H) daireler virüs isimlerinin önlerine eklenmiştir. Her bir sezon için renk açıklaması şeklin sol üst bölümünde verilmiştir. Bootstrap değeri %50'nin üstünde olan dallar analiz kapsamında tutulmuş ve her bir dala ait bootstrap değeri dalların yanına eklenmiştir. Bootstrap değeri %50'nin altında kalan dallar ise analizin güvenilirliğini artırmak amacıyla ağaçtan çıkarılmıştır. Filogenetik ağacın altında belirtilen ölçek, 0.005 nükleotid değişimi olan mesafeyi temsil etmektedir.

2014-2015 sezonundaki virüslerle genetik olarak yakın bulunmuştur (Şekil 3E ve 3F). 2014-2015 sezonunda saptanan diğer beş virüs ise 2013-2014 sezonundaki virüslerle genetik benzerlik göstermiş ve Yunanistan, İran, Ukrayna ve Bulgaristan'daki virüslerle aynı kladda konumlanmıştır (Şekil 3C). Benzer bir durum 2010-2011, 2011-2012 ve 2013-2014 sezonlarında da gözlemlenmiştir (Şekil 3G ve 3H). 2013-2014 sezonundaki üç virüs ayrı bir kladda yer alarak Ukrayna'daki virüsler ile genetik benzerlik göstermiştir (Şekil 3G). Geriye kalan bir virüs ise 2010-2011 ve 2011-2012 sezonlarında dolaşımda olan virüsler ile aynı kladda yer alarak bu sezonlarda olduğu gibi Yunanistan ve İran'daki virüsler ile genetik yakınlık göstermiştir (Şekil 3H). Filogenetik analizler sonucu, 2010-2024 yılları arasında Türkiye'de farklı sezonlarda dolaşımda olan Victoria ve Yamagata soylarına ait influenza B virüslerinin genetik açıdan en benzerlik gösterdiği virüslerin dolaşımda olduğu ülkeler Tablo 2'de özetlenmiştir.

Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan influenza B virüslerinin HA proteinlerindeki antijenik değişimler ve sezonlara göre antijenik uzaklıkları: Türkiye'de dolaşımda olan influenza B virüslerinin HA genlerine dayalı filogenetik yakınlıklarının belirlenmesinin ardından, çalışma grubundaki HA genlerinin nükleotid dizileri amino asit dizilerine çevrilmiş ve her bir sezon için antijenik

bölgelerde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Bu değişikliklerin frekansları belirlenmiş ve sezonlar arası dinamikleri izlenmiştir.

Çalışma grubundaki Victoria soyuna ait virüslerin, 10 sezonda dolaşımda olduğu ve bu sezonlarda Yamagata soyuna kıyasla HA proteinlerinde daha fazla antijenik değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4). Toplamda 23 farklı antijenik pozisyonda değişim gözlemlenmiş, bunlardan 12 pozisyonda gözlemlenen değişiklikler birden fazla sezonda ortaya çıkmıştır (Şekil 4A). Geriye kalan 11 antijenik değişim ise sadece bir sezonda ve düşük frekansta gözlemlenmiştir (Şekil 4A, Tablo 3). Bununla birlikte, bazı pozisyonlarda (118, 122, 129, 170 ve 199) antijenik değişimler birden fazla sezonda gözlemlenmiş olmasına rağmen, baskın amino asitlerin sezonlar arasında değişmediği belirlenmiştir (Şekil 4A, Tablo 3). Sezonlar arası baskın amino asidin değiştiği yedi pozisyon ise daha derinlemesine incelenmiştir. 117. pozisyonda 2010-2011 sezonunda izolösünün (I) baskın olduğu gözlemlenirken, 2015-2016 sezonunda valin (V) baskın hale gelmiş ve bu değişim 2016-2017 sezonunda da devam etmiştir (Şekil 4A). Benzer şekilde, 128. pozisyonda 2019-2020 sezonunda baskın amino asit olan lizin (K), 2022-2023 sezonunda glutamik asit (E) haline gelmiş, ardından 2023-2024 sezonunda tekrar K baskın hale geçmiştir (Şekil 4A). 2018-2019 sezonunda 133. pozisyonda eşit oranda glisin (G) ve arjinin (R)

Tablo 2. HA genlerinin filogenetik analizlerine göre farklı sezonlarda Türkiye'de dolaşımda olan Victoria ve Yamagata soyuna ait virüslerin genetik olarak benzer olduğu virüslerin görüldüğü ülkeler

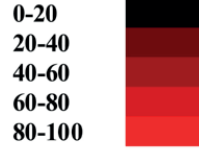
Sezon	Ülkeler	
	Victoria	Yamagata
2023-2024	Bulgaristan, Ukrayna	N/A
2019-2020	İran, Gürcistan, Yunanistan, Bulgaristan, Ukrayna, Ermenistan	N/A
2018-2019	Bulgaristan	Ukrayna
2017-2018	Bulgaristan	Yunanistan, Ermenistan, Gürcistan, İran, Ukrayna
2016-2017	Ukrayna, Ermenistan, Gürcistan, Bulgaristan, Yunanistan, İran	İran, Yunanistan, Ukrayna
2015-2016	Ukrayna, Ermenistan, Gürcistan, Bulgaristan, Yunanistan, İran	N/A
2014-2015	N/A	Ukrayna, Bulgaristan, İran, Yunanistan
2013-2014	Yunanistan	Ukrayna, Yunanistan, İran
2011-2012	N/A	Yunanistan, İran
2010-2011	Ukrayna, Bulgaristan, Gürcistan	Yunanistan, İran

Herhangi bir HA gen dizisi bulunmayan sezonlar N/A şeklinde belirtilmiştir.

