

İki Ardışık Epidemik Sezonda Ülkemizde Dolaşımda Olan İnsan Metapnömovirus Suşlarının Filogenetik Çeşitliliği

Phylogenetic Variability of Human Metapneumovirus Strains Circulating in Turkey During Two Consecutive Epidemic Seasons

Fatma BAYRAKDAR¹, Ayşe Başak ALTAŞ¹, Gülay KORUKLUOĞLU¹

¹ Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Viroloji Bölümü, İnfluenza ve Diğer Solunum Yolu Virüsleri Laboratuvarı, Ankara.

¹ Public Health Agency of Turkey, Department of Microbiology Reference Laboratories, Virology Unit, Influenza and Other Respiratory Viruses Laboratory, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 27.04.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 15.09.2015

ÖZ

Paramyxoviridae ailesi içinde sınıflandırılan insan metapnömovirusu (HMPV)'nun, filogenetik olarak A ve B olmak üzere iki ana grubu; A1, A2 (A2a ve A2b alt soylarını içerir) ve B1, B2 olmak üzere farklı soyları tanımlanmıştır. HMPV'nin filogenetik analizleri diğer ülkelerde detaylı olarak değerlendirilmiş olmakla birlikte ülkemiz için bu konuda herhangi bir veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada, ilk kez, iki ardışık epidemik sezonda Türkiye'de dolaşımda olan HMPV suşlarının filogenetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, Ocak 2011-Aralık 2013 tarihleri arasında, solunum yolu şikayetleri olan 2900 hastaya ait üst solunum yolu örneği değerlendirilmiş, özel bir grup seçilmemiştir. Örneklerde solunum yolu virüslerinin varlığı, gerçek zamanlı multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (FTD® Respiratory Pathogens 21 Multiplex RT-PCR, Fast Track Diagnostics, Lüksemburg) ile araştırılmış ve HMPV pozitif bulunan 76 (%2.6) örnek çalışmaya alınmıştır. Filogenetik analiz için HMPV'nin nükleokapsid (N) geni (nt: 454-878) ile füzyon (F) geni (nt: 3624-4130) seçilmiştir. Yapılan dizi analizi sonucunda, HMPV pozitif 76 örneğin 46'sının F ve N genlerinin dizileri elde edilebilmiştir. Elde edilen dizilerden %54.3'ü B2, %17.4'ü B1, %4.3'ü A1, %4.3'ü A2a ve %20'si A2b soylarına aittir. 2011 yılında A2b alt soyu baskın genotip olarak görülmüştür. 2012 ve 2013 yıllarında B1 ile beraber B2 soyu baskın genotip olarak dolaşımda kalmıştır. A1 soyu sadece 2013 yılında gözlemlenmiştir. F geninin kısmi dizi analizlerine göre A ve B grupları arasındaki nükleotid benzerliği 0.138-0.168 iken aminoasit benzerliği 0.028-0.042'dir. N geninin A ve B grupları arasındaki nükleotid benzerliği ise 0.141-0.163 olup, aminoasit benzerliği 0.037-0.050 olarak izlenmiştir. Çalışmamızda, nükleotid farklılığının aminoasit değişimi ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum, HMPV'nin F ve N genlerinin ani aminoasit değişimlerinden

İletişim (Correspondence): Dr. Bio. Fatma Bayrakdar, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Viroloji Bölümü, İnfluenza ve Diğer Solunum Yolu Virüsleri Laboratuvarı, Adnan Saygun Caddesi No: 55, 06100 Sıhhiye, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 565 5564, **E-posta (E-mail):** fbayrakdar@windowslive.com

korunduğunu göstermekte; F ve N genlerinin yüksek oranda korunmuş olması da HMPV'nin evriminin yavaş olduğunu düşündürmektedir. Mevsimsel pikler; 2011 yılında Nisan-Temmuz, 2012 yılında Ocak-Haziran ve 2013 yılında Ocak-Mayıs ayları arasında gözlenmiştir. Ayrıca HMPV sıklığının 0-5 yaş arasında yüksek olduğu ve solunum sinsityal virüsü, koronavirus, parainfluenza virus 3, rinovirus ve enterovirus gibi diğer solunum yolu virüsleriyle koenfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile, Avrupa'da dolaşımda olan HMPV suşlarına benzer suşların ülkemizde dolaşımda olduğu gösterilmiştir.

Anahtar sözcükler: İnsan metapnömovirusu; filogenetik analiz; N geni, F geni; Türkiye.

