

Sentinel İnfluenza Sürveyansında Son İki Sezonun Değerlendirilmesi: 2013-2014 ve 2014-2015

Evaluation of Sentinel Influenza Surveillance of the Last Two Seasons: 2013-2014 and 2014-2015

Sevim MEŞE¹, Serkan ASAR¹, Merve TULUNOĞLU¹, Aysun UYANIK¹, Osman Şadi YENEN¹, Ali AĞAÇFİDAN¹, Selim BADUR¹

¹ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul.

¹ İstanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Virology and Basic Immunology Unit, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 09.03.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 01.07.2016

ÖZ

İnfluenza viruslarının neden olduğu grip, yüksek morbidite ve mortalite oranları ile tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ulusal influenza sürveyans çalışmalarının sonuçlarını düzenli olarak toplamakta, değerlendirmekte ve uluslararası paylaşımına sunmaktadır. Böylece, ülkelerin grip salgınları ile mücadelede alması gereken önlem ve hazırlıkların daha hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi için olanak sağlanmaktadır. Ülkemizde de 2004-2005 sezonundan başlayarak günümüze kadar mevcut grip aktivitesi sentinel sürveyans uyarınca izlenmektedir. Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarının 2013-2014 ve 2014-2015 sezonlarındaki sentinel sürveyans bulguları değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, sorumlu olduğumuz İzmir, İstanbul, Antalya, Edirne ve Bursa illerinde gönüllü aile hekimleri tarafından influenza benzeri hastalık tanısı konulan hastalardan nazal/nazofarengeal sürüntü örnekleri alınmış ve en geç üç gün içerisinde laboratuvarımıza ulaştırılmıştır. Soğuk zincir kurallarına uygun olarak Virocult® transport besiyeri içerisinde gönderilen 1240 örnek, CDC (Centers for Disease Control and Prevention) protokollerine uygun olarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) ile incelenmiştir. Çalışmamızda, 2013-2014 sezonunda %31.4 (202/641); 2014-2015 sezonunda ise %44.4 (289/650) oranında influenza virus pozitifliği saptanmıştır. 2013-2014 sezonunda %93.1 (188/202) oranı ile influenza A(H3N2) baskın tip olarak bulunmuş; influenza B pozitiflik oranı %6.9 (14/202) olarak saptanmıştır. 2014-2015 sezonunda ise %60.2 (174/289) oranı ile influenza B virusu baskın olmuştur. Bu sezonda influenza A(H1N1)pdm09 ve influenza A(H3N2) pozitiflik oranları sırasıyla %30.4 (88/289) ve %9.3 (27/289) olarak saptanmıştır. 2013-2014 grip sezonu 48. haftada başlayıp 52-2.haftada pik yaparken, 2014-2015 grip sezonu daha geç olarak 2. haftada başlamış ve 10-13. haftalarda pik yapmıştır. Her iki sezonda da izolen edilen

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Sevim Meşe, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, 34090 Çapa, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 212 414 2000-35031, **E-posta (E-mail):** drsevimnese@gmail.com

influenza B suşlarının Yamagata soyundan olduğu belirlenmiştir. Laboratuvarımızda izole edilen influenza A viruslarının antijenik karakterizasyonu aşı suşları ile uyumlu bulunmuştur. Sonuç olarak süreyans çalışmaları, gripin toplum sağlığı üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılması ve grip ile mücadele yollarının belirlenmesi açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu anlamda influenza süreyansının, ülkeler ölçeğinde alanı genişletilerek daha etkin bir şekilde uygulanmasına gerek vardır.

Anahtar sözcükler: *İnfluenza; sentinel süreyans; antijenik tanımlama; gerçek zamanlı PCR.*

ABSTRACT

Flu caused by influenza viruses, is a serious public health problem all over the world with its high morbidity and mortality. Therefore World Health Organization (WHO) regularly collects the results of national influenza surveillance, evaluates the results and shares them on international portal. Thus, it provides the possibility of rapid prevention and preparation of countries that needs to be taken on the fight against the epidemic flu. Starting from 2004-2005 season until today the current flu activity in our country is also followed in accordance with sentinel surveillance. The aim of this study was to evaluate the results of sentinel surveillance data obtained by National Influenza Reference Laboratory in Istanbul University Faculty of Medicine, in 2013-2014 and 2014-2015 seasons. For this purpose, nasal/nasopharyngeal swab samples taken from the patients diagnosed as influenza-like illness by the volunteer family physicians in Izmir, Istanbul, Antalya, Edirne and Bursa were included in the study. A total of 1240 samples were delivered to our laboratory in three days, in Virocult® transport culture medium according to cold chain rules. All the samples were studied by real-time polymerase chain reaction (Rt-PCR) according to the protocols of Centers for Disease Control and Prevention (CDC). In our study, the positivity rates of influenza viruses in 2013-2014 and 2014-2015 seasons were detected as 31.4% (202/641) and 44.4% (289/650), respectively. In 2013-2014 season, influenza A(H3N2) virus was the predominant type with a rate of 93.1% (188/202), and the rest was influenza B virus (14/202; 6.9%). In 2014-2015 season, influenza B virus has been dominated with a rate of 60.2% (174/289), and the rates of influenza A(H1N1) pdm09 and influenza A(H3N2) were 30.4% (88/289) and 9.3% (27/289), respectively. The flu season in 2013-2014 has started at 48th week and peaked at 52nd week, while it was started later in the second week in 2014-2015 season and peaked at 10th-13th week. The lineage of the influenza B viruses isolated in both seasons were identified as B/Yamagata. Antigenic characterization of influenza A viruses isolated in our laboratory was found compatible with the vaccine strains. In conclusion, surveillance studies are highly important for the determination of the effects of flu on public health and identification of the approaches for fighting with flu. In this sense, influenza surveillance of the countries are required to implement more effectively in an expanded field of scale.

