

Strategimøte 2004:

Virale luftveisinfeksjoner

Anbefalinger
og sammendrag
av forelesninger

Redaktør:

Helvi Holm Samdal

STRATEGIMØTE

VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER

4. november 2004

Biblioteket 3. etg., Geitmyrsveien 75
Folkehelseinstituttet

ANBEFALINGER

OG

SAMMENDRAG AV FORELESNINGER

Redaktør:
Helvi Holm Samdal

Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi

INNHold	Side
Forord	5
Program	7
Sammendrag	8
Del 1	EPIDEMIOLOGI/KLINIKK
Utvalgte trekk ved epidemiologi ved virale luftveisinfeksjoner <i>Viggo Hasseltvedt</i>	14
Virusdiagnostikk ved luftveisinfeksjoner allmennpraksis <i>Hasse Melbye</i>	17
Virale luftveisinfeksjoner: Noen aspekter sett fra en pediaters synsvinkel <i>Henrik Døllner</i>	19
Nasjonal beredskap mot influensa og sars Generell beredskap i Norge <i>Arne Broch Brantsæter</i>	23
Virologisk beredskap <i>Olav Hungnes</i>	27
Del 2	ANTIGENPÅVISNING
Virale luftveisinfeksjoner: prøvetaking og transport <i>Andreas Radtke</i>	33
Antigenpåvisning ved diagnostikk av luftveisvirus <i>Gunnar Størvold</i>	36
Agenspåvisning med genteknologiske metoder <i>Svein Arne Nordbø</i>	39
Dyrking av respiratoriske virus i cellekultur <i>Anne-Lise Bruu</i>	41
Virale luftveisinfeksjoner – antistoffpåvisning <i>Nina Evjen</i>	44

FORORD

I regi av ”Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi” ble strategimøtet: Virale luftveisinfeksjoner avholdt 4.november 2004, på Nasjonalt folkehelseinstitutt.

Programmet var satt sammen av en programkomité bestående av:

Hanne Husom Haukland, Gro Njølstad, Andreas Radtke, Helvi Holm Samdal (leder) og Gunnar Størvold.

Møteledere var Svein Arne Nordbø (del 1) og Tone Skarpaas (del 2).

Programkomiteen og møtelederne har samarbeidet om utarbeidelsen av rapporten. Redaktør er Helvi Holm Samdal.

Rapporten inneholder et sammendrag, anbefalinger om diagnostikk slik det fremkom på møtet, og abstrakter. Det er gjort små justeringer på enkelte av abstraktene i henhold til diskusjonen på møtet.

Drammen, mai 2005

for programkomiteen

Helvi Holm Samdal

PROGRAM

09 50	Programkomitéens leder ønsker velkommen Orientering om programmet	<i>Helvi Holm Samdal</i>
Del 1	EPIDEMIOLOGI/KLINIKK	
Møteleder	<i>Svein Arne Nordbø</i>	
10 00	Utvalgte trekk ved epidemiologi ved virale luftveisinfeksjoner	<i>Viggo Hasseltvedt</i>
10 20	Virusdiagnostikk ved luftveisinfeksjoner i allmennpraksis	<i>Hasse Melbye</i>
10 40	Kaffe	
11 00	Virale luftveisinfeksjoner: noen aspekter sett fra en pedisters synsvinkel	<i>Henrik Døllner</i>
11 20	Nasjonal beredskap mot sars og influensa Generell beredskap Virologisk beredskap	<i>Arne Broch Brantsæter</i> <i>Olav Hungnes</i>
12 00	Lunsj	
Del 2	ANTIGENPÅVISNING	
Møteleder	<i>Tone Skarpaas</i>	
13 00	Virale luftveisinfeksjoner: prøvetaking og transport	<i>Andreas Radtke</i>
Agenspåvisning		
13 20	Antigenpåvisning ved diagnostikk av luftveisvirus	<i>Gunnar Størvold</i>
13 40	Kaffe og frukt	
13 55	Agenspåvisning med genteknologiske metoder	<i>Svein Arne Nordbø</i>
14 25	Dyrking av respiratoriske virus i cellekultur	<i>Anne-Lise Bruu</i>
Antistoffpåvisning		
14 45	Virale luftveisinfeksjoner – antistoffpåvisning	<i>Nina Evjen</i>
15 15	Oppsummering v/møteledere	
15 45	Slutt	

SAMMENDRAG

DEL 1:

EPIDEMIOLOGI/KLINIKK VED VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER

Epidemiologi

Som et bidrag til å få bedre oversikt over luftveisinfeksjoners epidemiologi er det ønskelig med et bedre registreringssystem for laboratoriediagnoser. Dette kan oppnås med et sentralt overvåkingssystem og ved at det enkelte mikrobiologiske laboratorium har lokalt ansvar for å orientere sine rekvirenter.

Virusmånedsmelding fra Folkehelseinstituttet anbefales oppgradert. Det bør legges mer vekt på kommentarfeltet. Effektiviteten og aktualiteten av meldingen kan bedres ved hjelp av elektronisk post som alle laboratorier fyller ut ukentlig. Folkehelseinstituttet lager mal for dette. For å evaluere hvordan dette fungerer foreslås at det elektronisk systemet ”kjøres” månedlig til å begynne med.

Aktuell informasjon om utbrudd må sikres tatt inn umiddelbart i MSIS, og de enkelte laboratorier oppfordres også til løpende oppdatering av hjemmesidene med informasjon om utbrudd.

Pediatri

Barn har gjennomsnittlig 6-8 infeksjoner årlig, hvorav de fleste er luftveisinfeksjoner forårsaket av virus. Inntil 3% av barn i første leveår hospitaliseres på grunn av luftveisinfeksjoner.

Virusdiagnostikk har sammen med bakteriell diagnostikk direkte betydning for å avklare etiologi og eventuell behandling. Virusdiagnostikk har også betydning for iverksetting/oppheving av isolasjon. Klinikerne ønsker også informasjon og kunnskap om hva som ”går”.

Sensitiv og rask påvisning av agens er utslagsgivende ved mistanke om viral etiologi . Utvikling og etablering av luftveisPCR, foreløpig ved et begrenset antall mikrobiologiske laboratorier, representerer et betydelig fremskritt. Hurtigtester til bruk på akuttavdeling og barneavdeling kan gi rask diagnose og bidra til reduksjon av unødig bruk av antibiotika. Det er imidlertid ønskelig med flere omfattende sammenliknende studier av sensitivitet og spesifisitet av slike tester.

Allmennpraksis

Allmennpraktikere har i stor grad samme ønsker som pediatere. Laboratoriene har mye informasjon på sine nettsider, blant annet brukerhåndbøker. Utfordringen er å gjøre hjemmesidene brukervennlige og interessante, blant annet med løpende oppdateringer om lokale utbrudd. Ett verdifullt bidrag til dette kan oppnås ved tettere samarbeid gjennom ”fyrårnsprosjekt” med deltakelse av noen allmennpraktikere fra hvert fylke: Prøver tatt med henblikk på luftveisinfeksjoner registreres sammen med kliniske opplysninger, og regelmessige rapporter sendes de mikrobiologiske laboratoriene.

Nasjonal beredskap mot influensa og SARS i Norge.

Smittevernloven og kommunehelsetjenesten hjemler nødvendige tiltak for å påvise og begrense alvorlige smittsomme sykdommer. Kommuner, fylkeskommuner, regionale helseforetak og Staten plikter å utarbeide beredskapsplaner for de helse og sosialtjenester de har ansvar for.

Norge deltar i internasjonale influensaovervåkingsystemer i regi av WHO og EU. Fyrtårns- og vaktårnslegene er viktige støttespillere i overvåkingen. Folkehelsesinstituttet har ansvar for nasjonal beredskap mot influensa ved å sikre nødvendig vaksineforsyning og forsvarlig vaksineberedskap. Det er opprettet en egen influensapandemikomite som har utarbeidet nasjonal beredskapsplan for pandemisk influensa. Det er innkjøpt beredskapslager av antiviralt middel mot influensa.

For primærlaboratoriene i Norge er det viktig å ha typespesifikke tester som fanger opp pandemisk virus. Immunologisk baserte tester som KBR og IF forventes å være adekvate. PCR testene regnes å fange opp alle humane influensa A virus. Laboratorier som utfører respiratorisk diagnostikk med PCR bør vurdere etablering av universelle influensa A virus tester som også fanger opp viruset hos dyr. Folkehelseinstituttet (nasjonalt influensasenter) har subtypespesifikke metoder for nye subtyper.

SARS er nominativt meldings- og varslingspliktig sykdom i Norge. Definerede kliniske kriterier skal ligge til grunn for mistanken. Tilstrekkelig beskyttelse ved prøvetaking må ivaretas ved mistanke om SARS. I Norge er SARS PCR diagnostikk tilgjengelig ved seks universitetssykehus og Folkehelseinstituttet (nasjonalt referanselaboratorium). Noen laboratorier har metode for antistoffpåvisning, men analysene er foreløpig ikke kvalitetssikret. Folkehelseinstituttet kan videreformidle prøver til antistoffundersøkelser ved referanselaboratorier i utlandet.

Det er lagt stort arbeid i utarbeidelse av beredskapsplaner. Det er imidlertid nødvendig med kartlegging av beredskapen. Hvilken beredskap og vaktordning har de enkelte laboratorier? Hvilke undersøkelser er for eksempel tilgjengelig i helger og høytider?

Tema for strategimøtet i 2005 er generell mikrobiologisk beredskap.

DEL 2: DIAGNOSTIKK VED VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER

Indikasjoner for mikrobiologisk undersøkelse

- Betydelig luftveisinfeksjon hos små barn, eldre og personer med nedsatt immunforsvar
- Ved pneumoni i alle aldre
- Ved spørsmål om epidemi

Opplysninger om varighet av symptomene er avgjørende for å kunne velge metoder og tolke analyseresultatet.