ABSTRACT

Human metapneumovirus (HMPV), classified in *Paramyxoviridae* family, phylogenetically consists of two major groups namely A and B, with genetic lineages of A1, A2 (comprises of sublineages A2a and A2b) and B1, B2. Although detailed evaluation on phylogenetic analysis of HMPV has been described in other countries, there are no data from Turkey on this subject. The aim of this study was to demonstrate for the first time, the phylogenetic diversity of HMPV strains circulating in Turkey during two consecutive epidemic seasons. A total of 2900 upper respiratory tract samples collected from patients with respiratory illness were evaluated between January 2011 and December 2013, without any special selection criteria. The presence of respiratory viruses in the samples were detected by real-time multiplex polymerase chain reaction (FTD® Respiratory Pathogens 21 Multiplex RT-PCR, Fast Track Diagnostics, Luxembourg), and 76 (2.6%) samples positive for HMPV were included in the study. HPMV nucleocapsid (N) (nt: 454-878) and fusion (F) (nt: 3624-4130) genes were selected for phylogenetic analysis. In sequence analysis, F and N gene sequences could only be obtained successfully from 46 out of 76 HMPV positive samples. According to sequences obtained, 54.3% belonged to B2, 17.4% to B1, 4.3% to A1, 4.3% to A2a, and 20% to A2b. In 2011, the A2b sublineage was predominant, while in 2012 and 2013, B2 lineages were predominant together with the B1 lineage. The A1 lineage was observed only in 2013. For the F gene fragment, nucleotide distance between group A and B was in the range of 0.138-0.168, however aminoacid distance amongst Turkish HMPV sequences were in the range of 0.028-0.042. For the N gene fragment, nucleotide distance between group A and B was in the range of 0.141-0.163, but aminoacid distance between group A and B was in the range of 0.037-0.050. Nucleotide diversity was higher than aminoacid diversity between and within lineages found in this study. This result indicated that the functional constraints on F and N genes prevent dramatic aminoacid changes, and indicated that the evolution of HMPV was slow. The seasonal peaks were observed from April to July in 2011, from January to June in 2012 and from January to May in 2013. In addition, our data emphasized that the HMPV prevalence was high in children 0-5 years old, and coinfections were common with the other respiratory viruses such as respiratory syncytial virus, coronavirus, parainfluenza virus 3, rhinovirus and enterovirus. In conclusion, this study showed that HMPV strains circulating in Turkey were similar to those circulating in Europe.

Keywords: Human metapneumovirus; phylogenetic analysis; N gene; F gene; Turkey.

GİRİŞ

Solunum yolu enfeksiyonları tüm dünyada morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindendir. İnsan metapnömovirusu (Human metapneumovirus; HMPV), bebekler, küçük çocuklar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde, alt solunum yolu enfeksiyonlarından önemli oranda sorumlu olan ve erken çocukluk dönemindeki bronşiyolitlerin, solunum sinsityal virusundan sonra ikinci sıklıkta rastlanan etkenidir¹⁻³.

İlk kez 2001 yılında Hollanda'da izole edilen HMPV, *Paramyxoviridae* ailesi, *Pneumovirinae* alt ailesi, *Metapneumovirus* cinsine ait zarflı, tek iplikli negatif polariteli bir RNA virusudur. HMPV genomu; nükleokapsid (N), fosfoprotein (P), glikozillenmemiş matriks proteini

(M), küçük hidrofobik yüzey proteini (SH), bağlanma proteini (G), büyük polimeraz proteini (L) ve füzyon proteini (F) olmak üzere dokuz protein kodlamaktadır. F glikoproteini son derece korunmuş, tip 1 membran proteinidir. M2 geni ise, transkripsiyon uzatma faktörü (M2-1) ve RNA sentezini düzenleyici faktör (M2-2) olmak üzere iki açık okuma çerçevesi (open reading frame; ORF) taşır⁴⁻⁶. HMPV, genlerinin filogenetik analizlerine göre A ve B olmak üzere iki ana gruba; her iki grup da sırasıyla A1, A2 ve B1, B2 olmak üzere farklı soylara ayrılmaktadır. A2 soyu iki alt soydan; A2a ve A2b'den oluşmaktadır^{7,8}.

HMPV'nin bütün genotipleri bir sezon boyunca dolaşımda olabilir. HMPV'nin epidemiyolojik ve filogenetik analizleri detaylı olarak diğer ülkelerde değerlendirilmiştir. Ancak Türkiye'de, HMPV ilgili sadece birkaç epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır⁹⁻¹¹. Bu çalışmada, ilk kez, iki ardışık epidemik sezonda Türkiye'de dolaşımda olan HMPV suşlarının filogenetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırma Etik Kurulu (22.02.2012 tarih ve 18 karar no) onayı ile gerçekleştirildi. Çalışma kapsamında, Ocak 2011-Aralık 2013 tarihleri arasında solunum yolu virusları istemiyle laboratuvarımıza gelen örnekler değerlendirildi, özel bir grup seçilmedi. Hastaların nazofarenks ve boğaz sürüntüleri, Virocult MW950 marka viral taşıma sistemiyle Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Viroloji Laboratuvarı, Ulusal İnfluenza ve diğer solunum yolu virusları laboratuvarına gönderildi. Örnekler bekletilmeden, derhal çalışmaya alındı. RNA izolasyonu Qiagen EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) ile üreticinin talimatlarına göre yapıldı.

