

Utredning om nasjonalt overvåkingssystem for virusresistens

Rapport fra arbeidsgruppe

Rapport 2010:1
Nasjonalt folkehelseinstitutt

Tittel:
Utredning om nasjonalt overvåkingssystem for virusresistens
Rapport fra arbeidsgruppe

Bidragstere:
Birgitta Åsjö, Haukeland Universitetssykehus, (leder)
Inger Sofie Samdal Vik, Folkehelseinstituttet
Susanne Gjeruldsen Dudman, Folkehelseinstituttet
Halvor Rollag, Rikshospitalet
Vidar Ormaasen, Ullevål Universitetssykehus
Mona Holberg-Petersen, Ullevål Universitetssykehus
Tore Jarl Gutteberg, Universitetssykehuset Nord-Norge
Andreas Christensen, St Olavs Hospital, Universitetssykehuset i Trondheim

Utgitt av Nasjonalt folkehelseinstitutt
Postboks 4404 Nydalen
0403 Oslo
Februar 2010
Tel: +47-21 07 70 00
E-mail: folkehelseinstituttet@fhi.no
www.fhi.no

Bestilling:
E-post: publikasjon@fhi.no
Telefon: +47-21 07 82 00
Telefaks: +47-21 07 81 05

Design:
Per Kristian Svendsen

Layout:
Grete Søimer

Forsidefoto:
Keith D Designs

Trykk:
Nordberg Trykk AS

Opplag:
500

ISSN: 1503-1403
ISBN: 978-82-8082-385-4 trykt utgave
ISBN: 978-82-8082-386-1 elektronisk utgave

Forord

I løpet av de siste årene har forbruket av antivirale midler økt betydelig, og et stadig økende antall antivirale midler har blitt registrert i Norge. Denne utviklingen har medført økt fare for resistensutvikling, spesielt hos pasienter der det kreves langvarig behandling. Det har også vist seg at flere typer resistente virus nå har bevart evnen til å spre seg i befolkningen.

I 2006 ble det etablert et system for overvåking av resistens hos HIV, men det har vist seg at det i betydelig grad utvikles resistens overfor flere virus, f.eks influensavirus og hepatitt B-virus.

Helse- og omsorgsdepartementet har gjennom "Nasjonal strategi for forebygging av infeksjoner i helsetjenesten og antibiotikaresistens (2008-2012)" fremmet ønske om at det skal utarbeides en plan for et virusresistensovervåkingsystem. Folkehelseinstituttet fikk ansvar for å gjennomføre dette. Det ble nedsatt en gruppe med representanter fra alle laboratoriene som utfører virusresistensundersøkelser 15. april 2009. Gruppen ble bedt om å utrede hvilke virus som skulle overvåkes og hvilke metoder som skulle brukes. Utredningen skulle også beskrive hvordan dataene skulle innsamles og lagres og hvordan arbeidet skulle organiseres. Juridiske problemstillinger som konsesjonskrav og behov for forskriftsendringer skulle utredes. Ressursbehovet skulle også vurderes.

Arbeidsgruppen har vært ledet av Birgitta Åsjø, Haukeland Universitetssykehus. Øvrige medlemmer har vært Halvor Rollag, Rikshospitalet, Vidar Ormåsen, Ullevål Universitetssykehus, Mona Holberg-Petersen, Ullevål Universitetssykehus, Tore Jarl Gutteberg, Universitetssykehuset Nord-Norge og Andreas Christensen, St. Olavs Hospital, Universitetssykehuset i Trondheim, samt Inger Sofie Samdal Vik og Susanne Gjeruldsen Dudman fra Nasjonalt folkehelseinstitutt.

Arbeidsgruppen leverte sin rapport i begynnelsen av desember 2009. Gruppen konkluderer med at tiden er inne for å etablere et system for overvåking av resistensutvikling hos virus og anbefaler en utvidet overvåking og rapportering av resistens mot antivirale midler. Systemet, kalt Resistens mot antivirale midler i Norge (RAVN), skal omfatte overvåking av alle de virus som er beskrevet i rapporten, og hvordan dette skal skje fra år til år skal styres fra RAVN-sentralen sammen med fagrådet i RAVN. Gruppen mener at det er svært viktig å komme i gang raskt og fremlegger konkrete forslag til fremdrift og ressursbehov.

Folkehelseinstituttet takker arbeidsgruppen for rapporten og vil følge opp anbefalingene overfor Helse- og omsorgsdepartementet.

Preben Aavitsland
Direktør (fung), Divisjon for smittevern
Nasjonalt folkehelseinstitutt

Innhold

Forord	3
Ordliste	5
Bakgrunn.....	6
Sammendrag og konklusjoner	8
Innledning.....	11
Antiviral behandling, resistens og overvåking.....	12
Målgrupper for antiviral behandling og omfang	12
Metoder for påvisning av virusresistens	12
Oversikt over de virus som er aktuelle å overvåke i dagens situasjon	13
Influenzavirus	13
Humant immunsviktvirus (HIV)	13
Hepatitt B og C virus	14
Virus i herpesgruppen	14
Organisering og juridiske aspekter	15
Organisering av RAVN	15
Ressurser nødvendig for å kunne starte opp med overvåkingen	16
Juridiske aspekter	16
Registre.....	17
Nasjonale og internasjonale registre over virusresistens	17
Overvåking av primær HIV-resistens i Norge	17
Register over HIV-resistens utenfor Norge	17
Overvåking av influensaresistens i Norge	17
Overvåking av influensaresistens gjennom WHO/Europe Influenza Surveillance	17
Vedlegg 1. Resistens hos influensavirus.....	19
Vedlegg 2. Resistens hos HIV-1	21
Vedlegg 3. Resistens hos HBV-og HCV	24
Vedlegg 4. Resistens hos virus i herpesgruppen	26
Vedlegg 5. Uttalelse om biobank	31
Litteratur	32

Ordliste

ACV	Aciclovir
AIDS	akkvirert immun-defekt syndrom, sykdomsbilde som følge av HIV-smitte
CMV	Cytomegalovirus
DNA	Deoksyribonukleinsyre
følsomhet	det motsatte av resistens
GCV	Ganciclovir
HBV	Hepatitt B virus
HCV	Hepatitt C virus
HIV	Humant immunsvikt virus
HSV	Herpes Simplex virus
mutasjon	endring av et nukleotid i arvestoff eller derav følgende endring av en aminosyre i protein
MBV	Maribavir
MDCK	Madin-Darby canine kidney cellekultur
MSIS	Meldingssystem for smittsomme sykdommer
NORM	Norsk overvåkingssystem for resistente mikrober
NNRTI	nonnukleosid RT-inhibitor, gruppe av anti-HIV medisiner som hemmer aktiviteten til RT uten å likne RT's naturlige substrat
NRTI	nukleosid RT-inhibitor, gruppe medikamenter som hemmer RT fordi de likner RT's naturlige substrat
overvåking	systematisk innsamling av data over lang tid, analyse og tolkning av data og regelmessig rapportering av sammenstilte data
PCR	polymerase kjede reaksjon
protease	et HIV-protein (enzym) som klipper virusproteiner til funksjonelle enheter
PI	protease-inhibitor, en gruppe anti-HIV medisiner som hemmer aktiviteten til protease
PFA	Foscavir
rekombinasjon	dannelse av et virus med arvestoff kopiert fra flere foreldrevirus
resistens	ervert av en genetisk endring som gjør at virus ikke hemmes av et medikament i en konsentrasjon som normalt ville virke hemmende
retrovirus	virusfamilie som inkluderer HIV
RT	revers transkriptase, et HIV protein (enzym) som kopierer virusets arvestoff
RSV	Respiratorisk Syncytialt virus
sekvens	rekkefølgen av nukleotidene i arvestoff eller aminosyrene i protein
SPREAD	Strategy to Control Spread of HIV Drug Resistance, et EU-prosjekt for kartlegging av resistens hos personer som nylig er smittet med HIV og kontroll av spredning av resistent HIV
VIRGIL	European surveillance network for vigilance against viral resistance
VZV	Varicella Zoster virus, vannkoppevirus
zidovudin	en anti-HIV medisin i NRTI-gruppen

Bakgrunn

I den nasjonale planen for å motvirke antibiotika-resistens "Tiltaksplan for å motvirke antibiotikaresistens 2000-2004" var det lagt hovedvekt på bakterier og sopp. Av virus var bare HIV nevnt. Denne planen la grunnlaget for etablering av NORM og et HIV-resistens-overvåkingssystem.

NORM har vært svært viktig for norsk bakteriologi ved å bidra til kvalitetsforbedring av resistensbestemmelse, metodeutvikling, ny kunnskap om resistensmekanismer og god oversikt over bakteriologiske resistensforhold i landet vårt. Det er også etablert samarbeid med europeiske overvåkingssystemer dit det nå rapporteres jevnlig.

I 2001 kom en henvendelse i brev form fra Helse- og omsorgsdepartementet (HOD) der Folkehelseinstituttet (FHI) ble anmodet om å lede en arbeidsgruppe for "Utredning om nasjonalt overvåkingssystem for HIV-resistens". Rapporten ble levert i 2002 og anbefalingen var at det skulle etableres en systematisk overvåking av HIV-resistens i Norge.

I 2004 sendte Avdeling for virologi ved FHI en forespørsel til de virologiske laboratoriene for å kartlegge hva som ble gjort av virusresistensundersøkelser og om tiden var moden for å starte med virusresistens-overvåking.

En prøveordning for overvåking av HIV-resistens ble innført i november 2005 og i januar 2006 ble Nasjonalt overvåkingssystem for HIV-resistens etablert. Alle nydiagnostiserte HIV-infiserte pasienter skulle undersøkes med tanke på forekomst av resistente virus.

I 2008 fikk vi imidlertid en ny plan, "Nasjonal strategi for forebygging av infeksjoner i helsetjenesten og antibiotikaresistens (2008 – 2012)."

Det er der gitt følgende føringer:

- Det skal tas stilling til en utredning om overvåkingssystem for antivirale legemidler.
- HIV-overvåkingssystemet skal videreføres.
- Utvikle et overvåkingssystem for resistens hos influensavirus ved å bygge videre på den nasjonale influensaovervåkingen.

De siste årene har forbruket av antivirale midler økt betydelig. I lys av dette, og nylig påvisning av hyppig resistens mot influensavirus med bevart evne til spredning, har

HOD fremmet ønske om at det skal utarbeides en plan for et virusresistensovervåkingssystem.

Avdeling for virologi arrangerte et innledende møte på FHI 12. desember 2008 mellom representanter fra de virologiske miljøene som utfører resistensbestemmelser. Man besluttet å arbeide for etablering av et virusresistensovervåkingssystem, og en gruppe som skulle arbeide videre med saken ble utnevnt av Divisjonsdirektør Hanne Nøkleby. Arbeidsgruppen ble nedsatt 15. april 2009.

Arbeidsgruppens medlemmer

Birgitta Åsjö, Haukeland Universitetssykehus (leder)
Inger Sofie Samdal Vik, Folkehelseinstituttet
Susanne Gjeruldsen Dudman, Folkehelseinstituttet
Halvor Rollag, Rikshospitalet
Vidar Ormaasen, Ullevål Universitetssykehus
Mona Holberg-Petersen, Ullevål Universitetssykehus
Tore Jarl Gutteberg, Universitetssykehuset Nord-Norge
Andreas Christensen, St Olavs Hospital, Universitetssykehuset i Trondheim

Arbeidsgruppen har hatt flere møter hvorav to har vært i Bergen og de resterende i Oslo. Mellom møtene har medlemmene samarbeidet om oppgaven pr. e-post. Ansvar for utarbeidelsen av rapportens ulike deler har vært fordelt mellom medlemmene slik at alle har bidratt til innholdet.

Mandat for gruppen som skal utarbeide overvåkingssystem for virusresistens (virusresistensgruppen).

"Nasjonal strategi for forebygging av infeksjoner i helsetjenesten og antibiotikaresistens" inneholder følgende punkter:

- ta stilling til en utredning om overvåkingssystem for resistens mot antivirale midler
- videreutvikle overvåkingssystemet for HIV-resistens
- utvikle et overvåkingssystem for resistens hos influensavirus

I tildelingsbrevet fra Helse- og omsorgsdepartementet for 2009 har Folkehelseinstituttet fått i oppdrag å utarbeide en plan for et system for overvåking av virusresistens. Virusresistensgruppen er oppnevnt for å bidra i dette arbeidet og samtidig sikre forslaget bred forankring i det virologiske miljøet i Norge.

Erfaringer fra arbeidet med HIV-resistensovervåkingen kan benyttes som grunnlag for arbeidet videre. I forhold til HIV og influensa skal gruppen samarbeide med de miljøene som spesielt arbeider med disse virus.

Gruppens arbeid bør omfatte:

- hvilke metoder som bør benyttes
- hvilke virus det er aktuelt å overvåke
- hvordan dataene skal samles inn og lagres
- hvordan arbeidet bør organiseres
- eventuelle juridiske problemstillinger (konsepsjonskrav, behov for forskriftsendringer) ressursbehov knyttet til en slik overvåking (anslag)

Arbeidet skal munne ut i en rapport som kan overleveres til Helse- og omsorgsdepartementet. Frist for avlevering av rapporten er 1. desember 2009.

Sammendrag og konklusjoner

Mer enn 60 års bruk av antibakterielle midler har vist at overforbruk og feilbruk fører til seleksjon og spredning av resistente bakterier. Nå som effektive midler mot virus har vært på markedet i snart 30 år erfarer vi også her problemer med resistensutvikling. Behandling av HIV-infiserte pasienter viser dette med all tydelighet.

