

# **INFLUENZA STRATEGIMØTE**

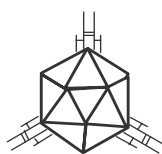
**Diagnostikk, overvåking  
og pandemiberedskap.**

**19. november 1999**

**Sammendrag, anbefalinger  
og  
forelesningsmanuskripter**

**Redaktører:**

**Liv Birkeland Flugsrud, Anne-Lise Bruu,  
Gunnar Hoddevik, Helge Myrmel,  
Svein Arne Nordbø,  
Rolf Schøyen, Ivar Ørstavik.**



**REFERANSEGRUPPE  
FOR EKSTERN KVALITETSSIKRING  
I VIROLOGI OG SEROLOGI**

## INNHALDSFORTEGNELSE

Innhold .....	1
Forord .....	2
Sammendrag og anbefalinger .....	3
Relevante internettadresser .....	8
Innlegg i følge programmet	
Influsavirus, en oversikt:.....	9
Diagnostikk ved influensainfeksjon:	
Dyrking av virus fra pasientprøve .....	13
Antigenpåvisning i nasofarynksaspirat.....	15
RT-PCR av virus-RNA .....	17
Influsadiagnostikk ved påvisning av antistoff .....	19
Diagnostiske metoder benyttet i Sverige .....	25
Overvåking og pandemiberedskap:	
WHO nettverk.....	27
Virologisk overvåking i Norge .....	31, 33
Immunstatusundersøkelser .....	37
Klinisk overvåking - MSIS .....	41
Det svenske meldesystemet for influensa .....	45
Flu-pandemieredskapsplanen sett fra laboratoriene ....	51
Norsk egenproduksjon av influensavaksine .....	57
Deltagerliste .....	59
Program .....	60

## **Forord**

I regi av ”Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi” ble det holdt strategimøte om influensa på Folkehelsa den 19. november 1999. Programmet var satt sammen av en programkomité bestående av:

Liv Birkeland Flugsrud (leder), Anne-Lise Bruu, Gunnar Hoddevik, Helge Myrmel, Svein Arne Nordbø (møteleder del 1), Rolf Schøyen og Ivar Ørstavik (møteleder del 2).

Programkomiteens medlemmer er også redaktører av rapporten.

Rapporten er utarbeidet av redaksjonskomitéen og inneholder sammendrag og anbefalinger slik det kom fram på møtet, samt foredragene (manuskriptene) som er gjengitt i sin helhet.

Oslo, mars 2000

Liv Birkeland Flugsrud, Anne-Lise Bruu, Gunnar Hoddevik, Helge Myrmel,  
Svein Arne Nordbø, Rolf Schøyen og Ivar Ørstavik.

# SAMMENDRAG OG ANBEFALINGER

## Sammendrag

Influenzavirus er et meget smittomt respiratorisk virus som har forårsaket store epidemier og pandemier i århundrer verden over. På den nordlige halvkule opptrer epidemiene i vinterhalvåret. Utbruddene medfører økt dødelighet hos eldre personer og pasienter med hjerte og lungesykdommer. Det typiske sykdomsbildet med akutt innsettende feber, ofte opp til 39-40° i løpet av få timer, kroppssverk og tørrhoste, skulle være velkjent for de fleste. Men influensa kan også forløpe mindre karakteristisk. Det kan da være vanskelig ut fra klinikken alene å skille influensa fra andre infeksjonssykdommer i luften, og det blir bruk for mikrobiologiske undersøkelser. Dette vil ikke være mindre aktuelt dersom en influensapandemi er under utvikling. I en slik situasjon er det en fordel at laboratoriet på forhånd er fortrolig med influensadiagnostiske metoder.

Influensa kan være litt av et diagnostisk dilemma for de medisinsk-mikrobiologiske laboratoriene. På den ene siden skal det raskt kunne stilles en individuell diagnose for den enkelte pasient. På den andre siden ønskes det kunnskap om opptreden og utbredelse av influensa nasjonalt og internasjonalt. Dette dobbelte aspekt gjelder mer eller mindre for de fleste infeksjonssykdommer, men den epidemiologiske oppgaven er særlig viktig for influensa. Det henger sammen med den genetiske variabiliteten til influensavirus som innebærer at hver og en av oss kan gjennomgå influensa flere ganger i løpet av et langt liv. Sammen med den store smittsomheten av influensavirus fører det til at det hver vinter kommer utbrudd av så stort omfang at det får samfunnsmessig betydning i form av økt sykkelighet og - ofte - økt dødelighet.

Laboratieverifiserte tilfelle av influensa er et avgjørende grunnlag for epidemiologiske vurderinger. Det må foreligge et effektivt meldesystem og laboratoriene må bruke metoder som raskt og effektivt identifiserer hvilke(t) influensavirus det dreier seg om. Metoder som immunfluorescens (IF) og revers transkriptase-PCR (RT-PCR) vil dekke dette behovet. Strategimøtet anbefalte at flest mulig av de medisinsk-mikrobiologiske laboratoriene behersker - og bruker - en eller begge metoder. For mer inngående epidemiologiske kartlegginger på variantnivå, og for etablering av stammer som kan danne utgangspunkt for vaksineproduksjon, er det i tillegg nødvendig med dyrking.

Hensikten med dette strategimøtet var å foreta en gjennomgang og vurdering av de influensadiagnostiske metoder som i dag er tilgjengelige med henblikk dels på at laboratoriene kan få ajourført sine teknikker, dels på at laboratorier som i dag ikke utfører influensadiagnostikk, vil ta det opp i sitt armamentarium. Et viktig punkt var å få klarlagt hvilke laboratorier som kan inkludere virusdyrking. Møtet anbefalte at alle regionslaboratoriene utfører dyrking.

Viktigheten av den epidemiologiske overvåkingen fremgår av at WHO gjennom årene har bygget opp et verdensomspennende laboratorienettverk med ett eller flere nasjonale influensasentre i en rekke land. Disse sentrene samler og formidler opplysninger om influensaopptreden i de enkelte land, samt oversender slik informasjon og innsamlede, lokale influensaisolater til WHO. Strategimøtet tok også opp sider av dette arbeidet i Norge, herunder også utarbeidelse av beredskapsplan for influensapandemi ved de medisinsk-mikrobiologiske laboratoriene.

Produksjon av influensavaksine har foregått ved Folkehelse i en årrekke frem til 1989, og vil trolig bli tatt opp igjen når forholdene i det nye vaksinebygget tillater det. Det arbeides i hele verden for å forenkle fremstillingsprosessen. Ved Avdeling for vaksiner vurderes nå hvilken metode som vil være best egnet, om den skal baseres på eget opplegg eller kanskje på lisens i samarbeid med en av de store vaksineprodusentene.

## **Anbefalinger for laboratoriediagnostikk**

Influensa-infeksjon kan diagnostiseres ved agenspåvisning eller antistoffundersøkelser.

### Agenspåvisning

Påvisning av agens kan utføres etter tre forskjellige prinsipper:

- Virusisolasjon (dyrking i cellelinjer eller egg)
- Påvisning av virale antigener/proteiner (immunfluorescens (IF) og enzym immunoassay (EIA))
- Påvisning av virale nukleinsyrer (RT-PCR, LCR etc.)

### *Virusdyrking*

Dyrking kan være vanskelig, men er den mest pålitelige metoden til å påvise nye antigene varianter. Nese/hals prøver anbefales, mens halsskyllevann er lite egnet til virusdyrking. Det er størst sjanse til å isolere virus dersom prøven tas innen 3. sykdomsdag. Prøven kan stå i kjøleskap inntil 4 døgn før forsendelse. Ved rask transport (<24 timer) kan prøven sendes uten nedkjøling. Møtet anbefalte at alle regionslaboratoriene utførte virusdyrking, og at virusstammer isolert i starten og slutten av influensasessongen skulle sendes til de nasjonale influensasentrene for nærmere karakterisering.

LLC-MK2-celler er mest benyttet i Norge, mens en rekke land nå bruker MDCK-celler. Det kan være en fordel at laboratoriene som dyrker influensavirus skaffer seg erfaring med flere cellelinjer før det endelige valget tas. Valg av cellelinjer overlates til det enkelte laboratorium.

### *IF*

Samtlige laboratorier som tilbyr direkte antigenpåvisning av influensavirus benytter IF med FITC-merkede antistoffer. I Sverige er det vanlig å gjøre en screening av luftveisprøvene med en blanding av antistoffer mot respiratoriske virus, og kun bruke typespesifikke antisera på de prøvene som ble positive etter screeningen. I Norge har tradisjonen vært å benytte typespesifikke sera direkte for raskest mulig å sikre diagnosen, selv om dette koster noe mer. Møtet anbefalte at samtlige fylkeslaboratorier og regionslaboratorier benyttet denne metoden. Nasofarynksaspirat gir erfaringsmessig det beste prøvematerialet. Det ble anbefalt å vaske cellene før fiksering. Kvaliteten på de typespesifikke antistoffene kan variere en del.

### *EIA*

Det finnes flere kommersielle EIA-tester for påvisning av influensavirus A eller av influensavirus A og B. De fleste av disse testene er såkalte ”bedside”-tester og kan bl.a. benyttes i allmennpraksis. Sensitivitet og spesifisitet er omtrent som for IF-testene, men noen av dem kan være vanskelig å lese av. Det er ingen av laboratoriene som benytter slike tester rutinemessig. Siden farmasøytiske firmaer som produserer nye antivirale midler mot influensavirus (neuraminidasehemmere) anbefaler å sikre diagnosen med slike tester før behandling starter, er det trolig at man kunne få økonomisk støtte fra disse firmaene til å evaluere testene. Møtet anbefalte at det etterlyses en nasjonal evaluering av disse testene for å kvalitetssikre bruken av dem.

Redaksjonskomitéen vil anmode referansegruppen om å ta opp dette.

### *RT-PCR*

Noen laboratorier har sin in-house RT-PCR for påvisning av influensavirus, men få av dem benytter denne metoden i rutinediagnostikken. Så vidt vites finnes det bare ett kommersielt alternativ i Norge. Dette kitet påviser også andre luftveispatogene virus (multiplex-PCR). Metoden er svært sensitiv og resultatet er lite påvirkelig av transporttiden.

I tillegg til det diagnostiske potensialet kan metoden også brukes til overvåkningsformål (genotyping/sekvensering).

### Antistoffundersøkelser

Følgende metoder for antistoffundersøkelser er aktuelle:

- Komplementbindingsreaksjon (KBR)
- Hemagglutinasjonhemningstest (HAI)
- Nøytralisasjonstest (NT)
- EIA

### *KBR*

Komplementbindingsreaksjonen skiller mellom typespesifikke antistoffer (A og B). Alle laboratorier i Norge som påviser antistoffer mot influensavirus, benytter denne metoden, til tross for at den ikke har spesielt god sensitivitet. Dette skyldes at metoden er vel innarbeidet for påvisning av antistoffer også mot andre respiratoriske virus, at reagensene er billige, og at det kommersielle tilbudet av alternative serologiske tester er meget begrenset og ofte dårlig dokumentert. Selv om møtet anbefalte at flere laboratorier tar i bruk metoder for antigenpåvisning i influensavirusdiagnostikken, er det fortsatt et behov for retrospektiv antistoffdiagnostikk. Møtet anbefalte KBR som den mest aktuelle metoden å benytte i slik sammenheng.

Diagnosen bør fortrinnsvis stilles etter signifikant titerstigning i parsera. Høye titre i enkeltsera bør i hovedsak bare brukes når infeksjon i Norge med vedkommende influensavirus er verifisert ved titerstigning eller påvisning av agens. Melding om dette gis i de ukentlige rapportene fra influensasentrene. Helt utenom influensatiden må høyt titer tolkes med stor forsiktighet.

### *HAI og NT*

Disse testene har bedre sensitivitet enn KBR, men er mer ressurskrevende og utføres bare ved noen få laboratorier.

## *EIA*

Det er beskrevet flere in-house metoder med god sensitivitet og spesifisitet. Diagnosen kan stilles tidligere i sykdomsforløpet med en positiv IgA eller IgM test enn med KBR. Det har ikke vært noen aktiv markedsføring av kommersielle tester i Norge, og dokumentasjonen er meget mangelfull. De få utprøvingene som er blitt gjort (se Tjade, p 19), har ikke vist noen spesielt gode resultater for disse testene.

## **Anbefalinger for overvåking og beredskap**

Influensaovervåking gjennomføres både nasjonalt og internasjonalt. Klinisk og virologisk overvåking står sentralt i dette arbeidet. Den internasjonale overvåkingen til WHO skjer via samarbeid med i alt 110 nasjonale influensasentre som nå er etablert i 83 land. Norge har to slike sentre, ved Statens institutt for folkehelse for SØ-, Midt- og N-Norge, og ved Haukeland sykehus for fylkene i V-Norge. De to sentrene rapporterer direkte til WHO og nasjonale helseinstitusjoner gjennom influensasessongen for sitt område, og til hverandre.

Møtet anbefalte at denne praksis fortsetter.

Den virologiske overvåkingen i Norge baseres både på de medisinsk-mikrobiologiske avdelingenes rutinediagnostikk og på prøver sendt direkte fra "fyrårnleger" til influensasentrene. Møtet anbefalte et aktivt samarbeid mellom avdelingene ved fylkes- og regionsykehusene som både sikrer pasientene adekvat diagnostikk og at et tilstrekkelig antall virusstammer blir isolert for å bidra til overvåkingsarbeidet, herunder også for oversending til WHO.

Møtet anbefalte at det bør arbeides for og oppmuntres til at innrapportering av laboratoriediagnoser fra de medisinsk mikrobiologiske avdelingene til de nasjonale influensasentrene skal kunne foregå elektronisk.

Redaksjonskomitéen vil anmode referansegruppen om å ta opp dette.

Norge bør sikre seg optimalt utbytte av internasjonale rapporteringssystemer og nettverk for influensa med hovedvekt på WHO- og EU-samarbeidet.

Møtet anbefalte at alle deltakere i den nasjonale influensaovervåkingen fortsatt må få regelmessig tilbakemelding om hvilke data som innsamles nasjonalt. De bør dessuten fra de nasjonale sentrene få liste over de viktigste internettadresser for internasjonale rapporteringssystemer og nettverk.

De årlige undersøkelsene av befolkningens immunitet mot influensa gir et mer dekkende bilde av utbruddenes utbredelse i ulike aldersgrupper enn det man kan slutte ut fra laboratorienes influensa-prøver. Møtet anbefalte derfor at immunstatusundersøkelsene bør fortsette.

Møtet anbefalte at av hensyn til overvåkingsfunksjonen bør flest mulig laboratorier utføre en form for viruspåvisning, for eksempel ved antigenpåvisning med IF, og at det sikres virusstammer fra hele landet ved at det foregår dyrking på regionsnivå.

Møtet anbefalte at laboratoriene opprettholder en viss diagnostisk beredskap overfor influensa også utenom den egentlige sesongen, bl.a. med tanke på import av tilfeller fra den sørlige halvkule som har sine influensutbrudd i vårt sommerhalvår.

Strategimøtet henstiller til referansegruppen å foreslå for Styremøtet for landets medisinsk-mikrobiologiske avdelinger at det oppnevnes et utvalg til å se på behovet for å utarbeide en egen mal for beredskapstiltak ved influensapandemi for de medisinsk-mikrobiologiske avdelinger. Utgangspunktet bør være at metodikkene, både for virologiske og bakteriologiske undersøkelser, er på plass og at det i pandemisammenheng vesentlig vil dreie seg om en kapasitetsøkning.