A

	117	I	V	
2010-2011	122	H	N	
	197	N	S	
	199	T	N	
	2011-2012	144	P	L
2012-2013	199	T	I	
2015-2016	117	V	I	
	202	A	T	
2016-2017	117	V	I	
	118	R	S	
	129	D	G	
	145	N	D	
	162	K	DEL	
	163	N	T	DEL
2017-2018	197	N	S	
	118	R	K	
	129	D	G	
	162	K	DEL	
	163	N	DEL	
	164	D	E	
2018-2019	197	N	T	
	199	T	I	
	129	D	G	
	133	G	R	
	136	K	E	
	162	DEL	K	
2019-2020	163	DEL	N	
	164	DEL	D	
	127	A	T	
	128	K	E	
	129	D	N	
	133	R	G	
2022-2023	149	G	E	
	170	T	I	
	128	E	K	
	129	D	G	
	137	I	V	
	146	I	T	
2023-2024	162	DEL	K	
	163	DEL	N	
	164	DEL	D	
	165	K	N	
	170	T	I	
	197	E	D	N
2023-2024	122	H	N	
	128	K	E	G
	129	D	N	
	169	A	T	
	197	E	D	
	199	T	A	
201	M	V		

Frekans (%)



B

2010-2011	201	K	R	
2011-2012	150	I	S	
	165	Y	N	
2012-2013	121	T	S	A
	122	Q	K	
	141	G	R	
	150	S	I	
	163	D	N	
	164	N	S	
2013-2014	165	N	Y	
	116	K	N	
	120	S	L	
	121	T	S	
	123	N	T	
	150	I	S	
2014-2015	165	Y	N	
	198	T	N	
	202	S	N	
	116	K	R	
2017-2018	202	S	N	
	202	S	N	
	124	V	L	
2018-2019	136	R	K	
	163	D	E	
	164	N	D	
2018-2019	165	Y	N	
	120	S	T	

Şekil 4. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan influenza B virüslerinin HA proteinlerindeki antijenik değişiklikler. 2010-2024 yılları arasında dolaşımda olan Victoria (A) ve Yamagata (B) soylarına ait influenza B virüslerinin HA proteinlerinde gözlemlenen antijenik değişiklikler, frekanslar baz alınarak renk skalasıyla (%0-100: siyahtan açık kırmızıya) gösterilmiştir. Antijenik değişimlerin gözlemlendiği sezonlar ve amino asit pozisyonları, panellerin sol tarafında listelenmiştir. Her iki soy için de HA proteinlerinin numaralandırılması, sinyal peptidi (1-15. pozisyonlar) çıkarıldıktan sonra başlamaktadır. Amino asit silinmeleri "DEL" ile belirtilmiştir.

Tablo 3. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan influenza B virüslerinin HA proteinlerindeki antijenik değişiklikler ve bu değişikliklerin frekansları

Sezon	Amino Asit Pozisyonları, Varyasyonları ve Frekansları (%)	
	Victoria	Yamagata
2010-2011	117: I (96,55), V (3,45) 122: H (96,55), N (3,45) 197: N (93,10), S (6,90) 199: T (96,55), N (3,45)	201: K (90,00), R (10,00)
2011-2012	144: P (81,82), L (18,18)	150: I (50), S (50) 165: Y (50), N (50)
2012-2013	199: T (75), I (25)	121: T (80,56), S (16,67), A (2,78) 122: Q (77,78), K (22,22) 141: G (97,22), R (2,78) 150: S (75), I (25) 163: D (97,22), N (2,78) 164: N (97,22), S (2,78) 165: N (75), Y (25)
2013-2014	N/A	116: K (76,47), N (23,53) 120: S (94,12), L (5,88) 121: T (82,35), S (17,65) 123: N (94,12), T (5,88) 150: I (82,35), S (17,65) 165: Y (82,35), N (17,65) 198: T (94,12), N (5,88) 202: S (76,47), N (23,53)
2014-2015	N/A	116: K (98,15), R (1,85) 202: S (99,07), N (0,93)
2015-2016	117: V (95,74), I (4,26) 202: A (97,87), T (2,13)	N/A
2016-2017	117: V (96,67), I (3,33) 118: R (98,89), S (1,11) 129: D (98,89), G (1,11) 145: N (97,78), D (2,22) 162: K (98,89), DEL (1,11) 163: N (97,78), T (1,11), DEL (1,11) 197: N (98,89), S (1,11)	N/A
2017-2018	118: R (94), K (6) 129: D (90), G (10) 162: K (90), DEL (10) 163: N (90), DEL (10) 164: D (98), E (2) 197: N (98), T (2) 199: T (98), I (2)	124: V (99,21), L (0,79) 136: R (99,21), K (0,79) 163: D (98,43), E (1,57) 164: N (99,21), D (0,79) 165: Y (99,21), N (0,79)
2018-2019	129: D (75), G (25) 133: G (50), R (50) 136: K (50), E (50) 162: DEL (75), K (25) 163: DEL (75), N (25) 164: DEL (50), D (50)	120: S (92,31), T (7,69)
2019-2020	127: A (97,92), T (2,08) 128: K (52,08), E (47,92) 129: D (91,67), N (8,33) 133: R (97,92), G (2,08) 149: G (97,92), E (2,08) 170: T (97,92), I (2,08)	N/A

Herhangi bir HA gen dizisi/antijenik değişim bulunmayan sezonlar N/A şeklinde belirtilmiştir. Amino asit silinmeleri "DEL" ile gösterilmiştir.