Blant annet kan PCR og dyrking være aktuelt i flere uker ved immunsupprimerte pasienter. Prøve nr. 2 for antistoffundersøkelse må i noen tilfelle tas senere enn vanlig (influenza).

Undersøkelser

Smittestoff	1. uke	2. uke
<i>Influenzavirus</i>	Antigenpåvisning Nukleinsyreopåvisning Dyrkning Serum: "0-prøve"	Nukleinsyreopåvisning Antistoff bør undersøkes i senere prøver
<i>RS-virus</i>	Antigenpåvisning Nukleinsyreopåvisning Dyrkning (Serum: "0-prøve")	(Antistoffopåvisning. Kan være nyttig hos eldre pasienter og barn hvis problem med å få god nok prøve til antigenopåvisning)
<i>Adenovirus</i>	Antigenopåvisning Nukleinsyreopåvisning Dyrkning Serum: "0-prøve"	Nukleinsyreopåvisning Antistoff. Verdien av undersøkelsen er omdiskutert
<i>Humant metapneumovirus</i>	Nukleinsyreopåvisning	
<i>Parainfluenzavirus</i>	Antigenopåvisning Nukleinsyreopåvisning Dyrkning (Serum: "0-prøve")	(Antistoffopåvisning. Kan være nyttig hos barn)
<i>Rhinovirus</i>	Nukleinsyreopåvisning	
<i>Coronavirus</i>	Nukleinsyreopåvisning Dyrkning Serum: "0-prøve"(SARS)	Antistoff (SARS)
<i>Enterovirus</i>	Nukleinsyreopåvisning Dyrkning	
<i>Epstein-Barr virus</i>	Nukleinsyreopåvisning	Antistoff
<i>Cytomegalovirus</i>	Nukleinsyreopåvisning Dyrkning	Antistoff

Agensopåvisning:

Ved opåvisning av agens i primærprøve er antistoffundersøkelse vanligvis ikke nødvendig.

Antistoffundersøkelse:

Undersøkelse av 0-prøve kan vente til rekonvalesentprøve foreligger. Et tidsrom på en uke mellom 1. og 2. prøve kan være knapt, 10 til 14 dager er mer hensiktsmessig.

For influensa vil høyt titer i enkeltprøve (rekonvalesentserum) være god indikasjon på aktuell infeksjon i en epidemiologisk situasjon.

Prøvetaking og forsendelse til viruspåvisning

Virus er celleassosiert. Det er derfor viktig at prøvematerialet inneholder rikelig med epitelceller.

Materiale	Undersøkelsesmetode	Prøvetaking/forsendelse
<i>Nasopharynxsekret alternativt dyp neseprøve</i>	IF/EIA Nukleinsyre påvisning Dyrkning	IF/EIA: Aspirat Nukleinsyre påvisning/dyrkning: Aspirat eller penselprøve (stålwire med dakron i virustransportmedium) Dyrkning: Nedkjøling
<i>Halsprøve</i>	Nukleinsyre påvisning	Dakronpensel i virustransportmedium
<i>Materiale fra nedre luftveier (BAL)</i>	Nukleinsyre påvisning Dyrkning	Materiale i virustransportmedium. Dyrkning: Nedkjøling

Hvis det skal utføres mange undersøkelser, må det sendes flere aspiratslanger eller flere pensler i virustransportmedium.

Valg av analyser

Dyrkning

Dyrkning er en referansemetode. Cellelinjer (evt. som Shell Vial Culture) benyttes. Dyrkning for påvisning av influensavirus er spesielt aktuelt i begynnelsen og slutten av influensasesongen (Kfr. virusovervåking med bidrag fra ”fyrtårnsleger” og mikrobiologiske laboratorier). Dyrkning er aktuelt i beredskapssammenheng for påvisning av ”nye ”virus (for eksempel SARS).

Antigenpåvisning

IF/EIA er metoder som er mye benyttet i diagnostikk av respiratoriske virus, spesielt RSV. Metodene gir raskt svar som er nyttig ved spørsmål om isolering av pasienten.

Nukleinsyre påvisning

Genteknologiske metoder er nå tilgjengelig for påvisning av de fleste respiratoriske virus. Metoden representerer et viktig diagnostisk fremskritt pga deres høye sensitivitet og spesifisitet.

For valg av gensekvenser, tilhørende primere, prober og øvrige analysebetingelser henvises til spesiallitteratur.

Antistoffpåvisning

Antistoffundersøkelse er i vanlig diagnostikk mest aktuelt for influensavirus i influensasesong og for adenovirus. Ved spørsmål om SARS har antistoffundersøkelse høy sensitivitet, og manglende antistoffpåvisning ≥ 28 dager etter smitte gir grunnlag for å avkrefte diagnosen.

Tolkning

Referansemetoder

Dyrkning av virus er tradisjonelt regnet for å være en god referansemetode. For aktuelle virus er nukleinsyrepåvisning med en god amplifikasjonstest etterfulgt av sekvensering eller hybridisering gullstandard. Metodenes sensitivitet og spesifisitet bør angis i forhold til denne gullstandard.

Vurdering av viruspåvisning

Kliniske symptomer og analyseresultat må alltid sammenholdes for å kunne gi en riktig vurdering. Klinikken er avgjørende.

For å oppnå optimal sensitivitet er følgende faktorer viktig:

- optimal transport (tid, medium, evt. kjøling - spesielt for dyrkning)
- prøvematerialets kvalitet (spesielt for IF og EIA og dyrkning)
 - For IF:
 - gode antistoffer
 - godt IF mikroskop
 - erfaren avleser
- optimal nukleinsyreekstraksjon

Metode	Sensitivitet	Spesifisitet
<i>Immunfluorescens (IF)</i>	RSV: Optimal sensitivitet ligger omtrent på samme nivå som dyrkning. Influenza A og B: 40-90% av dyrkning Parainfluenza 1,2,3 og adenovirus: Til dels mye lavere enn dyrkning	God, spesielt for RSV
<i>Enzyme immunoassay (EIA)</i>	Som IF	Som IF
<i>Nukleinsyrepåvisning</i>	Meget god	God
<i>Dyrkning</i>	God	Meget god

Vurdering av antistoffundersøkelse

Agens	Metode	Antistoff	Aktuell infeksjon
<i>Influenzavirus A og B</i> <i>Adenovirus</i> <i>Parainfluenza 1-3</i> <i>RSV</i>	KBR	Skiller ikke på IgM og IgG	Serumpar med 10-14 dagers intervall: <ul style="list-style-type: none">• Serokonversjon• 4x titerstigning. Enkeltserum >2 uker etter sykdomsdebut <ul style="list-style-type: none">• Høyt titer

Referanse- og nasjonale funksjoner

Referansefunksjoner

- *Dyrkning av respiratoriske virus* i cellekultur bør utføres ved minst ett laboratorium i hver region.
- *SARS*: Mikrobiologisk diagnostikk ved klinisk mistanke om SARS utføres ved seks universitetssykehus og Folkehelseinstituttet:
 - PCR utføres ved Universitetssykehuset i Nord-Norge, St. Olavs hospital, Haukeland universitetssykehus, Rikshospitalet, Ullevål universitetssykehus, Akershus universitetssykehus og Folkehelseinstituttet.
 - Dyrkning utføres ved Haukeland Universitetssykehus.
 - Antistoffundersøkelse: Aktuelle prøver kan sendes via Folkehelseinstituttet til internasjonalt referanselaboratorium for primær undersøkelse eller verifisering.

Nasjonal referansefunksjon

- *Influenza*: Nasjonalt influensasenter ved Folkehelseinstituttet.
- *SARS*: Folkehelseinstituttet

UTVALGTE TREKK VED EPIDEMIOLOGI VED VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER

Viggo Hasseltvedt, Laboratorium for mikrobiologi, Sykehuset Innlandet HF, Lillehammer

Agens

Viralt betinget luftveisinfeksjon (LVI) kan forårsakes av bl.a.:

Adenovirus (mange typer)

Årsak til LVI, inklusive pneumoni. De eksisterende diagnostiske tilbud er ufullstendige for å kunne kartlegge den nasjonale epidemiologiske situasjonen tilstrekkelig. Fullstendig typing, inklusive for eksempel sekvensering, er trolig nødvendig for å kunne skaffe til veie ny viten.

Coronavirus (CoV - inkl. SARS coronavirus)

Vil bli omtalt av andre – kun noen epidemiologiske trekk etc. i min omtale

Humant metapneumovirus

Relativt nylig anerkjent som aktuelt agens, kan være utbredt - vil bli omtalt relativt summarisk.

Influenzavirus A, B og C

Vil bli omtalt av andre – kun noen epidemiologiske trekk etc. i min omtale

Parainfluenzavirus 1,2, 3 og 4

Alle kan gi infeksjon hos voksne, samt i barnealder. Typene 1 – 3 er assosiert med mer alvorlig LVI hos barn. I noen undersøkelser er ca 1/3 av alle tilfeller av akutt laryngo-trakeobronkitt forårsaket av parainfluenzavirus.

Respiratorisk syncytialt virus (RSV)

Flere nasjonale undersøkelser tyder på at RSV er den hyppigste årsaken til LVI i barnealderen. I en britisk undersøkelse (Gardner et al) var fordelingen i aldersgruppen < 1 år slik: RSV forårsaket: 78% av bronkiolitt, 38% av laryngo-trakeo-bronkitt, 36% av pneumoni, 35% av bronkitt, 12% av mildere LVI. Reinfeksjoner med RSV forekommer, men gir da oftest mildere LVI.

Rhinovirus (> 100 typer)

Disse virus forårsaker forkjølelse – (coryza – ”the common cold”) og er meget utbredt globalt. Infeksjonene forekommer hyppigst i vintersesongen. Kan også forårsake alvorlige LVI i enkelte tilfelle.

Nasjonal status på området, samt utfordringer

Hva kan MSIS-data og data fra ”virologisk månedsrapport” gi av informasjon?