Tiden er nå inne for å etablere et organ for overvåking av resistensutvikling hos virus. Nytt av slik overvåking viste seg vinteren 2007/2008 da Norge som første land viste høy forekomst og spredning av oseltamivir- (Tamiflu) resistent influensa A-virus.

Arbeidsgruppen anbefaler en utvidet overvåking og rapportering av resistens mot antivirale midler. Gruppen har gitt overvåkingssystemet navnet RAVN (Resistens mot Anti Virale midler i Norge). I henhold til mandatet har vi tatt utgangspunkt i det eksisterende overvåkingssystemet for influensa og for HIV. Gruppen mener det er viktig å samlokalisere sentralen for RAVN med et virologisk laboratorium med et aktivt fagmiljø slik at systemet kan dra nytte av eksisterende kompetanse. Virusresistensundersøkelsene skal utføres ved de laboratoriene som har nasjonale referansefunksjoner for de aktuelle virus, og overvåkingen ledes fra RAVN-sentralen ved FHI. Utvikling av nye og mer tilgjengelige metoder for resistensbestemmelse kan føre til at slik testing kan utføres ved flere laboratorier enn i dag, og det må startes overvåking for andre virus. Dette vil kreve samarbeid mellom helseregionene.

Influenzavirus

Virusresistensovervåking for influensa ved FHI er veletablert. Gruppen har ingen forslag til vesentlige endringer av denne ordningen utover at denne overvåkingen blir en del av RAVN. Dette arbeidet har vist sin nytte i den pågående pandemi og spredning av Tamifluresistent virus i sesongen 2007/2008.

HIV

HIV-resistensovervåkingssystemet ble etablert i 2006 og bør nå inngå som en del av RAVN. Til nå har man overvåket resistens-forholdene hos nyoppdagede tilfeller. I tillegg bør det igangsettes overvåking av resistens hos HIV pasienter under behandling. HIV-infiserte barn må ha et spesielt fokus siden repertoaret av antivirale midler til pediatrik bruk er mer begrenset enn for voksne.

Hepatitt

Overvåking av antiviral resistens ved behandling av hepatitt må startes. Ved referanselaboratoriet ved FHI gjøres resistensundersøkelser og overvåking hos pasienter under behandling for hepatitt B virus. Dette arbeidet bør videreføres. Behandlingstilbudet for hepatitt C-pasienter er under rask utvikling, og det vil bli nødvendig å starte resistens-undersøkelser i løpet av kort tid. RAVN bør ha ansvaret for denne overvåkingen.

Herpesfamilien

Resistensovervåking av virus i herpesvirusgruppen f.eks cytomegalovirus (CMV) og herpes simplex-virus (HSV) bør igangsettes. Infeksjoner med resistent virus er et problem hos immun-supprimerte pasienter f.eks transplanterte pasienter. Det store forbruk av antivirale midler mot herpes vil med stor sannsynlighet føre til resistensutvikling også hos immunfriske.

Organisering og ressurser

Arbeidsgruppen foreslår at overvåkingen av resistens mot antivirale midler i Norge (RAVN) får en organisering og oppbygning tilsvarende den som finnes for NORM. RAVN kan starte nå og baseres på de eksisterende diagnostiske biobanker. Parallelt må det arbeides med en ny forskrift til smittevernloven, helsepersonelloven og helseregisterloven, og en forskningsbiobank med tilhørende pasientregister bør opprettes. Gruppen foreslår at en RAVN-sentral kan samlokaliseres med avdeling for virologi ved FHI og lederen bør være spesialist i medisinsk mikrobiologi. I tillegg bør sentralen være bemannet med én genteknolog og bør ha tilknyttet IT kompetanse. Det bør også etableres et fagråd ledet av en medisinsk mikrobiolog (virolog). Dette rådet bør for øvrig være bredt sammensatt med representasjon fra de regionale mikrobiologiske laboratoriene, én representant fra foretakslaboratoriene, én fra FHI samt én molekylærbiolog og én spesialist i infeksjonsmedisin.

Innledning

Med økende kunnskap om hvordan virusene smitter og mekanismene de bruker for å formere seg i cellene, har det blitt utviklet en rekke antivirale midler, som spesifikt hemmer formering av virus med færre og ikke så alvorlige bivirkninger. Utvikling av nye antivirale midler skjer stadig og dette ser ut til å fortsette.

Vaksinasjon er samfunnets viktigste redskap i kampen mot virusinfeksjoner, men dette tiltaket er ikke alltid tilstrekkelig:

- På tross av stor vitenskapelig innsats har det for flere virus til nå ikke vært mulig å utvikle en effektiv vaksine (for eksempel HIV, HCV og RSV).
- Viruset kan forandre seg i så store sprang at immunresponsen ved tidligere vaksine ikke beskytter. Utvikling av ny vaksine tar tid og da er en ubeskyttet (for eksempel influensa).
- Personer er smittet og blitt kronisk bærer av virus før de ble vaksinert (for eksempel HBV).
- Virus som immunapparatet normalt kontrollerer, aktiveres fordi immunapparatet svekkes. Dette er spesielt aktuelt for herpesgruppens virus.

Da er det aktuelt å bruke antivirale midler som i mange tilfeller er livreddende.

Virus som formerer seg under påvirkning av antivirale midler kan utvikle resistens og behandlingen mister sin effekt. Et typisk eksempel er HIV, særlig hos barn der medikamentrepertoaret er begrenset og resistens kan utvikle seg raskt.

Det er viktig at utvikling av resistens følges både hos den enkelte pasient og i folket. Valg av riktig medikament og kombinasjoner av medikamenter er avgjørende for å få en vellykket behandling.

For samfunnet er dette også god økonomi. For eksempel vil en vellykket behandlet HIV-pasient kunne være i fullt arbeid mens en syk koster samfunnet dyrt, og riktig valg av profylaktisk medisin i pandemiske situasjoner vil kunne spare samfunnet for store summer.

Antiviral behandling, resistens og overvåkning

Målgrupper for antiviral behandling og omfang

Med økende medisinsk kunnskap og muligheter for livreddende behandling ses en økning i antallet pasienter som kommer til å ha behov for behandling med antivirale medikamenter. Til denne gruppen regnes pasienter som står på immunosuppressiv behandling etter organtransplantasjon og kreftpasienter på cytostatikabehandling. HIV-infiserte pasienter utgjør imidlertid den største gruppen som trenger antiviral behandling.

De virusinfeksjonene som er mest aktuelle for behandling med antivirale medikamenter er vist i tabell 1. I tabell 2 vises en oversikt over antall transplantasjoner utført i Norge i 2007.

Tabell 1

I Norge er det i dag mest aktuelt å behandle følgende virale infeksjoner:

HIV, ca. 4000 er smittet

HCV, ca. 30 000-50000 er smittet

HBV, ca. 12000 er smittet

HSV, vanlig som kjønns sykdom og komplikasjoner til immunsvikt

CMV, økt interesse for å behandle perinatale infeksjoner, gir komplikasjoner til immunsvikt

VZV, komplikasjoner til immunsvikt

Influenza A og B, spesielt influensa A er aktuell å behandle

Tabell 2

I 2007 ble det foretatt følgende transplantasjoner:

Hjerte 36

Nyrer 260

Lever 72

Lunger 29

Pankreas 14

I tillegg kommer allogen hematopoietisk stamcelletransplantasjon (Benmarg). Ca 50 pr i år Oslo og ca 10 pr år i Bergen.

Metoder for påvisning av virusresistens

Resistens angir virusets evne til å formere seg i nærvær av antivirale midler.

Antivirale medikamenter er rettet mot essensielle trinn i virusets livssyklus. Det kan være virusets egne enzymer, f.eks polymerase og protease, eller virusets mekanisme for å trenge inn i eller ut av vertscellen. Virus kan utvikle resistens mot disse medikamentene ved at det oppstår en eller flere mutasjoner i gener som koder for antivirale målproteiner. Konsekvensen blir at produksjon av nye viruspartikler ikke hemmes av et medikament i en konsentrasjon som normalt vil virke hemmende på viruset.

Det er to tilnæringsmåter for påvisning av virusresistens; fenotypisk ved testing av infeksiose virus i nærvær av et antiviralt medikament i cellekultur, eller genotypisk der man påviser mutasjoner forbundet med antiviral resistens med molekylærbiologiske metoder. Genotypen beskriver nukleotidrekkefølgen i genomet, mens fenotypen er det funksjonelle uttrykket til en eller flere genotyper i viruspopulasjonen.

Fenotypisk resistensundersøkelse er et direkte mål på resistens der virusets evne til å formere seg i nærvær av ulike konsentrasjoner av antivirale medikamenter analyseres. Man må først dyrke viruset, så bestemme optimal viruskonsentrasjon som så dyrkes i cellekultur i nærvær av de ulike medikamentkonsentrasjonene. Man benytter ett medikament av gangen, og resultatet må sammenlignes med resultatet til en stamme som er følsom for medikamentet. Fenotypiske metoder bestemmer den medikamentkonsentrasjonen som kreves for å hemme virusreplikasjonen i cellekultur med 50 %. Konsentrasjonen kalles "inhibitory concentration 50%" (IC50). Et problem med denne metoden er å definere hvilken konsentrasjon som gir klinisk relevant resistens (klinisk cut-off nivå). Metoden regnes for å være gullstandard, men er teknisk komplisert, arbeids- og tidkrevende (avhengig av hvor raskt viruset vokser i cellekultur), er kostbar og foregår i cellekultur (for HIV kreves av den grunn sikkerhetslaboratorium). Derfor er dette som regel ikke den foretrukne rutinemetoden.

Genotypisk resistensbestemmelse er et indirekte mål på resistens der nukleotidmutasjoner, som

korrelerer med resistens mot ett eller flere medikamenter, påvises. Til tolkning av genotypen benytter man et kart over kjente resistensmutasjoner. For enkelte medikamenter vil det være en kompleks interaksjon mellom flere mutasjoner som fører til resistens. Ved genotypisk resistensbestemmelse er det vanligst å bruke en sekvenseringsbasert metode der genet som er involvert i middelets antivirale aktivitet sekvenseres. Metoden egner seg godt til rutinediagnostikk. Den krever avansert og dyrt utstyr og tolkningen kan være komplisert, men virusdyrking er ikke nødvendig. Den er rimeligere i daglig bruk og raskere å utføre enn fenotypisk resistensbestemmelse (tar 2-3 døgn).

Oversikt over de virus som er aktuelle å overvåke i dagens situasjon

Vi presenterer her korte oversikter over de aktuelle virus som gruppen anbefaler overvåking overfor, mens mer detaljerte beskrivelser finnes som vedlegg helt til sist i rapporten.

Influenzavirus

Influenzavirus deles inn i tre typer, A, B og C, hvorav sistnevnte er mest sjelden og har liten tendens til å gi epidemiske utbrudd, mens influensa A og B gir årvisse vinterepidemier. Videre har influensa A virus av ulike subtyper forårsaket store pandemier blant mennesker i årene 1889, 1900, 1918, 1957, 1968, 1976 og nå i 2009. Influenzavirus kjennetegnes av evnen til rask evolusjon. Denne evnen har betydning for influensavirusenes tilpasning til antivirale midler.

Det har vært kjent siden begynnelsen av 1960-tallet at medikamentet amantadin, og det beslektede rimantadin som til sammen utgjør klassen M2-blokkere, gir hemming av influensa A virus. Den spesifikke virkningsmekanisme ble senere nøye utforsket og i kliniske studier i 1980-årene viste det seg at resistens mot disse midlene utviklet seg raskt. Det ble da klart at stammer som var resistente mot slike M2-blokkere hadde evnen til å smitte mellom mennesker og forårsake sykdom. Disse medikamentene er ikke registrert i Norge for behandling av influensa, men rimantadin er en del av det norske beredskapslageret mot pandemi.

En annen klasse av antivirale medikamenter som både virker på influensa A og B har kommet i klinisk bruk det siste tiåret og kalles neuraminidasehemmere. Foreløpig er det bare to preparater av dette slaget registrert i Norge, zanamivir og oseltamivir, hvorav det første kun finnes i inhalasjonsform mens det sistnevnte

er et peroralt middel. Bruken av disse har forut for at pandemien startet i 2009 vært liten i vårt land.

Folkehelseinstituttet har på oppdrag fra Helse- og omsorgsdepartementet etablert overvåking overfor influensaresistens. Resistens mot neuraminidasehemmere har vært rapportert i svært liten grad inntil høsten 2007. Da ble det påvist en mutasjon som førte til høygradig resistens mot oseltamivir hos to tredel av norske influensa A(H1N1)-virus og andelen holdt seg høy gjennom vintersesongen. Stammene viste seg fortsatt å ha bevart følsomhet mot zanamivir. Den høygradige oseltamivirresistensen opptrådte hos pasienter som ikke hadde brukt neuraminidasehemmeren verken som profylakse eller behandling, og A(H1N1)-virusene så ikke ut til å ha annerledes spredningsevne eller patogenitet enn tilsvarende sensitive virus. Under pandemien som nå pågår er overvåkingen av resistens mot influensa intensivert og foreløpig har det kun vært påvist enkelttilfeller av oseltamivirresistent pandemisk A(H1N1)-virus i andre land.

