

Türkiye’de Varroa Akarlarında Lake Sinai Virus (LSV)’ un İlk Tespiti

First Detection of Lake Sinai Virus (LSV) in Varroa Mites in Turkey

Abdurrahman Anıl

ÇAĞIRGAN 

Murat KAPLAN 

Kemal PEKMEZ 

Fatih ARSLAN 

Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü, Viroloji Bölümü, İzmir, Türkiye

öz

Arı virusları koloni sağlığını olumsuz yönde etkileyen en önemli faktörlerdendir. Virusların genellikle koloni kayıplarıyla bağlantılı olduğu bilinmektedir. Koloni sağlığını etkileyen viruslardan olan LSV, bal arılarında ilk kez 2009 yılında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’ nde keşfedilmiş henüz sınıflandırılmamış bir RNA virusudur. Patogenitesi henüz tam olarak bilinmemesine rağmen koloni sağlığını etkilediği bilinmektedir. Varroa akarları ise virusları bal arılarına hem biyolojik hem de mekanik olarak bulaştırarak koloni sağlığını olumsuz etkilemektedir. Bu çalışmada, arı viruslarının bal arılarına bulaşmasında vektör rolü oynayan Varroa akarlarında LSV genomunun RT-PCR ile moleküler olarak tespiti amaçlanmıştır. İzmir (n = 6) ve Muğla (n = 20) illerinde yer alan birbirinden farklı 26 arılıktan toplanan Varroa akarlarının 12’sinde LSV genomu pozitif olarak tespit edilmiştir. Muğla ilinden toplanan Varroa örneklerinin %50’si, İzmir ilinden toplanan örneklerin ise %33,3’ü LSV pozitifdir. Sonuç olarak, bu çalışmada LSV genomu ülkede ilk defa tespit edilmiş, Türkiye’de bulunan bal arılarının viral hastalıklarının bulaşmasında biyolojik veya mekanik vektörlük yapan Varroa akarları hakkındaki bilgileri genişletmeye çalışmıştır. LSV’nin Varroa akarları ile ilişkisini ve ülkedeki bal arılarının popülasyonları üzerindeki gerçek etkisini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bal arısı, Lake Sinai Virus, Türkiye, Varroa akarı

ABSTRACT

Bee viruses are one of the most important agents that negatively affect colony health. It is known that viruses are generally associated with colony losses. LSV, one of the viruses that affect colony health, is an RNA virus that was first detected in honey bees in 2009 in the United States of America and has not yet been classified. Although its pathogenicity is not fully known yet, it is known to affect colony health. Varroa mites affect the health of the colony negatively by transmitting viruses to honey bees both biologically and mechanically. This study, it was aimed to molecularly detect the LSV genome by RT-PCR in Varroa mites, which play a vector role in the transmission of bee viruses to honey bees. LSV genome was positive in 12 of the Varroa mites collected from 26 different apiaries in İzmir (n = 6) and Muğla (n = 20). 50% of Varroa samples collected from Muğla province and 33.3% of samples collected from İzmir province were LSV positive. In conclusion, in this study, the LSV viral genome was detected for the first time in the country, and it tried to expand the knowledge about the diversity of viral diseases of honey bees in Turkey and Varroa mites, which play a biological or mechanical role in the transmission of viral diseases. Further studies are needed to determine the association of LSV with Varroa mites and the actual impact on honey bee populations in the country.