## **Relevante internettadresser for influensaovervåking**

**Verdens helseorganisasjon, WHO/FLUNET**

<http://oms2.b3e.jussieu.fr/flunet/>

**Folkehelse/WHO influensakontakt SØ-, M- og N-Norge**

<http://www.folkehelse.no/informasjon/influensa/influensa.html>

**Haukeland sykehus/WHO influensakontakt V-Norge**

<http://www.uib.no/virus/Flu/Flu.html>

**Danmark, Statens Seruminstitut**

<http://www.ssi.dk/>

**Finland, National Public Health Institute, Influenza Surveillance**

<http://www.ktl.fi/flu/>

**Sverige, Smittskyddsinstitutet, Influenza Surveillance**

<http://www.smi.ki.se/>

**Storbritannia, PHLS ( Public Health Laboratory Service)**

Generell:

<http://www.phls.co.uk/>

Influenza Surveillance:

<http://www.phls.co.uk/facts/influenza/flu.htm>

**Tyskland, Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI)**

<http://www.dgk.de/agi>

**Europa, EUROGROG, (gis ut i Frankrike) (tror det er Institut Pasteur (Manuguerra))**

<http://www.grog.org/EuroGROG1.htm>

**Europa, EISS (European Influenza Surveillance Scheme), (EU-opplegg???)**

<http://www.eiss.org/>

**USA, CDC**

Generell:

<http://www.cdc.gov/>

Influenza Surveillance;

<http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/flu/weekly.htm>

**ESWI (European Scientific Working Group on Influenza)**

<http://www.eswi.org/>

Adressen inneholder vesentlig ESWI bulletinen *Influenza* med mer generelt stoff, mye av interesse

*Utvalget omfatter hovedsakelig "public health"-institusjoner. Mange har pekere for ytterligere adresser.*

*Denne adresselisten vil bli ajourført av Folkehelse hver høst og tilsendt laboratoriene ved starten av sesongens influensa-samarbeide.*

*Henvendelser kan ellers rettes til de nasjonale influensasentrene som har følgende e-postadresser:*

*olav.hungnes@folkehelse.no*

[lars.haaheim@gades.uib.no](mailto:lars.haaheim@gades.uib.no)

# INFLUENSAVIRUS

Lars R. Haaheim, Universitetet i Bergen/WHO influensasenter for V-Norge

Det er sannsynlig at influensavirus A egentlig er et fuglepatogen og at det kan ha foretatt et "halvhjertet og nølende sprang" over på mennesker da vi ble fastboende og tok til å holde fjærkre som husdyr. Landsbyttun med andefugler, høns og svin i nærkontakt med mennesker, kan ha lagt grunnen for nye influensa reassortanter.

Influenzavirus er et negativt trådet segmentert RNA virus (8 biter) som hører til *Orthomyxoviridae* familien. Det er to genera (*Influenzavirus A,B* og *Influenzavirus C*), og det første genus med typene A og B har særlig betydning for sykdom hos mennesket. Interessant nok er det bare sjelden at fugler blir syke av sin influensainfeksjon, og like interessant er det at aviært virus replikerer i tarmtraktus og at det skilles ut store mengder infeksjøs virus i fuglekloakken. Ellers finner vi influensavirus hos f.eks. sel, hval, hest, gris.

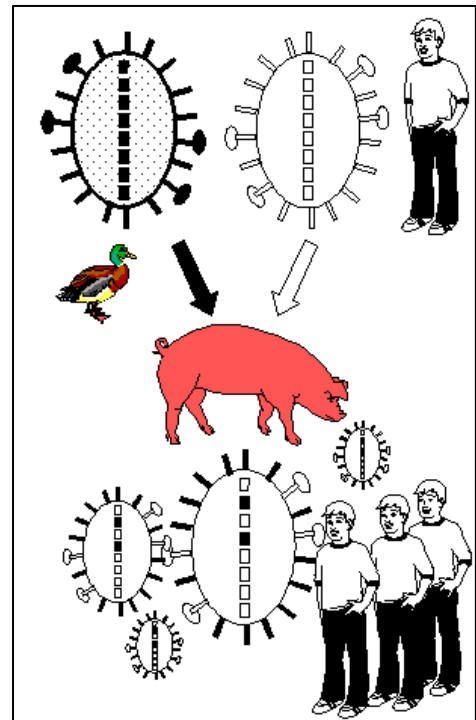
Virusets RNA-avhengige RNA-polymeraser er notorisk slurvet i sitt arbeid. Dette fører til hyppige aminosyreutbyttinger, av og til også -delesjoner og -tilføyelser, i virusproteinene. Særlig virusets overflateantigener hemagglutininet (H) og neuraminidasen (N) tillater mange slike forandringer ofte uten at proteinenes biologiske funksjon forandres.

**Antigen drift** (eng. 'drift') er derfor et karakteristisk årlig fenomen. Når viruset i tillegg smitter ved dråpeinhalasjon og har en kort (1-3 dagers) inkubasjonstid, forstår vi at det er et konstant kappløp mellom det antigen ustabile virus og befolkningens immunitet. Det er altså intet galt med immunsvaret vårt, men viruset forandrer seg så hyppig at vår tidligere immunitet, enten gjennom smitte eller ved vaksinasjon, "går ut på dato" altfor raskt. Verken vaksine eller antivirale midler kan forhindre dette, men fornuftig bruk av disse mulighetene kan dempe de helsemessige og økonomiske effektene av influensaepidemier.

En sjelden gang introduseres "nye" influensavirus A undertyper (subtyper) som mennesket ikke har immunitet mot. Dette er **antigen skifte/sprang** (eng. 'shift'), vi kan stå overfor en **pandemi**.

Siden det finnes 15 undertyper av H og 9 undertyper av N hos fugler, forstår vi at den genetiske pool hos fugler representerer en potensiell trussel for oss. Blandingsvirus kan oppstå ved at én og samme celle dobbelinfiseres med f.eks. to ulike influensa A-virus. Disse trenger ikke å være fra ulike undertyper. De åtte genbitene fra de to virus kan blandes i  $2^8 = 256$  ulike kombinasjoner inne i vertscellen. Dette har vært vist hos mennesker, og under laboratorieforhold er det svært lett å få til. I vaksinesammenheng benyttes denne mekanismen for å lage virus som vokser godt i embryonerte egg. Man blander villtype virus med en hurtigvoksende laboratoriestamme og poder miksturen på egg. Ved å benytte en vel balansert blanding av

de to, sammen med antistoffer mot overflateantigenene til det kjente laboratorievirus, kan man etter flere runder med passasjer av blandingsvirus, til slutt ende opp med et virus som både har overflateantigenene til villtypen og med vekstegenskapene til den etablerte hurtigvoksende laboratorievarianten. Akkurat det man ønsker i vaksinesammenheng. Det er sannsynligvis slike mekanismer som ligger til grunn for opphavet til "nye" influensavirus i naturen. Svin antas å stå i en særstilling ved at cellereseptorene i luftveiene tillater binding av både humane og aviære influensavirus. En dobbelinfeksjon av for eksempel svin med et humant og et aviært influensavirus kan, ved en slik genetisk reassortering, således gi virus som fortsatt har evne til å spre seg effektivt blant mennesker, men som har fått nye antigene strukturer som vi ikke kjenner fra tidligere (se illustrasjon). Vi kan stå overfor en **influensapandemi**. Vi har også sett (Hong Kong fugleinfluenza episoden i 1997) at aviært virus kan smitte direkte over på mennesker. Dette representerer et overraskende og helt nytt trekk i trusselbildet. Hadde ikke helsemyndighetene i Hong Kong vist handlingskraft nok, etter å ha rådført seg med eksperter på feltet, og iverksatt massenedslaktingen av fjærkre på fuglemarkedene i romjulen



'97, kunne vi lett tenke oss at viruset enten hadde lært seg kunsten å smitte effektivt mellom mennesker, eller at det hadde reassortert med det ordinære humane H3N2 som allerede var begynt å spre seg i området. Den første modellen viser til influensavirusets store mutasjonsevne (les: tilpasningsevne), den andre modellen viser til den vel dokumenterte evne til genetisk reassortering. Uten å ta munnen for full sto vel verden i julen '97 overfor en av de mest alvorlige smittetrusler vi kjenner til i vår tid.

**Diagnostikk** av infeksjon med influensavirus bør i større grad baseres på påvisning av smittestoffet, enten ved antigenpåvisning, genompåvisning (RT-PCR) eller ved dyrking av virus. Serologisk diagnostikk ved parsera, enten ved påvisning av stigning av KBR antistoffer mot typespesifikke antigener (NP og/eller M fra A eller B virus), eller ved hemagglutinasjons-hemmings antistoffer, som for influenza A kan antyde hvilken subtype som er aktuell, - er relativ enkle prosedyrer. Vi burde isolere og karakterisere flere virusstammer hos oss, flere mikrobiologiske laboratorier kunne tilby viruspåvisning/-dyrking fra nese/hals prøver. I tillegg til at det vil styrke norsk influensaberedskap, vil et større antall influensaisolater være et norsk bidrag til WHO samarbeidet og derved være en måte å nedbetale vår "virologiske informasjonsskjeld" til verdenssamfunnet.

**Epidemier og pandemier** kan ikke forutsis. Hvert eneste år har vi besøk av influensavirus, men det er ikke alltid møtene antar epidemiske proporsjoner. Likeledes kan man heller ikke vite **når** i vintersesongen vi får influensabesøk. Selv om det erfaringsmessig har vist seg at desember-februar oftest er den mest aktive

perioden, har vi hatt epidemier i perioden november-april. Utbrudd kan også skje utenfor disse "kjernetidene". Siden mekanismene for antigen drift i hovedsak er kjent og representerer summen av en kontinuerlig prosess av aminosyreforandringer, kan vi regne som sikkert at i hver sesong vil det et eller annet sted på kloden ha utviklet seg virusstammer som også kan ha spredningspotensiale hos oss. Men hvilke mekanismer og tilfeldige prosesser som styrer epidemiutviklingen i det enkelte lokalsamfunn/region/land, er lite forstått. Helt sikkert er det at det ikke bare kan skyldes befolkningens flokkimmunitet. Epidemispådommer er derfor verdiløse og bør ikke bringes til torgs. Derimot er det mer passende å komme med spådommer når et nytt pandemisk virus har oppstått et eller annet sted på kloden. Da kan man mer eller mindre sikkerhet for det første slå fast at viruset vil ramme oss, og når viruset først har kommet til landet, vil man med en viss grad av sikkerhet kunne anslå varighet av den første bølgen. Pandemier utløses av sjeldne og uforutsigelig biologiske hendelser, derfor kan neste pandemi kan like godt komme i morgen som om 50 år. Igjen, spådommer ment for publikum er verdiløse.

**Profylaktisk** er fremdeles vaksinerings det eneste alternativ i ordinære vintersesonger.

**Vaksinen** består av inaktiverede aktuelle virusstammer som sannsynligvis vil virke tilfredsstillende mot de stammer som kan tenkes å banke på døren. Nå må riktignok vaksinen stadig forandres, men produsentene har tilpasset seg situasjonen og kan vanligvis tilby markedet nok vaksiner til rett tid. Og effekten av vaksinen kommer raskt, de fleste har fått beskyttende antistoffer etter en uke. Således bør man ikke unnlate å vaksinere fordi det skal ha vært påvist epidemisk virus i lokalsamfunnet. Beskyttelsesgraden vil variere fra en sesong til den neste, men i gjennomsnitt vil 7-8 av 10 smittede være beskyttet mot alvorlig influensa (inkl. død), mens kanskje bare 5 av 10 smitteutsatte vil være beskyttet mot selve infeksjonen. Når det noen sesonger viser seg at det ikke er helt samsvar mellom vaksinevirus og epidemisk virus, kan man allikevel forvente at vaksinen vil virke, om ikke helt optimalt. Bruken av termen "virkningsløs vaksine" er derfor noe vi bør reservere for situasjonen der en helt ny subtype sprer seg over verden. Noen ganger kan man høre at har man først begynt å vaksinere seg, bør man fortsette med dette i årene som kommer. Dette har ingen støtte i vitenskapelig litteratur. For alle praktiske formål er kvaliteten av vaksineindusert immunitet like god som den man får etter naturlig smitte. En **pandemi**, derimot, vil sette oss i en alvorlig knipe også i vaksinesammenheng, siden det vil ta for lang tid å lage nok vaksiner til at første pandemiske bølge kan bli møtt av en delvis vaksinert befolkning. Kjøp av korrekt formulert vaksiner på det åpne verdensmarkedet vil bli ytterst vanskelig, kanskje umulig, og det er grunn til å tvile på om Norge på egen hånd kan sette i gang produksjon av slik. Det vil også kunne bli tekniske problemer og forsinkelser med å få ferdigstilt egnede virusstammer til vaksineproduksjon, villviruset kan for eksempel være særlig patogen (kfr. forberedelsene til å lage en H5N1 vaksine etter kyllingvirusepisoden i Hong Kong i 1997, her strever man fortsatt med tekniske problemer). Men også produksjon av tradisjonell vaksiner kan støte på uventede hindringer. Dette ble anskueliggjort denne sesongen (1999) på den sørlige halvkule da den anbefalte H3N2 stammen A/Moskva/10/99 ikke lot seg reassortere for å lage en hurtigvoksene vaksinstamme. WHO ble nødt til å gå tilbake på sin anbefaling og tilrå bruk av fjorårets "gamle" Sydney variant. Lærdommen er at vaksineproduksjon ikke alltid kan regne å følge den slagte landevei.

Derimot vil terapeutisk og profylaktisk bruk av antivirale midler, særlig de nye **neuraminidase-hemmerne**, gi grunn til en viss grad av behersket optimisme. Disse medikamentene vil virke både profylaktisk og terapeutisk både mot influensavirus A og B, i motsetning til amantadin/rimantadin som bare virker mot influensavirus A. Nå er det slik at det bare er influensavirus A som forårsaker pandemier, slik at tilfanget av antivirale midler til pandemisk krisebruk har blitt meget bedre i de senere år. Men igjen er det viktig å presisere at også slike midler må forventes å bli mangelvare, og selv med god tilgang på slike medikamenter, er det mange betenkeligheter forbundet med å sette store deler av befolkningen på medikamentell behandling over lang tid i påvente av at det nye viruset skal slå til. Men utvilsomt kan de tilgjengelige medikamenter kunne ha sin plass i et kort tidsrom.

**Avslutning:** Problemet med influensavirus er at under ordinære vinterforhold skaper ikke viruset mer sykkelighet og dødelighet enn det myndighetene synes å akseptere. Dette er beklagelig. Langt flere eldre kunne blitt vaksinert, og langt flere "friske" mennesker kunne koste på seg en dose influensavaksine på høsten. En billig forsikring uten noen skadevirkninger eller negative effekter verken for den enkelte eller for samfunnet. Vaksinasjon av eldre og øvrige risikogrupper er en samfunnsmessig svært lønnsom investering, og for den ellers friske er en vaksinedose en privat investering som den enkelte må vurdere. Influenzavirus stiller oss overfor store utfordringer, både under vanlige vintersesonger, men i særlig grad vil problemene tårne seg opp når vi ganske plutselig og uventet står overfor en influensapandemi. Landet trenger kompetente og erfarne fagfolk, men dessverre seiler faget medisinsk mikrobiologi i motvind. Etterkrigstidens suksess i kampen mot smittsomme sykdommer, særlig i den industrialiserte verden, har skapt en illusjonen av at også denne krigen er vunnet. Det er den ikke. Infeksjonssykdommene vil kreve tilbake sin plass i sykdomsbildet også i den industrialiserte verden, og helsemyndighetene har et særlig ansvar for å møte denne utfordringen.

# DYRKINGSMETODER FOR PÅVISNING AV INFLUENSAVIRUS

**Anne-Lise Bruu, Avdeling for virologi, Folkehelse.**

Til tross for nyere diagnostiske metoder som antigenpåvisning og RT-PCR, er dyrking av influensavirus i cellekultur fortsatt aktuelt fordi metoden har høy spesifisitet og gjør det mulig å oppdage nye antigene varianter som kan ha betydning for sammensetningen av influensavaksinen.

Egnet prøvemateriale for dyrking er

- nasofarynxaspirat
- nese/hals penselprøve
- neseskyllevann
- bronkials skyllevann.

Kombinert prøve fra nese/hals, enten nasofarynxaspirat eller nese/hals penselprøve anbefales, fordi sjansene for å påvise virus i en slik kombinasjonsprøve er større enn i isolerte prøver. Nese/hals penselprøve tas ved at en pensel strykes godt over nesegulvet, en annen pensel over tonsilleregionen og bakre svelgvegg, deretter plasseres penslene i samme prøvebeholder med virustransportmedium. Halsskyllevann ansees som lite egnet fordi det ofte inneholder mye bakterier og grums.

Prøve til dyrking bør tas innen 3. sykdomsdag, for senere i forløpet er sjansene for å påvise virus betydelig redusert.

Forsendelse på virustransportmedium (i nødsfall sterilt fysiologisk saltvann) og nedkjøling under transport anbefales, i alle fall hvis transporten tar mer enn 24 timer. For våre medhjelpere i influensaovervåkingen er ikke nedkjølt transport noe absolutt krav, da det kan bli for komplisert. Før forsendelse kan prøven oppbevares opp til fire døgn i kjøleskap.