Tablo 3. Devamı

Amino Asit Pozisyonları, Varyasyonları ve Frekansları (%)		
Sezon	Victoria	Yamagata
2022-2023	128: E (71,15), K (28,85) 129: D (88,46), G (11,54) 137: I (98,08), V (1,92) 146: I (94,23), T (5,77) 162: DEL (92,31), K (7,69) 163: DEL (92,31), N (7,69) 164: DEL (92,31), D (7,69) 165: K (92,31), N (7,69) 170: T (96,15), I (3,85) 197: E (73,08), D (23,08), N (3,85)	N/A
2023-2024	122: H (86,67), N (13,33) 128: K (51,11), E (26,67), G (22,22) 129: D (75,56), N (24,44) 169: A (97,78), T (2,22) 197: E (86,67), D (13,33) 199: T (88,89), A (11,11) 201: M (97,78), V (2,22)	N/A

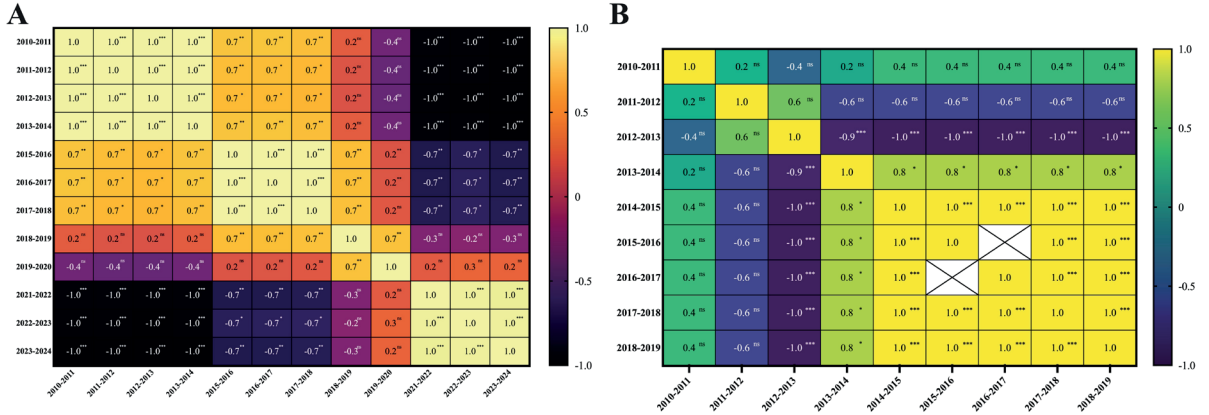
Herhangi bir HA gen dizisi/antijenik değişim bulunmayan sezonlar N/A şeklinde belirtilmiştir. Amino asit silinmeleri "DEL" ile gösterilmiştir.

amino asitleri gözlemlenmiş, 2019-2020 sezonunda ise bu pozisyonda R baskın hale gelmiştir (Şekil 4A). 2016-2017 sezonundan itibaren 162., 163. ve 164. pozisyonlarda silinmeler tespit edilmiştir (Şekil 4A). Bu sezonda düşük frekansta başlayan 162. ve 163. pozisyonlardaki silinmeler, 2018-2019 sezonunda baskın hale gelmiştir (Şekil 4A, Tablo 3). Aynı zamanda, 164. pozisyonundaki silinmenin 2018-2019 sezonunda aspartik asit (D) ile aynı frekansa ulaştığı ve sonraki sezonlarda baskın hale geldiği belirlenmiştir (Şekil 4A, Tablo 3). Son olarak, 197. pozisyonda 2010-2011, 2016-2017 ve 2017-2018 sezonlarında baskın olan asparajin (N) amino asidinin, 2022-2023 sezonunda E ile yer değiştirdiği ve bu değişimin 2023-2024 sezonunda da devam ettiği tespit edilmiştir (Şekil 4A).

Yamagata soyuna ait virüslerin yedi farklı sezonda dolaşımında olduğu ve HA proteinlerinde toplam 15 pozisyonda antijenik değişim olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4B). Bu değişikliklerden yedisi sadece bir sezonda ve düşük frekansta gözlemlenmiştir (Şekil 4B, Tablo 3). Kalan pozisyonların altısında (116, 120, 121, 163, 164 ve 202) antijenik değişimler gözlemlenmiş olmasına rağmen baskın amino asitlerin değişmediği saptanmıştır (Şekil 4B). Geriye kalan iki pozisyonundaki

değişimler ise daha derinlemesine incelenmiştir. 150. pozisyonda 2011-2012 sezonunda I ve serin (S) amino asitleri eşit oranlarda gözlemlenirken, 2012-2013 sezonunda S, 2013-2014 sezonunda ise I baskın hale gelmiştir (Şekil 4B). Benzer bir durum 165. pozisyonda da gözlemlenmiştir; 2011-2012 sezonunda tirozin (Y) ve N eşit oranda bulunurken, 2012-2013 sezonunda N, 2013-2014 sezonunda ise Y baskın hale gelmiştir (Şekil 4B).