Keywords: Honey bee, Lake Sinai Virus, Turkey, Varroa mite

GİRİŞ

Lake Sinai Virus (LSV), Sinai virus genusu içerisinde sınıflandırılmış, henüz belli bir aileye ait olmayan kronik arı felci virusu (CBPV) ve sıklıkla balıklarda hastalıklara sebep olan Nodaviridae familyasında yer alan viruslar ile yakın ilişkilendirilmiş 5.6 kb uzunluğunda, pozitif polariteli bir RNA virusudur.^{1,2} LSV ilk kez 2009 yılında ABD’ nin Güney Dokata ayaletinde yer alan Sinai gölü etrafında ticari arıcıların koloni kayıplarının artması sonucu, LSV-1 ve LSV-2 olarak iki ayrı varyant olarak tespit edilmiştir.¹ Daha sonraki çalışmalarda, LSV 3-8 gibi farklı varyantların varlığı da bildirilmiştir.³⁻⁶ Patogenitesi ve semptomları henüz bilinmemesine rağmen, yüksek kayıpların görüldüğü kolonilerde az kayıpların görüldüğü kolonilere göre LSV viral yükünün daha fazla olduğu bilinmektedir.⁷

Lake Sinai Virus genomu, ORF1, RdRP ve kapsid dahil olmak üzere üç geni kodlamaktadır.⁸ Bunlardan, RNA’ya bağımlı RNA polimerazı kodlayan RdRP geni, farklı LSV suşlarında korunmuş bölge olarak bilinmektedir.⁴ Korunmuş bölge olmasından dolayı, farklı LSV varyantları için filogenetik dizi analizleri ve gruplandırma RdRP gen bölgesi hedef alınarak yapılmaktadır.^{6,9}

Virusların, özellikle deforme kanat virusunun (DWV), bal arılarına bulaşmalarında en önemli aktörlerden birisi Varroa akarlarıdır.¹⁰ Bu akar, gelişen pupa ve yetişkin arıların hemolenfi ile beslenir ve virus partiküllerini doğrudan arı hemolenfine enjekte ederek vektör görevi görür.¹¹ Varroa akarı ayrıca, konakçıda immünoşüpresyona neden olarak viral enfeksiyonları aktive eder ve dolaylı olarak arılarda virus replikasyonunu uyandır.¹² LSV’ nin Varroa akarlarında varlığı tespit



Geliş Tarihi/Received: 22.12.2021

Kabul Tarihi/Accepted: 08.03.2022

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

Abdurrahman Anıl ÇAĞIRGAN

E-posta: a.anilcagirgan@gmail.com

Atıf: Çağırın AA, Kaplan M, Pekmez K, Arslan F. Türkiye’de Varroa Akarlarında Lake Sinai Virus (LSV)’ un İlk Tespiti. *Vet Sci Pract.* 2022; 17(1), 16-19.

Cite this article: Çağırın AA, Kaplan M, Pekmez K, Arslan F. First detection of Lake Sinai Virus (LSV) in Varroa mites in Turkey. *Vet Sci Pract.* 2022; 17(1), 16-19.



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

edilmesine rağmen Varroa ve bazı arı türlerinde replike olmadığı belirlenmiştir.^{4,13}

Türkiye’de arı sağlığını etkileyen viruslar daha önceki farklı çalışmalarda incelenmiş, koloni sağlığını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Bugüne kadar ülkemizde yapılan çalışmalarda DWV, CBPV, SBV (sacbrood virus), BQCV (black queen cell virus) ve ABPV (acute bee paralysis virus) virusları kolonilerde sık olarak tespit edilen viruslardır.¹⁴⁻²⁰ LSV ile ilgili olarak ülkemizde yapılan mevcut tek bir çalışma bulunmaktadır.¹⁵ Bu yüzden ülkemiz adına LSV’ nin kolonilerdeki varlığı hakkında bilgilerimiz oldukça sınırlıdır.

Bu çalışma, Türkiye’de bal arısı popülasyonunun önemli bir bölümüne sahip Muğla ve İzmir illerinde yer alan arılıklarda/kolonilerde tespit edilen Varroa akarlarında LSV varlığının RT-PCR ile tespitini amaçlamıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma için, 15.02.2014 ve 28914 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan ‘Hayvan Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik’in 4.1 madde (d) bendinde yer alan hükümlere göre Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayına gerek duyulmadığı bildirilmiştir. Bu onay, İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu’nun 16.12.2021 tarihli ve 770 sayılı kararınca alınmıştır.