Keywords: *Influenza; sentinel surveillance; antigenic characterization; real-time PCR.*

GİRİŞ

İnfluenza virusları, antijenik özelliklerine göre A, B ve C olmak üzere üç tipe ayrılmaktadır¹. İnfluenza A (INF-A) virusu, zarf yapısında yer alan hemaglütinin (HA) ve nöraminidaz (NA) glikoproteinlerine bağlı olarak farklı alt tipleri ile insanlar, memeli hayvanlar ve kuşlarda hastalık oluşturur². İnfluenza B (INF-B) virusu ise, dolaşımda Yamagata ve Victoria olarak adlandırılan iki farklı soy şeklinde bulunur. Son yıllarda fokların ve domuzların INF-B virusu ile enfeksiyonu gösterilmiş de, bu virus genellikle insanlarda mevsimsel grip etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır³. İnfluenza C virusu, dolaşımda tek bir soy halinde bulunmakta ve insanlarda hafif seyirli, sporadik enfeksiyonlara neden olmaktadır⁴. INF-A ve INF-B

virusları, genetik yapılarında meydana gelen nokta mutasyonları nedeniyle epidemilere yol açan antijenik değişime uğramaktadır. Ayrıca geniş konak özgüllüğü gösteren İNF-A virusu, farklı alt tipleri ile, her birine özgü reseptör taşıyan bir konağı enfekte edebilme ve sonuçta alt tiplerinin RNA segmentleri arasında değişim (reassortment) sonucu oluşan yeni alt tiplerin sorumlu olacağı pandemilere yol açabilme özelliğine de sahiptir⁵. 1918-1919 yıllarında influenza A (H1N1) ile 20-50 milyon kişinin öldüğü İspanyol gribi, 1957-1958 yıllarında influenza A (H2N2) ile 2-4 milyon kişinin öldüğü Asya gribi ve 1968-1969 yıllarında influenza A (H3N2) ile 1-2 milyon kişinin öldüğü Hong Kong gribi, 20. yüzyılda gerçekleşen en büyük pandemilerdir⁶. Çoklu reasortman (harmanlama) sonucu 2009 yılında Meksika'da ortaya çıkan ve Nisan ayında ABD'nin güneyinde tanımlanan influenza A(H1N1) pdm09 virusu ise 21. yüzyılın ilk pandemisini oluşturmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre 2009 pandemisinde 18.500 laboratuvar doğrulaması olan toplam 0.15-0.75 milyon kişi hayatını kaybetmiştir. Geçen süreçte kendisine karşı toplumsal bağışıklık oluşan influenza A(H1N1) pdm09 virusu, mevsimsel grip etkeni olarak dolaşımında varlığını sürdürmektedir⁷.