Çalışma grubundaki influenza B virüslerinin HA proteinlerinin antijenik bölgelerindeki değişimler saptandıktan sonra, bu virüslerin sezonlar arası antijenik uzaklıkları belirlenmiş ve Pearson korelasyon katsayıları hesaplanarak istatistiksel anlamlılıkları değerlendirilmiştir. Pearson katsayısı hesaplamaları, iki değişken arasındaki doğrusal ilişkiyi ölçmek için kullanılmıştır. Pearson korelasyon katsayısının -1 olması iki değişken arasında negatif doğrusal bir ilişki olduğunu gösterirken 1 olması iki değişken arasında pozitif doğrusal bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu doğrultuda, farklı sezonlara ait virüsler arasındaki antijenik uzaklıklar renk skalası kullanılarak görselleştirilmiştir (Şekil 5). Koyu renkler antijenik farklılığı, açık renkler ise antijenik benzerliği temsil etmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. Türkiye ve komşu ülkelerde dolaşımda olan influenza B virüslerinin antijenik bölgelerine göre sezonlar arası uzaklık matrisleri. Victoria (A) ve Yamagata (B) soylarına ait virüslerin sezonlar arası antijenik uzaklıkları, Needleman-Wunsch algoritması kullanılarak hesaplanmıştır. Bir sezonda saptanan antijenik değişikliklerin ortalama değeri, diğer sezonlardaki değişikliklerin ortalama değeri ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, toplam antijenik pozisyon sayısına göre normalize edilmiş ve Pearson korelasyon katsayıları hesaplanarak istatistiksel anlamlılıkları değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık dereceleri, p-değerlerine göre şu şekilde sınıflandırılmıştır: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. İstatistiksel olarak anlamlı olmayan (p>0.05) değerler ise ns ile gösterilmiştir. Tüm sezonlar birbirleriyle karşılaştırılmış olup, sezon adları matrislerin altında ve yanında belirtilmiştir. Koyu renkler antijenik uzaklığı, açık renkler ise antijenik benzerliği temsil etmektedir. Yamagata soyuna ait analizlerde (B), 2015-2016 ve 2016-2017 sezonları arasında herhangi bir antijenik değişim gözlenmediğinden, bu sezonlar arasındaki antijenik uzaklıklar uygulama tarafından otomatik olarak boş bırakılmıştır.

Victoria soyuna ait virüslerin, 2010-2011 ve 2023-2024 sezonları arasında antijenik bölgelerindeki uzaklıkların kademeli olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 5A). Victoria soyuna ait virüslerin 2010-2014 (p<0.001), 2015-2018 (p<0.001), 2018-2020 (p<0.01) ve 2021-2024 (p<0.001) yılları arasında antijenik açıdan büyük oranda benzer olduğu, öte yandan 2010-2011 sezonu ile 2023-2024 sezonu arasında dikkat çekici bir antijenik farklılık olduğu tespit edilmiştir (p<0.001) (Şekil 5A). Özellikle 2015-2016 sezonuna kadar olan dönemlerde virüslerin birbirlerine oldukça yakın antijenik yapıda olduğu (p<0.01) ve bazı sezonlar için istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, 2010-2011 sezonuna kıyasla 2015-2016 sezonundan sonra antijenik çeşitliliğin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 5A). 2023-2024 sezonuna doğru antijenik uzaklıkların daha belirgin hale geldiği ve virüslerin önceki sezonlardan önemli ölçüde farklılaştığı görülmüştür (Şekil 5A).

Yamagata soyuna ait virüslerde ise 2010-2011 ve 2018-2019 sezonları arasında antijenik uzaklıkların kademeli olarak artmadığı, yalnızca belirli sezonlar arasında kayda değer değişiklikler olduğu saptanmıştır (Şekil 5B). Yapılan analizler, genel olarak sezonlar arasında daha az çeşitlilik bulunduğunu ve

antijenik uzaklığın Victoria soyuna kıyasla daha sabit kaldığını göstermektedir (Şekil 5B). Ancak, 2012-2013 sezonu ile takip eden sezonlar arası istatistiksel olarak anlamlı belirgin farklılaşmalar gözlemlenmiştir (p<0.001) (Şekil 5B). Buna karşılık, 2014-2019 yılları arasındaki virüslerin antijenik benzerliklerinin daha yüksek olması, Yamagata soyuna ait virüslerin antijenik değişim açısından daha stabil bir yapıda olduğunu göstermiştir (Şekil 5B). Yamagata soyuna yönelik yapılan analizlerde, 2015-2016 ve 2016-2017 sezonları arasında herhangi bir antijenik değişiklik saptanmadığından, bu iki sezon arasındaki antijenik uzaklıklar grafik üzerinde uygulama tarafından otomatik olarak boş bırakılmıştır (Şekil 5B).