Coronavirusinfeksjoner var i det opprinnelige MSIS aldri meldingspliktig. Infeksjon forårsaket av SARS-relatert coronavirus er gjort nominativt meldingspliktig.

Metapneumovirusinfeksjoner er ikke meldingspliktige til MSIS

Influenzavirusinfeksjon var f.o.m. 1975 summarisk meldingspliktig (ukentlig) fra legepraksisene (på eget meldingskort). Det summariske MSIS-systemet er avvirket, og

influenza meldes via et vakttårnssystem som dekker ca. 25% av summariske MSIS. Influenaisolater finkarakteriseres ved Folkehelseinstituttet som løpende aktivitet. ”Virologisk månedsrapport” gir også data.

Parainfluenzainfeksjoner er ikke meldingspliktige til MSIS. ”Virologisk månedsmelding” har data.

RSV-infeksjoner var nominativt meldingspliktige til MSIS. Meldingsplikten er avviklet. ”Virologisk månedsmelding” har data.

Rhinovirusinfeksjoner har aldri vært meldingspliktige til MSIS.

Utbrudd i institusjon av for eksempel RSV-infeksjon vil være gjenstand for melding qua utbrudd.

De infeksjonene som er omtalt ovenfor vil kunne ha epidemiologiske trekk/tendenser som kan variere mht.:

- Kjønnfordeling.
- Aldersfordeling.
- Geografisk fordeling.
- Sesongvariasjon..
- Risikofaktorer/Immunitetsforhold etc.

Om sesongvariasjon – generelt:

Det er beskrevet sesongvariasjoner for opptreden av infeksjonssykdommer forårsaket av en rekke obligat humanpatogene agens. De forskjellige infeksjonssykdommene har til dels ulike høy- og lavsesonger.

For mange av disse tilstandene forekommer de høyeste og laveste insidensene til samme årstid, uansett hvilken årgang det er tale om.

Sesongdebut for flere av tilstandene kan forekomme i ulike geografiske områder, selv om det ikke er dokumentert smittespredning fra ett område til et annet hva angår person- til-personsmitte.

Det finnes ingen generell teori som kan forklare hvorfor infeksjonssykdommer har sesongvariasjoner, heller ikke virale luftveisinfeksjoner.

Enkeltfaktorer kan imidlertid være viktige. Av slike kan nevnes, delt inn i hovedgrupper:

- 1) Introduksjon av et agens
- 2) Det at et agens forsvinner som viktig kausal årsak innen sykdomspanoramaet
- 3) Miljøforandringer:
 - Økt eller senket middeltemperatur/varmebølger/kuldeperiode.
 - Oftest har RSV infeksjoner høysesong i vinterhalvåret. I Hongkong og Singapore er det imidlertid blitt observert høyest insidens i de månedene som er varmest.
 - Trangboddhet - det at enkelte personer oppholder seg mye innendørs og med tett kontakt ”crowding”.
 - Luftforurensning/annen forurensning med mer som kan svekke immunforsvaret.

Forandringer i forholdet mellom vertsorganisme og dennes respektive agens:

- Ernæringstilstand - underernæring

Kilder

Chin J et al. Control of Communicable Diseases Manual, 17th Ed.; American Public Health Association, 2000.

Dowell SF. Seasonal Variation in Host Susceptibility and Cycles of Certain Infectious Diseases. Emerging Infectious Diseases. Vol. 7, No. 3, 2001. (URL: cdc.gov/eid).

TILLEGG TIL FOREDRAG HOLDT PÅ FOLKEHELSEINSTITUTTET 4.11.04

Globale konsekvenser av virale luftveisinfeksjoner

Det finnes estimerer fra helseøkonomer i WHO og andre velrenommerte organisasjoner som antyder at nedre luftveisinfeksjoner (NLVI), særlig de virale, inklusive infeksjoner som influensa, parainfluensa 1-4-infeksjoner og RSV-infeksjoner, er av meget stor samfunnsmessig global betydning (social impact):

Det angis (a) at nedre NLVI hadde de største globale konsekvenser hva dødelighet/sykkelighet angår, både når det gjelder sykdommer og ulykker i 1990. I år 2020 er det anslått fra samme kilde at NLVI da vil ligge på sjette plass.

I 1998 døde anslått 3,5 millioner personer globalt av NLVI, mange av dem barn, og en vesentlig andel av NLVI var av viral karakter. Antall dødsfall grunnet NLVI var 4,1 millioner i 1990.

I forhold til NLVI er det bare tuberkulose, meslinger, HIV-infeksjon/AIDS og malaria som kommer opp i samme størrelsesorden hva samfunnsmessige konsekvenser angår.

Kilder

- a) Anon. National Intelligence Estimate: The Global Infectious Disease Threat and Its Implications for the United States – URL:

<http://www.wilsoncenter.org/topics/pubs/Report6-3.pdf>.

VIRUSDIAGNOSTIKK VED LUFTVEISINFEKSJONER I ALLMENNPRAKSIS

Hasse Melbye, Institutt for samfunnsmedisin, Universitetet i Tromsø

Allmennpraktikere i Norge sendte før inn ukentlige rapporter til Folkehelse om influensalignende sykdom og visse andre infeksjoner som de møtte i praksis, og samarbeidet på den måten med det mikrobiologiske miljø i den nasjonale overvåkingen av infeksjonssykdommer. Senere har man gått over til å basere den epidemiologiske statistikk på utvalgte allmennleger, og noen av disse, såkalte ”fyrtårn”, sender også inn prøver til virusdiagnostikk. Det store flertall av allmennpraktikere står derfor i dag utenfor overvåkingen av virale luftveisinfeksjoner. De mikrobiologiske avdelinger har fått større betydning i allmennpraktikernes kliniske hverdag, og de fleste har trolig i økende grad benyttet seg av de analyser avdelinger kan tilby. Man vet ikke i hvor stort omfang allmennleger sender inn prøver med henblikk på diagnostikk av virale luftveisinfeksjoner.

Vår viktigste utfordring i møte med luftveisinfeksjoner er å utelukke bakteriell infeksjon. Ved nedre luftveisinfeksjoner og betydelig påvirket allmenntilstand vil det kunne være av betydning å få vite om det pågår en epidemi med for eksempel influensa-, adeno- eller RS-virusinfeksjon. Det vil da være aktuelt å ta prøver til mikrobiologisk diagnostikk. Kunnskap om pågående epidemier har betydning for allmennlegens diagnostiske treffsikkerhet og kan føre til at legen kan gi fornuftige råd som kan begrense epidemiene. Særlig bør man prøve å unngå at barn med RS-virusinfeksjon smitter andre små barn. Påvisning av RS-virus hos et lite barn kan være nyttig, dersom sykdommen trekker i langdrag eller innleggelse ved barneavdeling blir aktuelt. Det er også en fordel å vite at et barn med nedre luftveisinfeksjon har hatt en RS-virusinfeksjon, siden barnet dermed kan være disponert for å få astma i de påfølgende år.

Allmennlegen har også behov for tilbakemelding på sin kliniske diagnostikk av luftveisinfeksjoner, for å styrke sin kliniske dømmekraft. Det kan derfor være ønskelig med virusdiagnostikk hos en del pasienter, selv om det ikke kan forventes en klinisk nytteverdi hos den enkelte pasient. Det kan være å få bekreftet en influensadiagnose hos en voksen person med akutt bronkitt eller få diagnostisert en adenovirusinfeksjon hos en febril ungdom med et uklart sykdomsbilde. En slik påvisning kan gjøre at man med større trygghet kan la være å gi antibiotika til nye pasienter med lignende sykdomsbilder. Allmennleger har også forståelse for at de mikrobiologiske avdelinger ønsker prøver slik de kan bekrefte/avkrefte hvilke infeksjoner som pågår.

Erfaringer med antigenpåvisning og serologi

PCR-diagnostikken og annen direkte agenspåvisning ved mikrobiologisk avdeling i Tromsø (UNN) er sett på som et stort framskritt for allmennlegene i regionen. Raske svar ved påvist influensa og RS-virus (i tillegg til kikhoste og mykoplasmainfeksjon) har gitt grunnlag for kliniske beslutninger. Nasopharynxprøver blir tatt av legesekretærer uten store problemer. IgM undersøkelse kan eventuelt gi oss svar tidlig i sykdomsforløpet, mens øvrig antistoffpåvisning får begrenset klinisk betydning, da svarene kommer så seint. Av og til kan prøvesvarene oppleves som tvilsomme, særlig fordi grenseverdier ofte blir fortolket som negative av mikrobiologene, mens de kunne ha støttet opp om en klinisk diagnose. Det blir lettere for mikrobiologene å gi klare og gode svar dersom allmennlegene bidrar med opplysninger om sykdomsvarighet, symptomer og funn.

Kunnskapen om hva de mikrobiologiske avdelinger kan gjøre er ofte mangelfull

Allmennlegen har ofte liten kunnskap om hvilke undersøkelser som utføres ved de mikrobiologiske avdelinger, og ofte vet man ikke hvor aktuelle prøver skal tas fra. Jeg vil anta at det er få som vet hvor man skal ta prøve når man leter etter etiologien ved falsk krupp, eller om det er mulig å sende inn øyesekret ved mistanke om adenovirusinfeksjon.

Økt samfunnsmedisinsk utbytte av prøvetakingen

Når allmennlegen tar virusprøver, er ofte det samfunnsmedisinske perspektivet viktigere enn det kliniske. En bedre utnyttelse av data kunne inspirert til mer prøvetaking, og bedre utfylling av kliniske opplysninger. En landsdekkende registrering som omfatter flere virusinfeksjoner enn influensa, som metapneumo-, adeno-, parainfluensa- og RS-virus, vil kunne gjøre at allmennpraktikerne kan vite "hva som går" til enhver tid. En slik registrering kunne koples til influensaovervåkingens fyrtårn og gjerne basere seg på et samarbeid mellom de regionale laboratorier og Folkehelseinstituttet. Et skjema som registrerer sykdomsvarighet, symptomer og funn bør følge prøvene. Slik kan vi få oppdatert kunnskap om virusinfeksjonenes klinikk, dessuten løpende epidemiologiske data. Allmennlegens kunnskaper om hva de mikrobiologiske avdelinger kan tilby vil også kunne bli større. Vi vil også få et bedre grunnlag for forskningsmessig samarbeid mellom allmennpraktikere og mikrobiologer.

VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER: NOEN ASPEKTER SETT FRA EN PEDIATERS SYNSVINKEL

Henrik Døllner, Avdeling for barn og ungdom, St. Olavs Hospital HF

Barn har gjennomsnittlig 6-8 infeksjoner årlig, hvorav flest er luftveisinfeksjoner (LVI) som forårsakes av RSV, parainfluenzavirus, influensavirus, adenovirus, coronavirus og rhinovirus. Oppdagelsen av humant metapneumovirus illustrerer at det trolig eksisterer flere hittil ukjente virus som hyppig forårsaker LVI¹. Norske og amerikanske data tyder på at inntil 3% hospitaliseres med LVI i løpet av første leveår^{2,3}. Det er tidligere friske og kronisk syke barn med for eksempel neuromuskulære funksjonshemninger, hjertesykdom, CF og annen lungesykdom, kreft, immunsvikt, og tidligere premature.

Erfaringer med virologiske tester ved utredning av luftveisinfeksjon

Påvisning av luftveisvirus får i noen tilfeller direkte betydning for diagnose og behandling. I andre tilfeller får det overveiende indirekte effekter på pasient behandlingen.

Tilfelle hvor virusdiagnostikk direkte får betydning for diagnose og behandling av enkelt pasienter

(for helhetens skyld har jeg tillatt meg også å nevne enkelte bakterielle agens)

- 1) Akutt alvorlig sykdom hos spedbarn og småbarn. Virus infeksjon med utgangspunkt i luftveiene kan utløse alvorlige tilfeller av apnø, sepsis og kollaps. Påvisning av for eksempel RSV, influensavirus og CMV kan være avgjørende for å avklare diagnosen. PCR diagnostikk avklarer raskt en eventuell Pertussis smitte, og det har avgjørende behandlingsmessig betydning.⁴
- 2) Alvorlige og kompliserte tilfeller av nedre luftveisinfeksjon med behov for ventilasjonsstøtte, ved pleuraeksudat m. m. Påvisning av luftveisvirus har først og fremst diagnostisk betydning, men kan også få behandlingsmessige konsekvenser for eksempel i forhold til om antibiotika er indisert.
- 3) Barn med langvarig nedre luftveisinfeksjon/mistanke om atypisk pneumoni. PCR diagnostikk kan raskt avklare Mycoplasma og Chlamydia smitte, og det kan få behandlingsmessige konsekvenser.⁴
- 3) Hos barn med kronisk sykdom kan det ha stor betydning å påvise luftveisvirus i forskjellige situasjoner. Hos hjertesyke hjelper viruspåvisning i differensial diagnosen mellom hjerte- og respirasjonssvikt. Hos barn med kreft, immunsvikt eller transplanterte kan påvisning av en rekke virus, for eksempel CMV, EBV, HSV, VZV og adenovirus, avklare diagnosen i forskjellige situasjoner (for eksempel utslett, feber, dyspnø, pneumoni, hepatitt, avstøtning), og det kan få direkte behandlingsmessige konsekvenser (antiviral terapi, endret immunosuppressiv behandling).

Forhold ved virus diagnostikk med indirekte betydning for pasient behandling

- 1) Viral nedre luftveisinfeksjon som bronkiolitt, obstruktiv bronkitt, og astma forverring diagnostiseres ved klinisk undersøkelse. I typiske og ukompliserte tilfeller har det trolig ingen betydning verken for håndtering eller behandling å vite årsaken.⁵ Det er ikke undersøkt systematisk om agens påvisning kunne gi noen generelle effekter på for eksempel innleggelseshyppighet og liggetid⁵.

I tvilstilfelle, for eksempel hvis det er påvist lungeinfiltrater eller en viss CRP stigning som kunne gi mistanke om bakteriell (super-)infeksjon, kan det ha en indirekte effekt å diagnostisere agens. Influenza virus er kjent for å disponere for bakteriell infeksjon, mens det i flere retrospektive studier er vist at RSV sjeldent kompliseres av bakteriell infeksjon.^{6,7} I

tvilstilfelle vil man i Norge derfor vanligvis tolke et positivt RSV funn slik at antibiotika behandling ikke er indisert, mens påvisning av influensavirus vil øke oppmerksomheten mot mulig superinfeksjon.

2) Det er vist i flere studier at innføring av hurtigtester for RSV og influensavirus minsker antibiotika forbruket på legevakter (emergency departments) og i barneavdelinger⁸⁻¹¹. En klinisk praksis med hyppig virus diagnostikk minsker derfor sannsynligvis unødig antibiotika behandling.

3) Forhold vedrørende pasient omsorg. Tidligere ville mange foreldre og leger behandle mange barn med LVI med antibiotika for sikkerhets skyld. I dag er det heldigvis slik at mange foreldre i høyere grad er opptatt av en sikker diagnose og god omsorg¹². Virus diagnostikk kan være viktig i denne sammenheng.

4) Hygieniske forhold. Nosokomiell smitte, som rammer kronisk syke barn hardest, kan være et stort problem på barneavdelinger. Det er effektivt å innføre RSV identifisering og isoleringsregimer^{13;14}, men det er muligens like effektivt å isolere alle barn med LVI uten å påvise spesifikke agens⁵.

5) Epidemiologiske forhold og forhold av betydning for klinikerens kompetanse. Ved å ta virusprøver på mange pasienter har vi hele tiden en viss oversikt over "hva som rører seg", noe som er en fordel ved vurdering av nye pasienter. For barneavdelingen som utdanningsinstitusjon medvirker det også til å holde fokus på at de fleste luftveisinfeksjoner er virale. Jeg er også av den oppfatning at lett tilgjengelig virusdiagnostikk medvirker til å utvikle klinikernes kunnskaper og kompetanse.

Utfordringer innenfor pediatrien i relasjon til håndtering av barn med luftveisinfeksjoner

Den mikrobiologisk diagnostikk er i rivende utvikling, og det er en stor utfordring å kartlegge det kliniske utbyttet av den nærmere. Ideelt sett burde de fleste sykehus som behandler barn med luftveisinfeksjon ha tilgang til følgende tester:

1) Raske og sensitive tester for de vanligste luftveivirus (RSV, influensa, parainfluensa, adenovirus, rhinovirus og humant metapneumovirus) (indikasjoner: akutte alvorlige tilstander hos spedbarn og småbarn, tegn på ØLI hos spedbarn, tegn på NLI hos barn i alle aldersgrupper). Serologiske tester for samme agens minus rhinovirus (indikasjon: langvarig luftveisinfeksjon)

2) PCR diagnostikk av Pertussis (indikasjon: spedbarn og småbarn med hosteanfall/apnø)⁴
Serologisk diagnostikk (indikasjon: langvarig hoste).

3) PCR diagnostikk og serologisk diagnostikk av Mycoplasma og Chlamydia pneumoniae (indikasjon: tegn på behandlingstrengende NLI/pneumoni hos småbarn og skolebarn)⁴

4) Det er åpenbart at dagens metoder ikke påviser alle agens. Sett fra en klinikers synspunkt er det ønskelig å kartlegge hvorvidt det finnes flere luftveivirus samt deres utbredelse.

5) På landets større barneavdelinger, spesielt de som behandler barn med immunsvikt og kreft, er det i tillegg behov for PCR undersøkelser og serologiske tester for rekken av herpes virus.

Konklusjon

Anvendelse av virologiske tester i tillegg til tester for Pertussis, Mycoplasma og Chlamydia hos innlagte barn med luftveisinfeksjon har direkte behandlingmessig betydning i en del tilfeller. Indirekte oppnår man flere effekter ved å øke presisjonen i diagnostikk og vurdering av prognose. Det bidrar også til å bedre omsorgen for barn og foreldre, redusere nosokomiell smitte, og kan bidra til reduksjon av unødvendig antibiotikabruk.

Referanser

- (1) Dollner H, Risnes K, Radtke A, Nordbo SA. Outbreak of human metapneumovirus infection in Norwegian children. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(5):436-440.
- (2) Fjaerli HO, Farstad T, Tjade T. Respiratory syncytial virus infections in hospitalized children in Akershus. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2000; 120(21):2495-2498.
- (3) Shay DK, Holman RC, Newman RD, Liu LL, Stout JW, Anderson LJ. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1996. *JAMA* 1999; 282(15):1440-1446.
- (4) Jenum PA STNO. Folhelseinstituttet. Strategimøte nr. 17, 2003: Nedre luftveisinfeksjoner. 2003. Folkehelseinstituttet.
- (5) Bordley WC, Viswanathan M, King VJ, Sutton SF, Jackman AM, Sterling L et al. Diagnosis and testing in bronchiolitis: a systematic review. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004; 158(2):119-126.
- (6) Bloomfield P, Dalton D, Karleka A, Kesson A, Duncan G, Isaacs D. Bacteraemia and antibiotic use in respiratory syncytial virus infections. *Arch Dis Child* 2004; 89(4):363-367.
- (7) Purcell K, Fergie J. Concurrent serious bacterial infections in 2396 infants and children hospitalized with respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156(4):322-324.
- (8) Byington CL, Castillo H, Gerber K, Daly JA, Brimley LA, Adams S et al. The effect of rapid respiratory viral diagnostic testing on antibiotic use in a children's hospital. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156(12):1230-1234.
- (9) Woo PC, Chiu SS, Seto WH, Peiris M. Cost-effectiveness of rapid diagnosis of viral respiratory tract infections in pediatric patients. *J Clin Microbiol* 1997; 35(6):1579-1581.
- (10) Sharma V, Dowd MD, Slaughter AJ, Simon SD. Effect of rapid diagnosis of influenza virus type a on the emergency department management of febrile infants and toddlers. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156(1):41-43.
- (11) Noyola DE, Demmler GJ. Effect of rapid diagnosis on management of influenza A infections. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19(4):303-307.
- (12) Mangione-Smith R, McGlynn EA, Elliott MN, Krogstad P, Brook RH. The relationship between perceived parental expectations and pediatrician antimicrobial prescribing behavior. *Pediatrics* 1999; 103(4 Pt 1):711-718.
- (13) Karanfil LV, Conlon M, Lykens K, Masters CF, Forman M, Griffith ME et al. Reducing the rate of nosocomially transmitted respiratory syncytial virus. *Am J Infect Control* 1999; 27(2):91-96.