Türkiye’nin batısında yer alan İzmir (n = 6) ve Muğla (n = 20) illerinden (Şekil 1), birbirlerinden farklı toplam 26 arılıktan Varroa akarları toplanmıştır. Örneklemeler 2020 yılının Nisan ve Haziran ayları arasında gerçekleşmiştir. Her arılıktan 20-100 arası Varroa toplanmış, üzerlerine 2 ml PBS buffer (Phosphate Buffered Saline) ilave edilerek, homojenizatör (Allsheng Bioprep-24R, Çin) yardımı ile ezilmiştir. Daha sonra homojenatlar 3500 rpm’de 4°C’de 30 dakika santrifüj edilmiş, süpernantantlar ayrılarak ekstraksiyona kadar -80°C’de muhafaza edilmiştir.

RNA ekstraksiyonu için 200 µl süpernatant alındı. Ekstraksiyon işlemi, üretici firmanın talimatlarına göre High Pure Viral RNA Kit (Roche, Germany) kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstrakte edilen RNA, test edilene kadar -20°C’de saklandı.

Tüm LSV varyantı için korunmuş ORF1 RdRp gen bölgesini hedefleyen, RNA’nın 603-bp’lik bir parçasını oluşturan primerler (LSV



Şekil 1. Ülkenin en önemli bal arısı popülasyonuna sahip İzmir ve Muğla illerinin coğrafik konumu

1765-F: 5’-TCA AYC TKG AGC GAT TTC GTG CTG-3’; LSV 2368-R: GAG GTG GCG CSA GAT AAA GT-3’) kullanılmıştır.⁴ Amplifikasyon için Xpert One-Step RT-PCR Kiti (Grisp Research Solutions, Porto, Portugal) kullanıldı. Toplam reaksiyon hacmi 25 µl ve primerin nihai konsantrasyonu 0,4 mM idi.

PCR için Thermal cyclers koşulları sıralanan adımlar ve süreler ile oluşturulmuştur. İlk olarak, komplementer DNA sentezi için revers transkripsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından 95°C’de 3 dakika boyunca ilk denatürasyon yapıldı. Bu adımı 35 döngü olacak şekilde; 95°C’de 10 saniye denatürasyon, 60°C’de 10 saniye bağlanma ve 72°C’de 15 saniye uzama döngüleri izlemiştir. En son 72°C’de 1 dakika süreyle uzama olmuştur. Elde ettiğimiz PCR ürünleri, %1,5 agaroz jel elektroforezinde (etidyum bromür içeren) yürütüldü ve UV ışık kaynağı altında görüntülendi.

BULGULAR

LSV için toplam 26 adet farklı arılıktan toplanan Varroa akarları RT-PCR ile test edilmiştir. Yapılan testlerin sonucunda 12 arılıktan toplanan Varroa örnekleri LSV pozitif olarak tespit edilmiştir. İzmir’den toplanan örneklerden altı arılıktan ikisi pozitifken, Muğla örneklerinin ise 10’nu pozitif olarak tespit edilmiştir. Buna göre Muğla ilinden toplanan Varroa örneklerinin %50’si, İzmir ilinden toplanan örneklerin ise %33,3’ü LSV pozitifdir.