TARTIŞMA

İnfluenza virüsleri, her yıl mevsimsel enfeksiyonlara yol açarak dünya genelinde bir milyona yakın insanı etkilemektedir⁽¹⁾. Hastalığın etkisini azaltmada en etkili yöntem ise aşı olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve yetkili kurumlar tarafından rutin sürveyans çalışmaları yürütülmekte, virüs genomlarında özellikle aşı bileşeni olarak kullanılan ve antijenik açıdan en önemli bölge olan HA genindeki değişiklikler yakından izlenmektedir. Bu

süreç sonucunda, DSÖ'nün önerileri doğrultusunda üçlü (trivalan) ya da dörtlü (quadriyalan) aşılar oluşturulmaktadır. Trivalan aşilar, iki influenza A alt tipi ve bir influenza B soyunu içerirken, quadriyalan aşilar her iki influenza B soyunu da dahil ederek daha geniş bir koruma sağlamaktadır. COVID-19 pandemisi sonrasında Yamagata soyuna ait virüslerin viral popülasyondan silinme olasılığı, bu soyun aşılarda yer alıp almaması konusundaki tartışmaları beraberinde getirmiş ve bu virüslerin araştırılmasının önemini daha da artırmıştır⁽⁷⁻⁸⁾. Bu sebeple çalışma kapsamında, GISAID veri tabanındaki HA gen dizileri ve demografik bilgiler kullanılarak 1) 2010-2024 yılları arasında Türkiye'de dolaşımda olan Victoria ve Yamagata soyuna ait virüslerin komşu ülkelerdeki virüslerle filogenetik yakınlıkları, 2) Victoria ve Yamagata soyuna ait virüslerin HA proteinlerindeki antijenik bölgelerde meydana gelen amino asit değişiklikleri ve sezonlar arası farklılıkları ve 3) yaş faktörünün virüslerin epidemiyolojisi üzerindeki potansiyel etkisi incelenmiştir. Bu sayede, bu çalışmanın ileride yapılacak ve influenza B virüslerinin epidemiyolojik özelliklerini daha kapsamlı inceleyecek prospektif ve deneysel çalışmalar için bir temel oluşturması amaçlanmıştır.

İlk olarak GISAID veri tabanından Türkiye ve komşu ülkelerde (Yunanistan, Bulgaristan, Gürcistan, Ermenistan, İran ve Suriye) dolaşımda olan influenza B virüslerine ait HA gen dizileri soylara göre filtrelenerek indirilmiştir. Ülkenin kuzeyini temsil etmesi amacıyla, sınır komşusu olmasa da Ukrayna'dan elde edilen HA gen dizileri de analizlerde yer almıştır. Türkiye'nin sınır komşusu olan Irak'ta her iki soydan, Suriye'de ise Yamagata soyundan yeterli sayıda HA gen dizisi bulunmadığından, bu ülkeler ilgili analizlere dahil edilememiştir. Veri tabanındaki HA gen dizilerinin büyük çoğunluğunu Victoria soyuna ait virüslerin oluşturduğu gözlemlenmiştir (Tablo 1). Bunun yanı sıra, ülkeler arasında veri tabanına yüklenen dizi sayısında da belirgin farklılıklar mevcuttur. Örneğin, veri tabanına en fazla HA gen dizisinin yüklendiği ülke olan Ukrayna ile ikinci sırada yer alan Türkiye arasında üç kattan daha fazla fark bulunurken, en az diziye sahip Suriye ile bu fark neredeyse 26 kata ulaşmaktadır (Tablo 1). Bu sayısal farklılıkların, özellikle daha az gen dizisine sahip Yamagata

soyundan virüslerin antijenik özelliklerinin tam olarak anlaşılmasına ve/veya analizlerde bazı ülkelerin baskın duruma geçmesine neden olarak çalışmanın sonuçlarını sınırlayabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, veri tabanında yer alan demografik bilgilere göre, ülkeler arasında farklılıklar bulunsa da genel olarak Victoria soyuna ait virüslerin 0-18 yaş arası çocuk ve gençlerde, Yamagata soyuna ait virüslerin ise 19 yaş üstü yetişkinlerde çoğunluğu oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Çocuk ve gençlerde sık görülen Victoria soyuna ait virüslerin kıtalar arası yayılımının, yetişkinlerin virüs yayılımında daha aktif rol oynaması sebebiyle kısıtlanabileceği öne sürülmüştür⁽¹³⁾. Ancak, bu çalışma daha sınırlı bir coğrafi alanı incelemiş ve Victoria soyuna ait virüslerin yakın coğrafyalara yayılımda daha başarılı olabileceğini göstermiştir.

Viral popülasyonların şekillenmesinde ve virüslerin yayılımında ticaret yolları, uluslararası seyahat, göç ve popülasyon hareketliliği gibi birçok faktör rol almaktadır. Ancak bu çalışmada, çalışma grubu olarak Türkiye ve komşu ülkelerdeki virüsler seçilerek bu virüslerin sadece genetik ve filogenetik ilişkilerine odaklanılmıştır. Böylece, bölgesel virüs dinamikleri incelenerek uzak coğrafyalardaki virüslerin bu dinamiklere olan etkileri çalışma kapsamına alınmamıştır. Filogenetik analizlerin sonuçlarına göre, Türkiye'de dolaşımda olan influenza B virüsleri, farklı sezonlarda çeşitli ülkelerdeki virüslerle genetik benzerlik göstermiştir (Şekil 2, Şekil 3, Tablo 2). Ancak, bu durum farklı soyların farklı sezonlarda görüldüğü ülke sayıları açısından çeşitlilik göstermektedir. Bununla birlikte, Victoria soyunda sezonlar arası genetik farklılıklar daha belirgin iken, Yamagata soyunda bu farklılıklar daha sınırlı kalmıştır. Elde edilen veriler, Türkiye'deki Victoria soyuna ait virüslerin birçok sezonda birçok ülkedeki virüslerle genetik açıdan benzer olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle üç sezonda (2019-2020, 2016-2017 ve 2015-2016) görülen Victoria soyuna ait virüslerin, altı farklı ülkedeki virüslerle genetik olarak benzer olması, bu sezonlara ait virüslerin yakın coğrafyalarda daha etkin bir yayılım sergilediğini göstermiştir (Şekil 2, Tablo 2). Buna karşılık, Türkiye'de dolaşımda olan Yamagata soyuna ait virüsler, yalnızca 2017-2018 sezonunda beş farklı ülkede dolaşımda olan