Toplum sağlığını tehdit eden influenza viruslarıyla mücadele için, aşılama, antiviral profilaksi ve tedavi gibi unsurların yanı sıra sürveyans çalışmaları da önemli bir yer tutmaktadır. Böylece grip aktivitesinin başlangıç tarihi, süresi, pik yaptığı dönem, salgına neden olan virusların özellikleri, aşı içeriğinin belirlenmesi, dolaşımdaki viruslarla aşı içeriğinin uyumu ve antiviral direnç durumu konularında bilgiler sağlanmaktadır. Ulusal sürveyans çalışmaları ile elde edilen veriler, DSÖ ile paylaşılarak küresel boyutta gerekli önlemlerin zamanında alınması için hazırlıklar yapılmaktadır⁸. Ülkemizde Ulusal İnfluenza Sürveyansı, Sağlık Bakanlığı önderliğinde Türkiye Halk Sağlığı Kurumu bünyesindeki Viroloji Referans Laboratuvarı ile İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı (İTFVBD) bünyesindeki Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı tarafından yürütülmektedir. Bu çalışmada, İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarının 2013-2014 ve 2014-2015 sentinel influenza sürveyans bulgularının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilen bu çalışmaya, İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarının sorumlu olduğu İzmir, İstanbul, Antalya, Edirne ve Bursa illerinde aile hekimleri tarafından influenza benzeri hastalık (İBH) tanısı konulan hastalara ait nazal/nazofarengeal sürüntü örnekleri dahil edildi. Örneklerin alınması ve taşınması için Virocult (Medical Wire Equipment CO, İngiltere) eküvyon ve viral taşıma besiyerleri kullanıldı. Sürüntü örnekleri, hasta bilgi formu eşliğinde kurye sistemi ile İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarına ulaştırıldı. Laboratuvarda örneklerin uygunluğu ve gerekli kayıt işlemleri yapıldıktan sonra çalışmaya hazır hale getirildi. Sürüntü örneğinin Virocult içerisindeki besiyerine geçmesi ve homojenizasyonu amacıyla yapılan vorteksleme işleminden sonra besiyeri kriyotüpe (Corning Criogenic Vial 2.0 ml, Sigma, İngiltere) aktarıldı. Laboratuvarın yoğunluğuna göre iki gün içerisinde çalışılacak örnekler +4°C'de bekletilirken, daha uzun süre bekletilecek örnekler -20°C'de saklandı. Örneklerin hazırlanması ile ilgili tüm işlemler laminer kabinde gerçekleştirildi.

Viral RNA ekstraksiyonu için EZ1 Virus Mini Kit V 2.0 (Qiagen, Almanya) kullanıldı. Ekstraksiyon işlemi üretici firmanın talimatları doğrultusunda EZ1 Advanced XL (Qiagen, Japonya) cihazında yapıldı. Gerçek zamanlı PCR aşaması, CDC (Centers for Disease Control and Prevention) protokolüne uygun olarak düzenlendi⁹. Çalışmada kullanılan primer - prob dizileri ve pozitif kontroller DSÖ'den temin edildi. Amplifikasyon işlemi, "Real Time Ready RNA Virus Master" (Roche, Almanya) enzim karışımı kullanılarak LightCycler 480 II (Roche, Almanya) cihazında gerçekleştirildi. Her bir örnek için 8.6 µl moleküler su, 0.5 µl primer, 1 µl prob, 0.4 µl enzim ve 4 µl reaksiyon tamponu olarak hazırlanan toplam 15 µl karışım üzerine 5 µl RNA izolatu eklendi. Amplifikasyon koşulları; 50°C'de 8 dk, 95°C'de 30 sn, (95°C'de 0.1 sn + 55°C'de 20 sn + 72°C'de 0.1 sn) X 45 döngü ve 40°C'de 30 sn soğutma olarak düzenlendi. Sonuçlar, LightCycler 480 II cihazındaki amplifikasyon görüntüleri değerlendirilerek elde edildi. Aynı amplifikasyon koşullarında INF-B'nin soy belirleme çalışmaları, DSÖ'den temin edilen primer-prob dizileri kullanılarak yapıldı. INF-A ve INF-B'nin antijenik karakterizasyonu için suşlar, DSÖ ile işbirliği içerisinde çalışan Londra merkezli Francis Crick Enstitüsüne gönderildi.

BULGULAR

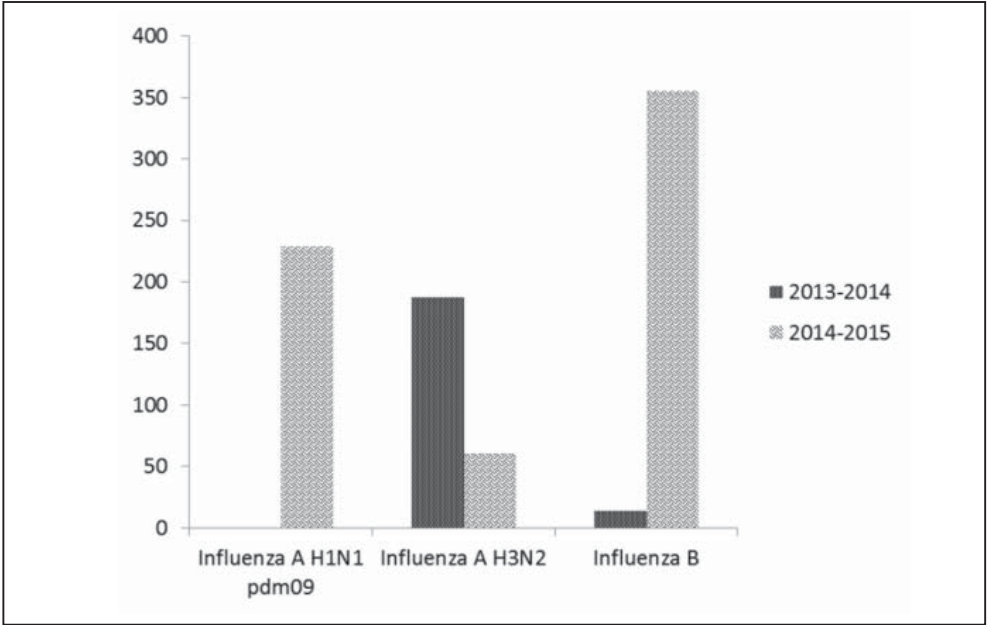
Çalışmamızda, 2013-2014 Sentinel İnfluenza Sürveyansı kapsamında 82 aile hekimi tarafından gönderilen 641 örneğin 202 (%31.4)'sinde influenza virus pozitifliği saptanmıştır. İnfluenza pozitif örneklerin 188 (%93.1)'inin influenza A (H3N2) ve 14 (%6.9)'ünün influenza B olduğu belirlenmiştir. 2013-2014 grip sezonunda sentinel örneklerin hiçbirinde influenza A (H1N1) pdm09 virusu saptanmamıştır.