Gerçek Zamanlı Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

2011-2012 ve 2012-2013 epidemik sezonlarına ait toplam 2900 örnek, Respiratory Pathogens 21 Multiplex RT-PCR (influenza virus A, H1pdm09, influenza virus B, rhinovirus, respiratory syncytial virus (RSV) A/B, parainfluenza virus 1/2/3/4, coronavirus OC43/229E/NL63/HKU1, parechovirus, enterovirus, adenovirus, human bocavirus, human metapneumovirus) kiti ile üreticinin (Fast Track Diagnostics, Lüksemburg) talimatları doğrultusunda çalışıldı. HMPV pozitif olarak bulunan örnekler değerlendirmeye alındı.

Dizi Analizi

Çalışma için F geninin A ve B genotipleri arasında dört ve B1 ve B2 arasında bir özel aminoasit değişimi içeren 506 baz çift (bç)'lik ([nt] 3624-4130) bölgesi ile N geninin A ve B genotipleri arasında iki ve B1 ve B2 arasında iki aminoasit değişimi içeren 424 bç'lik ([nt] 454-878) bölgeleri seçildi. Bu bölgeler, Qiagen One-step RT-PCR Kit (Qiagen, Almanya) ile amplifiye edildi⁷. PCR ürünleri Qiaquick PCR saflaştırma kiti (Qiagen, Almanya) ile saflaştırıldı. ABI 3130 genetik analizörde BigDye v3.1 (Applied Biosystems, ABD) kiti kullanılarak DNA dizi analizi yapıldı.

Filogenetik Analiz

Özdeş diziler, DAMBE yazılımının 5.3.10 versiyonu ile belirlendi¹². Çalışmamızda elde edilen diler ve referans dizilerin hizalanması, ClustalW programı ile Mega yazılımı versiyon 6'da yapıldı¹³. Bu çalışmada elde edilen nükleotid dizileri GenBank'a KJ131430-KJ131480 ve KJ152589-KJ152624 numaraları ile yüklendi.

BULGULAR

Çalışmamızda, 2011-2013 epidemik sezonlarında gönderilen solunum yolu örneklerinin %2.6'sında (76/2900) multipleks RT-PCR ile HMPV pozitifliği saptanmıştır. Yapılan dizi analizi sonucunda ise, HMPV pozitif 76 örneğin 46'sının (%60.5) F ve N genlerinin kısmi dizileri elde edilebilmiştir. Elde edilen dizilerden %54.3'ü B2, %17.4'ü B1, %4.3'ü A1, %4.3'ü A2a ve %20'si A2b soylarına aittir. 2011 yılında A2b alt soyu baskın genotip olarak görülmüştür. 2012 ve 2013 yıllarında B1 ile beraber B2 soyu baskın genotip olarak dolaşımda kalmıştır. A1 soyu sadece 2013 yılında gözlemlenmiştir (Şekil 1 ve 2).

F gen segmenti için, A ve B grupları arasındaki nükleotid benzerliği 0.138-0.168 aralığındadır. A1-A2a, A1-A2b, A2a-A2b ve B1-B2 arasında ise sırasıyla 0.069, 0.096, 0.047 ve 0.060'dır. HMPV suşları arasındaki aminoasit benzerliği 0.028-0.042 aralığında; B genotipi içerisinde aminoasit benzerliği 0.018; A1-A2a, A1-A2b ve A2a-A2b arasındaki aminoasit benzerliği ise sırasıyla 0.010, 0.007 ve 0.004 olarak tespit edilmiştir. Genotip A ve B arasındaki aminoasit değişimleri N233Y, V286I, K296N, K296D, Q312K ve K348R'dir. B2 soyunda 233. (T233N) ve 280. (D280N) pozisyonunda aminoasit değişimi bulunmaktadır (Şekil 3).