virüslerle genetik benzerlik göstermiş ve bu durum, Yamagata soyundaki virüslerin yayılımının daha sınırlı olduğuna işaret etmiştir (Şekil 3, Tablo 2). Bu bulgular, Türkiye'deki Victoria soyuna ait virüslerin daha fazla ülkede dolaşım gösteren virüslerle genetik benzerliğe sahip olduğunu ve aynı sezon içinde yakın coğrafyalarda daha esnek bir yayılım sergilediğini göstermiştir.

Yamagata soyuna ait virüslerin, yakın coğrafyalardaki ülkeler arası yayılım açısından dezavantajlı olması ve COVID-19 pandemisi sonrası popülasyondan silinme ihtimalleri, bu virüslerin evrimsel süreçlerinde bir dar boğaza girmiş olabileceğine işaret etmektedir. Bu görüşü destekler nitelikte, Victoria soyuna ait virüslerin HA proteininde daha sık ve dinamik antijenik değişimler yaşanırken, Yamagata soyunun daha stabil bir antijenik yapıya sahip olduğu ve sezonlar arası antijenik benzerliklerinin yüksek oranda korunduğu belirlenmiştir (Şekil 5). Victoria soyuna ait virüslerin 2010-2014, 2015-2018, 2018-2020 ve 2021-2024 yılları arasında antijenik açıdan genel olarak benzer olduğu, ancak 2010-2011 sezonu ile 2023-2024 sezonu arasında belirgin bir antijenik farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 5A). Öte yandan, Yamagata soyundaki virüslerde sadece 2012-2013 sezonu ile takip eden sezonlar arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmiş ve 2014-2019 yılları arasındaki virüslerin antijenik açıdan oldukça yakın oldukları belirlenmiştir (Şekil 5B). İlk olarak, pandemi döneminde uygulanan maske kullanımı, sosyal mesafe ve seyahat kısıtlamaları gibi önlemlerin, Yamagata soyunu daha fazla etkilemiş olabileceği akla gelmiştir. Ancak, GISAID veri tabanındaki verilere bakıldığında, Yamagata soyuna ait virüslerin en fazla dizi sayısına 2017-2018 sezonunda ulaştığı, fakat yalnızca bir sezon sonra dizi sayısında belirgin bir düşüş yaşandığı gözlemlenmiştir (Tablo 1). Bu bulgular, Yamagata soyuna ait virüslerin sınırlı yayılımı ve stabil antijenik yapıları nedeniyle oluşan dar boğazın pandemi sürecinde daha da hızlanmış olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın, Victoria soyuna ait virüslerin pandemiye rağmen daha yüksek başarı göstermesi, bu soyda görülen antijenik değişimlerin evrimsel avantaj sağladığı şeklinde yorumlanmıştır.

Victoria soyunda gözlemlenen amino asit değişiklikleri ve glikozilasyon bölgelerinin kaybı gibi yapısal farklılıklar, influenza virüslerinin antijenik evriminde önemli bir rol oynamaktadır⁽⁴¹⁾. Çalışmamızda, sezonlar arasında dikkat çeken dört önemli amino asit değişikliği tespit edilmiştir (Şekil 4). 2015-2017 sezonlarında görülen I117V ve 2020-2021 sezonlarında tespit edilen E128K ile G133R amino asit değişimlerinin birçok ülkede yaygın olduğu gözlemlenmiştir⁽⁴²⁻⁴⁶⁾. Bu değişimlerin işlevleri tam olarak bilinmese de, influenza B virüslerinin farklı antijenik kladlara yerleşmesine katkı sağlamışlardır⁽⁴²⁻⁴⁶⁾. Ayrıca, N197E değişikliği, virüsün virülansını ve antijenitesini etkileyen önemli bir olay olan glikozilasyon bölgesi kaybına neden olmuştur⁽⁴⁴⁾. Özellikle 2016-2017 sezonunda görülmeye başlayıp 2018-2019 sezonunda baskın hale gelen 162., 163. ve 164. pozisyonlardaki silinmelerin (Şekil 4), Victoria soyunun antijenik yapısını değiştirerek aşılama sonrası elde edilen antikorların çapraz reaktivitesinde düşüşe yol açtığı bildirilmiştir⁽¹⁸⁾. Buna karşılık, Yamagata soyunda sezonlar arası sadece 150. ve 165. pozisyonlarda dikkat çekici değişiklikler gözlemlenmiştir (Şekil 4). Bu pozisyonlarda görülen varyasyonlar farklı ülkelerde görülse de işlevleri tam olarak açıklanamamıştır^(13,47). 2018-2019 sezonunda, Victoria soyundaki virüslerin HA proteininde 162., 163. ve 164. pozisyonlardaki amino asit silinmelerinin baskın hale gelmesi ve Yamagata soyuna ait virüs sayısının belirgin şekilde azalması dikkat çekici bir bulgu olarak öne çıkmıştır. Bu silinmelerin influenza B virüslerinin evrimsel dinamiklerine beklenenden daha fazla katkı sağlayabileceği düşünülmekte, ancak bu hipotezin doğrulanması için ek *in silico*, *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