2014-2015 grip sezonunda 650 sentinel örnek incelenmiş; bunların 289 (%44.4)'unda influenza virus pozitifliği saptanmıştır. İnfluenza pozitif örneklerin dağılımı; influenza A(H1N1) pdm09, influenza A (H3N2) ve influenza B için sırasıyla 88 (%30.4), 27 (%9.3) ve 174 (%60.2) olarak belirlenmiştir.

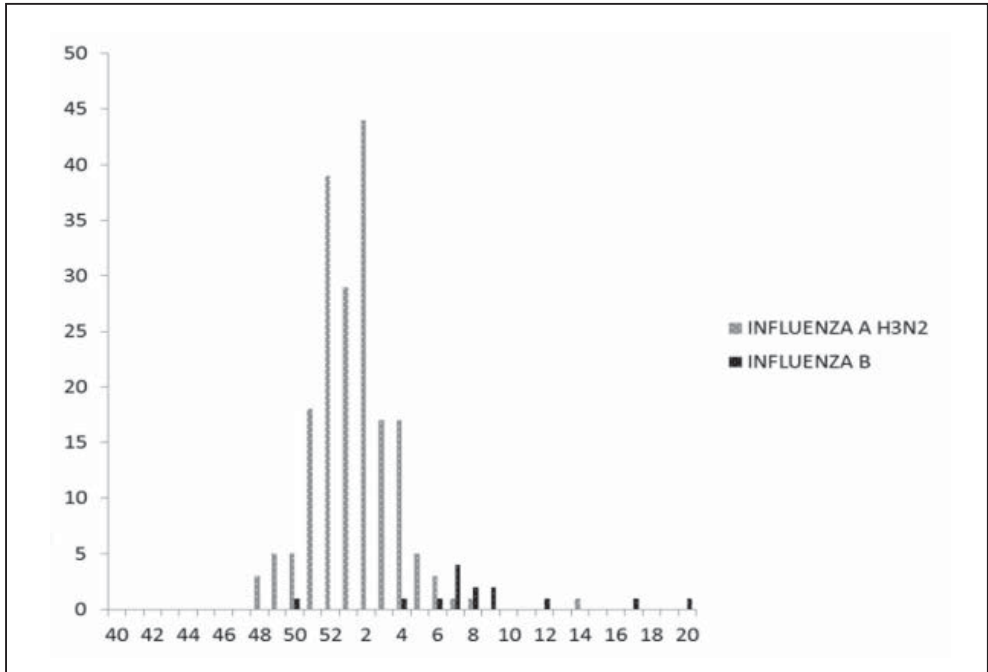
Her iki sezonda da laboratuvarımızda izole edilen INF-B viruslarının Yamagata soyundan olduğu izlenmiştir. 2013-2014 ve 2014-2015 Sentinel İnfluenza Sürveyansı kapsamında saptanan influenza alt tiplerinin dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.

İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı verilerine göre 48. haftada başlayan 2013-2014 grip sezonu, influenza A (H3N2) baskınlığında 52-2. haftalar arasında pik dönemini yapmıştır. Sezon sonlarına doğru ortaya çıkan INF-B virusu ile 20. haftada sezon tamamlanmıştır. 2013-2014 grip sezonunda sentinel örneklerde saptanan influenza alt tiplerinin haftalara göre dağılımı Şekil 2'de verilmiştir.

İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı bulguları 2014-2015 grip sezonu 2-20. haftalar arasında devam etmiştir. Sentinel örneklerdeki influenza alt tiplerinin haftalara göre dağılımı analiz edildiğinde; influenza A (H1N1) pdm09, 2. haftadan 18. haftaya kadar varlığını sürdürürken en fazla 10 ve 11. haftalarda saptanmıştır. İnfluenza B pozitifliği ise bir hafta (3. hafta) sonra başlamasına rağmen pozitifliği daha uzun süre (20. haftaya kadar) devam etmiştir. İnfluenza B'nin pik dönemi 10-13 haftalar arasında olmuştur. İnfluenza A (H3N2) en fazla 5. haftada olmak üzere 2-16. haftalar arasında görülmüştür (Şekil 3).