Etter mottak i laboratoriet bør prøven straks tas hånd om og først sentrifugeres, i alle fall hvis materialet er grumsete (kjølesentrifugering ved 1400 x g i 10 minutter anbefales), samt tilsettes antibiotika (vi bruker en kombinasjon av penicillin, streptomycin og fungizone) som skal virke ca. en time før utsed. Prøver som ikke straks kan såes ut, bør oppbevares ved +4°C i inntil fire døgn (Eventuell lagring ved frysing skjer ved -70°C).

Vi dyrker influensavirus på rør, og inokulerer med 0,2 ml pr. rør. Ved bruk av plater bør det være ikke-inokulerte brønner mellom de inokulerte. Sentrifugering av platen etter inokulering øker sensitiviteten, det samme gjør rotasjon av rørene under inkubering (roller drums). Ofte anbefales lavere temperatur for inkubering enn +37°C, f.eks. +33°C.

Ved vår avdeling leses prøvene av 3 ganger (dag 1 for å oppdage bakteriell kontaminasjon eller uspesifikk celledegenerasjon, dag 5 og dag 7-10).

Pasient- og cellekultur-materiale som blir til overs, tilsettes 5% glycerol i forholdet 1:10 og lagres ved -70°C.

Hemadsorpsjon (HAds) er en indirekte metode for å påvise virus. Influensavirus har hemagglutininere på yttermembranen, og når virus formerer seg i cellekultur, sitter det hemagglutininere på overflaten av kulturcellene. Setter vi erythrocytter til en cellekultur som er infisert med influensavirus, vil de binde seg til hemagglutinin på celleoverflaten og danne rosetter, som er lett synlige i vanlig mikroskop. HAds blir ofte positiv før cytopatogen effekt (CPE). Marsvin- eller humane O-blodlegemer anbefales for HAds, mens hønseerythrocytter er

mindre sensitive. Hvor tidlig HAds kan gjøres, avhenger av hvilke celler man bruker, men HAds kan koordineres med avlesningen av prøven for eventuell CPE.

For dyrking av influensavirus ble embryonerte egg tidligere mye benyttet, både til diagnostikk og spesielt til antigen- og vaksineproduksjon. For diagnostikk brukes nå mest cellelinjer med tilsetning av trypsin i mediet under dyrkingen.

Anbefalte celler:

- **MDCK** (Madin-Darby canine kidney - kontinuerlig hundenyre-cellelinje): Meget sensitiv for influensavirus.
- **LLC-MK2** (kontinuerlig apenyre-cellelinje): Like sensitiv som PRMK, men muligens noe mindre sensitiv enn MDCK.
- **PRMK** (primære rhesus apenyre-celler): Meget sensitiv
- **MRC5** (kontinuerlig fibroblastlinje fra human embryolunge): Sensitivitet nær opptil MDCK.

Uansett hvilken cellelinje man bruker, må mediet tilsettes trypsin for at influensavirus skal formere seg. Riktig trypsinkonsentrasjon er helt essensielt og må bestemmes med titrering. Prøven må vanligvis dyrkes omkring 4-7 dager eller mer i cellekultur før virus kan påvises. *Shell vial* teknikk kombinerer høy sensitivitet med hurtig påvisning. Prøvematerialet sentrifugeres ned på cellelaget i dekkglasset, og etter 2-3 døgns inkubering påvises virusantigen ved immunfluorescens (IF) med monoklonale antistoffer. Metoden regnes for å være mer sensitiv enn både vanlig dyrking og antigenpåvisning i hurtigvirusprøve (IF/EIA i nasofarynkspirat). For shell vial teknikk anbefales spesielt MDCK-celler.

Ved *hurtigdyrking* inokuleres prøvematerialet på mikrobrett hvor brønnene er dekket med MDCK-celler. Etter ett døgns inkubering kan virusantigen påvises med peroksydasemerkede antistoff.

Celler i kulturer som viser CPE og/eller positiv HAds skrapes løs og appliseres på objektglass for identifikasjon/subtyping ved IF med monoklonale antistoff. Antistoffene kan være rettet mot matrixproteinene eller nukleoproteinene og brukes for å type viruset (A eller B). Antistoffer mot hemagglutinin (H) og nevraminidase (N) brukes til å subtype (H og N) på A-typer. Metoden har høy spesifisitet, og det er mulig å skille mellom H1N1 og H3N2 av influensavirus A. Subtyping med EIA-teknikk er også mulig.

**Det anbefales at laboratoriene kvalitetskontrollerer sine diagnostiske prosedyrer minst 1 gang årlig.**



# IMMUNFLUORESCENS OG EIA FOR PÅVISNING AV INFLUENSAVIRUS.

**Gunnar Størvold, Mikrobiologisk avdeling, Ullevål sykehus**

**Immunfluorescensmikroskopi (IF)** kan påvise influensavirus direkte i prøvemateriale relativt enkelt og raskt. Analysen tar 1 – 2 timer. Sensitiviteten i forhold til dyrking kan være 60 – 95%, og spesifisiteten godt over 90%.

Høy sensitivitet og spesifisitet avhenger av en rekke faktorer. Viktig er at prøven inneholder nok respiratorisk epitel. Nasofarynksaspirat er best, men optimal prøve krever eget prøvetakingsutstyr og øvet personale. Dyp nesepensel er mindre godt egnet. Halskyllevann og ekspektorat er av liten verdi.

Avleserens erfaring er viktig. Et godt IF-mikroskop er nødvendig. Ved mikroskoperingen kan det sjekkes om prøven inneholder nok respiratoriske celler for en pålitelig vurdering. Metoden er mindre godt egnet ved stort antall prøver.

Flere monoklonale antistoffer mot influensavirus A og B, de fleste direkte FITC-merket, finnes kommersielt tilgjengelig. Kvaliteten bør testes ved starten av sesongen, og ved hver ny batch av antistoff, ved hjelp av kjente kontroller.

**EIA (enzyme immunoassay)** kan brukes til påvisning av influensavirus direkte i pasientmateriale. Det finnes mange utgaver kommersielt tilgjengelig. En ulempe er at prøvematerialets kvalitet kan ikke vurderes som ved IF.

## *Mikrotiterplateformat*

Denne metoden er best egnet til et større antall prøver, og delvis automatisering er mulig (krever eget laborieutstyr). Ved lite antall prøver i hvert oppsett blir reagensutgiftene relativt store. Analysen tar 3-4 timer, og avlesningen er objektiv.

Sensitivitet og spesifisitet angis i samme område som for IF. Metoden er, så vidt vites, ikke i rutinebruk i Norge.

## *EIA «Hurtigtester»*

Disse er brukervennlige (krever ikke eget laborieutstyr) og raske (svar innen 15 - 30 min). Avlesningen er oftest enkel, da positiv prøve skal gi typisk mønster eller fargeforandring på en testmembran. Noen ganger kan dog avlesningen være usikker, spesielt ved svake reaksjoner.

Nasofarynksaspirat (eller neseskyllevæske) er det beste prøvematerialet. Dyp nesepensel og ekspektorat er noe dårligere. Halspensel gir lav sensitivitet.

Hurtigtester på markedet /under utprøving:

*Directigen Flu A* (Becton Dickinson) påviser bare influensavirus A. Testen har vært på markedet i snart 10 år. Den er vurdert i mange publikasjoner, med sensitivitet angitt til 75 - 100%, og spesifisitet >90%. Virustransportmedium kan brukes.

Andre nyere hurtigtester kan påvise influensavirus, men skiller ikke mellom type A og B. Det foreligger meget sparsomt med publikasjoner om dem enda, nesten bare kongressreferater og produsentdata. Noen aktuelle er: *AB FLU OIA* (Biostar), med sensitivitet angitt til 62 - 100%, og spesifisitet 78 - 93%. Fortynning av prøven, for eksempel i virustransportmedium, er ikke anbefalt. Andre tester er *GLORIA Flu A/B* (Roche) og *Quick Vue Influenza Test* (Quidel).

### **Anvendelse av hurtigtester.**

Disse er hovedsakelig beregnet til bruk hos primærleger eller på institusjoner som ikke har rask nok tilgang til mikrobiologisk service. Brukeren må ha kunnskap om testenes sensitivitet og spesifisitet, og om mulige årsaker til feil resultat. Ansvar for opplæring, vedlikehold av kunnskap og ikke minst kvalitetskontroll må være klart definert.

I det mikrobiologisk laboratoriet kan hurtigtestene muligens være en nødløsning dersom IF ikke er tilgjengelig raskt nok. Resultatet bør dog alltid kontrolleres med IF etterpå.

Det er tydelig behov for gode studier av slike hurtigtester, der testresultater fra allmennpraksis sammenliknes med vanlig laboratoriediagnostikk (IF, dyrkning og RT-PCR).

# RT-PCR FOR PÅVISNING AV INFLUENSAVIRUS

Olav Hungnes, Avdeling for virologi, Folkehelse

Revers transkripsjon-PCR (RT-PCR) er en meget sensitiv og spesifikk metodikk som har blitt tatt i bruk for påvisning av mange slags smittestoff.

På Folkehelse har metodikken vært i bruk i influensasammenheng siden 1996. Først i ren overvåkingssammenheng for genotyping av sirkulerende virus, i løpet av det siste året som forsøksvis supplement av virusdyrking for påvisning. I denne sammenheng har vi brukt en influensavirus A(H1)/A(H3)/B multiplex RT-PCR utviklet på PHLIS, Colindale, London (Ellis et al. J Clin Microbiol 1997 Aug;35(8):2076-82). For en del av de positive reaksjonene ble også produktet sekvensert og underkastet fylogenetisk analyse og undersøkt for forandringer i antigene sites i forhold til vaksinstammer.

## Erfaringer:

- Overlegen sensitivitet: RT-PCR-testen ble satt opp parallelt med virusdyrking for alle prøver mottatt gjennom fyrårssystemet sesongen 1998-99:

	<i>Dyrking A+</i>	<i>Dyrking B+</i>	<i>Dyrking neg</i>	<i>Sum</i>
RT-PCR A+	24	0	34	58
RT-PCR B +	0	2	8	10
RT-PCR -	1*	0	69	70
Sum	25	2	111	138

Influenza A: 142% mer sensitiv enn dyrking

Influenza B: 300% mer sensitiv enn dyrking

Til sammen:

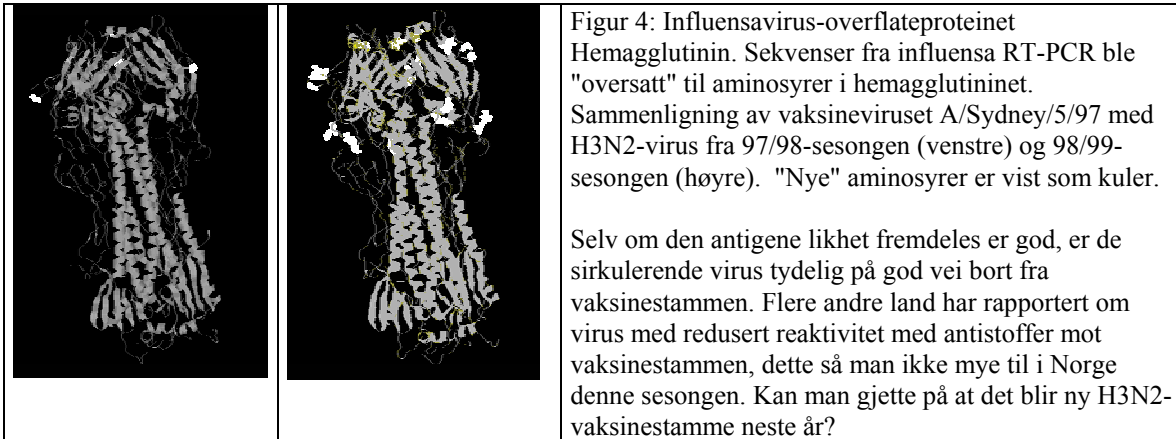
68 RT-PCR+ av 138 (49,3%)

27 dyrkn.pos. av 138 (19,6%)

\*Den ene prøven som var Dyrkn+/RT-PCR- var frosset/tint før RT-PCR.

En så stor forskjell i sensitivitet sammenlignet med dyrking kan ikke alltid påregnes. 20-25% økt sensitivitet er mer alminnelig (1, 2). En rekke variable faktorer kan påvirke forholdet. Dette kan for eksempel være andelen av viruspartikler i prøven som lar seg dyrke, hvor intensivt den enkelte dyrking drives mhp. sensitivitet (varighet, blindpassering etc.), virusvariantenes infektivitet i forskjellige cellelinjer osv..

- Følsom for frysing/tining  
Testen synes nesten overfølsom for frysing/tining, det arbeides med å finne betingelser som begrenser dette tapet i sensitivitet. Det er mulig at forskjellen i forhold til dyrking ble større for oss enn det man vanligvis finner i litteraturen fordi det er utbredt praksis å transportere/lagre prøver ved -70°C.
- Hurtighet. Tid fram til resultat er ca 1,5 dag. Hos oss anser vi det ikke praktisk å teste prøver fortløpende, så de samles opp for en ukentlig kjøring. Derfor foreligger for enkelte prøver dyrkningssvar samtidig med RT-PCR-svar. Andre influensavirus-RT-PCR tar kortere tid enn denne.
- Etterbruk. Denne testen amplifiserer store deler av hemagglutiningenet. Sekvensinformasjonen er meget relevant epidemiologisk og i forhold til virusets antigenisitet. Dette er en stor fordel i overvåkingssammenheng.



### Oppsummering:

- I overvåkingssammenheng utgjør denne testen et verdifullt supplement til dyrking. I en alminnelig diagnostisk sammenheng kan det tenkes at andre typer hurtigtester er mer relevante, eller at RT-PCR-tester som kan utføres raskere og har påvisningstrinnet f.eks. i EIA-format er mer velegnet. Noen slike tester amplifiserer konserverte gener som gjør dem uegnet for finkarakterisering/sybtying. Til gjengjeld kan de påvise et stort spekter av influensavirus, f.eks. alle slags subtyper av influensavirus A. Det siste kan være meget verdifullt i en pandemisituasjon. Også i spesielle diagnostiske situasjoner der den høye sensitiviteten er avgjørende, vil influensavirus-RT-PCR kunne ha sin verdi.

# DIAGNOSTIKK AV INFLUENSAINFEKSJON VED PÅVISNING AV ANTISTOFF

Trygve Tjade. Mikrobiologisk avdeling, SIA

Aktuelle metoder for influensadiagnostikk ved antistoffpåvisning er:

1. KBR (komplementbindingsreaksjonen)
2. HAI (hemagglutinasjonhemningstest)
3. NT (nøytralisasjonstest)
4. EIA

Antistoffer rettet mot hemagglutininnet på influensavirus beskytter mot infeksjon. Ved HAI hindres virusets evne til å bindes til erytrocytter av pasientens antistoffer. Hemagglutinin (H) og nevramidase (N) viser stor evne til antigen forandring. Dette danner grunnlaget for subtype- og variantinndeling av influensavirus. Ved KBR brukes i hovedsak det antigent stabile, typespesifikke nukleokapsid-antigenet. Ved KBR fastslås det således hvilken type influensavirus (A eller B) pasienten er smittet med uavhengig av evt. antigen forandring i H eller N.

HAI reagerer med variant- og subtype-spesifikke antistoffer. Den brukes til å påvise immunitet og påvise antistoff titerstigning ved infeksjon (tabell 1). Gjentatte infeksjoner med ulike, men beslektede influensavirus gir mest antistoffer mot antigenene determinanter som var tilstede på virus som personen tidligere har vært eksponert for.

Tabell 1: Influenza - Egenskaper og anvendelsesområde for serologiske tester:

Metode	Spesifisitet	Bruk		
		Diagnostikk	Immunitet	Antigene varianter
<b>KBR</b>	Typespesifikk (skiller influensavirus A og B)	X		
<b>HAI</b>	Type-, subtype- og variant-spesifikke	X	X	X
<b>NT</b>	Type-, subtype- og variant-spesifikke	X		X
<b>EIA</b>	Avhenger av valg av antigen og konjugat	X	? *	? *

\* Avhenger av valg av antigen og konjugat

Viruspåvisning er mer sensitiv enn serologi (1), forutsatt at prøven blir tatt tidlig i sykdomsforløpet (tabell 2).