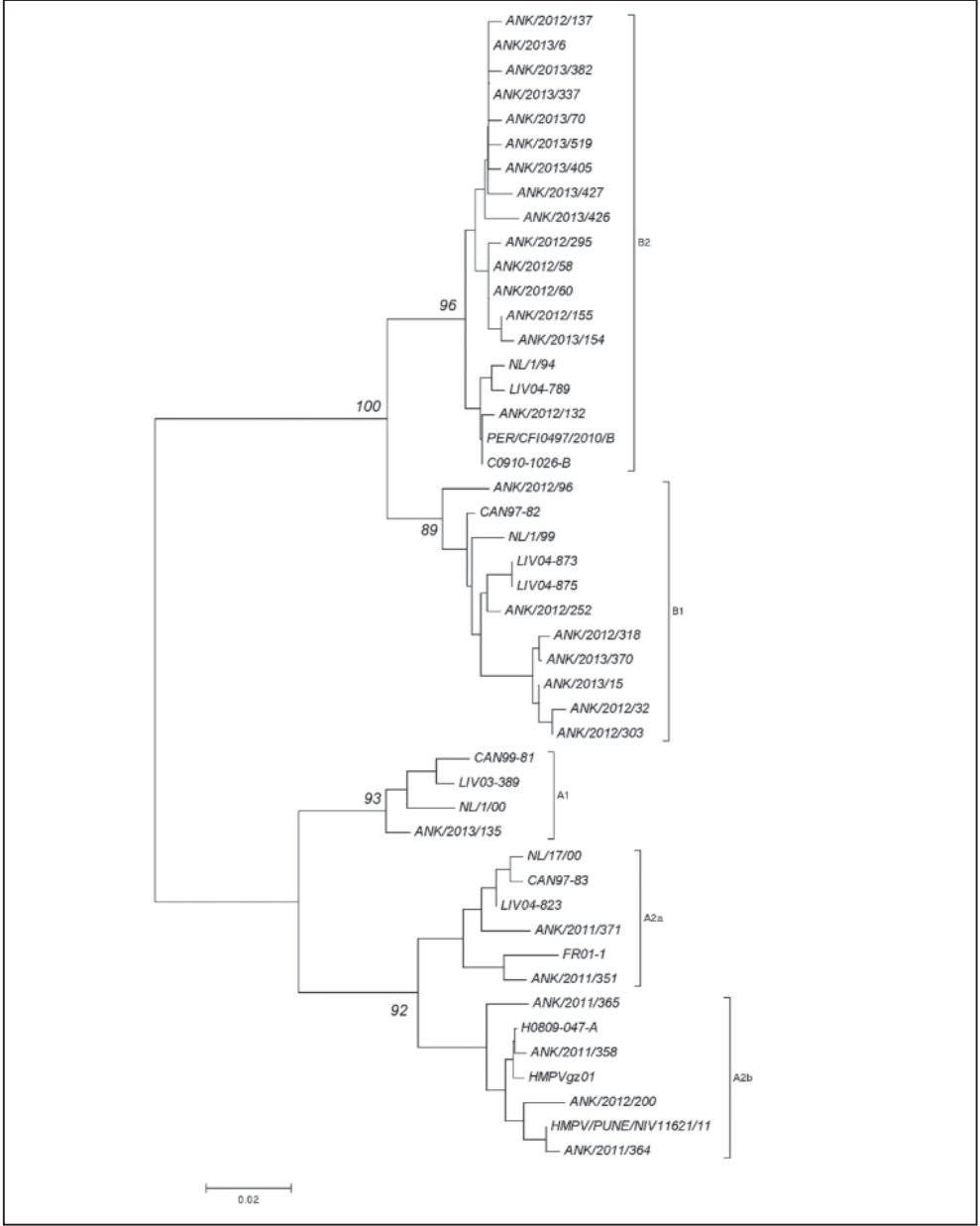
N gen segmenti için, grup A ve B arasındaki nükleotid benzerliği 0.141-0.163; A1-A2a, A1-A2b, A2a-A2b ve B1-B2 arasında ise sırasıyla 0.057, 0.048, 0.022 ve 0.064'tür. A ve B grupları arasındaki aminoasit benzerliği 0.037-0.050 aralığındadır. B genotipi içinde aminoasit benzerliği 0.002; A1-A2a ve A1-A2b arasında 0.011 olarak izlenmiştir. A2a ve A2b arasında aminoasit benzerliği bulunmamaktadır. A ve B grupları arasındaki aminoasit değişimleri M201V ve D212E iken, B1 ve B2 arasındaki aminoasit değişimleri M258L, A280S'dir (Şekil 4).

Mevsimsel pikler; 2011 yılında Nisan-Temmuz, 2012 yılında Ocak-Haziran ve 2013 yılında Ocak-Mayıs ayları arasında gözlemlenmiştir (Şekil 5). HMPV her yaş grubunda görülmesine rağmen ağırlıklı olarak bronşit, bronşiyolit veya pnömoni tanısı konulmuş 1 ay ila 5 yaş arasındaki çocuk hastalarda daha sık tespit edilmiştir. HMPV'nin; RSV, koronavirus, parainfluenza virus 3, rinovirus ve enterovirus gibi diğer solunum yolu virüsleri ile koenfeksiyon oluşturdğu belirlenmiştir.