Humant immunsviktivirus (HIV)

HIV inndeles i to hovedtyper (HIV-1 og HIV-2). HIV-1 har siden 1980-tallet spredd seg pandemisk. Man antar at 33 millioner lever med en HIV-1 infeksjon på verdensbasis og at 2 millioner døde av AIDS i 2007. Siden 2002 har det skjedd en økning i antall HIV-1 smittede i Norge som særlig skyldes innvandrere smittet i sitt hjemland og homoseksuelt smittede menn. I 2008 ble 299 nye HIV-1 positive personer registrert. Dette er det høyeste antall som noensinne har vært registrert i Norge i løpet av et år. HIV inntar en særstilling pga det høye antallet medikamenter som på kort tid har blitt utviklet mot dette viruset. Dette har revolusjonert pasientenes livskvalitet og forventede levetid. Behandlingen er imidlertid meget krevende med delvis alvorlige bivirkninger samt problemer med utvikling av resistens mot medikamentene. For pasientene innebærer dette forverring av sykdommen, og for samfunnet kan det innebære smitte av nye personer og spredning av resistente virus. Det anslås at det i dag finnes mellom 1600-2000 HIV positive pasienter på antiretroviral behandling i Norge. Ved sviktende behandlingseffekt kan resistensundersøkelse utføres ved Ullevål sykehus og Rikshospitalet. I det Europeiske overvåkingsprogrammet SPREAD (Strategy to control spread of HIV drug resistance), der Norge er deltagerland, er det registrert resistensmutasjoner hos ca. 10% av de nysmittede.

Barn er en spesiell pasientgruppe der overvåking av virusresistens kan bli viktig i tiden fremover. Dette gjelder særlig for barn med HIV-1 infeksjon som er en mer utsatt gruppe enn voksne. Til de minste barna har

man færre godkjente medikamenter, kun noen få av medikamentene finnes i barkedoser og riktig dosering er vanskeligere. Alle disse faktorene bidrar til økt risiko for resistensutvikling i en gruppe der behandlingsperspektivet er meget langsiktig, og hvor uheldig bruk av medikamenter kan ødelegge for fremtidige behandlingsmuligheter. Man kan tenke seg at tilsvarende resistensproblemer vil kunne oppstå for hepatitt B og C når man nå skal innføre antiviral behandling for disse sykdommene også hos barn, og at et overvåknings-system for virusresistens kan bidra til å fange opp disse problemene tidlig.

Hepatitt B og C virus

Hepatitt B virus (HBV) kan i likhet med hepatitt C virus (HCV) føre til kronisk infeksjon med utvikling av cirrhose og karsinom i lever. I Norge er bærertilstand med HBV hyppigst hos adoptivbarn og innvandrere fra mellom- og høyendemiske områder. Stoffmisbrukere er en risikogruppe for både HBV og HCV infeksjon. Det finnes nå flere behandlingalternativer for pasienter med kronisk hepatitt B eller C infeksjon og det er nødvendig med langvarig antiviral behandling for å motvirke leversykdom. For begge disse virusinfeksjonene har det blitt en viktig del av oppfølgingen å monitorere virusmengden i blod med måneders mellomrom som effektmål på den spesifikke antivirale behandlingen.

Ved kronisk HBV infeksjon er det tilgjengelig en rekke ulike spesifikke antiviralt virkende medikamenter i tillegg til interferon. Faren for resistensutvikling er høy særlig ved enkelte av de antivirale midlene, og risikoen øker parallelt med varigheten av behandlingen. Etter ett års behandling kan opptil tredjeparten av de pasienter som bruker lamivudin utvikle resistens. Dette vil kunne oppdages ved at virusmengden plutselig stiger og man kan påvise mutasjon ved resistensundersøkelse.

Ved kronisk HCV-infeksjon skreddersys behandlingen hos den enkelte pasient overfor både type og mengde av HCV ved start av behandling og ut fra respons etter 12 ukers terapi. I dag utføres ikke rutinemessig resistensundersøkelser av HCV pasienter i Norge da det foreløpig kun brukes behandling bestående av interferon og ribavirin (som ikke fremmer resistens). Men det er en rekke spesifikke antivirale medikamenter under utvikling for behandling av kronisk HCV-infeksjon og så snart disse kommer i bruk i klinisk praksis vil det bli et stort behov for resistensundersøkelser samt overvåking av resistensutvikling.

Resistensundersøkelser overfor HBV utføres på virusavdelingen på FHI hos pasienter som er under behandling med antivirale medikamenter eller som vurderes for slik terapi. Erfaringer ved referanselaboratoriet for HBV er at det påvises lite mutasjoner som gir resistens hos HBV-infiserte pasienter som ikke bruker antiviral behandling. Det er foreløpig ikke startet opp systematisk overvåking av virusresistens hos nyoppdagete eller nysmittede HBV-pasienter men dette vurderes fortløpende.

Virus i herpesgruppen

Herpesvirus gruppen består av 8 arter. De mest kjente artene er herpes simplex-virus 1 og 2, vannkoppevirus, cytomegalovirus og Epstein-Barr-virus. Det er karakteristisk for denne gruppen virus at etter primærinfeksjon går de over i en hvilefase (latensfase). Virus kan reaktiveres fra latens og gi klinisk sykdom slik som helvetesild ved reaktivering av vannkoppevirus..

Antivirale medikamenter finnes mot herpesvirus 1 og 2, vannkoppevirus og cytomegalovirus. Medikamentene brukes både i behandling av virusinfeksjoner og til å forebygge reaktivering av virus. Heldigvis har resistente virus til nå vist seg å ha redusert sykdomsfremkallende evne. Infeksjonssykdom forårsaket av slike virus er derfor først og fremst et problem hos pasienter med immunsvikt. Smitte av resistente virus har foreløpig begrenset seg til smitte mellom personer med immunsvikt.

Behandling og forebygging av infeksjoner med vannkoppevirus og cytomegalovirus skjer først og fremst hos pasienter med nedsatt infeksjonsforsvar. De fleste som behandles med antivirale midler mot herpes simplex-virus 1 og 2 -infeksjoner har normalt infeksjonsforsvar, og har tilbakevendende herpesinfeksjoner i skrittet og rundt munnen. Slike utbrudd kan hindres ved å gi antivirale midler forebyggende. Det er derfor et stort forbruk av midler mot herpes. Resistente virus dukker opp, de har hittil ikke vist tegn til spredning, men en regner med at det kan skje.

I dag utføres resistensbestemmelse av cytomegalovirus. For de andre herpesvirus er det i vårt land ikke tilbud om å få gjort resistensbestemmelse. På grunn av den økende populasjon personer med ulike former for immunsvikt er det på individbasis stort behov for resistensbestemmelse av virus i herpesgruppen. Når det gjelder overvåking av spredning av resistent virus er det først og fremst aktuelt når det gjelder herpes simplex virus 1 og 2. Det skyldes smittemåte og det store forbruk av antivirale medikamenter hos pasienter med intakt infeksjonsforsvar.

Organisering og juridiske aspekter

Organisering av RAVN

NORM har en organisering og oppbygging som har vist seg å fungere godt, og deltakerne føler eierskap til systemet. På en tilsvarende måte bør RAVN bygges opp.

Sensitivitetstesting av virus har ikke samme bredde og omfang som sensitivitetstesting av bakterier og spesielle hensyn til planlegging, oppbygging og drift er nødvendig.

Bakteriologiske resistensundersøkelser utføres ved alle mikrobiologiske laboratorier i landet, mens virologiske resistensundersøkelser bare kan utføres ved de regionale viruslaboratoriene og FHI. For de fleste virus vil det være krav til laboratoriene om å utføre genetisk karakterisering av resistens og sensitivitetstesting i cellekultur. I dag utføres genetisk resistensundersøkelse på Ullevål sykehus og Rikshospitalet (Oslo universitetssykehus) av HIV, cytomegalovirus på Rikshospitalet (Oslo universitetssykehus), og hepatitt B og influensa på FHI som også utfører sensitivitetstesting i cellekultur for influensa.

Organiseringen av RAVN tar utgangspunkt i at resistensundersøkelsene skal utføres ved de laboratoriene som har nasjonal referansefunksjon for de aktuelle virus. Utvikling av nye og mer tilgjengelige metoder for resistensbestemmelse kan føre til at slik testing kan utføres ved flere laboratorier enn i dag og det må startes overvåking for andre virus. Dette vil sannsynligvis medføre en desentralisering av disse oppgavene i framtiden.

Miljøene knyttet til FHI, universitetssykehusene og universitetene i Oslo, Trondheim, Bergen og Tromsø har dokumenterbar erfaring med virusresistens.

De metoder som skal brukes i overvåkingen skal utføres i akkrediterte laboratorier.

Referansefunksjonene for HIV resistensundersøkelsene er i dag lagt til Ullevål, for cytomegalovirus til Rikshospitalet, for influensa, hepatitt B og hepatitt C til FHI. Når sensitivitetsundersøkelse for hepatitt C blir aktuelt vil FHI ta opp det. Det finnes rutine og metoder i Norge. Men på grunn av økende bruk av antivirale midler vil volum og antall virus bli en utfordring.

Det trenges en opprusting av klinisk virologi både ved universitetssykehusene og ved FHI slik at de gjennom samarbeid og i nært fellesskap kan bygge opp norsk kompetanse.

RAVN bør delta i internasjonale nettverk og bli en aktiv bidragsyter i internasjonale miljøer.

For å administrere innsamling av resistensdata, sørge for riktig oppbevaring, både faglig og i forhold til lovverket, og for å videreutvikle systemet og erverve ny kunnskap, trengs en sentral ledelse av RAVN (RAVN-sentralen) i samarbeid med et fagråd.

Gruppen foreslår en sentral lokalisasjon av virusresistensovervåkingen. Sentralen foreslås lokalisert på virusavdelingen på FHI. Et fagråd skal være det styrende organ. Det settes sammen av det virologiske miljø ved universitetssykehusene og FHI (se nedenfor). Det er enighet i gruppen om at sentralen bør være nært knyttet opp til en virologisk enhet for gjensidig nyttig samarbeid.

RAVN-sentralen bør bemannes med én medisinsk mikrobiolog som fortrinnsvis har doktorgrad og hovedsaklig bakgrunn fra virologi og denne personen bør lede sentralen. I tillegg bør det være en stilling for molekylærbiolog, og deltidsstillinger for epidemiologi og en datakompetent person knyttet til sentralen. Kompetanse i bioinformatikk blir også viktig å kunne knytte til seg.

Fagrådet bør bemannes av en medisinsk mikrobiolog (virolog) fra hvert regionlaboratorium (4) og fra FHI (1). I tillegg bør det være én molekylærbiolog og én infeksjonsmedisiner. En representant fra foretakslaboratoriene må være med.

Fagrådet bør ikke være større enn 8 personer.

RAVN-sentralen og fagrådet må arbeide tett sammen, og lederen for sentralen bør møte fast og ha ansvar for forberedelse av møtene i fagrådet. Lederen av sentralen har budsjettansvar og fag- og personalansvar for de ansatte i sentralen. Lederen skal også ha stemmerett i fagrådet i saker som krever avstemning.

Fagrådet bør ledes av en medisinsk mikrobiolog og velges for 2 år i gangen med mulighet til gjenvalg, til sammen 4 år. Fagrådet møtes minst 2 ganger i året, og i samarbeid med sekretariatet legger fagrådet opp de årlige overvåkingsopplegg.

Det er viktig at RAVN tidlig bygger opp nasjonal kompetanse og et nasjonalt nettverk og også knytter seg til internasjonale nettverk. Det skal årlig utarbeides en rapport fra RAVN, og det skal arrangeres et årlig møte med en faglig del og med tid avsatt for å diskutere praktisk gjennomføring av kommende års overvåkingsopplegg. RAVN-sentralen og fagrådet har ansvar for at ny kunnskap om resistensforhold gjøres kjent slik at det kan komme til nytte i valg av behandlingsopplegg for pasientene.

Ressurser nødvendig for å kunne starte opp med overvåkingen

Stilling for leder av RAVN-sentralen er det nødvendig å opprette helt i starten, mens de øvrige stillinger ved sentralen og resten av organisasjonen for øvrig må komme på plass etter hvert. Det må også fra starten foreligge et driftsbudsjett slik at nødvendige oppstartmøter kan gjennomføres for fagrådet. Det bør også være midler til å knytte til seg epidemiolog, IT-konsulent og kompetanse i molekylærbiologi. Etter hvert, og helst i det etterfølgende år, bør det ansettes personer med slik kompetanse, først og fremst er det viktig å få besatt en hel stilling for molekylærbiolog. En vil da bedre kunne si hvor stor andel av stillingene en kommer til å trenge for de øvrige fagpersonene. En vil da også etter hvert vite mer hva en trenger av datautstyr, ev. annet utstyr for å drive overvåkingen.

Juridiske aspekter

Da RAVN baserer seg på en desentralisert modell, kan arbeidet startes umiddelbart etter vedtak om oppstart. Det finnes et system for overvåking av HIV og influensavirusresistens. For de andre virus må en inntil videre basere seg på lokale diagnostiske biobanker med tilhørende pasientinformasjon. Avidentifiserte virussekvensanalyser kan sendes RAVN for lagring og bearbeidelse (ikke pasientinformasjon).

Før etablering av en forskningsbiobank med pasientregister i RAVN må en ny forskrift til smittevernloven, helsepersonelloven og helseregisterloven utarbeides, og NORM-forskriften av 2003 (FOR-2003-11-14-1353) kan benyttes som mønster.

Se vedlegg 5 for uttalelse fra biobanksjef ved Oslo universitetssykehus Wenche Reed.