Tabell 2: Influenzadiagnostikk - Viruspåvisning kontra serologi

	Virusisolasjon	IF	KBR
Sensitivitet	84 %	62 %	31 %
Spesifisitet	100 %	98 %	94 %

Sensitivitet til de ulike serologiske testene fremgår av tabell 3. Tallene for EIA-testene refererer til selvlagede tester (2-8). Data for kommersielt tilgjengelige EIA-tester finnes ikke. KBR har lavest sensitivitet.

Tabell 3: Influensadiagnostikk - Sensitiviteten til serologiske tester

	<b>IgM</b>	<b>EIA *</b> <b>IgA</b>	<b>IgG</b> <b>(titerøkning)</b>	<b>HAI</b>	<b>KBR</b>	<b>Mikro- NT</b>
<b>% positive</b>	86	58-76	49-96	68-91	31-63	78,6

\* Selvlagede tester

Et interessant alternativ til KBR er EIA. Tabell 4 viser at mye av EIA-antistoffene kommer i løpet av første sykdomsuke (9). IgA og mesteparten av IgG lages første sykdomsuke. Diagnosen kan stilles ved påvisning av spesifikk IgA eller IgM tidlig i sykdommen. I løpet av første sykdomsuke har 41-68 % spesifikk IgA og 35-45 % spesifikke IgM-antistoffer. Påvisning av IgA er en sterk indikasjon på sykdom (10).

Tabell 4: Influensa nukleoprotein spesifikke antistoffer (EIA) og HAI, % positive pasienter

<b>Influenza A</b>	<b>EIA</b>		<b>HAI</b>
	<b>IgA</b>	<b>IgG-økning</b>	<b>titerøkning</b>
<b>6. sykdomsdag</b>	41,2 %		
<b>21. sykdomsdag</b>	58,8 %	88,2 %	81,3 %

<b>Influenza B</b>	<b>EIA</b>		<b>HAI</b>
	<b>IgA</b>	<b>IgG-økning</b>	<b>titerøkning</b>
<b>6. sykdomsdag</b>	66,7 %		
<b>28. sykdomsdag</b>	58,3 %	95,8 %	72,7 %

Ved å kombinere antigenpåvisning i nasofarynksaspirat (IF) med EIA (IgM) (tabell 5), kan diagnosen stilles allerede ved første konsultasjon hos 69 % av pasientene mot henholdsvis 53 % (IF) og 36 % (IgM) med testene alene (11).

Tabell 5: Influenzavirus A - 64 voksne med influensalignende symptomer, verifisert med KBR (høyt titer/titerstigning) og IF (nasofarynksaspirat).

	<b>IF</b>	<b>EIA IgM</b>	<b>IF+IgM</b>	<b>EIA IgA</b>
<b>% positive v/innkomst</b>	53	36	69	
<b>% positive totalt</b>		86		76

Som vist ovenfor finnes det mange publikasjoner om selvlagede EIA-tester som viser lovende resultater. Når det gjelder publikasjoner vedr. kommersielt tilgjengelige EIA-tester (tabell 6) har det ikke vært mulig å oppspore en eneste artikkel.



Tabell 6: Influensa EIA-tester på det norske markedet (nov. 1999), Influenzavirus A og B

Fabrikat	Antistoff	Leverandør	Dokumentasjon
Biotest AG, Tyskland	IgA, IgG	Kebo Lab AS	Ingen
Genzyme Virotech GmbH, Tyskland	IgA, IgM, IgG	Electra-Box Diagnostica AS	Ingen
Novum Diagnostica GmbH, Tyskland	IgA, IgM, IgG	NycoPartner	Ingen
Sorin Diagnostics, Italia	IgM, IgG	Boule Nordic AS	Ingen
Vircell, Spania	IgM, IgG	Smith Medical & Diagnostic	Ingen

I 1997 ble på Mikrobiologisk avdeling, Sentralsykehuset i Akershus gjort en mindre undersøkelse for å få et bilde av en av disse testenes yteevne (tabell 7 og 8, upubliserte data). Resultatet var nedslående. Ingen av de KBR-positive prøvene ble funnet sikkert positive med EIA.

Tabell 7: Influenzavirus A - Sammenligning av KBR og EIA fra Genzyme Virotech GmbH (november 1997). 9 enkeltsera.

Serum nr.	KBR-titer	IgM	IgG (% av co)
1	5	Svak positiv	136
2	>320	Negativ	253
3	160	Gråsone	229
4	>320	Negativ	245
6	160	Negativ	245
7	>320	Negativ	227
8	40	Negativ	247
9	160	Negativ	237

Tabell 8: Influenza A - Sammenligning av KBR og EIA fra Genzyme Virotech GmbH (November 1997). Parsera fra 5 pasienter.

Serum nr.	KBR-titer	IgM	IgG (% av co)
1/2	5/40	Neg/Neg, ratio 1,05	225/260, ratio 1,2
3/4	5/20	Neg/Neg, ratio 0,1	103/194, ratio 1,9
5/6	5/160	Neg/Neg, ratio 1,8	133/232, ratio 1,7
7/8	10/40	Neg/Neg, ratio 9,1	125/167, ratio 1,3
9/10	10/40	Neg/Neg, ratio 0,3	167/237, ratio 1,4



I pakningsvedlegget fra leverandøren står det at en korrekt diagnose krever 2 sera, akuttserum og rekonvalesensfaseserum tatt 2 uker senere. Men det er ikke angitt hvorledes resultatene fra parsera skal tolkes.

### Oppsummering

Serologisk diagnostikk er et supplement til virus/virusantigenpåvisning og kan gi diagnosen der andre metoder svikter. Det foreligger en rekke publikasjoner om selvlagede EIA-tester som viser relativt høy sensitivitet, også tidlig i sykdommen. Imidlertid foreligger det ikke et kommersielt tilbud som kan dokumentere samme yteevne. HAI har bedre yteevne enn KBR, men er mer komplisert å utføre. Det ser derfor ut til at KBR fortsatt er det beste alternativet.

En undersøkelse av enkeltsera utenfor den definerte influensasesongen har liten verdi fordi testens spesifisitet faller dramatisk med fallende prevalens av sykdommen. Å utføre serologisk diagnostikk utenfor sesongen har derfor liten nytteverdi.

### Referanser:

1. *Hijazi Z; Pasca A; Eisa S; el Shazli A abd el-Salam RA*: Laboratory diagnosis of acute lower respiratory tract viral infection in children. *J Trop Pediatr* 1996 Oct;42(5):276-80.
2. *Madore HP; Reichman RC; Dolin R*: Serum antibody responses in naturally occurring influenza A virus infections determined by enzyme-linked immunosorbent assay, hemagglutinin inhibition, and complement fixation. *J Clin Microbiol* 1983 Dec;18(6):1345-50.
3. *Hijazi Z; Pasca A; Eisa S; el Shazli A abd el-Salam RA*: Laboratory diagnosis of acute lower respiratory tract viral infection in children. *J Trop Pediatr* 1996 Oct;42(5):276-80.
4. *Julkunen I; Pyhala R; Hovi T*: Enzyme immunoassay, complement fixation and hemagglutination inhibition tests in the diagnosis of influenza A and B virus infections. Purified hemagglutinin in subtype-specific diagnosis. *J Virol Methods* 1985 Jan;10(1):75-84.
5. *Bishai FR; Galli R*: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to influenza A and B and parainfluenza type 1 in sera of patients. *J Clin Microbiol* 1978 Dec;8(6):648-56.
6. *Vikerfors T; Lindegren G; Grandien M; van der Logt J*: Diagnosis of influenza A virus infections by detection of specific immunoglobulins M, A and G in serum. *J Clin Microbiol* 1989 Mar;27(3):453-8.
7. *Harmon MW; Jones I; Shaw M; Keitel W; Reimer CB; Halonen Å; Kendal AP*: Immunoassay for serologic diagnosis of influenza type A using recombinant DNA produced nucleoprotein antigen and monoclonal antibody to human IgG. *J Med Virol* 1989 Jan;27(1):25-30.
8. *Rothbarth PH; Groen J; Bohnen AM; de Groot R; Osterhaus AD*: Influenza virus serology - a comparative study. *J Virol Methods* 1999 Mar;78(1-2):163-9.
9. *Voeten JT; Groen J; van Alphen D; Claas EC; de Groot R; Osterhaus AD; Rimmelzwaan GF*: Use of recombinant nucleoproteins in enzyme-linked immunosorbent assays for detection of virus-specific immunoglobulin A (IgA) and IgG antibodies in influenza virus A- and B-infected patients. *J Clin Microbiol* 1998 Dec;36(12):3527-31.

10. Rothbarth PH; Groen J; Bohnen AM; de Groot R; Osterhaus AD: Influenza virus serology - a comparative study. J Virol Methods 1999 Mar;78(1-2):163-9.
11. Vikerfors T; Lindegren G; Grandien M; van der Logt J: Diagnosis of influenza A virus infections by detection of specific immunoglobulins M, A and G in serum. J Clin Microbiol 1989 Mar;27(3):453-8.



# INFLUENSADIAGNOSTIK I SVERIGE

**Annika Linde, Virusenheten, Smittskyddsinstitutet, Stockholm**

I Sverige rapporterades ca 1200 influensadiagnoser till Smittskyddsinstitutet säsongen 1998-99, ställda med virusodling eller immunfluorescens. Det är mer än 1/10 000 invånare, och vi tror att det internationellt sett är ganska mycket. Alla diagnoser ställdes på klinisk indikation, och inte som del i övervakningssystem.

## **Antigendetektion.**

Sju universitetslaboratorier med virusavdelningar och 6 bakteriologiska laboratorier vid länslasarett utför influensadiagnostik. Tolv av dessa 13 laboratorier använder immunfluorescens (IF) på nasofarynxsekret som förstahandsmetod. Sekretet tas på kliniken och skickas till laboratoriet, där preparat framställs. De flesta använder direkt immunfluorescens med Imagens märkta, monoklonala antikroppar; ett par använder indirekt IF med Chemicons antikropps-KIT.

Känsligheten, framför allt vid diagnostik av influensavirus B, förefaller bättre med indirekt färgning, men Chemicons antikroppar har vissa specificitetsproblem. Vid bl.a. Karolinska sjukhuset utförs dessutom virusodling på alla sekret, och man utvärderar där årligen specificitet och sensitivitet av IF-undersökningarna. Man hade här den föregående säsongen en hög sensitivitet för influensavirus A med Imagens monoklonaler (89%), men låg sensitivitet (ca 60% för influensavirus B). Dock förekom mycket lite influensavirus B, vilket kan ha påverkat procentsatsen negativt. Laboratoriernas IF kvalitetskontrolleras varje höst genom utskick via EQALIS (External Quality Assessment of Laboratory Medicine in Sweden). Åtta-10 färdigjorda cellpreparat med årets stammar skickas. Totalresultatet har varit relativt bra, men influensavirus B-diagnostiken fungerar genomgående något sämre än influensavirus A-diagnostiken enligt dessa utskick.

## **Virusisolering**

Virusisolering utförs rutinmässigt vid sex laboratorier. Samtliga använder MDCK-celler, med trypsinbehandling. CPE verifieras med hemadsorbition och/eller IIF. Ett laboratorium använder sub-typspecifika monoklonaler mot influensavirus A vid verifikationen (från professor Aymard, Nice). De övriga nöjer sig med att differentiera mellan A och B, och använder då de monoklonaler som de har för direktdiagnostiken. Ett laboratorium isolerar på alla prover, andra på bara på tidiga och sena prover samt prover som är negativa i IF. Selekterade material skickas till Smittskyddsinstitutet. Där typas med HI och monoklonaler (Aymard), och HA-genen sekvenseras. För ytterligare fenotypning skickas isolaten till Mill Hill. Virusisoleringen kvalitetskontrolleras via EQALIS vartannat år, och resultaten är inte helt tillfredställande vid alla laboratorier, framför allt inte för influensavirus B-isolering. Orsaken är inte klarlagd.

## **Serologi**

Serologiska undersökningar görs vid viruslaboratorierna med EIA och komplementbindning. En liten utvärdering som gjorda på tre sekventiella sera från 33 patienter med säkerställd influensa. Dessa prover var testade med hemagglutinationsinhibitionstest (HAI), som hade en sensitivitet på 70% avseende titerstegring. En helvirion-EIA och en EIA med rekombinant-antigen gav högre sensitivitet, medan komplementbindingstestet var betydligt sämre än HAI.

IgM eller IgA tester används inte rutinmässigt i Sverige, och har haft såväl låg sensitivitet som specificitet för aktuell infektion i de utvärderingar som gjorts.

### **Nya tester**

Ett laboratorium har under året utvärderat RT-PCR-diagnostik. RT-PCR identifierade betydligt fler influensapostiva patienter än odling, men specificiteten på dessa positiva reaktioner har inte utvärderats. Under föregående säsong utvärderades också ett snabbtest som upptäcker både influensavirus A och B, Flu-OIA från Biostar Biota, vid två laboratorier. Specificiteten var över 90%, men sensitiviteten i relation till IF max 80%. Testet bedömdes som relativt svårt att avläsa, och är troligen inte lämpat för den icke laboratorievana.

**Sammanfattningsvis** domineras diagnostiken i Sverige av antigen-detektion med IF, och alltfler mikrobiologiska laboratorier etablerar metoden. Vid viruslaboratorierna kompletteras den med virusodling, och stammar för referensundersökning skickas till Smittskyddsinstitutet. Hittills har inga andra antigen-tester med tillräcklig sensitivitet för kliniskt bruk identifierats, och serologi har mycket liten betydelse vid influensadiagnostik. RT-PCR är otillräckligt utvärderat, och ses ännu som ett alltör dyrbart och komplicerat alternativ för dagligt bruk.

# WHO-NETTVERKET FOR OVERVÅKING AV INFLUENZA

**Lars R. Haaheim, Universitetet i Bergen/WHO influensasenter for V-Norge**

I februar 1999, noen måneder forsinket, feiret WHO's influensaprogram sitt 50-års jubileum. Dette er det eldste, største og sannsynligvis best organiserte internasjonale overvåkingsprogram dedikert ett bestemt smittestoff. Planleggingsarbeidet ble startet i 1946, og i 1948 ble National Institute for Medical Research (Mill Hill, London) offisielt vert for "World Influenza Programme". Hensikten var den gang å hjelpe til med å formulere en "forsvarsplan" for en mulig neste pandemi, samordne laboratorieprosedyrer, se på

muligheter for å hindre smittespredning, og studere virusets virkning på sykkelighet og dødelighet i befolkningen. Laboratorier som hadde evne og vilje til diagnostisere influensa, isolere virus, og var villig til å holde WHO rutinemessig informert, ble rekruttert til programmet. I begynnelsen besto arbeidet i å standardisere laboratorierutiner, fremstille diagnostiske reagenser og utdanne

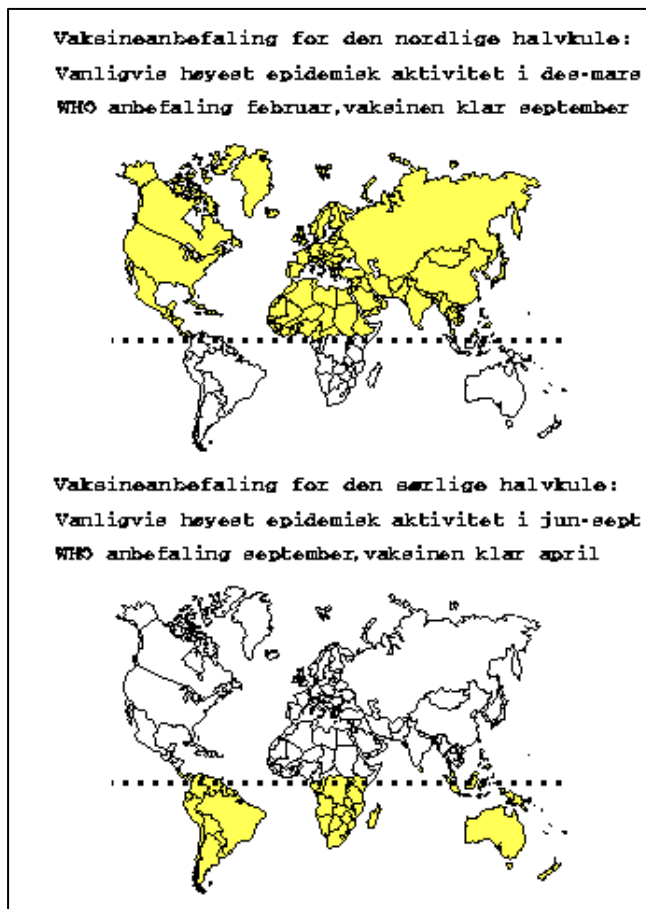


laboratoriepersonell. I 1952 hadde programmet knyttet til seg 60 laboratorier i 40 land. I dag er det 110 nasjonale influensasentre i 83 land, samt fire WHO Collaborating Centres for Reference and Research on Influenza (London, Atlanta, Melbourne, Tokyo, se figur over).