Şekil 1. Sentinel İnfluenza Sürveyansı kapsamında saptanan influenza alt tiplerinin dağılımı.

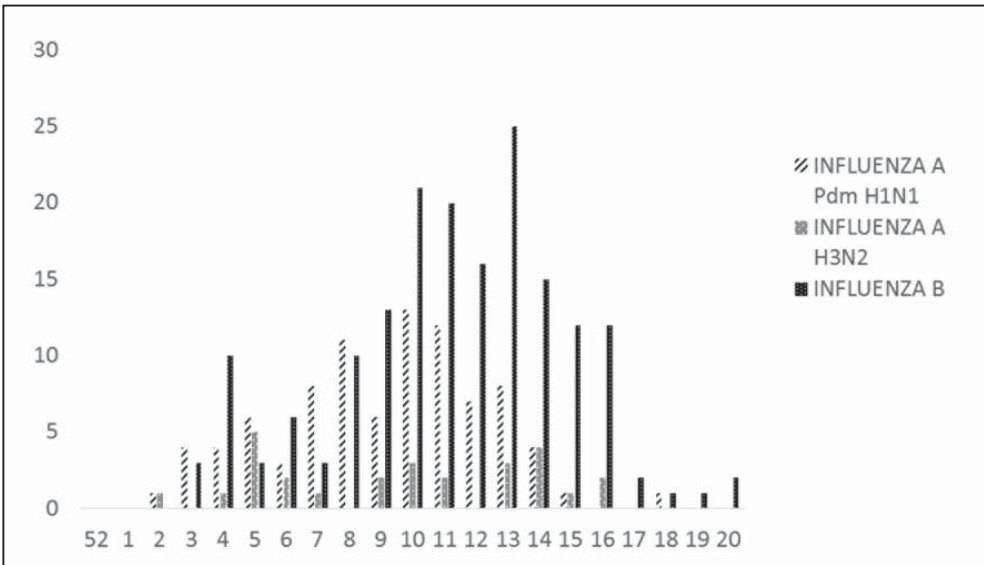


Şekil 2. 2013-2014 Sentinel İnfluenza Sürveyansında influenza alt tiplerinin haftalara göre dağılımı.

TARTIŞMA

Ani başlayan yüksek ateş, öksürük, halsizlik, miyalji ve baş ağrısı gibi belirtilerle karakterize olan grip, her yıl 3-5 milyon kişide ağır enfeksiyon şeklinde seyrederken, 250-500 bin kişi de grip nedeniyle yaşamını yitirmektedir^{10,11}. Grip, toplum sağlığını ciddi olarak tehdit eden özelliklerine ek olarak, okul ve iş devamsızlıkları, iş gücü kaybı, hastane yatışları ve tedavi giderlerinde artış gibi sosyal ve ekonomik etkileri ile de dikkate alınması gereken bir hastalıktır. Bu nedenle dünyadaki grip aktivitesi, DSÖ tarafından kurulan "Global İnfluenza Sürveyans Ağı (GISN)" ile 1952 yılından beri izlenmektedir. DSÖ, 2011 yılında bileşenlerini artırıp, altı katılımcı merkez, 110 ülkede toplam 140 ulusal influenza referans merkezi ve 11 H5 referans merkeziyle "Global İnfluenza Surveillance and Response System (GISRS)" adı altında çalışmalarını sürdürmektedir¹². GISRS bünyesinde bulunan ulusal influenza referans merkezlerinin sürveyans bulguları FluNet veri tabanı aracılığı ile paylaşılmaktadır. Söz konusu bulgular, eş zamanlı olarak grafik, tablo, harita gibi çeşitli görseller eşliğinde ilgilenenlere sunulmaktadır.

Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (European Center for Disease Prevention and Control; ECDC)'nin influenza sürveyans raporuna göre 2013-2014 grip sezonu Avrupa'da orta derece yoğunlukta ve influenza A'nın baskınlığında geçmiştir. Sezon boyunca birçok ülkede influenza A(H1N1)pdm09 ile influenza A(H3N2) birlikte dolaşımında yer almıştır. Söz konusu rapor ile Avrupa'da influenza pozitifliğinin 49. haftada artmaya başladığı ve 3. haftada pik yaparak 19. haftada sonlandığı bildirilmiştir. Rapora göre influenza pozitifliği 51-17. haftalar arasında ve 19. haftada %10 olan sezon eşliğini aşmıştır¹³. Avrupa'da yaklaşık 20 hafta süren 2013-2014 influenza sentinel sürveyansının pik değeri, önceki sezonlardan daha düşük bulunmuştur (2013-2014'de %44; 2011-



Şekil 3. 2014-2015 Sentinel İnfluenza Sürveyansında influenza alt tiplerinin haftalara göre dağılımı.