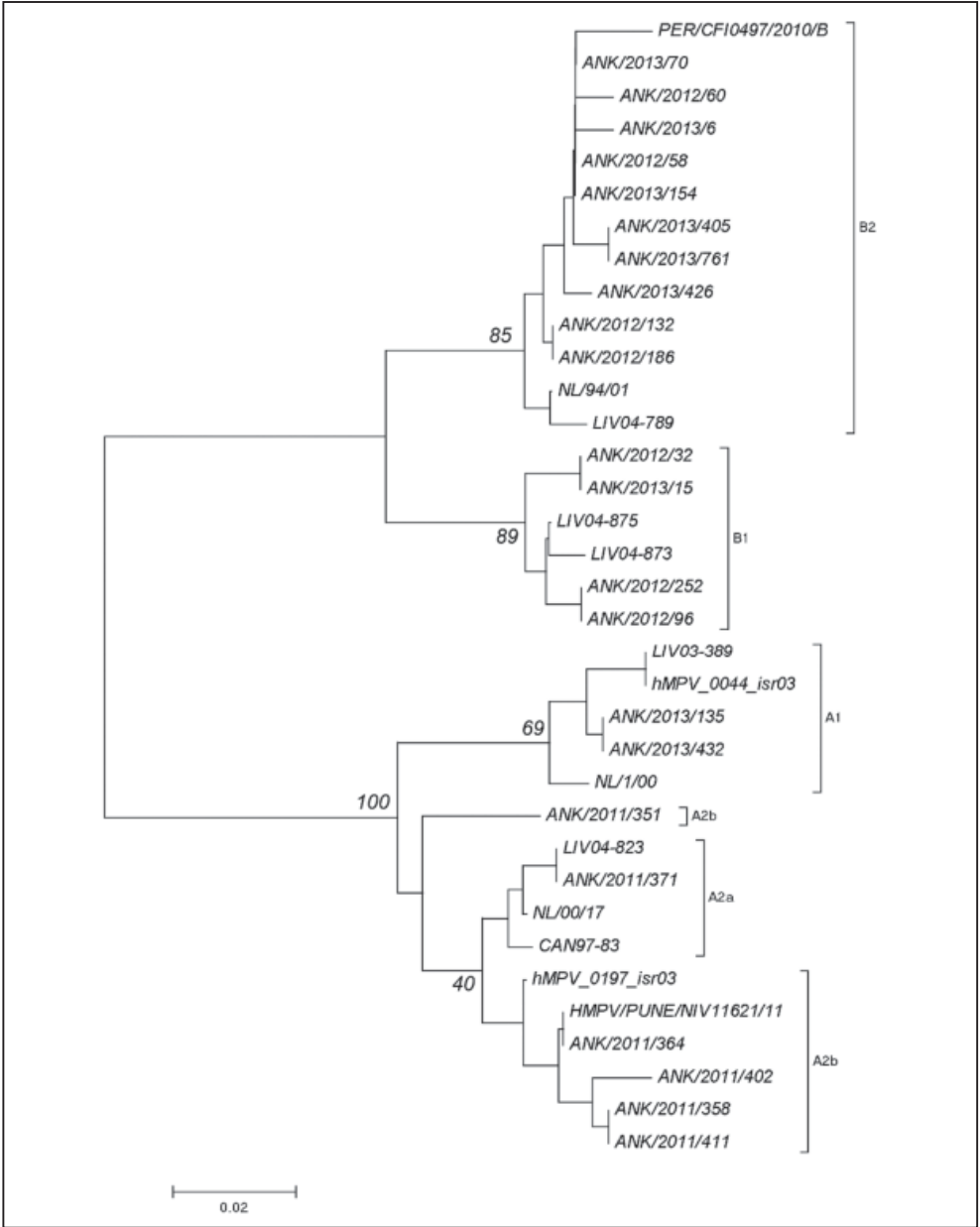
TARTIŞMA

Ülkemizdeki HMPV suşlarının filogenetik çeşitliliğinin araştırıldığı bu çalışmada, iki ardışık epidemik sezona ait toplam 2900 örnek çalışılmış ve 76'sı (%2.6) HMPV pozitif olarak tespit edilmiştir. HMPV, özellikle yenidoğan ve çocuklarda üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda da, HMPV pozitif örneklerin sıklıkla 0-5 yaş arası çocuklara ait olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, beş yaşına kadar bütün çocukların HMPV ile enfekte olduğu belirtilmektedir^{14,15}. Yaşam boyunca HMPV'nin farklı genotipleri ile yeniden enfekte olmak mümkündür¹⁶.