- (14) Macartney KK, Gorelick MH, Manning ML, Hodinka RL, Bell LM. Nosocomial respiratory syncytial virus infections: the cost-effectiveness and cost-benefit of infection control. *Pediatrics* 2000; 106(3):520-526.

NASJONAL BEREDSKAP MOT INFLUENSA OG SARS

Generell beredskap i Norge

Arne Broch Brantsæter, Avdeling for infeksjonsovervåking, Divisjon for smittevern, Folkehelseinstituttet

Bakgrunn

I Sverige forekommer 2000-4000 flere dødsfall i år med stor enn i år med liten influensaktivitet (1), svarende til ca. 1000-2000 dødsfall i Norge. Verdens befolkning ble rammet av 3 pandemier i forrige århundre, og det er bare spørsmål om tid før neste pandemi vil ramme. Ved en ny influensapandemi i Norge kan resultatet bli 2 millioner syke og 30 000 dødsfall (2).

Det første kjente utbrudd med sars startet i Kina senhøstes 2002 og skyldtes sannsynligvis kryssing av artsbarriéren mellom dyr og mennesker av et til da ukjent coronavirus. Viruset har sannsynligvis eksistert lenge i dyreverdenen. Det internasjonale utbruddet som fulgte ble nedkjempet i juli 2003, men senere har det vært beskrevet et fåtall nye tilfeller med sannsynlig smittekilde hos dyr og på laboratorier.

Det er umulig å forutse når en pandemi med influensa (3) eller utbrudd med sars kan ramme på nytt. Det regnes ikke som realistisk at man vil kunne hindre spredning av pandemisk influensavirus, mens det derimot ved global samordnet innsats har vist seg mulig å stanse spredning av sars. Sars-coronaviruset er imidlertid ikke utryddet (fra dyr eller laboratorier), og man må derfor forvente nye utbrudd i fremtiden.

Juridiske, politiske og organisatoriske forhold

Effektiv beredskap er avhengig av et solid juridisk fundament og aktiv støtte fra myndighetene. Sentralt står Lov om helsemessig og sosial beredskap, herunder det såkalte *ansvarsprinsippet* (§ 2-1)

”Den som har ansvaret for en tjeneste, har også ansvaret for nødvendige beredskapsforberedelser og for den utøvende tjeneste, herunder finansiering, under krig og ved kriser og katastrofer i fredstid, med mindre noe annet er bestemt i eller i medhold av lov. Tilsvarende skal den som fører tilsyn med en virksomhet, også føre tilsyn med virksomhetens beredskap”.

I tillegg hjemler Smittevernloven og Kommunehelsetjenesteloven med forskrifter nødvendige tiltak for å påvise og begrense alvorlige smittsomme sykdommer.

Kommuner, fylkeskommuner, regionale helseforetak og staten plikter å utarbeide beredskapsplaner for de helse- og sosialtjenester de skal sørge for et tilbud av eller er ansvarlige for (§2-2 i Helseberedskapsloven). Planlegging og utføring av beredskapsøvelser hører dermed inn under disse ansvarsområde. Helsetilsynet utførte tilsyn ved seks flyplasser i 2003 hvor det ble påvist en rekke mangler og avvik i kommunenes planer.

Det er opprettet en egen influensapandemikomite som er et rådgivende organ for Helsedepartementet. Denne har utarbeidet en nasjonal beredskapsplan for pandemisk influensa (2). Gruppen ble også konsultert i forbindelse med sars-epidemien i 2003.

Praktisk smittevernberedskap

Den praktiske beredskap består av to grunnpilarer ;

- god overvåking og rapportering (melding og varsling) - nødvendig for tidlig påvisning av smittsomme sykdommer som influensa og sars og
- evne til respons – nødvendig for utbruddsoppløring og bekjemping av utbrudd .

Overvåking og rapportering

Norge er del av internasjonale overvåkingssystemer i regi av WHO og EU. Overvåkingen av influensa og sars baserer seg på kliniske kriterier med støtte av mikrobiologiske undersøkelser. Influensovervåkingen i Norge bygger dels på ca. 200 ”vaktårnsleger” i kommunehelsetjenesten (som melder antall tilfeller av influensalignende sykdom til MSIS). En del av disse (”fyrårnsleger”), er også utpekt til å sende virologiske prøver til Nasjonalt influensasenter ved Folkehelseinstituttet. Dette mottar også influensaisolater fra mikrobiologiske laboratorier på frivillig basis. Nasjonalt influensasenter rapporterer til WHO.

Sars er en nominativt meldings- og varslingspliktig sykdom i Norge. Det skal meldes og varsles på **mistanke**. Kliniske kriterier skal ligge til grunn for mistanken (tabell 1). Varslingsplikten gjelder alle leger, sykepleiere, jordmødre og helsesøstre, meldingsplikten kun leger. Varslingen skal vanligvis gå via kommunelegen, som deretter varsler Folkehelseinstituttet dersom mistanken ikke umiddelbart kan avkrefte. Dersom kommunelegen ikke er tilgjengelig, skal Folkehelseinstituttet varsles direkte, gjerne på Smittevernvaktttelefonen 22042348.

Kliniske kriterier er viktig for tidlig å kunne fange opp utbrudd under utvikling. I neste omgang er mikrobiologisk diagnostikk viktig for å kunne gradere og verifisere mistanken, både når det gjelder influensa og sars (tabell 2). Mikrobiologisk diagnostikk av sars utføres kun ved seks universitetssykehus, mens influensadiagnostikk er mer utbredt. Ved et meget stort antall syke vil den epidemiologiske overvåkingen i stor grad måtte basere seg på kliniske overvåkingsdefinisjoner.

For endelig klassifisering av klinisk mistenkte sars-tilfeller, er mikrobiologisk diagnostikk avgjørende. Aktuelle diagnostiske metoder er PCR, dyrkning og antistoffpåvisning. Den første uken av sykdommen har PCR på prøvemateriale fra luftveier (nasopharynxprøve, halsprøve, ekspektat, BAL etc.) høyest sensitivitet (4), evt. tas også prøve fra serum eller plasma. Senere enn en uke etter sykdomsdebut anbefales prøve fra luftveier og feces. PCR utføres ved Universitetssykehuset i Nord-Norge, St. Olavs Hospital, Haukeland Universitetssykehus, Rikshospitalet, Akershus Universitetssykehus og Ullevål Universitetssykehus. Dyrkning av sars-coronavirus utføres kun ved Haukeland Universitetssykehus. Luftveisprøver er også her best egnet, men dyrkning har betydelig dårligere sensitivitet enn PCR (5). Det bør tas prøve til antistoffpåvisning så tidlig som mulig i sykdomsforløpet og kontrollprøve etter 10-14, evt 28 dager. Enkelte norske laboratorier har mulighet for antistoffbestemmelse, men ingen har etablert dette som rutinediagnostikk. Antistoffprøver kan sendes til Folkehelseinstituttet som vil videreformidle prøven til samarbeidende laboratorium utenlands. Negativt resultat av antistoffundersøkelse i prøve tatt etter 28 dager vil kunne avkrefte diagnosen. Sendepøver (ikke serologi) nedkjøles (4°C). Prøvepinner må være beregnet for virus (ikke trepinner) og sendes i rør tilsatt virus transportmedium. Kliniker bør ta kontakt med aktuelt laboratorium for nærmere avtale før sending av prøver. Se også <http://www.cdc.gov/ncidod/sars/guidance/f/app4.htm>.

Respons

En strategi med tidlig identifisering og isolering av mulige sars-tilfeller var, sammen med reiserestriksjoner, effektiv i å stanse spredning av sars i 2003. Et stort arbeid ble nedlagt i å planlegge pasient- og prøveflyt for å hindre smitte av andre pasienter og helsepersonell, og slike planer må vedlikeholdes. Generelt sett bør pasienter med sykdommer som kan smitte gjennom luft unngå å vente i fellesarealer, og smittevernutstyr (hånddesinfeksjon, hansker, frakker, munnbind/åndedrettsvern, øyebeskyttelse) og isolater må være tilgjengelig. Slike tradisjonelle smitteverntiltak antas imidlertid å være mindre effektive i å hindre spredning av influensa i samfunnet. Konsekvensene av en influensapandemi kan derimot sannsynligvis reduseres ved bruk av vaksine og antivirale medikamenter.

I Norge har Folkehelseinstituttet ansvar for å sikre nødvendig vaksineforsyning og forsvarlig vaksineberedskap, jfr. smittevernloven § 7–9. Det er imidlertid for lav influensavaksinasjonsdekning blant definerte risikogrupper i normalår (2). Dette betyr blant annet at de antall doser vaksine som årlig kjøpes inn vil være for lavt dersom det skulle bryte ut mer alvorlig influensa, og dermed oppstå økt etterspørsel etter vaksine. Det er i tillegg svært usannsynlig at en virksom vaksine vil foreligge i første fase av en ny influensapandemi. Det finnes avtaler med leverandørene av vaksine om dobbel leveranse av monovalent vaksine i tilfelle en pandemi (2), men det er usikkert om kontrakten vil kunne etterleves og være bindende i praksis. Egenproduksjon i Norge anses ikke som realistisk i dag.