Nasjonale og internasjonale registre over virusresistens

Overvåking av primær HIV-resistens i Norge

På bakgrunn av Tiltaksplanen for å motvirke antibiotikaresistens 2000-2004 og rapporten fra en arbeidsgruppe november 2002 "Utredning om nasjonalt overvåkingssystem for HIV-resistens" ble overvåking av primær HIV-1 resistens startet januar 2006. Hensikten var å overvåke resistens på befolkningsnivå og var ikke ment for å veilede terapi hos den enkelte. Det var viktig å få startet opp dette overfor nasjonale retningslinjer for behandling og profylakse og for å vurdere smitteverntiltak. Mellom 2006-2008 ble det totalt meldt til databasen 823 HIV-1 tilfeller og mottatt 332 sekvenser. Av disse sekvensene hadde 8,4% nedsatt følsomhet for antivirale medikamenter, hvorav NNRTI-resistens var vanligst.

Register over HIV-resistens utenfor Norge

SPREAD databasen: inneholder anonymiserte demografiske data samt CD4-tall, HIV-RNA nivå og gensekvensen i FASTA-format fra de deltagerlandene som inngår i EU-programmet. Norge deltar med 30 pasienters data/år. Alle data lagres i Luxemburg; etter søknad og tillatelse fra respektive lands nasjonale koordinatører kan data hentes ut i forbindelse med spesifikke problemstillinger. De passer imidlertid ikke for generell nasjonal overvåking da det for hvert land bare er et begrenset antall sekvenser som har blitt sendt inn.

Nasjonal overvåking: Ett nasjonalt overvåkingssystem finnes i Luxemburg som angir antall og type av resistensmutasjoner per år. Det kobles ikke til en spesiell pasient eller medisiner og pasientene følges ikke over tid i registret. Nydiagnostiserte pasienter rapporteres årlig.

InfCare HIV er ett elektronisk system for registrering av mange ulike data som grafisk og pedagogisk kan sammenstilles i forhold til resistensprofil, sykdomsutvikling, støtte for behandlingsvalg, behandlingskonferanser og forskning og systemet er kvalitets-

sikret. Systemet er utviklet i Stockholm ved Huddinge Sjukhus. Karolinska Sjukhuset og Sahlgrenska Sjukhuset eier rettighetene til InfCare i Norden, og hver deltakende klinikk betaler en etableringsavgift og en årsavgift til eierne. Hver klinikk bestemmer selv hvordan data skal kunne anvendes og hvem som skal ha tilgang til data. Hver klinikk eier sine data og pasientene er anonyme for alle andre enn sin egen klinikk. Systemet er tatt i bruk i Danmark, på Island og Grønland. Databasen oppdateres hver natt. I det kliniske arbeidet finnes mulighet til å få tilgang til informasjon som genereres på andre klinikker enn deres egen. Forskningsprosjekt som skal basere seg på hele databasen må det søkes om til styringsgruppen for registret.

Denne databasen gir mulighet til å følge HIV-1 resistens over tid.

Overvåking av influensaresistens i Norge

Folkehelseinstituttets influensalaboratorium overvåker forekomst av influensavirus i Norge. Et eget frivillig nettverk av leger – fyrtårnleger – sender in nese/halsprøver fra pasienter med influensalignende sykdom, samt at alle de mikrobiologiske laboratoriene i landet sender inn påviste stammer til influensalaboratoriet. Disse prøvene analyseres ved virusdyrking og andre metoder. Resistensovervåkingen utføres ved hjelp av både genteknologiske (del/fullsekvensering, pyrosequensering og PCR) og fenotypiske resistensundersøkelser av dyrkbare virus. Dataene registreres i et format som er kompatibelt med internasjonale databaseformater. Influenzalaboratoriet har laget årlige rapporter om influensaresistensovervåkingen, samt har publisert en rekke forskningsresultater i internasjonale tidsskrifter. I influensasessongen og i den pågående pandemien har det ukentlig vært publisert resultater fra denne resistensovervåkingen på instituttets hjemmesider.

Overvåking av influensaresistens gjennom WHO/Europe Influenza Surveillance

Et verdensomspennende nettverk for overvåking av resistens mot neuraminidasehemmere har fungert siden 1999 (NISN). Frem til 2002 var 2 287 isolater analysert, og det ble ikke observert noen økning i forekomsten av resistens i løpet av denne perioden. Innenfor rammen av et europeisk samarbeid, VIRGIL,

gjøres det resistensundersøkelser på virus som de nasjonale laboratoriene i det europeiske influensaovervåkingssamarbeidet EISN (WHO/Europe Influenza Surveillance, tidligere kalt EISS) oversender til WHOs referanselaboratorium i England. Videre arbeides det med standardisering, anbefalinger, opplæring og tilrettelegging for etablering av slike analyser i de land der man ønsker å gjøre slike undersøkelser selv. Nasjonalt Influenzalaboratorium ved FHI deltar i denne overvåkingen og har sendt influensavirusisolater til England for resistensundersøkelser parallelt med at isolatene analyseres med slike analysemetoder her.

Det europeiske overvåkingssystemet som avdeling for virologi ved det nasjonale influensalaboratoriet deltar i samler inn fra de deltakende europeiske land både epidemiologiske og virologiske data. Databasen mottar relevant klinisk informasjon for hvert influensatilfelle sammen med sekvensdata og resistensresultater for genotypiske og fenotypiske metoder.

Overvåking av resistens er nødvendig for riktig valg av empirisk behandling. Oppdatert kunnskap om resistens er avgjørende for best mulig pandemiberedskap. Den pågående pandemien forårsaket av A(H1N1) virus med opprinnelse fra svin viser klart behovet for kontinuerlig resistensovervåking. Studier så langt viser at viruset er følsomt for oseltamivir og zanamivir, men har resistens mot M2-blokkere. Det har hittil vært rapportert få tilfeller i verden der slikt virus har ervervet resistens mot oseltamivir og de fleste av disse har brukt middelet profylaktisk.

Vedlegg 1. Resistens hos influensavirus

Antivirale medikamenter

Det finnes to klasser av antivirale medikamenter mot influensa, M2-blokkere amantadin og rimantadin, og neuraminidasehemmere, oseltamivir og zanamivir. Kun neuraminidasehemmere er registrert i Norge for profylakse og behandling mot influensa. Bruken av disse har til nå vært begrenset her til lands (www.reseptregisteret.no).

Forekomst av resistens mot antivirale medikamenter mot influensa

Studier på 1980-tallet viste at resistens mot M2-blokkere spredte seg raskt under bruk. Resistente stammer har både evne til å smitte mellom mennesker og forårsake influensasykdom.

Resistens mot oseltamivir har inntil nylig vært rapportert i liten grad. Men vinteren 2007-08 ble det observert resistens mot oseltamivir i en uventet stor andel av influensa A(H1N1)-virusene i Norge. Hos to tredeler av norske stammer i influensasesonen 2007-08 ble det påvist en histidin-til-tyrosin-mutasjon i posisjon 274 i N1-neuraminidasen (H274Y), som fører til høygradig resistens mot oseltamivir og det beslektede midlet peramivir. De mutante virusene er imidlertid fortsatt fullstendig følsomme for zanamivir samt for M2-blokkere. Denne spesielle resistensfrembringende mutasjonen har vært kjent i noen år, men i tidligere studier har den alltid rammet virusets levedyktighet alvorlig og ikke vært observert i sirkulerende A(H1N1)-virus. Framveksten av resistens skjedde i tilnærmet fullstendig fravær av oseltamivirbruk i Norge. Data så langt tyder på at de resistente stammene hverken har annerledes spredningsevne eller at infeksjon med disse stammene gir forskjellig klinisk bilde enn tilsvarende ikke-resistente virus.

I studier der det ble tatt prøve både før og etter behandling med zanamivir, har man ikke klart å påvise resistens hos noen pasienter, men det har vært publisert en rapport om zanamivirresistens hos et barn med influensa B. Strukturlikheten mellom det naturlige substratet og zanamivir, samt medikamentets høye konsentrasjon i luftveiene, der virusreplikasjonen skjer, bidrar til å redusere faren for resistensutvikling. Ulike influensavirus viser varierende følsomhet overfor neuraminidasehemmere. Samtidig forekommende resistens mot både M2-blokker og oseltamivir har vært sett hos immunsvekkede under etterfølgende behandling med disse midler mot influensa A-infeksjon. Nylig ble det publisert en studie fra Hong Kong der man fant at 3,4% av de oseltamivirresistente

isolatene også var resistente mot amantadin (S31N mutasjon i M2).

Metoder for påvisning av resistens hos influensavirus

Resistensundersøkelser for influensavirus i Norge foregår ved det nasjonale influensa-laboratoriet ved Nasjonalt folkehelseinstitutt. Det brukes både fenotypiske og genotypiske metoder for påvisning av resistens mot influensavirus. Ved fenotypiske metoder kan man bestemme hvilken konsentrasjon av et antiviralt middel som hemmer viruset. De vanligste metodene for neuraminidasehemmeres vedkommende måler fall i neuraminidasens enzymaktivitet med økende konsentrasjon av det farmasøytisk aktive virkestoffet. Man kan dermed bestemme IC50, altså den medikamentkonsentrasjonen som gir 50% hemming av det aktuelle virusets neuraminidaseaktivitet.

Ved genotypiske metoder påvises mutasjoner som fra før er kjent og er vist å forekomme hos det enkelte resistente virus. Genotypiske metoder benyttes ved resistensundersøkelser for både neuraminidasehemmere og M2-blokkere.

Metoder for påvisning av resistens mot adamantaner (amantadin og rimantadin) er meget vel karakterisert. Slik resistens er forårsaket av én eller flere mutasjoner i området som koder for selve kanalen i virusets M2 ionekanal. For overvåking av adamantaner er genotyping den mest brukte metoden. Denne genotypingen kan gjøres med tradisjonell sekvensering eller pyrosekvensering. Pyrosekvensering er en ny sekvenseringsbasert metode som brukes for å analysere korte DNA-segment, her for M2 ionekanal-regionen med sete for de fem ulike mutasjonene. Det er en rask metode som kan brukes for analyse av både dyrket influensa virus og direkte på kliniske materialer.

Fenotypisk karakterisering av amantadinresistens kan gjøres med plakk-reduksjonstest for bestemmelse av IC50 for amantadin og rimantadin. I plakktesten avleses antallet infiserte celler der viruset har multiplisert seg og forårsaket et område av døde eller skadede celler (plakk) som detekteres med generell cellulær merking eller antistoffmerking. For øket teknisk reproducerbarhet i denne cellebaserte metoden brukes en modifisert cellelinje, MDCK-SIAT-1, og agarose er subsidiert med Avicel, en semi-solid biopolymer.

Neuraminidasehemmer er aktive mot alle influensa A-subtyper og influensa B-virus. For overvåking av resistens mot neuraminidasehemmere er både oseltamivir og zanamivir inkluderte fordi utvikling av

resistens mot oseltamivir og zanamivir er spesifikk og kan oppstå uavhengig av hverandre.

En enkel metode for måling av neuraminidasehemmeres sensitivitet er enzym-inhibering. Det finnes to ulike substrat som kan brukes for å bestemme sensitiviteten hos influensavirus mot neuraminidasehemmer. Det mest brukte er ett fluorescerende substrat 20-(4-methylumbelliferyl)-a-D-N-acetylneuraminic acid (MUN eller MUNANA). Spalting av MUNANA med neuraminidase frigjør methylumbelliferone som fluorescerer. Mengden fluorescens er direkte relatert til enzymaktiviteten. Det andre substratet NA-Star, 20-(4-NA-Star)-a-D-N-acetylneuraminic acid er kjemiluminescent og distribueres som del av et kommersielt kit. Ettersom kjemien er ulik for disse to substratene skal ikke IC50-verdier som fås fra fluorescens- og luminescens-metoder sammenlignes direkte. Derfor er det viktig å velge en av disse for overvåkingen samt at et referansevirus-panel inkluderes ved implementering av metoden. Viser et isolat lavere sensitivitet i neuraminidase-inhiberingsanalysen karakteriseres den videre med sekvensering av neuraminidasegenet. Mekanismen for neuraminidaseresistens er fortsatt ikke helt klarlagt, så sekvensering er viktig i tillegg til fenotypisk bestemmelse for å kunne påvise nye mutasjoner i neuraminidasegenet.

For influensavirus er det lite realistisk at resistensbestemmelse kan bli utført før behandlingsstart fordi tidsrommet før behandling må settes i gang er veldig kort. Behandlingen vil derfor være empirisk. Valg av behandling bør bygge på resultater fra resistensovervåking og på kunnskap om mulig kryssresistens.

Overvåking av influensaresistens

Et verdensomspennende nettverk for overvåking av resistens mot neuraminidasehemmere har fungert siden 1999 (NISN). Frem til 2002 var 2 287 isolater analysert, og det ble ikke observert noen økning i forekomsten av resistens i løpet av denne perioden. Innenfor rammen av et europeisk samarbeid, VIRGIL, gjøres det resistensundersøkelser på virus som de nasjonale laboratoriene i det europeiske influensaovervåkingssamarbeidet EISS oversender til WHO's referanselaboratorium i England. Videre arbeides det med standardisering, anbefalinger, opplæring og tilrettelegging for etablering av slike analyser i de land der man ønsker å gjøre slike undersøkelser selv. Norge deltar i denne overvåkingen og har sendt influensavirusisolater til England for resistensundersøkelser parallelt med at slike analysemetoder er igangsatt her.

Overvåking av resistens er nødvendig for riktig valg av empirisk behandling og er en av de viktigste oppgavene til det nasjonale influensa-laboratoriet under pandemien. Oppdatert kunnskap om resistens er avgjørende for best mulig pandemiberedskap.