Farklı bölgelerden farklı yıllarda tanımlanan HMPV suşları birbirlerine benzer olabilir ve toplumdan topluma farklılık gösterebilir. Aynı epidemik sezonda virusun tüm soyları ve alt soyları dolaşımda görülebilir^{17,18}. 2005-2008 yılları arasında B2 genotipi Hırvatistan, İrlanda, Fransa ve Yunanistan'da baskın genotip olarak dolaşımda kalmıştır¹⁹⁻²². 2002-2003 ve 2003-2004 sezonlarında A1, A2 ve B2 soyları İsrail'de gözlemlenmiştir²³. Kuzey



Şekil 1. 2011-2013 yılları arasında ülkemizde dolaşımda olan HMPV suşlarının kısmi F geni dizilerine göre filogenetik ağacı. Filogenetik ağaç, Mega 6'da substitüsyon modeli nükleotid "Kimura-2 parameter model" ve "bootstrap probabilities" 1000 kopya kullanılarak oluşturulmuştur. Referans suşlar ve diğer ülkelerde tanımlanan suşların nükleotid dizileri GenBank'dan elde edilmiştir (F ve N genleri için GenBank numaraları: KC731526, KJ627414, EU179267-EU179271, FJ168778, FJ168779, AY145278, AM056029, AM056031, EU179273-EU179277, AY145294-AY145296, GQ153651, KF192743, KF192802, AY626963, AY371337, AY304360, AY304362, AY525843).

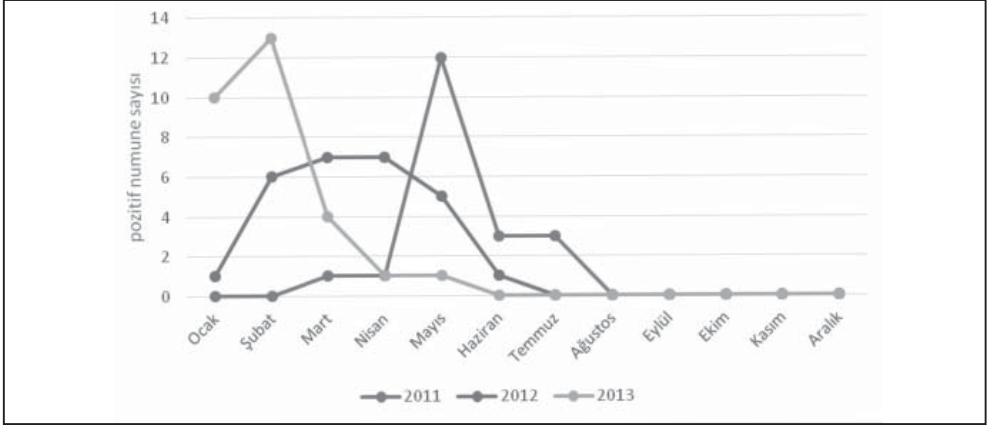


Şekil 2. 2011-2013 yılları arasında ülkemizde dolaşımda olan HMPV suşlarının kısmi N geni dizilerine göre filogenetik ağacı. Filogenetik ağaç, Mega 6'da substitüsyon modeli nükleotid "Kimura-2 parameter model" ve "bootstrap probabilities" 1000 kopya kullanılarak oluşturulmuştur. Referans suşlar ve diğer ülkelerde tanımlanan suşların nükleotid dizileri GenBank'dan elde edilmiştir (F ve N genleri için GenBank numaraları: KC731526, KJ627414, EU179267-EU179271, FJ168778, FJ168779, AY145278, AM056029, AM056031, EU179273-EU179277, AY145294-AY145296, GQ153651, KF192743, KF192802, AY626963, AY371337, AY304360, AY304362, AY525843).