Sosial- og helsedirektoratet har innkjøpt et beredskapslager av oseltamivir bestående av 2 millioner tabletter á 75 mg. Dette tilsvarer 200 000 behandlingkurer á 5 dager. Som for vaksine, må lageret av antivirale midler forventes ikke å dekke behovet i en pandemisk situasjon. Helsedepartementet vil, etter råd fra fagmiljøene, derfor måtte prioritere hvem som skal tilbys vaksine og behandling. På oppdrag fra Sosial- og helsedepartementet er en gruppe nedsatt av Nasjonalt kunnskapscenter for helsetjenesten i ferd med å utrede bruken av oseltamivir i en pandemisk sammenheng. Det kan videre bli aktuelt å pålegge vaksinasjon (om slik er tilgjengelig) og gi uvaksinerte begrensninger i bevegelsesfriheten.

Det finnes fortsatt ingen vaksiner eller medikamenter med dokumentert effekt på sars.

Ved en influensapandemi eller større utbrudd av sars i Norge vil isolat- sengekapasiteten på sykehus raskt bli overskredet. Det vil kunne oppstå mangel på kvalifisert personell i spesialist- og komunehelsetjenesten, som i andre samfunnssektorer. Det vil bli stilt meget store krav til god og konsekvent informasjon og rådgiving til publikum og helsetjenesten.

Referanser

1. Referansgruppen för antiviral terapi. Behandling och profylax av influensa med antivirala medel. Samhällets beredskap för influensa. 1-10-2002.
2. Helsedepartementet. Nasjonal beredskapsplan for pandemisk influensa. 2003.
3. World Health Organization. Influenza pandemic preparedness plan. The role of WHO and guidelines for national or regional planning. Geneva, Switzerland, April 1999. 1999.
4. Cheng PK, Wong DA, Tong LK et al. Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2004; 363: 1699-700.
5. Chan PK, To WK, Ng KC et al. Laboratory diagnosis of SARS. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 825-31.

Tabell 1. Klinisk beskrivelse av sars

En person kan ha sars hvis det foreligger en sykehistorie med

- feber ≥ 38 °C
- **og**
- ett eller flere symptomer på nedre luftveissykdom (hoste, tungpustethet, pustevansker)
- **og**
- radiologisk holdepunkt for lungeinfiltrater forenlig med lungebetennelse eller respiratorisk distress syndrom (RDS) eller obduksjonsfunn forenlig med lungebetennelse **eller** RDS uten identifiserbar årsak

og
ingen alternativ diagnose kan gi en fullgod forklaring på sykdomsbildet

Tabell 2. Sykdomsklassifisering for SARS

Mulig sars

a) Enkeltstående tilfelle

Person som tilfredsstiller den kliniske sykdomsdefinisjonen på sars (se over) **og** siste 10 dager før sykdomsdebut har vært i et område definert av WHO som område for potensiell gjenoppblussing av sars (inkluderer område som ble identifisert som kilde til utbruddet i november 2002 og/eller område med økt sannsynlighet for smitte av sars-coronavirus fra dyr til menneske) **eller**

b) Utbrudd blant helsearbeidere

To eller flere helsearbeidere i samme helseinstitusjon som oppfyller den kliniske definisjonen av sars og med debut av symptomer innen samme 10-dagersperiode **eller**

c) Annet utbrudd på helseinstitusjon

Tre eller flere personer (inkl. alle yrkesgrupper på institusjonen, pasienter og besøkende) i samme helseinstitusjon som oppfyller den kliniske definisjonen av sars og med debut av symptomer innen samme 10-dagersperiode

Sannsynlig sars

En pasient med mulig sars (se over) hvor det i tillegg er prelimnære holdepunkt for sars ved laborietester basert

på **enten** én enkelt positiv antistofftest for sars-coronavirus **eller** én positiv PCR-test for sars-coronavirus fra ett enkelt prøvemateriale med samme test

Laboratorieervert sannsynlig sars

En person med sykdomsbilde forenlig med den kliniske sykdomsdefinisjonen, som har jobbet i, eller vært i kontakt med et laboratorium hvor det har vært arbeidet med sars-coronavirus. En slik person vil bli klassifisert som sannsynlig sars til det motsatte er bevist

Bekreftet sars

En person med sannsynlig sars (se over) hvor det i tillegg er holdepunkt for sars ved laborietester basert på en eller flere av følgende:

- a) PCR-test positiv for sars-coronavirus ved validert metode fra minst to forskjellige prøvematerialer (for eksempel fra nasopharynx og avføring) **eller** samme prøvemateriale samlet ved to eller flere tidspunkt i sykdomsperioden (for eksempel gjentatte nasopharynx-prøver) **eller** to forskjellige tester eller gjentatt PCR med ny ekstraksjon av RNA fra det opprinnelige prøvematerialet ved hver testing*
- b) serokonvertering ved ELISA eller IFA*
Negativ antistofftest i akuttserum fulgt av positiv antistofftest i rekonvalesentprøve undersøkt parallelt **eller** fire ganger antistoff titerstigning mellom akutt- og rekonvalesentserum undersøkt parallelt

Avkreftet sars

Et tilfelle skal avkreftes når en alternativ laboriediagnose er stilt som kan fullt ut forklare sykdomsbildet eller når pasienten har negativ antistofftest i rekonvalesentprøve

NASJONAL BEREDSKAP MOT SARS OG INFLUENSA

Virologisk beredskap

Olav Hungnes, Avdeling for infeksjoner som smitter via luftveiene, Divisjon for smittevern, Folkehelseinstituttet

Begivenhetene det siste året har i høyeste grad holdt problematikken rundt risikoen for sars- og influensaepidemier brennaktuell. Heldigvis uten at virkelige epidemier har oppstått.

Sars

Status internasjonalt

- Etter at sars-epidemien var nedkjempet våren 2003, har et fåtall nye tilfeller av infeksjon med "sars-lignende virus" forekommet i Sør-Kina. Det er etter alt å dømme kun snakk om isolerte zoonoser, men vi vet lite om opphavet. Det har vært milde sykdomsforløp, og ingen tegn til interhuman smitte. En antar at virus var slektninger av det viruset som ga opphav til sars-epidemien, men som ikke hadde gjennomgått de forandringene som gjorde sars-viruset så virulent og overførbart hos mennesker.
- I siste halvår av 2003 forekom det to isolerte tilfeller av sars-smitte fra forskningslaboratorier i Singapore og Taiwan. Hurtig utredning av tilfellene avstedkom rapporter som påpekte til dels grov svikt i inneslutning og laboratorierutiner. De to smittede personene ble ikke alvorlig syke, og det ble ikke funnet sekundært tilfeller.
- Våren 2004 ble fire mennesker smittet på et forskningslaboratorium i Beijing. Her forekom det både sekundær- og tertiær-tilfeller, men med smitteoppsporing og isolering av syke fikk en kontroll over situasjonen. En person døde. Det kan se ut til at smitten skjedde ved at virus som hadde gjennomgått en utilstrekkelig inaktiveringsprosedyre hadde blitt tatt ut på et laboratorium med lavere inneslutningsnivå. Nøyaktig hvilken inaktiveringsmåte det dreide seg om er ikke gjort kjent.
- Mangelfull inneslutning av virus som stammer fra utbruddet i 2003 er kanskje den mest sannsynlige måten sars - slik vi kjenner den – kan gjenoppstå på. Det synes å være et mønster at de som ble smittet, selv ikke arbeidet aktivt med sars-virus. Hovedsvikten har altså vært at man ikke har innrettet seg slik at smittestoffet ikke fantes andre steder i laboratoriet enn der det skal være, og at ikke alle som er inne på laboratoriet var instruert slik at de ikke utsettes eller utsetter andre for smitte.

Hva er tilstrekkelig inneslutning?

For arbeide med levende sars-virus, for eksempel dyrking, har WHO angitt P3 som minstekrav. For elementære manipuleringer, slik som omtapping av prøvemateriale og forarbeid for opprensing av nukleinsyrer (tilsetting av lysis/ekstraksjonsløsning) godtas imidlertid arbeid i P2-lab med P3-prosedyrer. Det er også anbefalt at alt arbeid med inaktivert materiale skal foregå under P2-inneslutning, men hvor langt dette skal praktiseres er vel ikke helt klart (også post-PCR-arbeid?).

Det har pågått en diskusjon, etter at sars-viruset ikke lenger var i sirkulasjon, om ikke kravet om inneslutning skulle heves ytterligere (P4?) for dyrking av viruset. Motargument har vært at dette vil begrense kraftig den viktige forskningsinnsatsen mot sars. WHO har imidlertid tatt

til orde for at de enkelte land gjennomgår og styrker sine standarder for inneslutning for å unngå smittetilfeller. Blant foreslåtte tiltak er:

- lov-og regelverk samt uavhengige rådgivende instanser for utvikling, implementering og evaluering av biosikkerhetiltak, samt for utredning av brudd på inneslutning.
- et laboratorie-akkrediteringssystem basert på standardiserte inneslutningskriterier anbefales
- et system for overvåking av laboratoriepersonalets helse,
- samt omfattende opplæringstiltak i alle diagnostiske og forskningslaboratorier som fremmer etterlevelse med retningslinjene og en positiv biosikkerhets-kultur.

Samtidig som det påhviler de som lagrer eller håndterer sarsvirusholdig materiale at de lever opp til sitt ansvar, må det være klart at det er i samfunnets interesse at det forskes på farlige agens. Historisk sett har gevinstene vært svært store og ulempene – i form av smittespredning i samfunnet – meget små. Fagmiljøet må motstå overilte forsøk på begrensninger i slik aktivitet, men samtidig være forberedt på at eget laboratoriums sikkerhetsforanstaltninger ikke lenger bare er et internt anliggende. Vil ekstern revisjon av inneslutningstiltak tvinge seg fram?