De siste måneders pågående pandemi forårsaket av det nye A(H1N1) virus med opprinnelse fra svin, viser klart behovet for kontinuerlig resistensovervåking. Studier i de første fasene av pandemien viste at viruset var følsomt for oseltamivir og zanamivir, men var resistent mot M2-blokkere. Senere har det vært observert et lite antall virus som har ervervet resistens også mot neuraminidasehemmere i flere land.

Tabell 1. Norske influensa virus resistente mot M2 blokkere (adamantaner) og neuraminidaseinhibitor (NI) oseltamivir i løpet av influensa sesongene 2005/06 til 2009

Sesong	Adamantan resistens		Oseltamivir resistens			Zanamivir resistens		
	A(H1N1)	A(H3N2)	A(H1N1)	A(H3N2)	B	A(H1N1)	A(H3N2)	B
2005/06	nd	75% (n=4)	0% (n=6)	0% (n=13)	0% (n=21)	0% (n=6)	0% (n=13)	0% (n=21)
2006/07	0% (n=6)	90% (n=10)	0% (n=5)	0% (n=10)	nd	0% (n=5)	0% (n=10)	nd
2007/08	0% (n=112)	100% (n=2)	67,8% (n=272)	0% (n=2)	0% (n=59)	0% (n=114)	0% (n=2)	0% (n=59)
2008/09	0% (n=5)	100% (n=65)	100% (n=33)	0% (n=13)	0% (n=1)	0% (n=5)	0% (n=12)	0% (n=1)
2009* (H1N1)v (svineinfl')	100% (n=138)		0% (n=561)**			0% (n=20)		

* Data for overvåking av resistens oppsummert 25.11.2009

**To metoder ble brukt til å undersøke for oseltamivir resistens: genteknologisk sekvens analyse av virusgener og en fenotypisk metode (neuraminidase inhibisjons analyse).

Vedlegg 2. Resistens hos HIV-1

Antivirale medikamenter og resistensutvikling

Introduksjon av effektiv antiretroviral behandling har medført en betydelig redusert HIV-relatert sykkelighet og dødelighet.

Det finnes i dag 5 ulike medikamentklasser med en rekke forskjellige registrerte midler rettet mot ulike faser av HIVs livssyklus; CCR5-blokkere hindrer binding mellom virus gp120 og chemokine reseptoren CCR5, fusjonshemmere hindrer fusjon mellom virus gp41 og cellemembranen, nukleosid og non-nukleosid revers-transkriptasehemmere er rettet mot det virale enzymet revers transkriptase og hemmer transkripsjon av RNA til DNA, integrasehemmere hindrer integrering av proviralt DNA i vertscellens DNA, og proteasehemmere hindrer kutting av polyproteinene. Den antiretrovirale behandlingen baserer seg på prinsippet at ved langvarig behandling av en infeksjonssykdom må man anvende flere medikamenter med ulike angrepspunkt. Monoterapi kan favorisere utvikling av resistente virus, mens kombinasjonsbehandling rettet mot f eks både revers transkriptase og protease kan holde replikasjonen så lav at risikoen for å utvikle resistens minker. Behandlingen består derfor av en kombinasjon av minst tre ulike medikamenter fra minst to ulike klasser.

Behandlingen eliminerer ikke virus, men kan effektivt redusere produksjonen av nye viruspartikler slik at for de fleste pasienter vil HIV-1 RNA-nivået i plasma ligge stabilt under deteksjonsgrensen. Behandlingseffekten følges med CD4-tall og HIV-1 RNA kopitall i plasma. Påvisbart HIV-1 RNA i plasma kan være tegn på utvikling av resistente virus.

Det er en stor genetisk variasjon i HIV-1 genomet, ikke bare fra pasient til pasient, men også hos den enkelte pasient. Denne genetiske variasjonen skyldes bl.a at revers transkriptase ikke korrigerer feil som oppstår under DNA-syntesen. Nukleotidene i DNA koder for aminosyrer som er byggesteinene i polypeptidene. Under replikasjonen kan nukleotidforandringer (mutasjoner) i spesifikke posisjoner oppstå som kan resultere i en endret aminosyre. Mutasjonsfrekvensen er beregnet til ca én substitusjon per virusgenom per replikasjonsyklus. Variasjonen forsterkes av at HIV-1 har en høy reproduksjonshastighet, opp mot 10^{10} viruspartikler produseres hver dag. Ulike varianter vil raskt kunne selekteres ved endringer i omgivelsene. Ved suboptimal behandling vil resistente virus selekteres, med terapi-svikt som resultat. Med resistensundersøkelser kan man få svar på om sviktende behandlingseffekt skyldes

utvikling av resistente virus og kan gi informasjon om hvilke medikamenter viruset har utviklet resistens mot og hvilke midler som sannsynligvis er virksomme.

Metoder

Indikasjon for resistensbestemmelse vil være behandlingssvikt, gravide, nydiagnostiserte for å overvåke spredning av resistente virus og før start av behandling.

Genotypisk resistensbestemmelse er rutinemethoden som benyttes i Norge. Det finnes kommersielle tester for fenotypisk resistensbestemmelse, f eks Antivirogram (Virco) og PhenoSense (ViroLogic), men disse benyttes ikke i Norge. Med rekombinant genteknologi lages et virus som har genene for revers transkriptase og protease fra pasientens plasmavirus. Dette hybridviruset testes så i cellekultur for følsomhet mot de forskjellige revers transkriptase- og proteasehemmerene. Denne rekombinant-teknologien er nå utvidet så man også kan teste for følsomhet mot integrase- og fusjonshemmere og chemokine receptor antagonister.

Genotypisk resistensbestemmelse av HIV-1 protease og revers transkriptase utføres rutinemessig, men genotypisk resistensbestemmelse av integrase kan ved behov utføres ved Ullevål. Sekvenseringsbasert genotypisk resistensbestemmelse er mest vanlig og er det som benyttes i Norge. Utgangspunktet er HIV-1 RNA isolert fra pasientens plasma. Protease og revers transkriptase eller integrasegenet amplifiseres ved revers transkriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) før nukleotidsekvensen og dermed aminosyresekvensen bestemmes ved sekvensering. Aminosyresekvensen fra pasientens virus må så sammenlignes med aminosyresekvensen fra et villtypevirus (subtype B referansestamme) for å identifisere eventuelle mutasjoner som er beskrevet å være assosiert med resistens mot bestemte antiretrovirale midler. Det er vanlig å angi resistensmutasjonene som f eks D30N som beskriver at det har skjedd en aminosyreforandring i posisjon 30 fra aminosyren Aspartic acid (D), som er i villtypen, til aminosyren Asparagine (N). Hvilke(n) aminosyre(r) som er forandret i forhold til villtypen har stor betydning for grad og spesifisitet av medikamentell resistens. Mutasjonene graderes som primære og sekundære. Mutasjoner som direkte påvirker binding mellom medikamentet og målproteinene kalles primær mutasjon. Det er beskrevet visse kritiske (major) resistensmutasjoner, men også en rekke minor mutasjoner av ulik betydning. Ulike medikamentklasser kan ha forskjellig følsomhet for resistensutvikling. For non-nukleosid revers transkriptasehemmerene kan f eks én

mutasjon være nok for å gi resistens og også kryssresistens for andre midler innen samme gruppe, mens proteasehemmerene mister sin effekt i nærvær av flere mutasjoner. Enkelte mutasjoner kan også reversere effekten av en annen mutasjon (f.eks. revers transkriptase resistensmutasjonen M184V kan delvis reversere effekten av mutasjoner som gir redusert følsomhet for zidovudine, stavudine og tenofovir). Resistente virus kan også ha redusert replikasjonskapasitet (reduisert viral fitness) sammenlignet med vill-typen som resulterer i redusert sykdomsfremkallende evne. Det finnes flere databaser som kan benyttes for genotypisk tolkning av HIV-1, f.eks. Stanford HIV Drug Resistance Database, <http://hivdb.stanford.edu/hiv/> og Los Alamos National Laboratory HIV Drug Resistance Database, <http://hiv-web.lanl.gov>. En oversikt over kjente resistensmutasjoner mot revers transkriptase-, protease- og integrasehemmerene finnes på www.iasusa.org, der nye resistensmutasjoner oppdateres jevnlig.

Det bør følge en klinisk tolkning av resistensmutasjonsmønsteret da studier har vist at dette gir signifikant bedre behandlingseffekt. Tolkningen er krevende, men det er utarbeidet algoritmer som kan benyttes ved tolkningen. Algoritmene krever jevnlig oppdateringer. En vurdering av behandlingsregime styres også av HIV-RNA nivå i plasma, behandlingshistorie, tidligere resistensresultat og medikament toleranse.

Kommersielle kit for sekvensering av revers transkriptase- og proteasegenet med dataprogram er tilgjengelige, f.eks. TruGene (Bayer) og ViroSeq (Abbott). Haukeland og Ullevål benytter ViroSeq, mens Rikshospitalet benytter en egen-utviklet metode.

Hybridiseringsmetoder, f.eks. INNO-LiPA HIV-1 line probe assay, er også kommersielt tilgjengelig. Den er rimeligere og raskere å utføre enn sekvensering, men den påviser kun kjente resistensmutasjoner og ca 10% av resultatene er inkonklusive.

Det finnes en kommersiell test for geno/fenotyping, Virtual Phenotype (Virco). Det er en indirekte metode som baserer seg på genotypisk analyse og bruk av en database med informasjon om både genotype og fenotype resistensresultat for samme virusisolat fra mer enn 56 000 pasientprøver. Hvis et virus har en genotype som matcher en genotype i databasen, antar man at fenotypen er lik. En prospektiv studie viste god overensstemmelse mellom fenotypisk bestemmelse og Virtual Phenotype.

Både fenotypisk og genotypisk testing av resistens er forbundet med store metodologiske utfordringer og sensitiviteten kan være et problem. Ved for lavt virusnivå i plasma eller når mutanten representerer for lav andel av pasientens viruspopulasjon vil ikke resistensen kunne påvises. Fenotypisk testing krever mer enn 1000 HIV-1 RNA kopier/ml plasma, mens for geno-

typing bør viral load være på 200-1000. Viruspopulasjonen hos den enkelte pasient er heterogen og kan bestå av en blanding av resistente og sensitive virus. Resistente varianter i så liten andel som 1 % av viruspopulasjonen kan være klinisk viktige fordi de under behandlingspress raskt kan vokse og føre til behandlingssvikt. Men med de tradisjonelle sekvenseringsbaserte metodene vil virusvarianter som er mindre enn 20 % av viruspopulasjonen ikke kunne genotypes og det er store lab-til-lab forskjeller i evnen til å påvise subpopulasjoner. Det er imidlertid beskrevet andre metoder (allele-specific PCR, single-genome og ultra-deep sekvensering) som er bedre egnet til å påvise resistensmutasjoner i minoritetspopulasjoner. Ved behandlingssvikt utføres resistensundersøkelse for å vurdere endret medisineringsregime. For å klare å påvise virus med resistensmutasjoner er det viktig å ta prøven under pågående behandling siden andelen virus med resistensmutasjoner raskt kan komme under deteksjonsgrensen når behandlingspresset opphører. Derfor vil også virusvarianter som har resistensmutasjoner mot tidligere behandlingsregime kunne være tilstede i så liten andel at de ikke lenger kan påvises. Derfor vil ikke en negativ resistenstest nødvendigvis bety at medikamentet vil ha effekt.

En ulempe med den genotypiske analysen er at det er vanskelig å bedømme interaksjonen mellom mutasjoner fordi vi ikke kan se om de identifiserte mutasjonene finnes i den samme viruspopulasjonen eller er fordelt i ulike populasjoner. I tillegg påvises mange mutasjoner som ikke fører til resistens. Det er kun nukleotidmutasjoner som gir aminosyresubstitusjoner som kan føre til medikamentell resistens. Enkelte aminosyresubstitusjoner har for øvrig ingen relasjon til medikamentell seleksjon og betegnes som naturlige polymorfismer. Disse kan likevel bidra til å øke resistensen ved samtidig tilstedeværelse av andre mutasjoner innen samme enzym.

Det er nylig vist at enkelte revers transkriptasehemmere også selekterer for mutasjoner i "connection" og RNase H området av revers transkriptase som ligger utenfor området som dekkes av standardmetodene for genotyping. Den kliniske betydningen av disse mutasjonene på virologisk respons er imidlertid ikke kjent. Genotypisk resistensbestemmelse har vist seg å være kostnadseffektiv i forbindelse med behandling, fenotyping har ikke vist samme resultat.

Genotypisk resistensbestemmelse av HIV-1 protease og revers transkriptase har blitt utført på Haukeland siden 1998, på Rikshospitalet siden 2001 og på Ullevål siden 2002.

Smitte med HIV-1 som har resistensmutasjoner mot antivirale midler

Det er i varierende grad observert overføring av resistente HIV-1 i land der antiretroviral behandling er tilgjengelig. Variasjonen i prevalens skyldes flere faktorer bl.a seleksjons-bias, forskjellig behandlingsregime på populasjonsnivå, forskjell i risikoadferd og tilgang på medisiner mellom risikogrupperne, forskjellig definisjon av resistens, og forskjellig tidsrom mellom eksponering og prøvetaking (en rapport viser imidlertid at overført HIV-1 resistens kan persistere i flere år). Forskjellige resultat fra forskjellige land viser

betydningen av egne nasjonale overvåkingssystem. I forbindelse med overvåking av primær HIV-1 resistens har Folkehelseinstituttet siden januar 2006 samlet inn revers transkriptase og protease gensekvenser fra personer med nydiagnostisert HIV-1 infeksjon. I en treårs periode fra 2006 til 2009 ble det samlet inn sekvenser fra 332 av 823 pasienter (40,3% av de nydiagnostiserte) og prevalensen av mutasjoner relatert til primær HIV-1 resistens var 8,4%.