Dagens WHO oppgaver er stort sett de samme som i 1948, selv om metodene selvsagt er forandret:

- Karakterisere nye influensastammer, følge epidemiutviklingen, samt gi råd til helsemyndigheter/lisensieringsmyndigheter om sammensetning for kommende sesongs influensavaksine. WHO gir gjennom Weekly Epidemiological Record en ukentlig oversikt over den epidemiske situasjonen. Denne informasjonen er nå også tilgjengelig på verdensveven (FluNet), og de nasjonale influensasentrene kan også rapportere sine funn elektronisk direkte til FluNet. En del av denne kontinuerlige og i sann tid oppdaterte informasjonen, er åpen for publikum.
- Være lyttepost og faginstans for verdenssamfunnet når det gjelder mer uvanlige og truende epidemiologiske influensahendelser som kan lede til en pandemisk situasjon. Spesialgruppen "WHO

Pandemic Task Force" vil bistå WHO sentralt i krisevurderingen, og WHO vil gi medlemslandene råd om tiltak. Hvor slike finnes, kommuniserer WHO direkte med de nasjonale influensasentrene.



Siden influensasessongen på den sørlige halvkule er 6 måneder forskjøvet i forhold til den nordlige, arrangerer WHO i dag 2 årlige konsultasjonsmøter for vaksineprodusenter, nasjonale influensasentre og de fire referansesentrene (i februar for den nordlige halvkule, i september for den sørlige). WHOs anbefaling om stammesammensetning for kommende sesongs vaksine vil derfor kunne avvike for de to halvkulene. Dette skjedde i innværende sesong. En ekstra komplikasjon ble at H3N2 varianten (A/Moskva/10/99) anbefalt for den **sørlige** halvkule ikke lot seg reassortere tilfredsstillende for å lage en hurtigvoksende stamme egnet til vaksineproduksjon. Resultatet ble at den

"gamle" Sydney-varianten måtte brukes.

En pandemi vil skape store internasjonale problemer, og WHO har som oppgave å koordinere arbeidet med rådgiving til medlemslandene. WHO har derfor formulert en pandemiplan: Snacken R, Wood JM, Haaheim LR, Kendal AP, Lighthart GC, Lavanchy D. Influenza Pandemic Preparedness Plan. The Role of WHO and Guidelines for National and Regional Planning. WHO, Geneva, April 1999 (<http://www.who.int/emc-documents/influenza/whocdscsredc991c.html>), som er tenkt å være et dynamisk dokument til hjelp for medlemslandene når det skal formuleres nasjonale planer.

Under "kyllingvirus-episoden" i Hong Kong i 1997 gikk WHO til verks for å assistere myndighetene i Hong Kong. Et epidemiologisk og virologisk kriseteam fra Centers for Disease Control and Prevention (USA) ble fløyet inn på vegne av WHO. En rask inngripen fra HKs myndigheter gjennom fjerning av smittekilden (nedslakting av alt fjærkre på fuglemarkedene) forhindret muligens en internasjonal krise.

Influensaprogrammet lider av ressursknapphet, slik som så meget annet i WHO. Selv om de fire WHO Collaborating Centres for Reference and Research on Influenza samarbeider forbilledlig og gjør et førsteklasses arbeid, er ganske mange av de nasjonale influensasentrene passive, særlig i den tredje verden. Man kan heller ikke i framtiden påregne noen økonomisk støtte sentralt fra WHO til de nasjonale sentra,

det er medlemslandene selv som må sørge for tilstrekkelig midler til drift. For land i den tredje verden kan imidlertid et system med fadderlaboratorier kunne bedre situasjonen. Slik sett har den industrialiserte og rike del av verden et spesielt ansvar.

Det er viktig at landene har et vel utbygget og kompetent nettverk av laboratorier og at det rapporteres regelmessig til WHO, ikke bare i storm men også i stille. Med den stadig økende internasjonale reisetrafikk med interkontinentale flyruter, må vi regne med at nye trusler kan materialisere seg uten særlig forvarsel. Bare gjennom nasjonal satsing og internasjonalt samarbeid kan man redusere virkningene av både epidemier og pandemier. Mye er gjort, både veien og målet er klart, men det kan skorte på helsepolitisk vilje til å ta fatt.





# **VIROLOGISK INFLUENSAOVERVÅKING I NORGE – FYRTÅRNSYSTEMET**

**Anne-Lise Bruu, Avdeling for virologi, Folkehelse**

Det er ikke bare det å konstatere at influensaen er kommet, som er viktig. Vi vil også gjerne vite

- hvilken type influensavirus er det som går
- beskytter vaksinen mot den aktuelle typen influensavirus

For å få svar på disse spørsmålene har vi organisert et overvåkingssystem for influensavirus ved at vi får tilsendt pasientprøver. Systemet består av et nettverk av leger, som på frivillig basis tar prøver av pasienter med antatt influensa. Disse legene kalles fyrtårnsleger, fordi deres oppgave er å være på vakt når influensaen kommer. Ca. 35 leger deltar i overvåkingen. Vi tilstreber å ha fyrtårnsleger i alle landets fylker unntatt de vestnorske som dekkes av influensasenteret i Bergen. I tillegg deltar barneavdelingene ved seks sentralsykehus i i området rundt Oslofjorden.

Opplegget med influensaovervåkingen ved Avdeling for virologi, Folkehelse, er et prosjekt som foregår løpende hvert år. Planleggingen av influensaovervåkingen starter allerede før sommeren er over ved at det rettes en forespørsel til alle fyrtårnslegene om de ønsker å delta i overvåkingsarbeidet for kommende sesong.

Utstyr for prøvetaking gjøres ferdig i god tid før ventet sesong. Vanligvis sendes det ikke ut før medio november, men vi har i alle fall muligheten til å sende det ut på kort varsel, dersom vi får informasjon om influensatilfeller i Norge eller i våre naboland.

Utstyret som overvåkerne får tilsendt er gratis, og en enhet består av følgende deler:

- Virustransportmedium og to vanlige vattpensler. Vi ber om nese/hals penselprøve, fordi sjansene for å påvise virus i en slik kombinasjonsprøve sannsynligvis er større enn i isolert hals- eller neseprøve.
- Ytterbeholder i plast
- Konvolutt for innsending av prøven, ferdig adressert og frankert
- Spesialremisse for overvåkingsprosjektet
- Instruks for prøvetaking, oppbevaring og forsendelse.

Fyrtårnslegene får beskjed om at prøvene bare blir undersøkt for influensavirus, og at det for andre analyser må sendes egen prøve til det lokale mikrobiologiske laboratoriet. Vi presiserer også at prøvene bør tas så tidlig som mulig i akuttfasen av sykdommen (innen 3. sykdomsdag), og helst i løpet av de første 4-5 ukene av utbruddet.

Fyrtårnslegene og barneavdelingene får initialt henholdsvis 4 og 10 enheter utstyr. Vi har et kontrollsystem slik at vi kan finne ut når mer utstyr trengs og ettersende det uten at de må be om mer utstyr. For influensaovervåkingen har det ikke vært et absolutt krav at prøvene skal sendes nedkjølt. Det kan bli for komplisert, og det er bedre å få tilsendt prøver uten nedkjøling enn ingen prøver i det hele tatt.

Når sesongen er over, mottar alle fyrtårnslegene en rapport hvor sesongen kort blir beskrevet med henvisning til hvilke stammer som ble påvist, spesielt resultater av finanalyse ved World

Influenza Centre i London og relasjon til vaksinstammene. Vi legger også ved en oversikt over hvor mange prøver hver enkelt fyrtårnslege har sendt inn og antall positive isolater. Andelen positive prøver som beregnes kan variere fra sesong til sesong. Mens den vanligvis har vært 25-35%, var den noe lavere for sesongen 1998-99.

Organiseringen av influensaovervåkingen krever en betydelig innsats fra vår side, spesielt med hensyn til all informasjon og brev som skal sendes ut, samt utstyr som skal gjøres klart både til primærutsendelse og ettersendelse.

Det kan også være et problem å holde motivasjonen oppe hos fyrtårnslegene hvis sesongens utbrudd lar vente på seg. Vi følger jo hele tiden utviklingen i Europa og spesielt i Skandinavia, og vi kan derfor vente med å sende ut prøvetakingsutstyret til det kommer meldinger som indikerer at sesongens utbrudd er nær forestående. I løpet av høsten går det alltid en rekke andre respiratoriske infeksjoner.

Erfaringen viser at det er viktig at prøvetakings-utstyret for å isolere influensavirus sendes fyrtårnslegene samtidig med at epidemien kommer. Da er motivasjonen på topp.

Hvis vinterens utbrudd kommer senere enn forventet, informeres fyrtårnslegene pr. brev om situasjonen.

# **VIROLOGISK INFLUENSAOVERVÅKING I NORGE - WHO-KONTAKTARBEIDET - FORHOLDET TIL DE MEDISINSK-MIKROBIOLOGISKE LABORATORIENE**

**Olav Hungnes, Avdeling for virologi, Folkehelse/WHO influensasenter for SØ-, Midt- og N-Norge**

Det globale WHO-nettverket begynner med den enkelte pasients møte med helsevesenet og ender med formulering av influensavaksine for hele verden. Alle ledd i prosessen er betydelige, uten rapporter og prøver fra de tidlige leddene faller hele systemet. De medisinske mikrobiologiske laboratoriene er sentrale leverandører av virusstammer og rapporter om verifiserte influensa-infeksjoner.

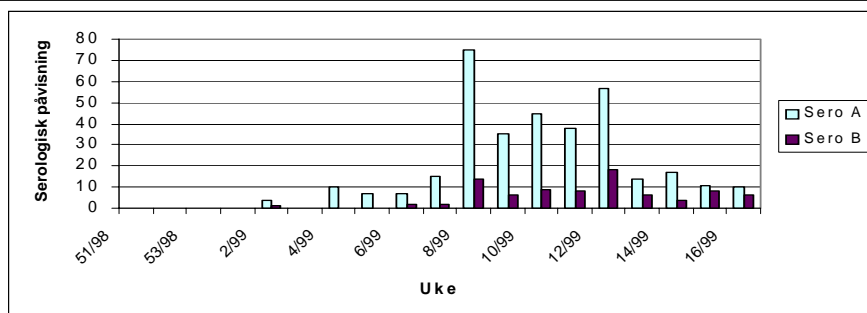
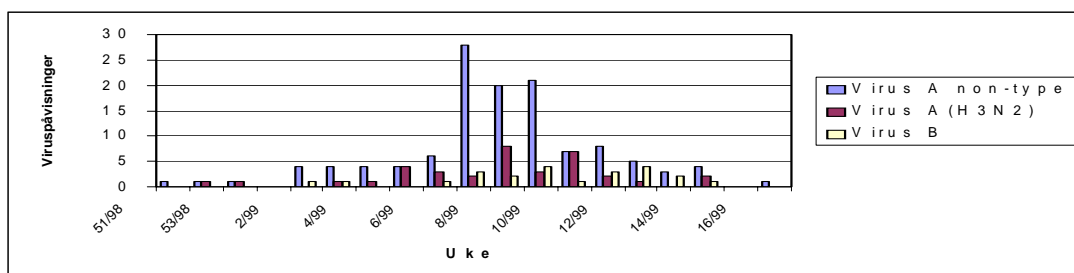
Overvåkingen gjør det mulig å informere helsevesen, myndigheter forøvrig, og publikum om forløpet av årets influensa-aktivitet. Det internasjonale nettverket - formalisert og personlig - gir forvarsel om hva vi har i vente, enten det er lav, begrenset aktivitet eller alvorligere epidemier. Oppdatert vaksine og testreagenser er også et resultat av den samlede globale overvåking.

Norske overvåkingsdata til WHO genereres på følgende måte:

- Ukentlige rapporter (i sesongen) om forekomst av sykdom. Slike data genereres i Norge gjennom Meldesystem for infeksjonssykdommer - MSIS.
- Ukentlige rapporter (i sesongen) om laboratorieverifiserte tilfeller. Landets mikrobiologiske laboratorier rapporterer ukentlig sine påvisninger til influensasenteret de sogner til, der opplysningene oppsummeres og rapporteres til WHO, til øvrige regionale overvåkingssystemer, til kolleger i andre land som også sender tilsvarende rapporter til oss, samt overvåkerne her hjemme.
- Rask innsendelse av virusstammer til WHO Collaborating Centres. De norske stammene fremskaffes ved at de laboratoriene som dyrker virus sender stammer til influensasentrene, og ved at det dyrkes fra prøver sendt inn gjennom det fyrårnsystemet. De fleste isolater blir karakterisert mhp. subtype i forbindelse med oversendelse.

I det følgende vil noe data fra siste sesongs influensaovervåking ved influensasenteret i Oslo bli brukt for å illustrere laboratorienes innsats.

## Rapporter om laboratorieverifisert influensa



Virus- og antistoffpåviste influensatilfeller rapportert gjennom sesongen 1998-99 til influensasenteret i Oslo.

De rapporterte influensapåvisningene denne sesongen samsvarer godt med forløpet av influensautbruddet observert i den kliniske overvåkingen, og innslaget av virustype/undertypen samsvarer med hva man ellers så i Nordvest-Europa. Det kan se ut til at tradisjonell viruspåvisning gir en viss underrapportering av influensavirus B (tabell).

	A	B	A:B
Viruspåvisning (dyrking/antigen)	158	23	7:1
RT-PCR	29	7	4:1
Serologisk påvisning	335	7	4:1

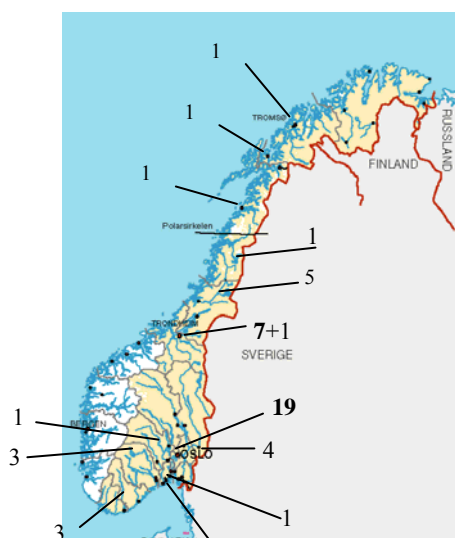
## Innsamling av influensavirus-isolater

### Geografisk fordeling

I løpet av siste sesong ble ca. 50 virusisolater sendt til influensasenteret i Oslo. Av disse ble 19 sendt til "vårt" WHO Collaborating Centre i London.

Antallet innsamlede stammer kan vel anses som adekvat.

Geografisk sett synes de folkerike regionene i Midt- og Sørøst-Norge bra dekket, vi kunne kanskje ha ønsket en bedre dekning mot nord og øst, der de senere års utvikling mot utstrakt kontakt med Russland kan gi nye epidemiologiske forhold som er forskjellig fra landet forøvrig. I den forbindelse er det gledelig at Regionssykehuset i Tromsø nå også dyrker influensavirus.



Influensavirus-isolater innsamlet sesongen 1998-99 ved influensasenteret i Oslo. Antallet stammer mottatt fra regionslaboratoriene i Trondheim og Oslo i fet skrift. De øvrige er isolater fra fyrtårnprøver.

## Utfordringer i framtida

- **Mindre dyrking - færre stammer?** Tilgjengeligheten av antiviraler og "point-of-care"-tester kan føre til at flere får sin influensavirus-diagnose uten at informasjonen tilflyter overvåkingen. Hvordan skal en tilstrekkelig og representativ tilgang på data og stammer sikres?
- **Kompatibilitet ved dyrking.** Ved dyrking av virus selekteres varianter med tropisme for det aktuelle dyrkingssubstratet, og det resulterende dyrkingsmaterialet kan være mindre egnet for videre dyrking på andre substrat. Det synes å være en tendens til "standardisering" på MDCK-celler i influensasammenheng.
- **Dekning** - bør det gjøres mer for å sikre en god geografisk dekning? Bør influensa overvåkes også utenom sesongen?
- **Zoonoser?** Bør det oppmuntres til større interesse for influensavirus hos dyr i Norge?