TARTIŞMA

Tarihsel ve evrimsel süreçte görülmüştür ki, memeli ya da eklem bacaklı birçok türü enfekte edebilecek viral ajanlar bulunmaktadır. Bunlar hayvanları, insanları ve hatta parazitleri dahi enfekte edebilmektedir.^{21,22} Bu viral ajanlar emerging yada re-emerging bir statü kazanıp sağlığı her zaman tehdit edebilmektedir. Ülkemizde ve dünyada bu ve benzer birçok hayvan ve çeşitli parazitler canlı enfekte eden virusların araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır.^{23,24} Lake Sinai virus özelinde birçok arı viral hastalığı da ülkemizde tespit edilmiştir.¹⁷ LSV’nin arı kolonilerinde varlığına dair ilk bulgular, 2009 yılında iki farklı varyantının (LSV 1 and LSV 2) ABD’de tespit edilmesiyle ortaya çıkmıştır.¹ Türkiye’de LSV’ nin ergin arılarda metagenomik çalışmalar sonucunda varlığı bildirilmiş¹⁵ fakat Varroa akarlarında varlığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışma, dünyanın en fazla arı popülasyonuna sahip ülkelerinden biri konumunda olan Türkiye’de Varroa akarlarında LSV tespitinin yapıldığı ilk çalışmadır.

LSV bal arısı sağlığı için büyük bir tehdit olarak bilinmesine rağmen patojenitesi tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda elde edilen bulgular, LSV enfeksiyonu ile koloni çöküş bozukluğu (Colony Collapse Disorder-CCD) oluşumu arasında doğrudan bir korrelasyon olduğunu göstermektedir.⁷ Daha önceki çalışmalarda, LSV’ nin bal arılarına bulaşmasında vertikal ve gıda kaynaklı bulaşmanın önemini belirtilmiştir. Varroa akarlarının ise etkenin bulaşmasında biyolojik vektörlük yapmadığı tespit edilmiş fakat bulaşmadaki rolü net olarak ortaya koyulamamıştır. Ancak bu çalışmada olduğu gibi bazı araştırmalarda da virusun akarlarda varlığının gösterilmesi, LSV’nin en azından Varroa akarları tarafından konaklar arasında mekanik olarak aktarılabilirliğini düşündürmektedir.⁴ Daha önce ülkenin beş bölgesini içeren ve önemli arı popülasyonunu barındıran ve Ege Bölgesi’ni de kapsayan bir çalışmada Varroa enfestasyonunun %41 olduğu düşünüldüğünde²⁵ mekanik vektörlük altı çizilmesi gereken bir konu olarak ortaya çıkmaktadır.

LSV Türkiye kolonilerinde Tozkar ve ark.¹⁵ belirttiği gibi oldukça yaygındır. Daha önceki çalışmalar, LSV’nin yüksek prevalansı ve global

dağılımını göstermiştir.^{1,5,9,26,27} Çalışmamızda 26 farklı arılıktan topladığımız Varroa akarlarının %46.1'inde LSV RNA'sı tespit edilmiştir. Ravoet ve ark.⁴ polen ve Varroa akarlarında LSV'nin varlığını göstermiş, ancak virusun Varroa akarlarında replike olmadığını belirtmişlerdir. Bazı arılıkların yetişkin arılarında LSV enfeksiyonunun tanımlanması ve aynı arılıkların Varroa akarlarında varlığının olmaması, virusun bal arısı popülasyonlarında artropod-vektörler dışındaki bulaşma yollarının daha önemli olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışma LSV genomu ülkede ilk defa tespit edilmiştir. Ayrıca, Türkiye'de bulunan bal arılarının viral hastalıklarının çeşitliliği ve viral hastalıkların bulaşmasında biyolojik veya mekanik olarak rol üstlenen Varroa akarları hakkındaki bilgileri genişletmeye çalışmıştır. Tespit edilen bu yeni viral etkenlerle ilgili yeni soruları gündeme getirmiştir. Yılda en az iki mevsimi kapsayan ve farklı ekotiplerle farklı bal arısı popülasyonlarını karşılaştıran, daha fazla sayıda numuneyi ve daha fazla bölgeyi kapsayan gelecekte yapılacak daha ayrıntılı çalışmalar, viral dinamikleri ve epidemiyolojiyi açıklayabilmek için gereklidir. LSV'nin Varroa akarları ile ilişkisini ve ülkedeki bal arılarının popülasyonları üzerindeki gerçek etkisini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Etik Komite Onayı: Çalışma için, 15.02.2014 ve 28914 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan 'Hayvan Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik'in 4.1 madde (d) bendinde yer alan hükümlere göre Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayına gerek duyulmadığı bildirilmiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir – A.A.Ç.; Tasarım – A.A.Ç., M.K., K.P.; Denetleme – S.A.A.Ç., M.K., K.P.; Kaynaklar – A.A.Ç., M.K., K.P., F.A.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi – A.A.Ç., M.K., K.P., F.A.; Analiz ve/veya Yorum – A.A.Ç., M.K., K.P., F.A.; Literatür Taraması – A.A.Ç.; Yazıyı Yazan – A.A.Ç.; Eleştirel İnceleme – M.K., K.P.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Committee Approval: It was reported that the approval of the local animal experimentation ethics committee was not required for the study, according to the provisions of section 4.1 (d) of the "Regulation on the Working Procedures and Principles of Animal Committees" published in the Official Gazette No. 28914 and on 15/02/2014. This authorization was granted by the Decision of the Ethics Committee for Experimental Animals of İzmir/Bornova Veterinary Control Institute dated 16.12.2021, number 770.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept – A.A.Ç.; Design – A.A.Ç., M.K., K.P.; Supervision – A.A.Ç., M.K., K.P.; Resources – A.A.Ç., M.K., K.P., F.A.; Data Collection and/or Processing – A.A.Ç., M.K., K.P., F.A.; Analysis and/or Interpretation – A.A.Ç., M.K., K.P., F.A.; Literature Search – A.A.Ç.; Writing Manuscript – A.A.Ç.; Critical Review – M.K., K.P.