NU102	LMTDAELARA	VENHPTSA00	IKLULENHRAM	VRKKBP0FLI	BYV0SSVIVM	VQIPIBVID	TPGWIIVKAAP	SS0SKKNHYA	GLLRQ00HY	Q0HA0STVYV	PHEK0CETRO	DNVFC0TAA0	INVAB0BC
CAMP-21													
NU07-200													
AN02071318													
NU1718													
CAMP-023													
CAMP-102													
FR0-1													
AN02071301													
AN02071371													
H0P1-021													
H0P1-021													
H030-05-A													
AN02071303													
AN02071304													
AN02071305													
AN02071306													
AN02071307													
AN02071308													
AN02071309													
AN02071310													
AN02071311													
AN02071312													
AN02071313													
AN02071314													
AN02071315													
AN02071316													
AN02071317													
AN02071318													
AN02071319													
AN02071320													
AN02071321													
AN02071322													
AN02071323													
AN02071324													
AN02071325													
AN02071326													
AN02071327													
AN02071328													
AN02071329													
AN02071330													
AN02071331													
AN02071332													
AN02071333													
AN02071334													
AN02071335													
AN02071336													
AN02071337													
AN02071338													
AN02071339													
AN02071340													
AN02071341													
AN02071342													
AN02071343													
AN02071344													
AN02071345													
AN02071346													
AN02071347													
AN02071348													
AN02071349													
AN02071350													
AN02071351													
AN02071352													
AN02071353													
AN02071354													
AN02071355													
AN02071356													
AN02071357													
AN02071358													
AN02071359													
AN02071360													
AN02071361													
AN02071362													
AN02071363													
AN02071364													
AN02071365													
AN02071366													
AN02071367													
AN02071368													
AN02071369													
AN02071370													
AN02071371													
AN02071372													
AN02071373													
AN02071374													
AN02071375													
AN02071376													
AN02071377													
AN02071378													
AN02071379													
AN02071380													
AN02071381													
AN02071382													
AN02071383													
AN02071384													
AN02071385													
AN02071386													
AN02071387													
AN02071388													
AN02071389													
AN02071390													
AN02071391													
AN02071392													
AN02071393													
AN02071394													
AN02071395													
AN02071396													
AN02071397													
AN02071398													
AN02071399													
AN02071400													
AN02071401													
AN02071402													
AN02071403													
AN02071404													
AN02071405													
AN02071406													
AN02071407													
AN02071408													
AN02071409													
AN02071410													
AN02071411													
AN02071412													
AN02071413													
AN02071414													
AN02071415													
AN02071416													
AN02071417													
AN02071418													
AN02071419													
AN02071420													
AN02071421													
AN02071422													
AN02071423													
AN02071424													
AN02071425													
AN02071426													
AN02071427													
AN02071428													
AN02071429													
AN02071430													
AN02071431													
AN02071432													
AN02071433													
AN02071434													
AN02071435													
AN02071436													
AN02071437													
AN02071438													
AN02071439													
AN02071440													
AN02071441													
AN02071442													
AN02071443													
AN02071444													
AN02071445													
AN02071446													
AN02071447													
AN02071448													
AN02071449													
AN02071450													
AN02071451													
AN02071452													
AN02071453													
AN02071454													
AN02071455													
AN02071456													
AN02071457													
AN02071458													
AN02071459													
AN02071460													
AN02071461													
AN02071462													

[illegible]

Şekil 4. Elde edilen kısmi N geni aminoasit dizilerinin referans suşlar ile karşılaştırılması. Aynı olan aminoasitler noktalar ile gösterilmiştir.



Şekil 5. HMPV pozitif örneklerin 2011-2013 yılları arasında aylara göre dağılımı.

İtalya’da yapılan çalışmada 5 ardışık epidemik sezonda (2005-2009) dört soyun birlikte dolaşımda olduğu belirtilmiştir²¹. Almanya’da yapılan 10 yıllık çalışmada HMPV’nin bütün soy ve alt soylarının dolaşımda olduğu gösterilmiştir¹⁵. Ülkemizde ise, çalışmamızın verilerine göre, 2011 yılında sadece A2a ve A2b alt soyları; 2012’de A2b alt soyu ile B1 ve B2 soyu; 2013’de de A1, B1 ve B2 soyları dolaşımda kalmıştır. Yapılan çalışmalarda, HMPV’nin dünya genelinde görüldüğü ve genellikle kış ve bahar aylarında dolaşımda olduğu belirtilmiştir¹⁵⁻¹⁸. Çalışmamızda mevsimsel pikler; 2011 yılında Nisan-Temmuz ayları, 2012 yılında Ocak-Haziran ayları ve 2013 yılında Ocak-Mayıs ayları arasında gözlemlenmiştir. Ayrıca, HMPV’nin diğer solunum virüsleri ile koenfeksiyon oluşturduğunu bildiren çalışmalara²⁴ benzer olarak, bizim çalışmamızda da RSV, koronavirus, parainfluenza virus 3, rinovirus ve enterovirus ile koenfeksiyonlar izlenmiştir.

F geninin kısmi dizi analizlerine göre, A ve B grupları arasındaki nükleotid benzerliği 0.138-0.168 iken, aminoasit benzerliği 0.028-0.042 olarak saptanmıştır. N geninin ise A ve B grupları arasındaki nükleotid benzerliği 0.141-0.163; aminoasit benzerliği 0.037-0.050’dir. Nükleotid farklılığının aminoasit değişimi ile karşılaştırıldığında yüksek olması, HMPV F ve N genlerinin ani aminoasit değişimlerinden korunduğunu göstermektedir. Ek olarak, F ve N genlerinin yüksek oranda korunmuş olması, HMPV’nin evriminin yavaş olduğunu düşündürmektedir^{25,26}. Çalışmamızdaki B2 suşları, 233. (T233N) ve 280. (D280N) pozisyonlarda ilave aminoasit değişimleri içermektedir. Bu aminoasit değişimleri Almanya’da saptanan HMPV suşlarında da gözlenmiştir¹⁵. Sonuç olarak, bu çalışma ile, ülkemizdeki HMPV suşlarının filogenetik çeşitliliği ilk defa ortaya konulmuş ve Avrupa’da dolaşımda olan suşlarla benzer oldukları gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- Boivin G, Abed Y, Pelletier G, et al. Virological features and clinical manifestations associated with the human metapneumovirus, a new paramyxovirus responsible for acute respiratory tract infections in all age groups. J Infect Dis 2002; 186(9): 1330-4.
- Pelletier G, Dery P, Abed Y, Boivin G. Respiratory tract reinfections by the new human metapneumovirus in an immunocompromised child. Emerg Infect Dis 2002; 8(9): 976-8.