## INFLUENZA IMMUNSTATUS

**Liv Birkeland Flugsrud, Avdeling for virologi, Folkehelse/WHO influensasenter for SØ-, Midt- og N-Norge**

Kartlegging av befolkningens immunstatus mot influensa har vært utført årlig ved Statens institutt for folkehelse siden midten av 1970-årene, et opplegg som ble startet av Lars Haaheim da han var knyttet til daværende Virusavdeling B. Serumrester samles hver høst fra laboratorier landet over – årssamling – og blir undersøkt på innhold av antistoffer mot de influensavirus som forventes å skulle sirkulere den følgende vinter, altså de stammene som inngår i vaksinen for kommende sesong. Som kjent skjer det årlig endring av en eller flere av de sirkulerende influensastammene, men på grunn av kryssende immunitet kan slike antistoffpåvisninger også gi informasjon om utbredelsen av influensa den foregående sesong. Undersøkelsene har to aspekter, ett *retrospektivt* ved å bruke resultatene til å belyse foregående sesongs utbrudd, og ett *prospektivt* der resultatene skulle kunne gi informasjon om grad av beskyttelse i befolkningen mot det kommende utbrudd.

Antistoffbestemmelsene gjøres med hemagglutinasjonshemmingsreaksjon mot hver av de tre stammene i vaksinen, altså de aktuelle representantene for A(H3N2), for A(H1N1) og B. Antistofftiter på minst 40 i denne reaksjonen for A-typene, på 80 for B, svarer erfaringsmessig til at vedkommende er beskyttet mot vedkommende variant.

De statistiske analysene foregår i samarbeid mellom de to influensakontaktene for WHO i Oslo og Bergen. Resultatene presenteres i MSIS ukerapport foruten på det årlige WHO-møtet der kommende sesongs vaksinstammer utpekes på bakgrunn av epidemiologiske rapporter og oversikter fra medlemslandene.

Det skal her føyes til at disse årssamlingene også er tatt i bruk til undersøkelser med henblikk på andre antistoffer, for eksempel polio- og mesling-antistoff, undersøkelser som gjennom årene har gitt mye verdifull epidemiologisk informasjon.

Disse influensaundersøkelsene fikk en ”flying start” i forbindelse med at influensavirus A(H1N1) dukket opp igjen i 1977. Influenzavirus av denne subtypen hadde da ikke vært påvist siden 1957. Stammen A/USSR(H1N1) ble første gang påvist i Norge i februar 1978 etter at den var funnet i Kina i mai 1977. Men det ble bare gjort *to isolasjoner* av H1N1 sesongen 1977-78. Undersøkelse av *serumprøver* samlet inn sommer-høst 1978 forteller imidlertid en annen historie. Tabellen viser andel prøver fra 1978 med antistofftiter i HAI  $\geq 40$  (”seropositive”) sammenlignet med resultatene for serumprøver samlet høsten 1977:

**Prosent av prøver med antistofftiter i HAI  $\geq 40$  mot A/USSR/77(H1N1), us. i 1978**

Serum-prøver samlet år	Alder 0-24 år	Alder 25-59 år	Alder 60+	Alle aldre
1977	0	12	2	6
1978	17	19	2	15



Den seroepidemiologiske analysen viser at det i aldersgruppen 0-24 år var en sterk økning i andelen seropositive fra 1977 til 1978, til tross for at det nye viruset omtrent ikke ble påvist i selve influensasesongen. Den manglende viruspåvisningen kan i noen grad forklares ved at bare få leger hadde sendt inn prøver fra sine influensapasienter. Klinisk bedømt forekom det nok en del influensa, noe som fremgår blant annet fra avisnotiser om atskillig feber-sykdom blant skolebarn. Også meldingstallene til MSIS ukerapport viser at det var et middels stort influensautbrudd, men ikke så sterkt som svarende til den store andelen som ble antistoff-positive fra 1977 til 1978. Resultatene taler for at det kan ha forekommet mange *subkliniske tilfeller*. Flere andre land hadde lignende erfaringer.

Et nærmere bilde av hva disse undersøkelsene har gitt gjennom årene, kan man få av den følgende tabellen. Den viser forholdene mellom influensautbrudd og forekomst av antistoffer i befolkningen gjennom 5-6 år omkring 1990.

**INFLUENSAUTBRUDD GJENNOM SYV SESONGER: VIRUS PÅVIST UNDER UTBRUDDET, ANTALL KLINISK MELDTE TILFELLER (MSIS) OG ANTISTOFFPREVALENS I ÅRSSAMLINGENE**

Vinter	Virus påvist	Klinisk meldt	Serum fra høsten	% pos mot A(H3N2)	% pos mot B	% pos mot A(H1N1)
1987/88	B	50 000				
			1988			
1988/89	H3	92 000				
			1989			
1989/90	H3	97 000				
			1990	<u>30</u>	20	5
1990/91	B	86 000				
			1991	15	<u>42</u>	25
1991/92	H3	117 000				
			1992	<u>18</u>	13	
1992/93	B	60 000				
			1993	12	<u>32</u>	
1993/94	H3	122 000				

Det sees først at *antall klinisk meldte* er tydelig høyere ved utbrudd som skyldes A(H3N2) enn ved utbrudd med influensavirus B.

Når det gjelder *resultatene av antistoffanalysene*, skal det innledningsvis opplyses at ved sammenligning med frekvens av HAI-antistoffer i sera fra blodgivere, ble det ikke påvist signifikante forskjeller. Resultatene skulle således være egnet for denne type sero-epidemiologiske undersøkelser.

Ved *retrospektiv analyse* av frekvens av antistoffer påfølgende høst er andelen gjennomgående større for B-antistoff etter B-utbrudd – høsten 1991 og 1993, enn for A(H3N2)-antistoff etter A(H3N2)-utbrudd – høsten 1990 og 1992. Man bør være varsom med slik direkte sammenligning, blant annet fordi produksjonen av B-antigen avviker noe fra fremstillingen av A-antigenene. Men resultatene kunne tyde på at B-infeksjoner oftere er subkliniske og dermed gir mindre utslag på de kliniske meldingstallene, mens A(H3N2)-infeksjonene (nesten) alltid gir klinisk sykdom.

A(H1N1) er bare tatt med for 1990 og 1991. Til tross for at det vinteren 1990/91 ikke ble påvist infeksjoner med A(H1N1), er det en klar økning i andel med antistoff høsten 1991. Også her kan det muligens ha vært en ”subklinisk epidemi”.

De retrospektive analysene viser også (tallene ikke tatt med) at det – særlig for A(H3N2) – først og fremst er større barn og unge voksne som affiseres. For B er forskjellene i antistofffrekvensene mellom aldersgruppene mindre uttalt.

Når det gjelder muligheten for *prospektiv* vurdering av muligheten for utbrudd, kan tallene muligens gi en antydning om *sårbarhet for utbrudd* idet antistoffprevalens på 15% og mindre ikke har hindret utbrudd. Derimot er det atskillig usikrere å uttale seg om grad av *beskyttelse mot utbrudd*. Selv om antistoff påvises hos 40 – 50% av befolkningen, er det fortsatt minst en halvdel som er mottakelig mot den variant det er testet mot. Foruten et slikt grovt gjennomsnittstall for antistoffprevalens, er det trolig mange andre forhold som også kan være av betydning for hvorvidt det skal utvikle seg et større influensautbrudd, som for eksempel befolkningstetthet i de forskjellige regioner, lokal aldersfordeling og utbredelsen i andre deler av verden. Sentralt i de retrospektive analysene står sammenligning av antistoff-prevalens både før og etter et utbrudd, og at det inkluderes både ”utgående stammer” og ”nykomlinger” i analysene.

Hvor meget vi kan få ut av disse undersøkelsene avhenger selvfølgelig av hvor mye tid og arbeid vi vil satse på dem. Det gjelder både for selve laboratoriarbeidet, og også for analyse av resultatene. Årssamlingene er i hvert fall meget verdifulle for bruk i seroepidemiologi både ved influensa og andre infeksjoner.



# KLINISK OVERVÅKING AV INFLUENSA

**Bjørn G. Iversen, Seksjon for forebyggende infeksjonsmedisin, Folkehelse**

I perioden 1975 –1998 fikk Folkehelse gjennom MSIS (Meldingssystem for smittsomme sykdommer) hver uke meldt om antall tilfeller av «influensaliknende sykdom» fra omkring 2000 meldingsenheter over hele landet og gjennom hele året. Dette har vist seg unødvendig omfattende og et nytt system for overvåking av influensaliknende sykdom er derfor utviklet og har nå vært gjennomført i en sesong.

Formålet med overvåkingen av klinisk influensasykdom er å gi kunnskap om de årlige epidemienes begynnelse og slutt, den geografiske utbredelsen og om utbruddets størrelse.

Med hjemmel i meldingsforskriften til smittevernloven har Folkehelse i samarbeid med kommunelegen valgt ut 201 legekontorer til å sende melding ukentlig fra uke 40 om høsten til uke 20 om våren. Disse enhetene kalles **vaktårn** for å skille dem fra de tidligere meldingsenhetene og er geografisk fordelt med minst sju vaktårn i hvert fylke. Hver uke i meldingssesongen skal vaktårnene per post sende inn antall sikre og mistenkte tilfeller av influensaliknende sykdom og antall legekontakter i perioden.

Erfaringene etter den første sesongen er overveiende positive. Vaktårnsystemet oppfylder formålet. Artefakter i det tidligere systemet er nesten borte fordi influensaaktiviteten oppgis som en andel av konsultasjonene. Det er god samvariasjon med den virologiske overvåkingen. Oppslutningen fra vaktårnene er god. Et hovedproblem har vært en lunken interesse fra leverandørene av enkelte av datajournalssystemene, noe som har medført at enkelte vaktårn har hatt datatekniske problemer med å få de to tallene ut hver uke. De regionale forskjellene i størrelsen på influensaaktiviteten må utgreies nærmere.

Framover vil det være ønskelig med et tettere samarbeid med den virologiske overvåkingen blant annet ved at flest mulig av fyrtårnene også er vaktårn. Betydningen av overvåkingen av influensaliknende sykdom vil øke når de nye nevraminidasehemmerne får markedsføringstillatelse fordi et av kriteriene for å kunne forskrive disse medikamentene vil være at det er influensaaktivitet i området.

## Tekst fra lysark:

### Influensaovervåking prinsipper

- **Nasjonal overvåking**
- **Sykdomsovervåking**
- **Virologisk overvåking**
- **Seroepidemiologisk overvåking**
  - **Internasjonal overvåking**
- **WHO FluNet**

### Sykdomsovervåking

- **Informasjonskilder**
- **Primærleger (allmennhelsetjenesten)**
- **Spesialister (pediatere, akuttmottak i sykehus)**
- **Sykehusstatistikk (innleggelser)**
- **Nasjonal statistikk (årsaksspesifikk død)**
- **Fravær på skoler eller arbeidsplasser**

### Overvåking av influensaliknende sykdom

- **MSIS landsomfattende i 1975**
- **Influensaliknende sykdom en av mange diagnoser som skulle meldes summarisk**
- **Laboreriediagnostikk stadig viktigere**
- **Tidligere ca. 2000 meldingsenheter**
- **Omfattende evaluering av summarisk MSIS i 1997**

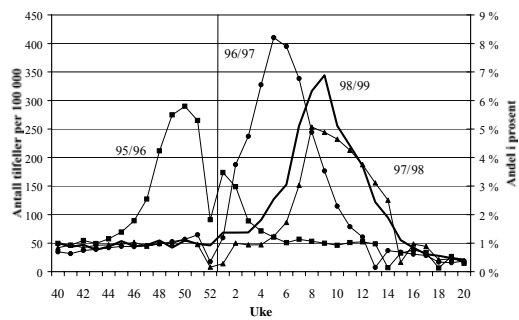
### Nytt vaktårnsystem fra høsten 98

- **Målsetting: Måle begynnelsen, slutten og størrelsen på utbruddet**
- **Modell fra bl.a. Danmark**
- **Sentinel-system (vaktårn) med 201 primær-legekontorer og legevakter (akuttmottak)**
- **Geografisk fordelt, melder fra uke 40 til uke 20**
- **Skal både melde antall tilfeller av influensa-liknende sykdom og antall konsultasjoner per uke**

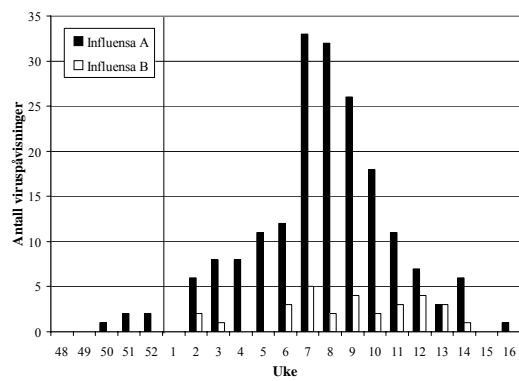
### Hva skal rapporteres

- **Alle sikre og mistenkte tilfeller av influensaliknende sykdom og antall legekontakter.**
- **Influensaliknende sykdom: Klare allmennsymptomer som akutt feber, hodepine og muskelverk, samt tørrhoste, men ikke enhver akutt luftveisinfeksjon. ICPC-koder: R80 og R801/R80.1. Ny legekontakt for samme tilfelle registreres på nytt.**
- **Legekontakt: Enhver kontakt mellom en pasient og en lege i samband med et helseproblem (konsultasjon, telefon-konsultasjon, enkel kontakt med eller uten fram møte og sykebesøk) hvor det foretas nedtegnelse i pasientens journal og diagnose settes.**

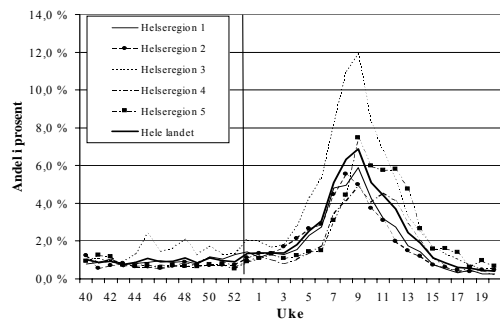
## Influsalliknende sykdom i Norge 95-99



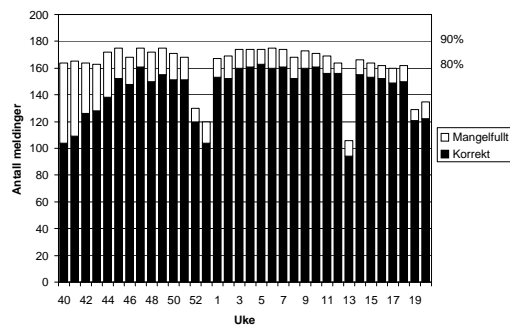
## Influsavirusovervåking 98/99



## Regionsfordeling av ILS 98/99



## Meldingsdekning 98/99



#### Vakttårn - erfaringer

- **3% (4/144) negative til å være vakttårn**
- **12% problemer med å få ut teller/nevner (tidligere spørreskjema: 21%)**
- **10% bruker >30 minutter på jobben**
  - **23% (5/22) av Infodoc-brukerne**
  - **12% (9/76) av Profdoc-brukerne**
- **10 meldingsenheter bedt om å bli skiftet ut**

#### Erfaringer - oppsummering

- **Rasjonelt system**
- **Oppfyller målsettingen**
- **Programleverandørene av datajournal-systemer til allmennpraksis kan bedre seg**
- **Viktig med tett samarbeid med annen influensaovervåking**

**OMTALE AV DET SVENSKE SYSTEMET FOR MELDING AV  
INFLUENSALIGNENDE SYKDOM**

**Annika Linde, Virusenheten, Smittskyddsinstitutet, Stockholm**

**The National Influenza Reference Centre  
Swedish Institute for Infectious Disease Control  
(SIIDC)**

**Annual Report  
September 1998-August 1999**

**Annika Linde, Gunilla Jonson, Maria Brytting, Britta Wahren  
Department of Virology**

**Karl Ekdahl, Malin Arneborn  
Department of Epidemiology**



## **Activities.**

- 1) Monitoring of influenza activity in Sweden**
- 2) Reports from SIIDC on influenza activity in Sweden**
- 3) Characterisation of influenza strains**
- 4) Data from the 1998-99 season**
- 5) Quality control of laboratory diagnosis of influenza**
- 6) Method Development and Research**

### **1) Monitoring of Influenza activity in Sweden:**

#### **1) Reports of absenteeism from child nurseries, schools, work places and P&I disease in nursery homes for the elderly:**

Sweden is divided into 22 counties with a County Medical Officer of Communicable Disease Control in each. At a non-statutory basis they collect information on absence from some child nurseries, schools and work places, and pneumonia and influenza disease (P&I) disease in nurseries from the elderly during the influenza season. Reporting counties, and the number of pupils/ employees reported on from each county are presented (table 1:1). Variations in the basis for the reports occur, due to e.g. holidays and unpredictable factors.