Resistens som oppstår under behandling er mer vanlig enn overført resistens. Det er i dag ingen overvåking av behandlingsservivet HIV-1 resistens i Norge.

Antall genotypisk HIV-1 resistensbestemmelser (protease og revers transkriptase) utført på Ullevål i perioden 2002 – August 2009:

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	Pr august 2009
Totalt antall:	83	119	176	287	249	311	384	232
Antall meldt MSIS (Overvåking av primærres.):					99	103	106	60

Ullevål har fra 2009 en egenutviklet test for genotypisk resistensbestemmelse av integrasehemmere og har foreløpig testet 2 prøver. Det ble ikke påvist resistensmutasjoner i de prøvene.

Antall genotypisk HIV-1 resistensbestemmelser (protease og revers transkriptase) utført på Rikshospitalet i perioden 2001 – 2008:

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Totalt antall:	4	16	26	21	33	77	89	53

Antall genotypisk HIV-1 resistensbestemmelser (protease og revers transkriptase) utført på Haukeland sykehus i perioden 2000 – 2008:

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Totalt antall	143	170	123	64	40	7	21	15	19

Vedlegg 3. Resistens hos HBV-og HCV

Antivirale medikamenter:

Foruten interferon, er det per i dag 5 antivirale midler; Lamivudin, Adefovir, Entekavir, Telbivudin og Tenofovir godkjent for behandling av HBV i Norge.

Resistensundersøkelser på HBV utføres i dag på Avdeling for virologi, FHI, på pasienter som får behandling med antivirale medikamenter, eller som vurderes for behandling.

Overvåking av virusresistens hos nysmittede/ny-oppdagede HBV-infiserte bør diskuteres, men erfaringen er at det sees lite mutasjoner som gir virusresistens hos HBV-infiserte som ikke går på behandling.

Resistensutvikling:

Alle de antivirale medikamentene mot HBV er nukleosid-/nukleotid-analoger, og hemmer dermed virusets replikasjonsmekanismer. Viruset utvikler resistens ved å mutere i polymerasen slik at det kan fortsette å replikere ved bruk av analogene. Dette er mutasjoner som fører til aminosyreforandringer. For å kompensere for lavgradig virusproduksjon med analoger muterer viruset ytterligere (såkalte kompensatoriske mutasjoner), slik at viruset kan replikere i høye kopitall. Antivirale midler som tilhører samme gruppe har felles angrepspunkt og gir kryssresistens. Dette fører til at

ved resistensutvikling må man bytte til andre antivirale midler det ikke allerede er utviklet resistens mot.

For enkelte medikamenter slik som lamivudin er en mutasjon tilstrekkelig for resistensutvikling og dermed opptrer resistens ganske raskt. Andre medikamenter krever multiple mutasjoner for resistensutvikling og man ser resistens i liten grad.

Metode:

Mutasjoner som gir virusresistens hos HBV er spredt utover i polymerasegenet, slik at sekvensering er foreløpig den mest aktuelle metoden for påvisning da denne dekker store områder med mutasjoner i en analyse. Ved FHI sekvenseres i dag hele small S-genet som dekker alle de aktuelle mutasjonene og som brukes til genotypebestemmelse. Dermed undersøkes det for resistens mot samtlige av de 5 antiviralia på markedet i dag. Når resistensundersøkelser er rekvirert sjekkes sekvensene manuelt for mutasjoner i tillegg til at det sendes sekvenser inn til en HBV-genbank, Hepsek, som også har mulighet for å sjekke for mutasjoner. Imidlertid er sekvensering en lite sensitiv metode da minst 20% av viruspopulasjonen må være mutert for at mutasjonene skal kunne oppdages. Når sekvensene sendes til en genbank vil man kun oppdage mutasjoner som

Tabell 1 – Pasienter som er på behandling, resistens undersøkelser er gitt i parentes

	ADV	ETV	TRU	LDT	LMV	TEN	PINF	Ukjent
ADV	4 (2 neg)							
ETV	1	36 (4 neg)						
TRU		1	15					
LDT				3 (1 pos/ 2)				
LMV	8				68* (19 pos/ 64)			
TEN						14 (3 Neg)		
PINF							9	
Ukjent								33

* Tall fra mai 2004-mai 2009

Forklaring til tabellen: ADV: Adefovir, ETV: Entekavir, TRU: Truvada, LDT: Telbivudin, LMV: Lamivudin, TEN: Tenofovir, PINF: Pegylert interferon.

forekommer i majoritet. For pasienter som vurderes for behandling, og der man gjør en genotypebestemmelse, sjekkes det kun mot hepssek-databasen.

Ved sekvensering har man i tillegg mulighet for å oppdage nye mutasjoner man per i dag ikke kjenner til.

Ønsker man å oppdage mutasjoner på et tidlig stadium må PCR-teknikker benyttes, men da vil man kun påvise enkeltmutasjoner. PCR er imidlertid en langt billigere og raskere metode.

Hva finner vi i Norge:

Resistensundersøkelser på lamivudin ble innført i mai 2004. Tilbudet om resistensundersøkelser ble utvidet til å gjelde samtlige antivirale medikamenter fra mai 2008. I den forbindelse ble det innført i laboratoriedatasystemet NetLab et system for registrering av pasienter på behandling.

Tabell 1 viser antall pasienter (130 totalt) som de siste årene har gått på behandling og sendt inn prøver til FHI for undersøkelse (mono- og kombinasjons terapi). Antall resistensundersøkelser er angitt i parentes og vil kunne omfatte flere undersøkelser på en pasient.

Oppbevaring:

Ved avdeling for virologi FHI samles samtlige sekvenser som er sekvensert i small-S genen i Bioedit, et program for sekvensbehandling, med en samle-fil for hvert år. Det tas jevnlig back-up på filene.

Rapportering:

I dag rapporteres resistensanalyser til rekvirenten som: Resistens påvist /resistens ikke påvist for de enkelte antivirale medikament.

Tidligere (frem til mai 2008) ble det spesifisert de enkelte mutasjonene som ble påvist, men dette synes å være unødig komplisert for mange rekvirenter.

Resistensovervåking i andre land enn Norge:

Virgil var tidligere et EU-nettverk for overvåking av virusresistens for HBV, HCV og influensa (www.virgil-net.org). Prosjektet var et 4-år prosjekt som ble avsluttet i 2008 og videreføring er usikkert. Dersom det blir aktuelt å videreføre Virgil ønsker FHI å delta med HBV. HepSeq er etablert av HPA som et hjelpemiddel i dataanalyse av HBV.

Resistens oppstår hovedsaklig hos den enkelte pasient på behandling, og spredning av resistente stammer er foreløpig ikke observert slik en ser hos influensa. Behovet for internasjonal overvåking blir derfor ikke like stor som for influensa.

Overvåking av HCV resistensutvikling

Antivirale medikamenter:

Pegylert interferon alfa pluss ribavirin er standard behandlingsregime, der varigheten av behandling varierer avhengig av genotype, viral load og respons på behandling.

Resistensutvikling:

Mekanismene for Ribavirin er foreløpig uklare, flere hypoteser foreligger. Interferon non-respondere; ca halvparten av pasienter med HCV genotype I responderer ikke på interferon behandling. Mekanismene bak dette er meget komplekse, men skyldes mest sannsynlig en kombinasjon av både virus og vertsfaktorer. Å teste for både virus- og vertsfaktorer (biomarkører) kan derfor bli høyst aktuelt for å kunne predikere og overvåke effekten av behandling i fremtiden.

Mange medikamenter er eller har vært under utprøving, men toksisitet og resistensutvikling mot ulike medikamenter er et stort problem. I utgangspunktet er alle virusets proteiner target for medikamentell behandling, men enzyminhiberende medikamenter mot protease og polymerase er mest aktuelle ettersom disse har kommet lengst i utvikling og utprøving.

Sekvensering av aktuelle target-gener og/eller PCR-baserte mutasjonsdeteksjons-analyser vil være mest aktuell for påvisning av mutasjoner som gir resistens på tilsvarende måte som for HBV.

Vedlegg 4. Resistens hos virus i herpesgruppen

Herpesviridae består av 8 humanpatogene species. Antivirale midler finnes mot fire av disse artene. Herpes simplex-virus 1 (HSV1), herpes simplex-virus 2 (HSV2), varicella-zoster-virus (VZV) og cytomegalovirus (CMV). Noen antivirale midler kan ha en viss effekt mot Epstein-Barr-virus, humant herpesvirus 6, humant herpesvirus 7 og humant herpesvirus 8 (Kaposi sarkom-assosiert virus). Men bruk av tilgjengelige antivirale midler ved infeksjon av de sist nevnte virus ser ikke ut til å påvirke det kliniske forløp.

I det følgende blir bare HSV1 og 2, VZV og CMV omtalt.

Patogenese og sykdomsbilder

Herpesviridae er DNA-virus med et relativt stort genom (160-220 kbp). Etter primærinfeksjon blir virus værende i en latent fase. HSV1 og 2 og VZV er latent i nerveceller i ganglier, mens CMV først og fremst gjemmer seg i hematopoietiske stamceller.

Disse virus kan reaktiveres. Hos immunfriske vil reaktivert infeksjon gi få eller ingen symptomer. Ved redusert T-celleimmunitet kan disse virus gi infeksjonssykdom som kan være livstruende. Derfor kan det være aktuelt å gi langvarig profylakse med et antiviralt middel.

Aktuelle medikamenter

De medikamenter som brukes i behandlingen av Herpesviridae er først og fremst rettet mot dannelsen av virus DNA.

Nukleosidanaloger:

Aciclovir (ACV) og ganciclovir (GCV) er guanosinanaloger som må trifosforyleres for å bli aktive. Den første fosforyleringen foretas av viruskodete enzymer. Thymidinkinase hos HSV1 og 2 samt VZV. Hos CMV utføres fosforyleringen av pUL97 som er proteinkinase. Virusspesifikke DNA-polymeraser setter de trifosforylerte nukleotidene inn i virus-DNA. Midlene har en viss hemmende effekt på virus-DNA-polymerase, men de virker først og fremst som kjedeterminatorer.

Penciclovir er en nukleosidanalogue som brukes i lokalbehandlingen av HSV 1 og 2 infeksjoner.

Fordelen med nukleosidanalogene er at de blir aktivert (trifosforylert) bare i virusinfiserte celler. Bruk er derfor forbundet med få bivirkninger.

Biotilgjengeligheten av ACV og GCV er mindre enn 10%. Ved å lage en prodrug der ACV og GCV er forestret med valinsyre økes biotilgjengeligheten til mer enn 60% (valaciclovir, valganciclovir). Muligheten

for peroral administrering har ført til økt mulighet for behandling og profylakse av VZV og CMV-infeksjoner.

Nukleotidanaloger:

Cidofovir (CDV) er en nukleotidanalogue. Den fosforyleres av cellulære enzymer og kan derfor brukes ved resistens mot nukleosidanaloger som skyldes resistensmutasjoner hos thymidinkinase eller pUL97. CDV har imidlertid betydelige bivirkninger, ikke minst nefrotoksisitet.

Enzyminhibitorer:

Foscavir (PFA) er fosfonomausyre, som binder og inaktiverer virus DNA-polymerase, har en bred antiviral aktivitet. Imidlertid er PFA nefrotoksisk.

Maribavir (MBV) er et benzimidazol med antiviral aktivitet mot CMV. Det er nå i fase III-utprøving. Midlet binder seg til pUL97 og hemmer derved fosforyleringen av viktige virale og cellulære proteiner.

Resistensbestemmelse:

I klinisk praksis kan resistensbestemmelse utføres enten som en fenotypisk resistensbestemmelse eller genotypisk resistensbestemmelse.

Fenotypisk resistensbestemmelse:

Mengden virus i en suspensjon kan måles som antallet plakk (infeksjonsfoci) som dannes når virususpensjonen i ulike fortyninger tilsettes en cellekultur. En antar at en viruspartikkel er opphav til et plakk. Ved fenotypisk resistensbestemmelse tilsettes en bestemt mengde virus til en rekke cellekulturer og deretter tilsettes det antivirale middel i ulike fortyninger. Etter en viss tid telles antall plakk i cellekulturer tilsatt de ulike mengder antiviralt middel. En kan da beregne den mengde middel som skal til for å hemme plakkdannelsen med 50%; inhibitory concentration 50% (IC50). Når en slik resistensbestemmelse skal utføres må en først dyrke virus, lage en suspensjon av virus, bestemme og justere mengden virus i suspensjonen og så den ut på cellekulturer med de ulike medikamentkonsentrasjoner. Samtidig må en inkludere en kjent medikamentfølsom stamme som systemkontroll. Hva som skal være følsomhetsgrense for ulike virus og antivirale midler er ikke fastlagt. En regner med at det må foreligge minst en 3-4 gangers økning i IC50 sammenlignet med referansestammen, før en kan snakke om utvikling av resistens.

Genotypisk resistensbestemmelse.

De virus som ved fenotypisk resistensbestemmelse har vist seg resistente mot et eller flere midler blir underlagt genetisk analyse. Det vil si at man sekvenserer de gener som er involvert i midlets antivirale aktivitet. For aciclovirs effekt på HSV vil det være thymidinkinase og DNA-polymerase. Når en hos disse resistente mutantene gjentagende ganger kan påvise bestemte mutasjoner, kan en anta at disse medfører resistens. Etter hvert kan en lage et kart over resistensmutasjonene. Dette vil aldri bli fullstendig idet nye mutasjoner kan påvises og tilleggsmutasjoner vil kunne forsterke eller oppheve en resistensmutasjon. For å være sikker på at en mutasjon medfører resistens må den muterte biten av genet settes inn i tilsvarende gen hos et referansevirus. Dette muterte referansevirus må så underkastes en fenotypisk resistensbestemmelse for å kartlegge graden av resistens.