Norsk diagnostisk beredskap for sars

ivaretas ved at et utvalg laboratorier (Tromsø, Trondheim, Bergen, Ullevål, Rikshospitalet, A-hus samt Folkehelseinstituttet(FHI) har etablert diagnostiske metoder. Disse laboratoriene fungerer som et nettverk for sars-laboriediagnostikk i Norge. I forhold til WHO og internasjonale referanselaboratorier er FHI nasjonalt referanselaboratorium. Informasjon om pasienthåndtering, prøvetaking og diagnostikk er gitt på FHIs nettsider. Agensrettet primærdiagnostikk bør foregå ved de aktuelle sykehuslaboratoriene, mens FHI vil foreta referanseundersøkelse og videresending til WHO-akkreditert sars-referanselaboratorium for endelig bekreftelse av positive funn. Undersøkelse for antistoff ser ikke ut til å ha blitt brukt på mange prøver i Norge. Aktuelle prøver kan sendes via FHI til internasjonalt referanselaboratorium for primær undersøkelse eller verifisering.

Aktuelle tester i Norge

For viruspåvisning er **RT-PCR** anerkjent som den mest effektive metoden som er tilgjengelig. Det er også først og fremst PCR som vil bli brukt for å identifisere en positiv dyrking av mulig sars-virus. Sekvensering av PCR-produkt vil understøtte identifikasjonen og også kunne avsløre evt. kontaminasjon med positiv kontroll. RT-PCR kan gi påvisning tidlig i sykdomsforløpet, men virus-load for sars ser ut til å kulminere senere enn for mange andre respiratoriske virus (rundt dag 10). Erfaring fra internasjonale ringtester er at de fleste laboratorier klarer å utføre PCR på sars, med lav forekomst av falske positive.

Ved positivt PCR-primærresultat utføres ny PCR undersøkelse på nasjonalt referanselaboratorium, med en annen porsjon av prøven enn den som var testet på primærlaboratoriet. Test bør også gjentas på primærlaboratoriet med en annen prøve tatt uavhengig av den første. Ved positiv PCR bør forsøk på **virusdyrking** under tilfredsstillende inneslutning vurderes da dette er en forutsetning for mer inngående karakterisering av virus. I Norge utfører Haukeland Universitetssykehus slik dyrking. En må også regne med at diverse prøvemateriale vil bli etterspurt av internasjonale referanselaboratorier. For å unngå å komme i en situasjon der prøvematerialet tar slutt før en har fått gjort alle nødvendige undersøkelser, er det sterkt ønskelig, hvis mulig, at en sørger for at det tas tilstrekkelig med materiale ved mistanke om sars. **NB!** Person som tar luftveisprøver har ved flere anledninger selv blitt smittet. Tilstrekkelig beskyttelse under slike prosedyrer er viktig.

Test for påvisning av antistoff (immunfluorescens, Euroimmun eller in-house) er anskaffet av noen av de norske laboratoriene, men bruken har etter det FHI kjenner til vært minimal. Vi vet at immunfluorescencetesten fra Euroimmun har blitt benyttet på et par pasientsera, som testet negativt. Det har vært en del problemer med antistofftestene, knyttet til falske negative og til uspesifikke reaksjoner.

Verifisering av positivt testresultat

Dersom en får serokonversjon eller signifikant titerstigning (4-fold eller større) i et serumpar fra pasient der en ikke har fått positiv viruspåvisning, kan virusnøytralisasjon eller western blot brukes til å utrede eventuelle kryssreaksjoner av antistoff mot for eksempel andre humane coronavirus. Dette vil være en oppgave for internasjonale referanselaboratorier. Ved behov for påvisning av antistoff kan også prøve sendes til internasjonalt referanselaboratorium via FHI.

Status

- Et fåtall prøver har blitt undersøkt ved norske laboratorier til nå, og en håndfull sera har blitt sendt til internasjonalt referanselaboratorium for antistoffundersøkelse.
- Ingen av de undersøkte tilfellene har til fulle oppfylt de nasjonale og internasjonale kriteriene for mulig sars-tilfelle.
- Alle har testet negativt.

Influenza

Fugleinfluenza

I den senere tid har det vært utbrudd av hønsepest (høypatogen fugleinfluenza i fjørfe, med virus av subtypene H5 eller H7) en rekke steder. Utbrudd i Nederland (H7N7), USA (H5N2), Canada (H7N3) tidligere i år ser ut til å være overstått, mens et helt uvanlig omfattende utbrudd i Asia av et spesielt ondartet H5N1-virus ikke har latt seg bringe helt under kontroll. En ser i skrivende stund ny oppblussing i Indonesia, Vietnam og Thailand, med tilfeller også i Kina og i tillegg i Malaysia, som var spart tidligere i år.

H5N1-virusene i Asia kan spore sine aner tilbake til bl.a. H5N1-viruset fra Hongkong i 97, og har siden dette utviklet seg til å bli patogent for fugleslag som tidligere ikke tok skade.

Viruset er nå også dødelig for mange ville vade- og svømmefugl. Til og med hos pattedyr er virulensen økende, noe som kanskje også er reflektert av en høyere observert letalitet blant humantilfellene nå enn i 1997.

Humansmitte

Fire hønsepestutbrudd i senere tid har hatt verifiserte humantilfeller:

I begynnelsen av 2003 ble det funnet H5N1-virus hos to medlemmer av en familie som hadde besøkt slekt i Kina, en av dem døde.

Samme vår ble et åttitalls mennesker smittet i forbindelse med et stort H7N7-utbrudd i Nederland med avleggere i Belgia og Tyskland, med ett dødsfall.

I forbindelse med det nylig overståtte H7N3-utbruddet i British Columbia (Canada) fant man to smittede personer.

I tillegg er en person funnet smittet av H7N2 virus i forbindelse med et utbrudd i flere stater øst i USA, men dette dreide seg ikke om høyvirulente virus.

To land, Vietnam og Thailand, har rapportert humansmitte i løpet av H5N1-utbruddet i Asia. Av 43 laboratorieverifiserte tilfeller har 31 hatt dødelig utgang. Den registrerte letaliteten har

gjennom hele utbruddet ligget rundt 70%.

De fleste tilfellene fant sted i perioden januar-mars, men flere tilfeller er rapportert i august/september og viser at også smitte til mennesker er et vedvarende problem. I september er det identifisert tre tilfeller i en thailandsk familie der overføring sannsynligvis har skjedd interhumant. Det var imidlertid tett kontakt over flere dager mellom det syke barnet og moren og tanten, så dette behøver ikke bety at viruset har endret smitteevne.

Current Situation of Avian Influenza and human cases related to the H5 virus subtype (as of 3 October 2004)				
		<i>Cases</i>	<i>Deaths</i>	
Cambodia	H5N1	0	0	Recent outbreaks reported since 22 September. No human case reported.
China	H5N1	0	0	Recent outbreaks reported in Anhui province since 28 June. No reported human case.
Indonesia	H5N1	0	0	Recent outbreaks reported since 28 June.
Malaysia	H5N1	0	0	Recent outbreaks reported since 18 August.
Thailand	H5N1	16	11	Recent outbreaks reported since 7 July. Bird to human transmission with 3 new case reported since June. Possible human to human transmission in a family cluster.
Viet Nam	H5N1	27	20	Recent outbreaks reported since 1 July. Bird to human transmission with five new cases reported since June.
	<i>Total</i>	<i>43</i>	<i>31</i>	

Influensapandemier oppstår når influensa A-virus av en subtype som verdens befolkning ikke har immunitet mot, begynner å smitte mellom mennesker. Typisk skjer dette ved at det oppstår en krysning mellom et influensavirus fra dyr (som bidrar med nye overflateantigener) og influensavirus fra mennesker (som bidrar med virale gener som gir viruset evne til effektiv replikasjon og smitte hos mennesker).

Alle tilfellene av humansmitte med influensavirus fra dyr i den senere tid har ført til at vi nå kontinuerlig siden januar 2003 har vært i en moderat økt beredskap (fase null, beredskapsnivå to). Heldigvis har ingen undersøkte virus så langt inneholdt gener fra humane influensavirus.

Hønspest forårsakes kun av subtypene H5 og H7 og er lett å oppdage, derfor vil det også være lettere å fange opp humantilfeller fra slike utbrudd. Men neste influensapandemi kan like gjerne oppstå fra en av de andre ikke-humane influensa A-subtypene. Den store utbredelsen, evnen til å smitte mennesker direkte fra fugl, og den høye letaliteten gjør likevel at den nåværende trusselen om en H5-pandemi oppleves som særlig skremmende.

Risiko uttrykkes ofte som produktet av en trussels sannsynlighet og alvorligheten av konsekvensene dersom den blir virkelighet. Mens vi håper – og kanskje tror – at sannsynligheten ikke er så stor for at H5N1-utbruddene skal utvikle seg til en pandemi, kan konsekvensene ved en H5N1-pandemi tenkes å bli svært alvorlige for menneskeheten.

Sykelighet og dødelighet under pandemier i Norge, med hypotetisk antall syke og letalitet for en mulig H5N1-epidemi.

Pandemi	Spanskesyken 1918-1919	Asiasyken 1957-1958	Hong Kong- syken 1969-1970	Russer- influenzaen 1977-1978	H5N1
Verden Andel syke	50%	30-80%	15-40%	Som for Norge	
Norge Første rapporterte sykdomstilfelle	15/6-1918 (Kristiania)	15/9 1957 (Rjukan)	Nov. 1969 (Tromsø)	Februar 1978	
Sykelighet Andel Insidens	45% (Bergen) 1,2 mill	15% (Oslo) 1,05-2,81 mill	- 0,57-1,53 mill	9% 364 609	25%? 1,1 mill?
Overdødelighet Antall dødsfall Mortalitetsrate Letalitet	14 676 5,7 ‰ 1,1 %	1 126 0,32 ‰ 0,04-0,11 %	1 768 0,46 ‰ 0,12-0,31 %	0 0 ‰ 0 %	56 000 - 560 000? 12 - 120 ‰? 5 - 50 %?*
Folketall i Norge	2 589 463	3 507 985	3 832 192	4 051 207	4,5 mill

*Observert letalitet 2004 (pr 14 oktober) er 72%

Internasjonal og nasjonal beredskap på overvåkings- og diagnostikk-siden har for vår del dreid seg mye om å sikre at den generelle og spesielle influensadiagnostikken skal kunne fange opp slike virus. Det er etablert nye tester på influensasenteret på Folkehelseinstituttet i samarbeid med WHO og det europeiske influensaovervåkingsnettverket EISS, og en har sett på egnetheten til en del av de diagnostiske testene som er i bruk.