#### **1:2) Reports of laboratory verified influenza diagnoses:**

Influenza isolation is performed at five virus laboratories, placed in University Hospitals and at SIIDC. The laboratories are relatively evenly distributed with regard to the population in different areas. The laboratories also perform influenza serology, and antigen detection with immunofluorescence (IF). Another 8 microbiology laboratories diagnose influenza by IF assays. During the influenza season, the laboratories weekly report the number of influenza cases, diagnosed by antigen detection and/or virus isolation. Serology results are not included in these preliminary reports. All influenza diagnoses, accompanied by some patient information, are later reported together with other laboratory diagnoses in the non-statutory laboratory reports, sent to SIIDC roughly monthly from almost all Swedish laboratories. These reports also include serological diagnoses and patient data, and are thus more complete than the preliminary reports. However, the date for specimen arrival (or onset of disease in the patient) is not registered, and the reports are therefore less valuable for monitoring of the exact time for the influenza activity.

#### **1:3) Death rates:**

As soon as available, after the end of the main influenza season, information on the weekly death rate in Sweden is purchased from Statistics Sweden. Mean death rate for influenza-free weeks during the period 1993-98 has been calculated, and is used as reference for calculation of weekly excess mortality.

#### **1:4) Other types of input information from Sweden:**

During the season, departments of infectious diseases in five cities, the Stockholm County Health Care Information Centre and some other institutions are asked by telephone weekly for their estimation of the influenza activity.

The information above has been collected since the 1994-95 season. Mean values for absenteeism has been calculated for the seasons 1994-98, and is used as a reference in diagrams. Mean values of influenza-free weeks are not meaningful to calculate due to distinct yearly variation in baseline absenteeism, probably related to other factor than disease. These variations would have a too strong influence on the limited number of influenza-free weeks available during the four-year period.

### **2) Reports from SIIDC on the influenza activity in Sweden**

#### **2:1) The weekly report to the Swedish Collaborators:**

Each Friday, all influenza information collected during the week, including the WHO country reports, is condensed in a one page format. This page is sent by fax to the County Medical Officers of Communicable Disease Control, to all departments of infectious disease in Sweden, to microbiological laboratories, and to the national board of Health and Welfare. The information is also available on the SIIDC home-page ([www.smittskyddsinstitutet.se](http://www.smittskyddsinstitutet.se)).

#### **2:2) Other spread of information in Sweden:**

The media are constantly interested in influenza, and usually contact SIIDC to get information. In most instances those contacts result in correct and informative articles. The Institute has a monthly journal "Smittskydd", and during the influenza season reports on the situation are printed there, when appropriate. A summary of the activity during the season is printed towards the end of the summer, when all definitive data are available. In "Läkartidningen", the Journal of the Swedish Medical Society, an article on the rationale behind the recommendations for Influenza Vaccination was published in September 1999. An information day for the persons who are active in the surveillance system were arranged in October 1998.

#### **2:3) Reports to WHO and other National Influenza centres:**

Sweden reports to WHO via Flunet, and starts reporting when the first laboratory verified case occurs.

### **3) Characterisation of influenza strains**

Influenza strains are sent to SIIDC from the laboratories performing virus isolation. A few nasopharyngeal specimens for primary isolation are also received. Isolated virus strains are examined for the type and subtype of virus by HAI (hemagglutination inhibition; reagents sent by WHO) and IF with monoclonal antibodies (from Laboratories de Virologie, Lyon). For 20 strains, H sequencing was performed, and analysed a SIIDC. For further characterisation with ferret sera, representative strains were sent to Mill Hill in London.

### **4) Data from the 1998-1999 season**

#### **4:1) Summary of the influenza activity in Sweden:**

Influenza A/H3N2 was most prevalent throughout the season, though there were sporadic B diagnoses, especially in the beginning and the end of the season. Influenza A Sydney/5/97-like strains dominated among 22 A/H3 strains characterised at Mill Hill.

**Total number of laboratory diagnoses (fig 4:2):**

Influenza A: 1822 ( $\approx 2/10^5$  inhabitants)

Influenza B: 150

One of the two first laboratory confirmed cases of influenza occurred in Linköping, 150 km south of Stockholm in week 46 1998. It was a case of influenza B, and thereafter sporadic B-cases were diagnosed in the southern part of the country. In the same week (46) influenza A was found in Gävle, 100 km north of Stockholm. In the beginning of December, the number of influenza A diagnoses increased, and small epidemics were noted in cities around lake Vänern. During Christmas there was a tendency towards declining activity, but from the middle of February the activity was widespread in most parts of Sweden, and the impact on absenteeism from workplaces was high while the schoolchildren and children in nurseries were relatively saved (fig 4:3a-d). Compared to the mean corresponding influenza-free weeks, there was an excess mortality of 3200 persons from weeks 48 1998 to week 14 1999 (fig 4:4). In relation to number of laboratory diagnoses the excess mortality was lower than in 1993-94, when we last had an intense H3 season, hitting the adult population. An increasing vaccination of risk-groups and more specimens sent to the laboratories for diagnosis might be explanations.

**Tables and diagrams:**

4:1) Strains sent to SIIDC, and results from Mill Hill from the 1998-99 season.

4:2) Diagram of the weekly reports of virus isolation and antigen detection.

4:3a-d) Diagrams of weekly reports of absenteeism and pneumonia&influenza (P&I); adjusted means for 1994-98; and raw data 98-99

4:4) Diagram of the weekly number of deaths in Sweden from week 40 1993 to week 18 1999 and the number of laboratory verified influenza cases during the same periods. (The peak of mortality in September 1994 reflects the Estonia ferry catastrophe). Adjusted mean for corresponding influenza-free weeks is also included.

4:5) The phylogenetic tree of the amino acid sequences of H of 17 H3N2 strains isolated in different places in Sweden.

**5) Quality control of laboratory diagnosis of influenza.**

In collaboration with the organisation for External Quality Assessment in Sweden (Equalis), panels for quality control of antigen detection with IF, have been sent to laboratories performing this types of diagnostic assays in Sweden. The influenza panel for IF consisted of 8 different acetone fixed preparations of the influenza strains expected for the season, grown in MDCK cells, and mixed with different proportions of uninfected cells from a lymphoblastoid cell line. Most of the 14 participating laboratories answered the panel correctly (107/112 analyses).

**6) Method development and research**

**6:1) Evaluation of serological methods for influenza diagnosis.**

Three sequential samples from 36 patients, of which 33 had laboratory verified influenza (antigen, virus or viral genome found in nasopharyngeal secretions) were sent to laboratories using different serological techniques for diagnosis of influenza. CF test, HAI and three different kinds of EIA (whole virus antigen, allowing for typing of flu A and B and H subtyping of flu A, disrupted whole virus antigen giving a type-specific EIA and recombinant antigens) were compared. The preliminary evaluation indicates that the recombinant EIA has the highest sensitivity, but the study also indicates that most serological assays have a low sensitivity and that demonstration of virus, antigen or DNA are better methods for diagnosis of influenza. The serological reactivity will also be evaluated in a micro-NT (see 6:3)

**6:2) DNA vaccines for influenza:** It has been shown by us and others that the vaccination of mice with plasmids containing influenza cDNA under the control of CMV promoter may lead to protection from disease, viral shedding and weight loss. We have now produced a plasmid handle, into which new hemagglutinin sequences can be inserted by homologous recombination. The vaccine seems broadly protective in mice, but in ferret experiments no protection against febrile disease was shown. However, neither did conventional protein vaccine protect the ferrets, and new experiments with ferrets and monkeys are now performed in collaboration with Ab Osterhaus, Netherlands

**6:3) Micro-NT and antiviral assay:**

A micro-neutralisation assay based on an in situ EIA detection system for determination of neutralising antiviral antibodies and antiviral resistance has been developed.

**6:4) Sentinel system:**

Work is ongoing for creation of a true sentinel system for influenza surveillance, with general practitioners reporting the proportion of patients with influenza-like disease. The reporting will start in the autumn 1999.

**Contact person for the WHO influenza centre:**

Annika Linde

Dept. of Virology

Swedish Institute for Infectious Disease Control

SE-171 82 Solna

Sweden

Tel: +46 8 457 2652

Fax: +46 8 33 72 72

e-mail: [Annika.Linde@smi.ki.se](mailto:Annika.Linde@smi.ki.se)

**SIIDC home page**

[www.smittskyddsinstitutet.se](http://www.smittskyddsinstitutet.se)

**Table 1:1.** Counties in Sweden (from north to south and west to east) reporting absenteeism or influenza-like disease in elderly at nursing homes; approximate number of persons/days forming the basis for the reports from 1998-99 presented in fig 4.

<b>County</b>	<b>Children at day nurseries (days)</b>	<b>Schoolchildren</b>	<b>Workers</b>	<b>Elderly at nurseries (P&amp;I)</b>
BD	1300	600	300	210
AC	100	500	2200	60
Z	800	100	400	60
X	5700	8100	-	850
W	1900	3600	10500	750
S	3700	700	700	250
T	900	400	1500	150
U	1000	3000	-	40
C	3400	900	1200	220
AB	-	-	2600	-
D	800	500	600	300
OPR	700	3100	16800	450
N	-	-	4300	-
G	-	600	3000	120
H	600	1000	500	-
K	600	1000	4000	-
M	1700	2600	7000	200
<b>Totalt</b>	<b>23200</b>	<b>22000</b>	<b>52900</b>	<b>3660</b>

# KOMMENTARER TIL PANDEMIBEREDSKAPSPLANEN, SPESIELT MED HENBLIKK PÅ OPPGAVENE FOR DE MEDISINSKE MIKROBIOLOGISKE LABORATORIENE

**Inger Sofie Samdal Vik, Mikrobiologisk avdeling, Fylkessykehuset, Molde**

Beredskapsplan for pandemisk influensa er utarbeidet av Statens helsetilsyn, Statens Institutt for Folkehelse og en arbeidsgruppe fra fagmiljøene etter oppdrag fra Sosial og Helsedepartementet og anbefalinger fra WHO.

Arbeidsgruppen har vært ledet av ass. helsedirektør Lars Hanssen, og sekretariatet for arbeidsgruppen har vært ved Statens Institutt for Folkehelse under ledelse av Ivar Ørstavik. Både region- og fylkeslaboratoriene har vært representert.

Målsettingen med planen er å legge til rette for at man under en influensaepidemi kan

- Redusere sykkelighet og død
- Pleie og behandle syke og døende hjemme og på sykehus
- Opprettholde nødvendige tjenester
- Gi fortløpende, nødvendig informasjon til helsevesenet, det offentlige, publikum og massemediene.

Den foreliggende beredskapsplan legger til rette for en rask og samordnet reaksjon når det synes mulig at en influensa epidemi kan utvikle seg.

Rollene til de ulike institusjonene i den sentrale helseforvaltningen, i helsevesenet forøvrig og til enkelte andre under de forskjellige faser av pandemiutviklingen er beskrevet. Influensapandemiplanen legger opp til å samordne viktige beslutninger og informasjon under en pandemi.

Influensapandemiplanen anbefaler så langt som mulig at eksisterende kriseplaner, nettverk og organisasjoner brukes.

I tillegg kommer:

- Opprettelse av en rådgivende nasjonal komitee for beredskap mot pandemisk influensa.
- Opprettelse av et beredskapslager av amantadin.
- Gjennom avtaler med myndigheter i andre land sikre leveranse av influensavaksine under en pandemi.
- Foreta prioritering av hvem som først skal tilbys vaksine – som det forventes begrenset tilgang av ved en pandemi.

Det er foreslått at Sosial og Helsedepartementet oppnevner Pandemikomiteen. Denne skal være rådgivende organ for departementet og andre i forbindelse med pandemi. Ved **truende pandemi** skal komiteen gi oppdaterte anbefalinger. **Under** en pandemi skal komiteen møtes ved behov og komme med oppdaterte anbefalinger.

Det er foreslått følgende sammensetning av Pandemikomiteen:  
Helsedirektøren eller dennes representant skal være komiteens leder.

Komiteens sekretariat legges til Folkehelse.

Statens helsetilsyn og Folkehelse har hver 2 representanter, og disse skal fungere som et arbeidsutvalg. De utgjør også Samarbeidsutvalget som skal ivareta god kommunikasjon mellom de to etater.

Videre er fylkeshelsetjenesten og kommunehelsetjenesten representert. Blant disse skal representanter for medisinske mikrobiologiske laboratorier på fylkes og regionnivå, infeksjonsmedisinske avdelinger og universitetene være representert. Alle helseregioner skal være representert – en person kan representere flere nivå.

Dette er det viktigste for oss er på plass. I tillegg kommer en rekke store organisasjoner og etater.

En representant for hvert av de to WHO-nasjonale influensasentra i Norge skal også være med.

Så langt om selve organiseringen.

Jeg vil så gå over til å nevne kun de tiltak som kan få betydning for arbeidet ved de mikrobiologiske laboratorier. Den som vil studere planen i helhet kan gjøre det selv. Jeg har gått igjennom hele planen og plukket ut det som kan få direkte virkning på vår arbeidssituasjon.

Helsetilsynet kan med hjemmel i Smittevernlovens § 3 –7 pålegge et laboratorium eller en institusjon å utføre kartleggingsundersøkelser når det er påkrevd av hensyn til smittevernet.

**STATENS INSTITUTT FOR FOLKEHELSE HAR VIKTIGE OPPGAVER I INFLUENSABEREDSKAPEN. FORUTEN OVERVÅKINGSOPPGAVE SKAL DE BISTÅ LANDETS MIKROBIOLOGISKE LABORATORIER I LABORATORIEDIAGNOSTIKK AV INFLUENSAVIRUS. DE SKAL OGSÅ SIKRE TILGANG AV NYE STAMMER FRA WHO FOR FREMSTILLING AV DIAGNOSTISKE REAGENS. I SAMARBEID MED WHO` S INFLUENSASENTRA SKAL DE SIKRE TILGANG PÅ REAGENSER FOR SPESIALDIAGNOSTIKK, DELTA I INNSAMLING OG KARAKTERISERING AV INFLUENSASTAMMER OG UTFØRE IMMUNITETSUNDERSØKELSE SLIK DE HAR GJORT TIL NÅ.**

Det er viktig for de mikrobiologiske laboratoriene at Folkehelse skal spille en sentral rolle og bistår i diagnostikken, og sørge for framstilling av diagnostiske reagenser.

Fylkeskommunenes rolle er knyttet til spesialisthelsetjenesten. Under en pandemi vil spesialisthelsetjenesten i infeksjonsmedisin og medisinsk mikrobiologi spille en særlig viktig rolle. Det blir et stort antall pasienter og også prøver.

Vi må regne med mye prøver fra sykehus og primærhelsetjeneste. Ikke bare for å drive diagnostikk av influensa, men kanskje like viktig diagnostikk av komplikasjoner. Det kan bli en betydelig økning i prøver fra for eksempel luftveiene til bakteriologisk undersøkelse og resistensbestemmelser.

Infeksjonsmedisinerne og mikrobiologene er i planen pålagt rådgivningsfunksjon for fylkes- og kommunehelsetjenesten i undersøkelse og behandling av influensa og dens

komplikasjoner. Regionsykehusene skal i tillegg til fylkessykehusoppgavene sine bistå sykehusene i regionen etter vanlige retningslinjer.

Det skal utarbeides beredskapsplaner i fylkene som sikrer pasientbehandling og tilgang til mikrobiologiske tjenester. Det er viktig at vi passer på at ikke mikrobiologien blir uteglemt her.

Pandemien er inndelt i forskjellige faser.