2012'de %58; 2012-2013'de %60). Sentinel örneklerin %98'inde İNF-A [%53 influenza A (H1N1)pdm09 ve %47 influenza A (H3N2)], %2'sinde ise İNF-B (%15 Victoria soyu, %85 Yamagata soyu) pozitif bulunmuştur (Tablo I). 2013-2014 grip sezonunda Avrupa'da dolaşımda olan İNF-A viruslarının antijenik karakterizasyonu A/California/7/2009-like ve A/Texas/50/2012 (H3N2)-like olarak belirlenmiştir. İNF-B viruslarının ise B/Yamagata soyundan B/Massachusetts/02/2012-like ve B/Wisconsin/1/2010-like olduğu bildirilmiştir¹³.

İTVBD Ulusal İnfluenza Laboratuvarının 2013-2014 sentinel sürveyans çalışmasında, %31.6 oranı ile influenza pozitifliği Avrupa'ya yakın bir değerde bulunmuştur. Ancak Avrupa'da influenza A(H1N1)pdm09 ve influenza A(H3N2) virusları dolaşımda ağırlıklı alt tipler olarak yer alırken, Türkiye'de influenza A(H3N2) baskınlığı ile sezon devam etmiştir. 2013-2014 grip sezonunda laboratuvarımızda izole edilen influenza A(H3N2) suşlarının A/Texas/50/2012-like antijenik tipinden olduğu belirlenmiştir. Bu antijenik tip Avrupa'da izole edilen suşlarla aynı olup, aşı içerisinde yer alan A/Victoria/361/2011-like suşları ile uyum göstermektedir. İNF-B suşlarının ise aşı içerisinde yer alan B/Massachusetts/02/2012 (Yamagata) antijenik tipinden olduğu belirlenmiştir. Avrupa'da izole edilen İNF-B suşlarının da büyük çoğunluğunun aynı antijenik tipden olduğu bildirilmiştir. 2013-2014 sentinel sürveyans kapsamında İTVBD Ulusal İnfluenza Laboratuvarı ve Avrupa'da saptanan influenza viruslarının tip/alt tip dağılımları Tablo I'de görülmektedir.

Avrupa'da 2014-2015 sentinel örneklerde influenza pozitifliği %4 ile 47. haftada başlamış ve %10 eşik değeri ilk olarak 50. haftada aşılmıştır. Bu eşik değeri; 2013-2014, 2012-2013, 2011/2012 ve 2010-2011 yıllarında sırasıyla 51, 49, 51 ve 48. haftalarda aşılmıştır. 2014-2015 yıllarında sentinel örneklerde influenza pozitifliği 5. haftada %50'yi aşan oranlarda pik değerine ulaşmıştır¹⁴. ECDC bünyesinde Avrupa Sürveyans Sistemi (The European Surveillance System; TESSy) aracılığı ile toplanan verilere göre, 2014-2015 sezonunda 15.950 sentinel solunum örneğinde influenza virusları saptanmış; bunların

Tablo I. 2013-2014 sentinel sürveyans kapsamında İTVBD Ulusal İnfluenza Laboratuvarı ve Avrupa'da saptanan saptanan influenza viruslarının tip/alt tipleri

Sentinel influenza	2013-2014	
	İTVBD Sayı (%)	Avrupa Sayı (%)
İnfluenza A	188 (93)	6.924 (98)
Alt tiplendirme yapılan	188 (100)	6.479 (94)
A(H1N1)pdm09	0	3.458 (53)
A(H3N2)	188 (100)	3.021 (47)
İnfluenza B	14 (7)	176 (2)
Soy belirlemesi yapılan	4 (29)	72 (41)
B/Victoria	0	11 (15)
B/Yamagata	4 (100)	61 (85)

10.659 (%67)'u tip A ve 5291 (%33)'i tip B olarak tanımlanmıştır¹⁵. Bu raporda saptanan INF-A viruslarının %77'sinin A(H3N2) ve %23'ünün A(H1N1)pdm09; INF-B viruslarının ise %98'inin Yamagata soyundan olduğu bildirilmiştir¹⁵. 2014-2015 influenza surveyanı kapsamında İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı ve Avrupa'da saptanan influenza virüslerinin tip/alt tip dağılımları Tablo II'de görülmektedir.