Genotypiske resistensbestemmelse egner seg godt til rutinediagnostikk. En kan foreta en PCR-amplifisering av de aktuelle gener direkte fra prøvematerialet og deretter sekvensere og se etter mutasjoner. En slik genotypisk resistensbestemmelse kan gjøres i løpet av ett til to døgn.

Vaksiner mot herpesvirus

Det finnes en god attenuert vaksine mot vannkopper. Som posteksposisjonell profylakse kan en også bruke vannkoppehyperimmunglobulin.

Mot HSV og CMV forsøker man å utvikle vaksiner som enten skal gi beskyttelse mot infeksjon eller brukes etter infeksjon for å gi et mildere sykdomsforløp eller hindre overføring av virus fra mor til foster.

Det er ingen tilgjengelig vaksine mot HSV1 og 2 eller CMV.

Cytomegalovirus

Aktuelle midler:

Nukleosidanaloger: Ganciclovir og valganciclovir, er de viktigste midler mot CMV.

Aciclovir brukes noen steder som CMV-profylakse etter organtransplantasjon.

Nukleotidanaloger: Cidofovir

DNA-polymerasehemmer: Foscavir (fosfonomaursyre)

pUL97-hemmer: Maribavir

CMV-hyperimmunglobulin er også tilgjengelig, men effekten er tvilsom.

Indikasjon for bruk av antivirale midler mot CMV

Intrauterine infeksjoner:

Det er ikke etablert noen behandling der en gir anti-

ralt middel til mor eller til foster ved påvist intrauterin infeksjon. Det har vært noen kasuistiske meddelelser der en har gitt hyperimmunglobulin til mor eller foster. Ingen overbevisende effekt.

Kongenital infeksjon:

Ganciclovir brukes etter fødsel for kortere eller lengre perioder. Skal kunne redusere insidensen av hørselsskader. Behandlingen er ikke etablert som standard.

CMV-infeksjon hos immunfriske.

De fleste infeksjoner har asymptomatisk forløp. Mononukleoselignende sykdomsbilde kan forekomme.

Dette er ikke indikasjon for antiviral behandling

CMV-infeksjoner hos pasienter med redusert cellemediert immunitet.

AIDS-pasienter.

Med den aktive antiretrovirale behandling som nå brukes er insidensen av alvorlige CMV-infeksjoner sterkt redusert. De fleste organer kan angripes, men det vanligste er pneumoni og retinitt. Behandlingen vil være langvarig.

Organtransplantasjon.

Immunsuppresjon og kronisk betennelsestilstand fører til økt reaktivering av latent infeksjon, og stimulert replikasjon av virus både ved primærinfeksjon og ved reaktivert infeksjon. Sykdommene inndeles i CMV-syndrom og CMV-sykdom. Ved syndrom har pasientene sykdomsfølelse, CMV påvises i blod, men det er ingen organmanifestasjoner. Ved sykdom har pasientene organmanifestasjoner.

Det er ulike måter for å forhindre og å behandle CMV-infeksjoner hos denne gruppen.

CMV-profylakse: Det gis valganciclovir i minst 3 måneder fra transplantasjonstidspunktet. Ulempen har vært en forsinket utvikling av immunitet og derved mulighet for sene infeksjoner. Profylakse brukes først og fremst når pasienten er CMV-IgG negativ og får organ fra en CMV-IgG positiv giver slik at det foreligger mulighet for en primærinfeksjon. Primærinfeksjon har vanligvis et alvorligere forløp enn reaktivert infeksjon.

Preemptiv behandling: Pasientene overvåkes med CMV-PCR i blod ukentlig. Det gis valganciclovir i minst 3 uker eller inntil en har to negative prøver.

Behandling av sykdom: Ved bruk av profylakse og preemptiv terapi er CMV-sykdom blitt sjeldnere å påtreffes. En utfordring er de sene CMV-sykdommer >3 måneder etter transplantasjon når pasienten ikke lenger er så intenst overvåket.

CMV-sykdom etter stamcelle transplantasjon. CMV-infeksjon og sykdom ser en ved bruk av immun-suppressiva ved graft versus host disease (GvHD).

Andre grunnlidelser.

Ved aggressiv behandling av autoimmune sykdommer og noen kreftformer kan CMV bli reaktivert. Dette fører sjelden til alvorlig sykdom. Unntak kan være CMV-induserte sår i gastrointestinaltraktus.

CMV-resistens: insidens og klinisk signifikans

Ganciclovir: Resistens mot GCV blir enten definert som IC50 >6-12 µM eller 2-5 ganger økning i IC50 hos virus isolert i løpet av terapi.

Inntil år 2001 ble profylakse vanligvis gitt som ganciclovir tabletter og behandling som ganciclovir iv. Pga dårlig biotilgjengelighet førte bruk av ganciclovir tabletter til suboptimale konsentrasjoner og derved økt mulighet for seleksjon av resistente stammer.

Ved bruk av valganciclovir ble det i en studie funnet en insidens av resistens på 2, 7, 9, 13 og 15% etter behandling av AIDS-pasienter i 3, 6, 9, 12 og 18 måneder. Hos organtransplanterte pasienter vil insidensen av GCV-resistens variere med CMV-serostatusgruppe (CMV-IgG+/-), og grad av CMV sykdom. I en studie av hjertetransplanterte pasienter var insidensen av GCV-resistens 1,5%. Den var høyest etter CMV sykdom (12,5%), ved serostatusgruppe D+/R- (5,5%). Vår egen erfaring er at GCV-resistens først og fremst opptrer hos serogruppe D+/R- og etter minst 8 ukers behandling.

Et viktig spørsmål er om CMV som er reistent mot GCV og andre antivirale midler har redusert virulens. Den kliniske erfaring tilsier at hos immunsvekkede verter vil resistente virus kunne gi livstruende infeksjoner. Ved residiv etter vellykket behandling vil en kunne se at det er villtypen som replikerer raskest og er årsak til ny sykdom.

Ved "marker transfer" kan en overføre resistensmutasjoner i UL97 og i UL54 til villtypevirus. Dernest sammenligner en replikasjonshastighet til villtype og mutant i cellekultur. Det viser seg at GCV-resistensmutasjoner både i UL97 og UL54 medfører langsommere veksthastighet.

CMV-mutanter virulens må ses i sammenheng med vertens immunstatus. Lungetransplanterte pasienter som er den gruppen transplanterte pasienter som får den kraftigste immunsuppresjon, har også hyppigst forekomst av resistensmutasjoner og alvorligst sykdomsforløp.

Det er å anta at smitte med resistent virus først og fremst vil være et problem når den skjer mellom immunsupprimerte personer.

Mekanismer og påvisning

Som nevnt innledningsvis kan resistensbestemmelse av CMV (og andre virus) foregå ved en plakkreduksjonstest og ved genotypisk resistensbestemmelse. Ved begge typer undersøkelse må den resistente varianten utgjøre minst 20% av samlet virus load.

Siden virus vokser langsomt i cellekultur kan en fenotypisk resistensbestemmelse ta mange uker (måneder) og er derfor ikke praktisk i rutinediagnostikk og overvåkning. Genotypisk resistensbestemmelse er mest egnet som rutine metode. For CMV er man i overskuelig fremtid i den situasjon av det kun er to gener (UL97 og UL54) som skal amplifiseres.

Ved påvisning av nye mutasjoner må en kombinere bioinformatiske analyser og "marker transfer" for å kunne fastslå om det dreier seg om en resistensmutasjon.

Et viktig poeng er valg av prøvemateriale. Som regel vil det være samsvar mellom den virusstamme som sirkulerer i blod og den som gir organmanifestasjoner. Men det kan også være slik at det er en resistent mutant som gir organmanifestasjonen, mens sensitivt virus sirkulerer i blod. Eksempler er retinit hos AIDS-pasienter og GI-ulcera hos transplanterte pasienter. Det kan derfor være et poeng å undersøke virus /virus-DNA fra det affiserte organ og ikke bare fra blod.

Behovet for overvåkning

Nå som immunsupprimerte pasienter (HIV-infiserte og organtransplanterte pasienter) lever lenger, vil mange av dem få tilbakevendende CMV-infeksjoner. Hos disse pasienter bør det gjøres resistensbestemmelse ved hver ny sykdomsepisode.

Også andre pasientgrupper som skal ha langvarige og ikke mist gjentatte behandlinger, bør overvåkes. Det tenkes ikke minst på kongenital CMV-infeksjon der trenden nå er å gi langvarig CMV-supprimerende behandling.

Konklusjon

Overvåkning av CMV-resistens bør begrense seg til enkelte pasientgrupper med langvarige og tilbakevendende infeksjoner. For tiden vil det være AIDS-pasienter, pasienter med allogene organ eller stamcelletransplantasjon og kongenital CMV-infeksjon. Men immunsupprimerende behandling blir stadig mer aktuelt også hos andre pasientgrupper.

Det foreligger liten kunnskap om hvordan en best skal gi antiviral terapi både for å gi effektiv behandling og for å unngå seleksjon av resistente mutanter. Et overvåkningsprogram hos disse pasientgrupper vil gi oss slik informasjon.

Det er for tiden ingen stor fare for spredning av resistent CMV.

Herpes simplex-virus 1 og 2.

(Disse virus behandles samlet)

Aktuelle midler:

Nukleosidanaloger: Aciclovir og valaciclovir, er de viktigste midler mot HSV.

Ganciclovir og Valganciclovir er også aktive mot HSV.

Penciclovir (bare som krem)

Nukleotidanalogue: Cidofovir

DNA-polymerasehemmer: Foscavir (fosfonomaursyre)

Indikasjon for bruk av antivirale midler mot HSV

Primær HSV-infeksjon forekommer overalt på hud og slimhinner, men pga. smittemåte først og fremst som orale, periorale og genitale infeksjoner.

Disse infeksjonene er i liten grad gjenstand for behandling bortsett fra hvis infeksjonen er utbredt og smertefull.

Ved redusert cellemediert immunitet er det viktig å behandle HSV-infeksjoner da de her tenderer til å ta et alvorlig forløp.

Reaktivert HSV-infeksjon:

Den alvorligste tilstand er HSV-1 encefalitt som skal behandles med aciclovir iv. bare på mistanke.

Etter primærinfeksjon vil en viss andel få reaktivert infeksjon. HSV-1 reaktiveres lettest fra kraniale ganglier mens HSV-2 reaktiveres lettest fra sakrale ganglier. Forløpet er fra asymptomatisk til betydelige plager i form av blemmer og smerter. Vanligvis avtar reaktiveringshyppigheten over tid. Soleksponering, andre infeksjonssykdommer, menstruasjon og sykdommer og medikamenter som nedsetter den spesifikke cellemedierte immunitet fører til økt reaktiveringshyppighet.

Den hyppigste indikasjon for aciclovir og valaciclovir er nå forebygging av reaktivert HSV-infeksjon. Ved hyppig reaktivering av genital herpes gis profylakse i flere måneder og ved perioral herpes gis for eksempel profylakse i forbindelse med soleksponering.

Det gis også langvarig anti-HSV-profylakse ved behandling med immunosupprimerende medikamenter.

HSV-resistens: insidens og klinisk signifikans

Grensen mellom aciclovir-følsom og resistent er satt til IC50 på 2 mg/L mens når IC50 er høyere enn 5mg/L brukes betegnelsen høygradig resistens.

Til tross for utbredt bruk av aciclovir både i behandling av HSV-infeksjoner og til profylakse er det sjelden en ser klinisk betydningsfulle infeksjoner med aciclovir-resistent HSV hos immunkompetente personer.

Hos immunkompetente personer med residiverende genital herpes som behandles med aciclovir, finner en

resistent virus hos opptil 8,6% av pasientene. Men det vanlige er resistens hos mindre enn 0,5% av pasientene. Bare svært sjelden har aciclovir-resistens påvirket det kliniske forløp. Ved herpes labialis finner en langt lavere forekomst av aciclovir-resistent HSV. I en studie ble det funnet resistens bare hos en av 1000 pasienter (0,1%). Denne diskrepansen kan i noen grad skyldes at HSV-2 i utgangspunktet er mindre følsom for aciclovir enn HSV-1.

Hos immunkompromiterte pasienter er forekomsten av aciclovir-resistent HSV langt hyppigere enn hos immunfriske. Blant organtransplanterte pasienter har en funnet insidens av aciclovir-resistent HSV på 3-5%, mens en hos benmargstransplanterte pasienter har funnet insidens av resistens helt opp mot 30%. Det ser imidlertid ikke ut til at det har vært noen økning i insidensen av aciclovir-resistent HSV verken hos immunfriske eller immunosupprimerte personer.

Når det gjelder forekomst av resistens mot de andre antiherpesmidler foreligger det ikke systematiske undersøkelser. Ganciclovir viser full kryssresistens med aciclovir. Det er liten grad av kryssresistens mellom aciclovir og cidofovir og nesten ingen kryssresistens mellom aciclovir og foscavir.

Vanligvis har resistent virus redusert virulens og gir derfor opphav til klinisk sykdom bare hos pasienter med redusert immunitet. Tymidinkinase som er viktig for reaktivering fra latens gjør at slike resistente virus i liten grad reaktiveres. Med den massive bruken av aciclovir som vi har nå er det å forvente at det dukker opp resistent virus med intakt virulens. Matematiske beregninger antyder at insidensen av aciclovir-resistens vil være fra 0,5 til 3,4% i løpet av en 50 års periode regnet fra markedsføringen i 1982.