Det er hensiktsmessig for planleggingen å inndelegge utviklingen av en influensapandemi i seks faser:

Fase 0, nivå 0:	Interpandemisk periode
- nivå 1:	Ny subtype av virus påvist hos mennesker
- nivå 2:	Bekreftet infeksjon hos flere mennesker
- nivå 3:	Smitte mellom mennesker bekreftet
<b>Fase 1</b>	<b>Pandemi bekreftet i et annet land enn Norge</b>
Fase 2	Pandemi bekreftet i Norge
Fase 3	Første pandemibølge over i Norge
Fase 4	Andre og følgende pandemibølger i Norge
Fase 5	Postpandemisk periode (tilbake til vanlig influensaføremst)

Disse fasene går over i hverandre og det kan ”hoppes over” faser. Det kan ta ½ - 1 år fra fase 0 – 2, men det kan ikke sies sikkert. Dette er viktig for vaksineproduksjon, og for forberedelsene til diagnostikk og overvåkning.

De forskjellige etaters oppgaver er i planen angitt etter hvilken fase en er i.

Statens Institutt for Folkehelse har en viktig rolle i å bekrefte og avkrefte pandemi i Norge, og de skal også sende ut informasjon til fagmiljøene.

**Først i fase 0 nivå 3, når smitte mellom mennesker er bekreftet**, blir laboratoriene for øvrig involvert. Folkehelse skal da vurdere å iverksette ukentlig rapportering av resultater av klinisk og virologisk overvåkning av influensa og **i samarbeid med landets medisinske mikrobiologiske laboratorier øke den diagnostiske beredskap** for influensavirus og andre aktuelle infeksjoner ved pandemi.

Dette må vel i praksis bety at en skaffer seg nok reagenser og utstyr og vurderer om en har nok ressurser til å takle en pandemi, for eksempel nok personale.

I fase 1 – det vil si når pandemi er bekreftet i annet land enn Norge kan helsetilsynet vurdere å pålegge laboratoriene kartleggingsus. iflg. smittevernloven § 3 – 7. Dette blir viktig i prioriteringen av hvem som skal ha vaksine. Denne prioriteringen er politisk.

Folkehelse vil da **iverksette** ukentlig rapportering av resultater, klinisk og virologisk av influensa-overvåkingen.

Fylkeskommunen skal i fase 1 søke gjennomført flere virologiske undersøkelser enn vanlig av pasienter som har influensalignende symptomer.



Dette innebærer først og fremst at det taes flere prøver, og så at laboratoriene er mer aktive både for å anbefale prøver og å undersøke innkomne prøver på influensa.

Det er viktig at det blir gitt informasjon til primærhelsetjenesten. Det er litt uklart hvem som skal initiere dette selv om det er omtalt i planen.

I fase 2 når pandemi er bekreftet i Norge skal fylkeskommunen sikre diagnostikk, forebygging, behandling og pleie i henhold til egne planer.

Dette betyr at fylkene må lage egne planer, og at fylkeslaboratoriene må ha egne planer for hvordan aktiviteten skal være under en pandemi.

Folkehelse skal i fase 2 gi økt bistand til regionen og fylkeslaboratoriene til virologisk diagnostikk og til økt bakteriologisk overvåkning – herunder overvåking av antibiotikaresistens.

I fase 3 og 4 skal en gjøre som i fase 2 hvis ikke fase 2 har gitt grunnlag for revisjon.

Fase 5 – postpandemisk periode – da bør en revurdere beredskapsplanene med bakgrunn i erfaringer fra pandemien.

Så langt hva beredskapsplanen sier om våre oppgaver.

Hvordan kan vi greie disse oppgavene? Planen tror jeg vil hjelpe oss til å be om nødvendige ressurser for å møte en stor epidemi eller pandemi.

Vi bør komme fram til enighet om valg av metoder for epidemiologiske studier og diagnostikk.

Enighet/anbefalinger om dette vil kunne styrke laboratoriene i å be om nødvendige ressurser.

Ved en pandemi vil det bli behov for flere diagnostiske undersøkelser enn ved utbrudd i interpandemiske perioder, og ev. å ta i bruk metoder som ikke har vært i rutinemessig bruk. Det vil også være behov for spesielle tiltak for å beskytte laboratoriepersonell mot smitte under arbeid.

Det økte antall pasienter fører til flere prøver, men også bruk av antivirale midler kan kreve flere undersøkelser.

Det kan bli aktuelt å ta i bruk undersøkelsesmetoder som ikke er i rutinemessig bruk også i denne sammenheng.

Akkurat dette punktet kan være noe bekymringsfullt hvis pandemien kommer brått på. Erfaringer med innføring av nye metoder tilsier denne bekymring.

## **TIL PANDEMIPLANEN ER DET KOBLET EN REKKE VEDLEGG.**

Vedlegg I: Epidemiologi og terminologi

Vedlegg II: Overvåkning av influensa.

Vedlegg III: Diagnostiske virologiske metoder.

Vedlegg IV: Behandling og komplikasjoner

Vedlegg V: Influensavaksiner

Og vedlegg VI er Bibliografi.

Det er ikke tid her til å gå inn i alle – de kan leses, men jeg vil kommentere vedlegg III og IV.

Vedlegg III omhandler diagnostiske/virologiske metoder. De metodene som nevnes er dyrking, forskjellige metoder for antigenpåvisning, genteknologiske metoder og antistoffundersøkelser.

Av de metodene som nevnes er immunfluorescens for antigenpåvisning og KBR for antistoffpåvisning mest utbredt. Dyrking og RT-PCR utføres ved regionlaboratoriene.

Det bør diskuteres hvilke metoder som bør tas i bruk ved fylkeslaboratoriene, og om det ikke er mest hensiktsmessig å legge om diagnostikken allerede i en interpandemisk fase. Når pandemien er nær forestående eller over oss har vi nok å tenke på.

Et valg av annen metode - for eksempel RT-PCR krever for de fleste kanskje bygningsmessige forandringer og mer personell, og krever tid før det kan iverksettes. Å basere antigenpåvisning på immunfluorescens under en pandemi vil kreve svært mye personale - og disse må være trent i fluorescensmikroskopi - det krever tid til opplæring. Hvilket inneslutningsnivå i laboratoriet bør prøvene behandles under ? Dette må en bli enig om - sannsynligvis vil også det kunne kreve ombygginger.

Vedlegg IV omhandler behandling og komplikasjoner. Ca 10 % får alvorlige komplikasjoner fra nedre luftveier. Ved pneumoni anbefales at en starter med fenoxymetylpenicillin og revurderer diagnose og behandling etter 24 timer.

Det anbefales prøver fra luftveiene og blodkultur til dyrkning – ideelt sett også mikroskopi av ekspektorat. Staph aureus kan gi alvorlig pneumoni ved pandemi. Alvorlig utvikling krever behandling med Cefuroxime, Kloxacillin eller Dicloxacillin.

En må sørge for å ha det en trenger av medier og resistenstabletter ved en pandemi. Burde en ha et beredskapslager sentralt – eller må hver lab. sørge for dette ?

Det er jo vanskelig å forutsi **når** pandemien kommer og holdbarheten er begrenset, derfor kan dette bli kostbart.

Imidlertid er det på den bakteriologiske siden metoder som er i rutinemessig bruk. Der jeg ser for meg et kapasitetsproblem er blodkulturdiagnostikk. De fleste har begrenset plass i blodkulturskapene siden alle nå har automatiske blodkultursystem. En bør også her tenke igjennom alternativ.

### **Konklusjon.**

Pandemiplanen medfører viktige oppgaver for de mikrobiologiske laboratoriene.

Det er viktig at lederne av de mikrobiologiske laboratoriene passer på at fylkesplanene tar hensyn til dette, og hvert fylkeslaboratorium bør ha sin interne ”plan” for hvordan en pandemi skal takles, inkludert hvordan en skal sikre seg nok reagenser og medier til både virologiske og bakteriologiske undersøkelser. En må være forberedt på å bli pålagt kartleggingsundersøkelser.

Det er viktig at en har adekvate diagnostiske metoder ”oppegående” og at laboratoriet bygningsmessig er forberedt på å takle en pandemi. Det er også viktig med nok trent personale.

# **NYE METODER FOR FREMSTILLING AV INFLUENSAVAKSINE. HVORDAN VIL DE INFLUERE PÅ NORSK EGENPRODUKSJON?**

**Hanne Nøkleby, Avdeling for vaksine, Folkehelse**

Både nye typer av influensavaksine og nye produksjonsmåter for tradisjonell vaksine kan ventes i løpet av de nærmeste årene. Aktuelle nyheter er nasal vaksine (både levende og inaktivert), tradisjonell vaksine produsert i cellekultur og nukleinsyrevaksine. Dette gjør at norsk egenproduksjon må vurderes på nytt. Vi mangler kompetanse på aktuelle produksjonsteknikker. Dertil kan det komme problemer knyttet til rettighetsspørsmål (patenter) og dokumentasjonskrav (mulig for oss å oppfylle for helt nye produkter?). Hvis det besluttes at nasjonal produksjon bør opprettholdes, kan disse problemene løses ved at det inngås lisensavtale med en etablert produsent, men det har hittil vært vurdert som lite ønskelig i forhold til Folkehelsas profil og øvrige aktiviteter. Behovet må også vurderes: hvis nye produksjonsmetoder vil gjøre det lettere for de store produsentene å tilpasse produksjonen til markedet (kortere produksjonstid, større volum ved behov), kan beredskapsaspektet falle bort som begrunnelse for norsk produksjon.

Nye produksjonsmetoder innebærer at norsk egenproduksjon må vurderes på nytt rent praktisk, men ikke minst fra en overordnet, politisk vinkel.

Tekst fra lysark:

## **Nye produksjonsmetoder / vaksinetypen**

- produksjon av ”tradisjonell vaksine” i cellekultur
- nasale vaksiner
  - levende
  - inaktivert
- ”rekombinantvaksiner”
- nukleinsyrevaksine

## **Vaksineproduksjon i cellekultur**

- egg ikke lenger begrensende faktor
- kortere produksjonstid?

## **Levende nasal vaksine**

- kuldeadapterte ”reassortants” dyrkes som andre virus til vaksinebruk
- vanskelig å si hvilken rolle vaksinen vil få

## **Inaktivert nasal vaksine**

- forsøk pågår flere steder (inkl. Folkehelse)
- dyrkes som andre virus til vaksinebruk
- krever nye adjuvans

### **Rekombinantvaksiner**

- fremstilling av rene antigener i gjærceller e.a.
- hvis det fungerer: lett å produsere mye på kort tid
- behov for nye adjuvans for å få tilstrekkelig effekt

### **Nukleinsyrevaksiner**

- mulighet for vaksiner med bredere spesifisitet
- lett å lage mye hvis / når man kommer så langt
- spennende resultater i dyr
- ikke så lett i mennesker
- langt igjen til godkjenning

### **Nye produksjonsmetoder vil kreve revurdering av egenproduksjon**

- **helt nye teknikker**
- **produksjonsmåter og adjuvans patentert**
- kan løses gjennom lisensavtaler
- forenlig med Folkehelsas profil?
- Er produsentene interessert?
- **egenproduksjon som beredskap mindre aktuelt**

## DELTAGERE

Afset, Jan Egil, Avdeling for mikrobiologi, Regionsykehuset i Trondheim  
Berdal, Bjørn Peter, Forsvarets mikrobiologiske laboratorium, Oslo  
Bruu, Anne-Lise, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Degré, Miklos, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet, Oslo  
Flugsrud, Liv B., Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Gutteberg, Tore J., Mikrobiologisk avdeling, Regionsykehuset i Tromsø  
Harr, Elisabeth, Mikrobiologisk avdeling, Rogaland sentralsykehus, Stavanger  
Haukenes, Gunnar, UiB, Virussenteret, Høyteknologisenteret, Bergen  
Hjetland, Reidar, Mikrobiologisk avdeling, Sentralsykehuset i Sogn & Fjordane, Førde  
Hoddevik, Gunnar M., Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Holter, Ellen, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet, Oslo  
Hungnes, Olav, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Haaheim, Lars, UiB, Molekylærbiologisk institutt, Høyteknologisenteret, Bergen  
Iversen, Bjørn, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Jenum, Pål, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Linde, Annika, Smittskyddsinstituttet (SMI), Stockholm, Sverige  
Luthala, Marko, Mikrobiologisk laboratorium, Nordland Sentralsykehus, Bodø  
Müller, Fredrik, Mikrobiologisk seksjon, sentrallaboratoriet, Bærum  
Myrmel, Helge, Mikrobiologisk avdeling, Haukeland sykehus, Bergen  
Nordbø, Svein Arne, Avdeling for mikrobiologi, Regionsykehuset i Trondheim  
Noraas, Sølvi, Mikrobiologisk avdeling, Vest-Agder sentralsykehus, Kristiansand  
Nøkleby, Hanne, Avdeling for vaksine, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Omland, Tov, E.-M og T. Omlands laboratorium for medisinsk mikrobiologi, Ski  
Ragnhildstveit, Eivind, Mikrobiologisk avdeling, Sykehuset Østfold, Fredrikstad  
Samdal, Helvi Holm, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Sandnes, Rolf Arne, Lillehammer mikrobiologiske lab., Fylkessykehuset, Lillehammer  
Scheel, Olaf, Mikrobiologisk avdeling, Buskerud sentralsykehus, Drammen  
Schøyen, Rolf, Mikrobiologisk laboratorium, Vestfold Sentralsykehus, Tønsberg  
Skar, Anne Grete, Mikrobiologisk avdeling, Ullevål sykehus, Oslo  
Størvold, Gunnar, Mikrobiologisk avdeling, Ullevål sykehus, Oslo  
Tjade, Trygve, Mikrobiologisk avdeling, Sentralsykehuset i Akershus, Nordbyhagen  
Tveten, Yngvar, Telelab a/s, Laboratorium for medisinsk mikrobiologi, Gulset, Skien  
Vik, Inger Sofie Samdal, Mikrobiologisk laboratorium, Fylkessjukehuset, Molde  
Ørstavik, Ivar, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo

## PROGRAM

09.30-09.32 Inger Sofie Samdal Vik, referansegruppens leder, ønsker velkommen  
09.32-09.35 Kort innledning med programoversikt ved Liv Birkeland Flugsrud

### **Diagnostikk ved influensa. Møteleder: Svein Arne Nordbø med Rolf Schøyen som bisitter.**

09.35-09.40 Introduksjon ved møteleder

09.40-10.05 (20+5') Lars Haaheim: Influensavirus

10.05-10.25 (15+5') Anne-Lise Bruu: Dyrkingsmetoder for påvisning av influensavirus

10.25-10.45 (15+5') Gunnar Størvold: IF og EIA for påvisning av influensavirus

10.45-10.55 (10') PAUSE

10.55-11.15 (15+5') Olav Hungnes: RT-PCR for påvisning av influensavirus

11.15-11.35 (15+5') Trygve Tjade Serologiske metoder ved påvisning av influensainfeksjon

11.35-12.00 (20+5') Annika Linde, SMI Metoder for påvisning av influensainfeksjon som anvendes i Sverige. Utviklingen de siste år; hva gir IF?

12.00-12.35 (35') Diskusjon. Oppsummering og anbefalinger ved møteleder

12.35-13.15 Lunsj

### **Overvåking og pandemiberedskap. Møteleder: Ivar Ørstavik med Helge Myrmel som bisitter**

13.15-13.20 Introduksjon ved møteleder

13.20-13.45 (20+5') Lars Haaheim: WHO-nettverket for overvåking av influensa

13.45-14.10 (20+5') Anne-Lise Bruu og Olav Hungnes Virologisk influensaovervåking i Norge; fyrtårnsystemet og WHO-kontaktarbeidet – relasjonen til de medisinsk-mikrobiologiske laboratoriene

14.10-14.20 (5+5') Liv Birkeland Flugsrud Influenta-immunstatusundersøkelser

14.20-14.40 (15+5') Bjørn Iversen: Klinisk overvåking av influensa

14.40-14.50 (10') PAUSE

14.50-15.15 (20+5') Annika Linde, SMI: Omtale av det svenske systemet for melding av influensalignende sykdom

15.15-15.40 (25') Inger Sofie Samdal Vik Kommentarer til pandemiberedskapsplanen, spesielt med henblikk på oppgavene for de medisinsk-mikrobiol. lab.

15.40-16.00 (15+5') Hanne Nøkleby: Nye metoder for fremstilling av influensa-vaksine. Hvordan vil de influere på norsk egenproduksjon?

16.00-16.45 (45') Diskusjon. Oppsummering og anbefalinger ved møteleder