Declaration of Interests: The authors have no conflicts of interest to declare.

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

KAYNAKLAR

1. Runckel C, Flenniken ML, Engel JC, et al. Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal

- prevalence of known viruses, Nosema, and Crithidia. *PLoS One*. 2011;6(6):e20656. [Crossref]
2. Grozinger CM, Flenniken ML. Bee viruses: Ecology, pathogenicity, and impacts. *Annu Rev Entomol*. 2019;64:205-226. [Crossref]
3. Granberg F, Vicente-Rubiano M, Rubio-Guerrero C, et al. Metagenomic detection of viral pathogens in Spanish honeybees: co-infection by Aphid Lethal Paralysis, Israel Acute Paralysis and Lake Sinai Viruses. *PLoS One*. 2013;8(2):e57459. [Crossref]
4. Ravoet J, De Smet L, Wenseleers T, de Graaf DC. Genome sequence heterogeneity of Lake Sinai Virus found in honey bees and Orf1/RdRP-based polymorphisms in a single host. *Virus Res*. 2015;201:67-72. [Crossref]
5. Roberts JM, Anderson DL, Durr PA. Absence of Deformed wing virus and Varroa destructor in Australia provides unique perspectives on honey bee viral landscapes and colony losses. *Sci Rep*. 2017;7(1):6925. [Crossref]
6. Şimenc L, Kuhar U, Jamnikar-Ciglencić U, Toplak I. First complete genome of Lake Sinai Virus Lineage 3 and genetic diversity of Lake Sinai Virus strains from honey bees and Bumble bees. *J Econ Entomol*. 2020;113(3):1055-1061. [Crossref]
7. Cornman RS, Tarpy DR, Chen Y, et al. Pathogen webs in collapsing honey bee colonies. *PLoS One*. 2012;7(8):e43562. [Crossref]
8. Bigot D, Dalmon A, Roy B, et al. The discovery of Halictivirus resolves the Sinaivirus phylogeny. *J Gen Virol*. 2017;98(11):2864-2875. [Crossref]
9. Shojaei A, Nourian A, Khanjani M, Mahmoodi P. The first molecular characterization of Lake Sinai virus in honey bees (*Apis mellifera*) and Varroa destructor mites in Iran. *J Apic Res*. 2021;doi:10.1080/00218839.2021.1921467 [Crossref]
10. Martin SJ, Highfield AC, Brettell LE, et al. Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science*. 2012;336(6086):1304-1306. [Crossref]
11. Bowen-Walker PL, Martin SJ, Gunn A. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite Varroa jacobsoni Oud. *J Invertebr Pathol*. 1999;73(1):101-106. [Crossref]
12. Yang X, Cox-Foster DL. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102(21):7470-7475. [Crossref]
13. Daughenbaugh KF, Martin M, Brutscher LM, et al. Honey bee infecting Lake Sinai viruses. *Viruses*. 2015;7(6):3285-3309. [Crossref]
14. Gümüşova O, Albayrak H, Kurt M, Yazıcı Z. Prevalence of three honey bee viruses in Turkey. *Veterinarski Arhiv*. 2010;80(6):779-785.