İTVBD Ulusal İnfluenza Laboratuvarının verilerine göre 2014-2015 grip sezonunda ilk olgu 2/2015'de saptanmış olup, influenza aktivitesinin Avrupa'ya göre daha geç başladığı ve pik döneminin 10-13. haftalara kadar ötelendiği görülmüştür. Bu sezon, laboratuvarımızda sentinel surveyanı kapsamında %40 oranında INF-A ve %60 INF-B pozitifliği saptanmış; INF-A pozitif örneklerin %77'sinin influenza A(H1N1)pdm09 ve %23'ünün influenza A(H3N2) olduğu belirlenmiştir. Laboratuvarımızda izole edilen INF-B suşlarının Yamagata soyundan olduğu belirlenmiş (Tablo II) ve bu suşların, aşı içerisinde bulunan B/Phuket/3073/2013 ile aynı antijenik karakterizasyonuna sahip olduğu DSÖ tarafından bildirilmiştir¹⁶. DSÖ ile işbirliği içerisinde, Londra merkezli Francis Crick Enstitüsünde 2014-2015 grip sezonunda antijenik özelliği incelenen influenza A (H1N1) pdm09 suşları da aşı içerisinde yer alan A/California/7/2009/like ile uyumlu bulunmuştur. Laboratuvarımızdan bu enstitüye gönderilen A/Istanbul/1384/2015/(H1N1)pdm suşunun, A/Christchurch/16/2010 dışında diğer homolog virus antiserumları ile dört kat titre verdiği ve 2009 yılından beri bu şekilde yüksek titrede reaksiyon gösteren tiplerin nadir görüldüğü bildirilmiştir. Aynı merkez tarafından genetik analizleri yapılan A/Istanbul/1384/2015/(H1N1)pdm suşunun HA geninde S203T, E374K, S185T, S451N, D97N, K283E, E499K, K163Q ve A256T mutasyonlarını taşıdığı gösterilmiştir. NA geni hedef alınarak yapılan analizde ise, N248D, V106I, V241I, N369K, N44S, I106V, I34V, N200S, I321V, K432E, L40I, N386K, I117M ve I365T mutasyonları saptanmıştır. Ancak bu suşun NA geninde, oseltamivir direnç mutasyonlarından E119V, H274Y, R292K, N294S ve I223R'ü taşımadığı bildirilmiştir¹⁵.

Tablo II. 2014-2015 sentinel surveyanı kapsamında İTFVBD Ulusal İnfluenza Laboratuvarı ve Avrupa'da saptanan İnfluenza viruslarının tip/alt tipleri.

Sentinel influenza	2014-2015	
	İTFVBD Sayı (%)	Avrupa Sayı (%)
İnfluenza A	115 (40)	10.659 (67)
Alt tiplendirme yapılan	115 (100)	10.003 (94)
A(H1N1)pdm09	88 (77)	2316 (23)
A(H3N2)	27 (23)	7687 (77)
İnfluenza B	174 (60)	5291 (33)
Soy belirleme yapılan	18 (10)	1365 (26)
B/Victoria	0	31 (2)
B/Yamagata	18 (100)	1334 (98)

İnfluenza A (H3N2) suşları, kökenleri farklı eritrositler ile yapılan hemagglütinasyon inhibisyon (HI) testinde değişken aglütinasyon verdikleri için antijenik özelliklerinin belirlenmesinde güçlükler yaşanmaktadır¹⁷. Francis Crick Enstitüsü, 2014-2015 raporunda, influenza A (H3N2) suşlarının hücre kültüründe çoğaltılan A/Stockholm/6/2014(3C.3a) ve A/Switzerland/9715293/2013(3C.2a) viruslarının antiserumları ile yüksek reaksiyon verdiğini bildirmiştir¹⁵. Enstitünün çalışmalarında, influenza A(H3N2) suşlarının, yumurtada çoğaltılan A/Switzerland/9715293/2013(3C.3a) ve A/Hong Kong/4801/2014 (3C2a) viruslarının antiserumları ile de benzer reaksiyonlar verdiği gösterilmiştir¹⁵. Buna karşın, özellikle sezon sonunda toplanan influenza A (H3N2) suşlarının, aşı içerisinde bulunan A/Texas/50/2012 (egg propagated) virus antiserumları ile zayıf reaksiyon gösterdiği belirtilmektedir. Laboratuvarımızdan bu enstitüye gönderilen influenza A (H3N2) suşlarının, eritrositler ile aglütinasyon vermediği için antijenik özelliğinin incelenemediği bildirilmiştir¹⁵. İnfluenza A (H3N2)'nin değişken antijenik özellikleri nedeniyle doğru değerlendirebilmek için çoklu laboratuvar çalışmalarına ve modifiye testlere ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır¹⁸.