Mekanismer og påvisning

Resistens mot de tilgjengelige antivirale midler skyldes mutasjoner i tymidinkinasegenet og DNA-polymerasegenet. Disse mutasjonene skjer spontant under virusreplikasjon og blir selektert ved antiviral terapi.

Aciclovir, ganciclovir og penciclovir må alle monofosforileres av tymidinkinase. Ca 95% av all resistens mot disse midler skyldes bortfall av tymidinkinaseaktivitet eller endringer i tymidinkinase slik at disse midlene ikke lenger blir akseptert som substrat.

Mutasjoner i virusets DNA-polymerase kan gi opphav til resistens mot alle antivirale midler. Det vil være kryssresistens mellom cidofovir og nukleosidanalogene. Resistens mot foscavir skyldes utelukkende mutasjoner i DNA-polymerasen. Det er nesten ikke kryssresistens mellom foscavir og de andre antivirale midler.

Resistensmutasjoner i tymidinkinase og DNA-polymerase kan påvises ved PCR amplifikasjon og sekvensering direkte fra prøvematerialet. HSV er lett å isolere fra prøvematerialer og det replikerer raskt i cellekultur.

Påvisning av resistens ved måling av IC50 i cellekultur har derfor vært den foretrukne metode.

Behov for resistensovervåkning

Det er et økende behov for resistensbestemmelse av HSV hos immunsupprimerte pasienter. Men behovet er foreløpig ikke større enn at ett laboratorium vil kunne betjene hele landet. Tatt i betraktning at HSV-infeksjoner er utbredte og at forbruket av aciclovir er stort, bør et visst antall kliniske isolater resistensbestemmes hvert år. Kriteriene for valg av isolater bør diskuteres.

Konklusjon

Aciclovir/valaciclovir er det dominerende medikament i behandling av HSV-infeksjoner. I forløpet av behandlingen selekteres det aciclovir-resistente mutanter, men foreløpig ser det ut til at det bare er hos immunsupprimerte pasienter at aciclovir-resistens representerer et behandlingsmessig problem. Det skyldes at de fleste mutanter har redusert virulens. Behovet for resistensbestemmelse av HSV er derfor størst ved HSV-infeksjoner hos immunsupprimerte.

På bakgrunn av det store forbruket av aciclovir bør det også med jevne mellomrom gjøres resistensbestemmelse av HSV-isolater fra immunfriske for tidlig å kunne fange opp virulente, aciclovir-resistente HSV-mutanter.

Varicella-zoster-virus (VZV)

Aktuelle midler

Nukleosidanaloger: Aciclovir og valaciclovir, er de viktigste midler mot HSV.

Ganciclovir og valganciclovir er også aktive mot HSV.

Penciclovir (bare som krem)

Nukleotidanalogs: Cidofovir

DNA-polymerasehemmer: Foscavir (fosfonomaursyre)

Dette er de samme midler som brukes i behandlingen av HSV-infeksjoner. Imidlertid er aciclovir IC50 høyere for VZV enn HSV slik at her bør en bruke valaciclovir fremfor aciclovir ved peroral behandling.

Indikasjon for bruk av antivirale midler mot VZV

Vannkopper er den primære VZV-infeksjon. Denne infeksjonen krever vanligvis ikke antiviral behandling hos immunfriske mennesker bortsett fra ved komplikasjoner som primær VZV-pneumoni.

Immunsupprimerte pasienter som ikke har hatt vannkopper, skal alltid ha aciclovir profylakse ved vannkopper i miljøet og de skal alltid behandles med aciclovir hvis de får vannkopper.

Ved herpes zoster (helvetesild) som er reaktivert VZV-infeksjon, vil en hos immunfriske gi behandling til personer over 50 år for å hindre postherpetisk nevralgi og når herpes zoster affiserer øyne. Hos immunsvekke pasienter gir en alltid aciclovir ved herpes zoster.

VZV-resistens: insidens og klinisk signifikans

Når det gjelder resistens mot aciclovir så er den i mer enn 90% av tilfellene forårsaket av mutasjoner i tymidinkinasegenet. Imidlertid er dette mer stabilt enn hos HSV slik at resistens forekommer langt sjeldnere hos VZV. Ganciclovir har også antiviral aktivitet mot VZV og her er det full kryssresistens med aciclovir. Resistens mot foscavir og cidofovir skyldes mutasjoner i virusets DNA polymerase. Som for HSV er det full kryssresistens mellom aciclovir, ganciclovir og cidofovir ved DNA-polymerase mutasjoner. Men det er i liten grad kryssresistens mellom disse midlene og foscavir. Som nevnt er resistent VZV uvanlig. Det finnes derfor først og fremst kasuistikker som belyser dette fenomenet.

Mekanismer og påvisning

De samme mekanismer som ligger til grunn for HSV-1/2 resistens gjør seg gjeldende hos VZV. Antagelig skyldes mer enn 90% mutasjoner i tymidinkinasegenet og resterende del mutasjoner i DNA-polymerasen.

Da VZV kan være vanskelig å dyrke vil påvisning av resistens måtte basere seg på amplifisering og sekvensering av tymidinkinase og DNA-polymerase direkte fra prøvemateriale.

Behovet for overvåkning

En har ikke påvist spredning av resistent VZV. Resistensbestemmelse av VZV mot antivirale midler vil først og fremst være knyttet til seleksjon av resistente virus hos immunsupprimerte ved langvarig behandling. Det er derfor foreløpig ikke noe behov for å etablere overvåkning av VZV-resistens.

Konklusjon

Aciclovir/valaciclovir er de dominerende medikamenter i behandling av VZV-infeksjoner. Behovet for behandling og profylakse er først og fremst knyttet til primærinfeksjon og reaktivert infeksjon hos immunsupprimerte pasienter. Det er et visst behov for resistensbestemmelse av VZV også i vårt land. Spørsmålet er om det etableres et tilbud hos oss eller om vi skal kjøpe tjenesten i utlandet. Det er for tiden ikke behov for overvåkning av VZV-resistens.

Vedlegg 5. Uttalelse om biobank

Uttalelse ved epost fra biobanksjef ved Oslo universitetssykehus Wenche Reed:

Fra: Wenche Reed [Wenche.Reed@radiumhospitalet.no]

Sendt: 5. november 2009 15:16

Til: Halvor Rollag

Kopi: Mona Holberg-Petersen; Birgitta Åsjø; Dudman, Susanne Gjeruldsen; Vik, Inger Sofie Samdal;

Aksel Sogstad; Heidi Thorstensen

Emne: SV: Virus-biobank

Opprettelse av biobank i forbindelse med nasjonal overvåkning av virusresistens mot antivirale midler

Jeg har diskutert din henvendelse med vårt personvernombud Aksel Sogstad.

1. Slik vi forstår henvendelse er det ønskelig å opprette et nasjonalt helseregister, bl.a. for å overvåke resistens mot herpesvirusgruppen og HIV. For at dette skal være mulig må det foreligge konsesjon fra Datatilsynet. Rent praktisk betyr det at ønske om etablering av et helseregister meldes internt til personvernombudet, som vil sende en søknad om konsesjon til Datatilsynet. Siden dette dreier seg om spesielt sensitiv informasjon vil dere måtte regne med at en konsesjon fra Datatilsynet vil forutsette et samtykkebasert helseregister. Ønsker man å bruke data fra dette registeret for forskningsformål formaliseres de enkelte forskningsprosjekter gjennom personvernombud og REK på vanlig måte.

2. Dere ønsker å opprette en forskningsbiobank med prøver fra pasientene. Dere kan søke REK om opprettelse av en forskningsbiobank for et bestemt formål, uten at det direkte linkes opp til et forskningsprosjekt, såkalt samtykkebasert tematisk eller generell forskningsbiobank. Siden dere ønsker at biobanken skal kobles opp mot opplysninger i det aktuelle helseregisteret ved fremtidige forskningsprosjekter, er det mulig at REK vurderer at godkjenningen av en forskningsbiobank for overvåkning av virusresistens vil forutsette en konsesjon fra DT mht dette helseregisteret. Dere kan selv drøfte dette med REK, evt. kan vi bistå.

Hilsen Wenche Reed

Wenche Reed
Biobankkoordinator, dr.med.
Forskningstøtteavdelingen
Forskningsvn.2b
Rikshospitalet HF
0027 Oslo
wenche.reed@radiumhospitalet.no
Telefon 23075705
Mobil 95081804

Litteratur

- Tiltaksplanen for medisinsk mikrobiologi. Rapport fra arbeidsgruppe til Sosial- og Helsedirektoratet. Feb. 2004. Saksnr. 02/39.
- Resistens ved virusinfeksjoner. Dudman SG, Stene-Johansen K, Vik ISS. Tidsskr Nor Laegeforen. 2008 Nov 20;128(22):2597-2600.
- Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) viruses detected in Europe during season 2007-8 had epidemiologic and clinical characteristics similar to co-circulating susceptible A(H1N1) viruses. Ciancio BC, Meerhoff TJ, Kramarz P, Bonmarin I, Borgen K, Boucher CA, Buchholz U, Buda S, Dijkstra F, Dudman S, Duwe S, Hauge SH, Hungnes O, Meijer A, Mossong J, Paget WJ, Phin N, van der Sande M, Schweiger B, Nicoll A. Euro Surveill. 2009;14(46):pii=19412.
- Oseltamivir-resistant influenza virus A (H1N1), Europe, 2007-08 season. Meijer A, Lackenby A, Hungnes O, Lina B, van-der-Werf S, Schweiger B, Opp M, Paget J, van-de-Kasstele J, Hay A, Zambon M; European Influenza Surveillance Scheme. Emerg Infect Dis. 2009 Apr;15(4):552-60.
- Sales of oseltamivir in Norway prior to the emergence of oseltamivir resistant influenza A(H1N1) viruses in 2007-08. Hauge SH, Blix HS, Borgen K, Hungnes O, Dudman SG, Aavitsland P. Virol J. 2009 May 12;6:54.
- Oseltamivir-resistant influenza viruses A (H1N1), Norway, 2007-08. Hauge SH, Dudman S, Borgen K, Lackenby A, Hungnes O. Emerg Infect Dis. 2009 Feb;15(2):155-62.
- Resistens hos influensavirus. Hungnes O, Dudman SG. Tidsskr Nor Laegeforen. 2008 Nov 20;128(22):2601-6.
- Prevalence of drug-resistant HIV-1 variants in untreated individuals in Europe: implications for clinical management. Wensing AM, van de Vijver DA, Angarano G, Asjö B et al., J Infect Dis. 2005 192:958-66. Erratum in: J Infect Dis. 2005 Oct 15;192(8):1501.
- HIV-1-resistens mot antiretrovirale midler. Åsjø B, Ulvestad E. Tidsskr. Nor Lægeforen. 2001; 121:3421-4
- Medikamentell resistens ved HIV-infeksjon. Åsjø B, Lange-land N. Tidsskr Nor Laegeforen. 2008;128:2593-6.
- Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update. Bennett DE et al. PLoS ONE 2009;4(3): e4724.
- Incorporating Novel Virologic Tests into Clinical Practice. Daar ES. Top HIV Med. 2007;15(4): 126-129.
- Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adult HIV-1 Infection: 2008 Recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. Hirsch MS et al. CID 2008;47:266-85.
- Antiviral drug-resistant HBV: standardization of nomenclature and assays and recommendations for management. Lok AS, Zoulim F, Locarnini S et al. Hepatology 2007; 46: 254-65.
- Chronic hepatitis B. Lok AS, McMahon BJ. Hepatology 2007; 45: 1347.
- Genetic diversity of the hepatitis C virus: impact and issues in the antiviral therapy. Le Guillou-Guillemette H, Vallet S, Gaudy-Graffin C et al. World J Gastroenterology 2007; 13: 2416-26.
- Hepatitt C - et helseproblem også i Norge. Vik ISS, Skaug K, Dalgard O, Steen TW, Hoddevik G. Tidsskr Nor Laegeforen 2008; 128:563-6.
- Herpes simplex virus resistance to acyclovir and penciclovir after two decades of antiviral therapy. Bacon TH, Levin MJ, Leary JJ, Sarisky RT, Sutton D. Clin Microbiol Rev.16(1):114-28, 2003
- Cytomegalovirus Resistance in Solid Organ Transplant Recipients Treated with Intravenous Ganciclovir or Oral Valganciclovir. Boivin G, Goyette N, Rollag H, Jardine AG5, Pescovitz MD, Åsberg A, Hartmann A, Humar A. Antiviral Therapy 14:697-704,2009
- Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation. Emery VC, Sabin CA, Cope AV, Gor D, Hassan-Walker AF, Griffiths PD. Lancet 10;355:2032-6 2000
- Incidence and clinical features of ganciclovir-resistant cytomegalovirus disease in heart transplant recipients. Li F, Kenyon KW, Kirby KA, Fishbein DP, Boeckh M, Limaye AP. Clin Infect Dis. 2007, 45(4):439-47, 2007
- Preemptive therapy of CMVpp65 antigenemia positive renal transplant recipients with oral ganciclovir, a randomised, comparative study. Sagedal S, NordalKP, Midtvedt K, Foss A, Åsberg A, Degré M, Fauchald P, Rollag H. Nephrol Dial Transplant 18:1899-1908,2003
- Point mutations in the varicella-zoster virus DNA polymerase gene confers resistance to foscarnet and slow growth phenotype. Visse B, Huraux JM, Fillet AM. J Med Virol. 1999 Sep;59(1):84-90.