GISAID veri tabanındaki sınırlı verilere dayanarak gerçekleştirilen bu çalışma, Türkiye'de dolaşımda olan Victoria ve Yamagata soylarına ait influenza B virüslerinin HA genlerinde farklı evrimsel dinamikler sergilediğini ortaya koymuştur. Literatürde, yaş faktörünün uzak coğrafyalarda virüs yayılımında etkili olabileceği belirtilse de bu çalışmanın sonuçları, yaş faktörünün yakın coğrafyalardaki virüs yayılımında daha az etkili olabileceğini göstermiştir. Yamagata soyuna ait virüslerin coğrafi yayılımlarının sınırlı kalması ve viral popülasyondan kaybolma sürecinde,

4. Naquin A, O'Halloran A, Ujamaa D, et al. laboratory-confirmed influenza-associated hospitalizations among children and adults - Influenza Hospitalization Surveillance Network, United States, 2010-2023. *MMWR CDC Surveill Summ.* 2024;73(6):1-18. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss7706a1>
5. Bouvier NM, Palese P. The biology of influenza viruses. *Vaccine.* 2008;26(Suppl 4):D49-53. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.07.039>
6. Rota PA, Wallis TR, Harmon MW, Rota JS, Kendal AP, Nerome K. Cocirculation of two distinct evolutionary lineages of influenza type B virus since 1983. *Virology.* 1990;175(1):59-68. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90186-U](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90186-U)
7. Paget J, Caini S, Del Riccio M, van Waarden W, Meijer A. Has influenza B/Yamagata become extinct and what implications might this have for quadrivalent influenza vaccines? *Euro Surveill.* 2022;27(39):2200753. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.39.2200753>
8. Caini S, Meijer A, Nunes MC, et al. Probable extinction of influenza B/Yamagata and its public health implications: a systematic literature review and assessment of global surveillance databases. *Lancet Microbe.* 2024;5(8):100851. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(24\)00066-1](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00066-1)
9. Coudeville L, Bailleux F, Riche B, Megas F, Andre P, Ecochard R. Relationship between haemagglutination-inhibiting antibody titres and clinical protection against influenza: Development and application of a bayesian random-effects model. *BMC Med Res Methodol.* 2010;10:18. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-10-18>
10. Wang Q, Cheng F, Lu M, Tian X, Ma J. Crystal structure of unliganded influenza B virus hemagglutinin. *J Virol.* 2008;82(6):3011-20. <https://doi.org/10.1128/JVI.02477-07>
11. Krystal M, Young JF, Palese P, Wilson IA, Skehel JJ, Wiley DC. Sequential mutations in hemagglutinins of influenza B virus isolates: definition of antigenic domains. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983;80(14):4527-31. <https://doi.org/10.1073/pnas.80.14.4527>
12. Sun W, Kang DS, Zheng A, et al. Antibody responses toward the major antigenic sites of influenza B virus hemagglutinin in mice, ferrets, and humans. *J Virol.* 2019;93(2):e01673-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01673-18>
13. Virk RK, Jayakumar J, Mendenhall IH, et al. Divergent evolutionary trajectories of influenza B viruses underlie their contemporaneous epidemic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(1):619-28. <https://doi.org/10.1073/pnas.1916585116>
14. Blanton L, Alabi N, Mustaqim D, et al. Update: Influenza activity in the United States during the 2016–17 season and composition of the 2017–18 influenza vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2017;66(25):668-76. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6625a3>
15. Shu B, Kirby MK, Warnes C, et al. Detection and discrimination of influenza B Victoria lineage deletion variant viruses by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(41):1900652. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.41.1900652>
16. Korsun N, Trifonova I, Voleva S, Grigorova I, Angelova S. Genetic characterisation of the influenza viruses circulating in Bulgaria during the 2019-2020 winter season. *Virus Genes.* 2021;57(5):401-12. <https://doi.org/10.1007/s11262-021-01853-w>
17. World Health Organization (WHO). Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2024 southern hemisphere influenza season. 2023. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenza-recommendations/vcm-southern-hemisphere-recommendation-2024/202309_recommendation.pdf] (Erişim tarihi: 1.Ekim.2024).
18. Xie H, Xiang R, Wan HJ, et al. Reduced influenza B-specific postvaccination antibody cross-reactivity in the B/Victoria lineage-predominant 2019/20 Season. *Clin Infect Dis.* 2021;72(11):e776-83. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1481>
19. Peltola V, Ziegler T, Ruuskanen O. Influenza A and B virus infections in children. *Clin Infect Dis.* 2003;36(3):299-305. <https://doi.org/10.1086/345909>
20. Bedford T, Riley S, Barr IG, et al. Global circulation patterns of seasonal influenza viruses vary with antigenic drift. *Nature.* 2015;523(7559):217-20. <https://doi.org/10.1038/nature14460>
21. Avni T, Babich T, Nir A, et al. Comparison of clinical outcomes of influenza A and B at the 2017–2018 influenza season: a cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39(6):1109-14. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03822-x>
22. Xu C, Chan KH, Tsang TK, et al. Comparative epidemiology of influenza B Yamagata- and Victoria-Lineage viruses in households. *Am J Epidemiol.* 2015;182(8):705-13. <https://doi.org/10.1093/aje/kwv110>
23. World Health Organization (WHO). Influenza (Seasonal). 2023. [[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))] (Erişim tarihi: 18.Kasım.2024).

24. Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M, UGENE Team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012;28(8):1166-7. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
25. Nguyen LT, Schmidt HA, Von Haeseler A, Minh BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol*. 2015;32(1):268-74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>
26. Hoang DT, Chernomor O, Von Haeseler A, Minh BQ, Vinh LS. UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Mol Biol Evol*. 2018;35(2):518-22. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx281>
27. Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TK, Von Haeseler A, Jermiin LS. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat Methods*. 2017;14(6):587-9. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>
28. Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(W1):W293-6. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>
29. Needleman SB, Wunsch CD. A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J Mol Biol*. 1970;48(3):443-53. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(70\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90057-4)
30. Smith DJ, Lapedes AS, de Jong JC, et al. Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science*. 2004;305(5682):371-6. <https://doi.org/10.1126/science.1097211>
31. de Jong JC, Smith DJ, Lapedes AS, et al. Antigenic and genetic evolution of swine influenza A (H3N2) viruses in Europe. *J Virol*. 2007;81(8):4315-22. <https://doi.org/10.1128/JVI.02458-06>
32. Neher RA, Bedford T, Daniels RS, Russell CA, Shraiman BI. Prediction, dynamics, and visualization of antigenic phenotypes of seasonal influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(12):E1701-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1525578113>
33. Pan K, Subieta KC, Deem MW. A novel sequence-based antigenic distance measure for H1N1, with application to vaccine effectiveness and the selection of vaccine strains. *Protein Eng Des Sel*. 2011;24(3):291-9. <https://doi.org/10.1093/protein/gzq105>
34. Lin Q, Ji X, Wu F, Ma L. Conserved sequence analysis of influenza A virus ha segment and its application in rapid typing. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(8):1328. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081328>
35. Gorman OT, Bean WJ, Kawaoka Y, Webster RG. Evolution of the nucleoprotein gene of influenza A virus. *J Virol*. 1990;64(4):1487-97. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.4.1487-1497.1990>
36. Hu YJ, Chow KC, Liu CC, Lin LJ, Wang SC, Wang SD. Using combinatorial bioinformatics methods to analyze annual perspective changes of influenza viruses and to accelerate development of effective vaccines. *J Formos Med Assoc*. 2015;114(8):774-8. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2015.03.018>
37. Anderson CS, McCall PR, Stern HA, Yang H, Topham DJ. Antigenic cartography of H1N1 influenza viruses using sequence-based antigenic distance calculation. *BMC Bioinformatics*. 2018;19(1):51. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2042-4>
38. Anderson CS, Sangster MY, Yang H, Mariani TJ, Chaudhury S, Topham DJ. Implementing sequence-based antigenic distance calculation into immunological shape space model. *BMC Bioinformatics*. 2020;21(1):256. <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03594-3>
39. Cristianini N and Hahn MW. Introduction to Computational Genomics: A Case Studies Approach. United States of America: Cambridge University Press; 2006.
40. Han J, Kamber M, Pei J. Data Mining: Concepts and Techniques. 3rd ed. United States of America: Morgan Kaufmann Publishers is an imprint of Elsevier; 2012.
41. York IA, Stevens J, Alymova IV. Influenza virus N-linked glycosylation and innate immunity. *Biosci Rep*. 2019;39(1):BSR20171505. <https://doi.org/10.1042/BSR20171505>
42. Wang X, Kim KW, Walker G, Stelzer-Braid S, Scotch M, Rawlinson WD. Genome characterization of influenza A and B viruses in New South Wales, Australia, in 2019: A retrospective study using high-throughput whole genome sequencing. *Influenza Other Respir Viruses*. 2024;18(1):e13252. <https://doi.org/10.1111/irv.13252>
43. Puzelli S, Di Martino A, Facchini M, et al. Co-circulation of the two influenza B lineages during 13 consecutive influenza surveillance seasons in Italy, 2004-2017. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):990. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4621-z>
44. World Health Organization (WHO). Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2021- 2022 northern hemisphere influenza season. 2021. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/202102_recommendation.pdf] (Erişim tarihi: 1.Ekim.2024).
45. Mir H, Haq I, Koul PA. Poor vaccine effectiveness against influenza b-related severe acute respiratory infection in a temperate north indian state (2019–2020): A call for further data for possible vaccines with closer match. *Vaccines*. 2021;9(10):1094. <https://doi.org/10.3390/vaccines9101094>

46. Rivas MJ, Alegretti M, C oppola L, Ramas V, Chiparelli H, Goñi N. Epidemiology and genetic variability of circulating influenza B viruses in Uruguay, 2012-2019. *Microorganisms*. 2020;8(4):591. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040591>
47. Marchi S, Bruttini M, Milano G, et al. Prevalence of influenza B/Yamagata viruses from season 2012/2013 to 2021/2022 in Italy as an indication of a potential lineage extinction. *Influenza Other Respir Viruses*. 2024;18(9):e13359. <https://doi.org/10.1111/irv.13359>
48. Soydam S, Varan G,  nal S. Influenza/B Yamagata suşu ve influenza aşıları. *Flora*. 2024;29(2):165-71. <https://doi.org/10.5578/flora.2024021036>