İnfluenza virusları, yapısal özellikleri nedeniyle her yıl toplumda değişken etkiler yaratan enfeksiyonları ile önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Mevsimsel grip dönemlerinde hastaneye başvuru/yatışlarda artışın olduğu, riskli gruplarda ölümlerin ortaya çıktığı ve ülkeler genelinde ekonomik kayıpların yaşandığı bilinmektedir². Pandemi dönemlerinde ise kıtalar arası yayılım ile daha dramatik sonuçların ortaya çıkması beklenir. Ulusal Sürveyans çalışmaları ile gribin aktivitesi izlenerek gerekli önlemlerin zamanında alınması sağlanmaktadır. DSÖ önderliğinde verilerin paylaşımı; küresel boyutta epidemiyolojik özelliklerin belirlenmesi, dolaşımdaki virusların tiplendirilmesi ve her yıl aşı içeriğinin oluşturulması, grip ile mücadelede önemlidir. Bu anlamda moleküler sürveyans çalışmalarının ülkeler ölçeğinde geliştirilmesi, grip aktivitesi ile birlikte influenza viruslarındaki yapısal değişimleri etkin bir şekilde izleyebilme olanağı sağlayacaktır. İTFVBD Ulusal İnfluenza Referans Laboratuvarı olarak 2003 yılından beri sürveyans bulgularımız paylaşılmaktadır. Bu çalışmada, laboratuvarımızın yayınlanmamış olan son iki yıllık verileri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, çalışmamız ve son yıllara ait diğer bulgulara bakıldığında, ülkemizde grip sezonunun ötelendiğini ve her zaman batı ülkeleri ile aynı tip/alt tiplerin ön planda olmadığı, farklı suşların bizim ülkemizde ön plana çıkabileceği görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Wright FP, Webster GR. Orthomyxoviruses, pp: 1533-78. In: Knipe DM, Howley PM (eds), Fields Virology. 2001, 4th ed. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia.
2. Beigel JH. Influenza. Crit Care Med 2008; 36(9): 2660-6.
3. Ran Z, Shen H, Lang Y, et al. Domestic pigs are susceptible to infection with influenza B viruses. J Virol 2015; 89(9): 4818-26.
4. Bozkaya E, Us AD. Viral Solunum Yolu Enfeksiyonları, s: 177-216. Us AD, Ergünay K (ed), Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. 2012, 1.baskı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
5. Hay JA, Gregory V, Douglas AR, Lin YP. The evolution of human influenza viruses. Philos Trans R Soc Lond B

- Biol Sci 2001; 356(1416):1861-70.
6. Us AD. Pandemik influenza infeksiyonunda etyopatogenez ve laboratuvar tanı yöntemleri. Hacettepe Tıp Derg 2010; 41(1):13-27.
 7. Ducatez MF, Hause B, Stigger-Rosser E, et al. Multiple reassortment between pandemic (H1N1) 2009 and endemic influenza viruses in pigs, United States. Emerg Infect Dis 2011; 17(9):1624-9.
 8. Akçay Ciblak M, Kanturvardar Tütenyurd M, Asar S, Tulunoğlu M, Fındıkçı N, Badur S. Influenza surveillance in nine consecutive seasons, 2003-2012: results from National Influenza Reference Laboratory, Istanbul Faculty Of Medicine, Turkey. Mikrobiyol Bul 2012; 46(4): 575-93.
 9. World Health Organization. CDC protocol of realtime RT-PCR for Influenza A (H1N1). 28 April 2009. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCRealtimeRT-PCR_SwineH1Assay-2009_20090430.pdf
 10. Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. Influenza. Lancet 2003; 362(9397): 1733-45.
 11. Bragstad K, Nielsen LP, Fomsgaard A. The evolution of human influenza A viruses from 1999 to 2006: a complete genome study. Virol J 2008; 5:40.
 12. Badur S. Grip surveyansı ne demektir? Önemi ve ülkemize ait bulgular, s: 61-70. Badur S, Aydın G (ed), 30 Soruda Grip. 2015, 1. Basım. Selen Yayıncılık, İstanbul.
 13. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Report: Influenza in Europe - Season 2013-2014. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Influenza-2013-14-season-report.pdf>
 14. Broberg E, Snacken R, Adlhoch C, et al; WHO European Region and the European Influenza Surveillance Network. Start of the 2014/15 influenza season in Europe: drifted influenza A(H3N2) viruses circulate as dominant subtype. Euro Surveill 2015; 20(4). pii: 21023.
 15. Worldwide Influenza Centre. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Southern Hemisphere 2016. The Francis Crick Institute, London. Available from: https://www.crick.ac.uk/media/273950/crick_sep2015_vcm_report_to_post.pdf
 16. World Health Organization. WHO recommendations on the composition of influenza virus vaccines. Available from: <http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/en/>
 17. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Report: Influenza virus characterisation, summary Europe, November 2015. ECDC, Stockholm. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-virus-characterisation-november-2015.pdf>
 18. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015–2016 northern hemisphere influenza season. Wkly Epidemiol Rec 2015; 90(11):97-108. Available from: <http://www.who.int/wer/2015/wer9011.pdf?ua=1>