3. Van den Hoogen BG, Van Doornum GJ, Fockens JC, et al. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis* 2003; 188(10): 1571-7.
4. Van Den Hoogen BG, Herfst S, Sprong L, et al. Antigenic and genetic variability of human metapneumoviruses. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(4): 658-66.
5. Kahn JS. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(3): 546-57.
6. Williams JV, Chen Z, Cseke G, et al. A recombinant human monoclonal antibody to human metapneumovirus fusion protein that neutralizes virus in vitro and is effective therapeutically in vivo. *J Virol* 2007; 81(15): 8315-24.
7. Huck B, Scharf G, Neumann-Heifelin D, Puppe W, Weigl J, Falcone V. Novel human metapneumovirus sublineage. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(1): 147-50.
8. Arnott A, Vong S, Sek M, et al. Genetic variability of human metapneumovirus amongst an all ages population in Cambodia between 2007 and 2009. *Infect Genet Evol* 2013; 15: 43-52.
9. Aksoy Gökmen A, Çiçek C, Saz EU, Özananar Y, Duyu M. Detection of human metapneumovirus prevalence in pediatric patients with lower respiratory tract infections. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(4): 614-23.
10. Hatipoğlu N, Somer A, Badur S, et al. Viral etiology in hospitalized children with acute lower respiratory tract infection. *Türk J Pediatr* 2011; 53(5): 508-16.
11. Altındış M, Kandemir Ö, Kalaycı R ve ark. Metapnömovirus ve diğer solunumsal virusların multipleks PCR ile tanısı. *Klimik Derg* 2007; 20(Suppl 1): 293, P01-002.
12. Xia, X. DAMBE5: a comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Mol Biol Evol* 2013; 30(7): 1720-8.
13. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28(10): 2731-9.
14. Ebihara T, Endo R, Kikuta H, et al. Seroprevalence of human metapneumovirus in Japan. *J Med Virol* 2003; 70(2): 281-3.
15. Reiche J, Jacobsen S, Neubauer K, et al. Human metapneumovirus: Insights from a ten-year molecular and epidemiological analysis in Germany. *PLoS One* 2014; 9(2): e88342.
16. Broor S, Bharaj P, Chahar HS. Human metapneumovirus: a new respiratory pathogen. *J Biosci* 2008; 33(4): 483-93.
17. Boivin G, Mackay I, Sloots TP, et al. Global genetic diversity of human metapneumovirus fusion gene. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(6): 1154-7.
18. Peret TC, Boivin G, Li Y, et al. Characterization of human metapneumoviruses isolated from patients in North America. *J Infect Dis* 2002; 185(11): 1660-3.
19. Ljubin-Sternak S, Santak M, Cepin-Bogovic J, et al. Detection of genetic lineages of human metapneumovirus in Croatia during the winter season 2005/2006. *J Med Virol* 2008; 80(7): 1282-7.
20. Pitoiset C, Darniot M, Huet F, Aho SL, Pothier P, Manoha C. Human metapneumovirus genotypes and severity of disease in young children (n = 100) during a 7-year study in Dijon hospital, France. *J Med Virol* 2010; 82(10): 1782-9.
21. Carr MJ, Waters A, Fenwick F, Toms GL, Hall WW, O'Kelly E. Molecular epidemiology of human metapneumovirus in Ireland. *J Med Virol* 2008; 80(3): 510-6.
22. Poqka V, Moutousi A, Kossyvakis A, et al. Genetic variability of human metapneumo- and bocaviruses in children with respiratory tract infections. *Influenza Other Respir Viruses* 2014; 8(1): 107-15.
23. Regev L, Hindiyeh M, Shulman LM, et al. Characterization of human metapneumovirus infections in Israel. *J Clin Microbiol* 2006; 44(4): 1484-9.
24. Lo Presti A, Cammarota R, Apostoli P, et al. Genetic variability and circulation pattern of human metapneumovirus isolated in Italy over five epidemic seasons. *New Microbiol* 2011; 34(4): 337-44.
25. Esper F, Martinello RA, Boucher D, et al. A 1-year experience with human metapneumovirus in children aged <5 years. *J Infect Dis* 2004; 189(8): 1388-96.
26. Yang CF, Wang CK, Tollefson SJ, et al. Genetic diversity and evolution of human metapneumovirus fusion protein over twenty years. *Virol J* 2009; 6: 138.