15. Tozkar CÖ, Kence M, Kence A, Huang Q, Evans JD. Metatranscriptomic analyses of honey bee colonies. *Front Genet*. 2015;6:100. [Crossref]
16. Kalayci G, Cagırgan AA, Kaplan M, et al. The role of viral and parasitic pathogens affected by colony losses in Turkish apiaries. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2020;26(5):671-677.
17. Cagırgan AA, Yazıcı Z. The prevalence of seven crucial honeybee viruses using multiplex RT-PCR and their phylogenetic analysis. *Turkish J Vet Anim Sci*. 2021;45(1):44-55. [Crossref]
18. Karapınar Z, Oğuz B, Dinçer E, Öztürk C. Phylogenetic analysis of black queen cell virus and deformed wing virus in honeybee colonies infected by mites in Van, Eastern Turkey. *Med Weter*. 2018;74(7):460-465. [Crossref]
19. Oğuz B, Karapınar Z, Dinçer E, Değer MS. Molecular detection of nosema spp. and black queen-cell virus in honeybees in Van province, Turkey. *Turkish J Vet Anim Sci*. 2017;41(2):221-227. [Crossref]
20. Muz D, Muz MN. A molecular epidemiological study of black queen cell virus in honeybees (*Apis mellifera*) of Turkey: the first genetic characterization and phylogenetic analysis of field viruses. *Apidologie*. 2017;49(4):1-12. [Crossref]
21. Berber E, Şimşek E, Çanakoğlu N, Sürsal N, Gençay GA. Newly identified Cryptosporidium parvum virus-1 from newborn calf diarrhoea in Turkey. *Transbound Emerg Dis*. 2020;68(4):2571-2580. [Crossref]

22. Aktaş O, Aydın H, Timurkan MO. A molecular study on the prevalence and coinfections of Rotavirus, Norovirus, Astrovirus and Adenovirus in children with gastroenteritis. *Minerva Pediatrica*. 2019;71(5):431-437. [\[Crossref\]](#)
23. Oğuzoğlu TÇ, Timurkan MÖ, Muz D, et al. First molecular characterization of feline immunodeficiency virus in Turkey. *Arch Virol*. 2010;155(11):1877-1881. [\[Crossref\]](#)
24. Timurkan MO, Aydın H. Cirit atlarında İnfluenza A Virus enfeksiyonunun serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*. 2019;14(1):71-77. [\[Crossref\]](#)
25. Cakmak I, Aydın L, Gulegen E, Wells H. Varroa (Varroa destructor) tracheal mite (Acarapis woodi) incidence in the Republic of Turkey. *J Apic Res*. 2003;42(4):57-60. [\[Crossref\]](#)
26. Brasesco C, de Landa GF, Quintana S, et al. A Lake Sinai Virus variant is infecting managed honey bee colonies of Argentina with varying degrees of Varroa destructor infestation. *Bee World*. 2021;1:1-6. [\[Crossref\]](#)
27. Remnant EJ, Shi M, Buchmann G, et al. A diverse range of novel RNA viruses in geographically distinct honey bee populations. *J Virol*. 2017;91(16):e00158-17. [\[Crossref\]](#)