Diagnostiske tester i Norge

For primærlaboratoriene vil det viktigste være å ha typespesifikke tester som også fanger opp et pandemisk virus.

- Immunologisk baserte metoder rettet mot konserverte indre antigener – som KBR og IF – forventes å være adekvate.
- Enkelte type-spesifikke RT-PCR tester er utviklet for å fange opp alle humane influensa A-virus, men favner ikke nødvendigvis sekvensmangfoldet blant influensa A-virus hos dyr. Det er usikkert om for eksempel Hexaplex som er i bruk i Norge vil kunne ta slike virus.
- Det finnes mer universale influensa A-PCR-tester som bør vurderes etablert på laboratorier som utfører sin respiratoriske diagnostikk med PCR, og kanskje også der en baserer seg på dyrking (se neste punkt).
- Ved mistanke om fugleinfluensa/pandemisk stamme før en epidemi har nådd landet bør ikke virusdyrking utføres med lavere inneslutning enn P3.

Inntil videre anses det tilstrekkelig at det nasjonale influensasenteret har subtypespesifikke metoder for nye subtyper, og disse er på plass.

Referanser

WHOs informasjon om sars, pandemisk influensa og fugleinfluensa:

<http://www.who.int/csr/sars/en/>

Investigation into China's recent SARS outbreak yields important lessons for global public health. WHO Western Pacific Region, juli 2004.

(http://www.wpro.who.int/sars/docs/update/update_07022004.asp)

<http://www.who.int/csr/disease/influenza/pandemic/en/>

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en

Nasjonal beredskapsplan for pandemisk influensa:

<http://www.dep.no/hd/norsk/publ/handlingsplaner/042041-990032/index-dok000-b-n-a.html>

Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi, desember 2000:

Pandemisk influensa – beredskap for medisinsk mikrobiologiske laboratorium. Hjetland R, Lier T, Myrmel H, Schøyen R og Ørstavik I (red).

VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER: PRØVETAKING OG TRANSPORT

Andreas Radtke, Avdeling for mikrobiologi, St. Olavs Hospital HF

Virale luftveisinfeksjoner kan diagnostiseres ved agenspåvisning og/eller antistoffpåvisning. Antistoffpåvisning har tradisjonelt vært viktigst, men vil bli positiv senere enn agenspåvisning. Ved hjelp av virusdyrkning, antigenpåvisning og genteknologiske metoder, kan man i dag påvise alle kjente viktige luftveispato gener. Utvilsomt er en tidlig diagnose å foretrekke, og det tvinger agenspåvisning frem som den mest ønskelige prosedyren. For indikasjonen for prøvetaking og valg av metode skiller her mellom barn og voksne.

Generelt om indikasjonen

Overfor barn vil man som regel være mer motivert for å finne et utløsende agens enn hos voksne, særlig hvis barnet har kommet til spesialisthelsetjenesten. Ved siden av den individuelle diagnosen er barneavdelinger også interessert i å vite "hva som går". Som kjent går infeksjoner med de ulike agens i bølger, særlig i vinterhalvåret. Det vil være lettere å stille en tentativ diagnose hvis man har en viss oversikt over den lokale epidemiologiske situasjonen.

Hos eldre barn og voksne vil bakterielle agens være aktuelle, særlig ved nedre luftveisinfeksjoner. Likevel vil for eksempel influensavirus eller CMV være aktuelle agens å påvise hos immunsvekkede.

Prøvetaking

Målet med prøvetakingen fra de øvre luftveier er å få tak i epitelceller fra bakre nesekavitet eller svelgvegg. Enkelte virus påvises lettest i prøver fra bakre nesekavitet (for eksempel RSV og rhinovirus), mens prøvetakingssted ikke er like kritisk for påvisning av andre virus (for eksempel influensavirus). For spedbarn og yngre barn vil et nasopharynxaspirat være det beste prøvematerialet fra de øvre luftveier. Her suges enten selve eksudatet (snørr) fra nesen eller man installerer noen ml med saltvann og aspirerer direkte etterpå. En nasopharynxpinne er det vanlige prøvetakingsutstyret for alle andre pasienter. Pinnen må føres lagt bak i nesekaviteten, typisk ca. 8 cm hos voksne. Plast- eller trepinner må anses som mindre egnet siden de er mer ubehagelige, og faren for kontaminasjon fra fremre del av nesen blir større. Best egnet er pinner med en stålwire som bærer en Dacron tupp. Ved prøvetakingen skal pinnen vries og være i kontakt med slimhinnen i minst 5 sek for å muliggjøre en oppsuging av materiale. Grunnen til at man foretrekker pinnen framfor aspirater/skyllinger er først og fremst at førstnevnte er lettere å utføre for personalet og mindre ubehagelig for pasienten, selv om man med tanke på diagnostisk utbytte ville ha foretrukket det siste.

Halsprøver anses som et dårligere alternativ enn prøver fra nesekaviteten når det gjelder virusdyrkning. Om dette også gjelder for genteknologiske analyser, er ikke undersøkt i tilstrekkelig grad. Det er mangel på gode studier som prøver å sammenligne ulike prøvetakingsmetoder, særlig i forhold til analyser med genteknologiske metoder.

Bronkialskyllévæske vil være aktuelt prøvemateriale for å påvise en viral nedre luftveisinfeksjon. Sputum, trachealinspirat og ekspektorat er mindre egnet pga. kontaminasjonsfaren fra de øvre luftveier. Funn av virus i de sistnevnte prøvene vil gi tolkningsproblemer siden de kan være opportuniste og ikke utløsende agens (for eksempel HSV).

Transport

Virusstabilitet økes ved å kjøle ned prøven, ved å sikre en nøytral pH og ved å forhindre inntørking. Kappede virus er generelt mer labile enn ikke kappede. For luftveisvirusene vil det gjelde alle myxo- og paramyxovirus (særlig RSV).

En transport- og lagringstemperatur på 4°C er ønskelig, men vil i praksis være vanskelig å holde ved forsendelse i posten. Ved adekvat lagring vil de skjøre virusene overleve i 1-3 dager. Frysing vil være problematisk for enkelte virus som f. eks. RSV og CMV, og bør unngås.

De fleste laboratorier som driver med virusdiagnostikk lager sine egne transportmedier. Mediene baseres på Hanks medium tilsatt bovint albumin og en buffer. Norske laboratorier bruker ett eller flere antimikrobielle midler i sine medier, det er imidlertid stor variasjon i hva som benyttes. Noen tilsetter kun antibakterielle midler, noen kun antimykotiske og noen begge deler. Bruksområdet er hovedsakelig nasopharynxaspirater og bronkialskyllévæsker. Selges transportmediene, skal de CE merkes. Ved bruk av mediene innenfor samme sykehus er CE merking sannsynligvis ikke nødvendig, dette utredes for tiden av EU.

Alternativt, særlig for poliklinisk bruk, finnes kommersielle transportsystemer som Virocult. De har lang holdbarhet og er enkle å bruke. Pinnen i systemet er laget av plast og er som nevnt ovenfor ikke ideelt for nasopharynxprøver.

Skal prøven kun til genetnologisk diagnostikk, vil transportmediene ikke være like kritisk siden DNA og RNA er svært stabile molekyler. En tørr pinne kan være en akseptabel transportmåte, særlig for DNA-virus. Dokumentasjonen for RNA-virus er mangelfull.

Konklusjon

Prøvetaking og forsendelse må være sentrale elementer i kvalitetssikringsarbeidet for virale luftveisprøver. Gode rutiner etablert i samarbeid særlig med de viktigste avdelingene som barne- og intensivavdelingene er viktig. Pga. det skiftende fokuset fra antistoffpåvisning til agenspåvisning vil dette bli enda mer sentralt i fremtiden.

Fra de øvre luftveier vil nasofarynxaspirat eller dyp neseprøve være de mest representative materialene, Bronkialskyllévæske, ekspektorat og trakeal aspirat vil være aktuell for de nedre luftveier. Skal materialet dyrkes, er kort transporttid i egnede medier viktig, mens man ved analyse kun med genetnologiske metoder ikke er like avhengig av det.

Referanser

Miller JM: A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology; 2nd edition, 1999; ASM Press, Washington, D.C., USA.

Mandell GJ, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases; 5th edition, 2000; Churchill Livingstone, Philadelphia, USA.

Murray PR et al. Manual of Clinical Microbiology, 8th edition, ASM Press, Washington, D.C., USA.

Div. artikler, bl.a.:

Heikkinen T, Marttila J, Salmi AA, Ruuskanen O. Nasal swab versus nasopharyngeal aspirate for isolation of respiratory viruses; J Clin Microbiol. 2002;40:4337-9.

Schmid ML, Kudesia G, Wake S, Read RC. Prospective comparative study of culture specimens and methods in diagnosing influenza in adults. BMJ 1998; 316:275.

Covalciuc KA, Webb KH, Carlson CA. Comparison of four clinical specimen types for detection of influenza A and B viruses by optical immunoassay (FLU OIA test) and cell culture methods. *J Clin Microbiol* 1999;37:3971–3974.

ANTIGENPÅVISNING VED DIAGNOSTIKK AV LUFTVEISVIRUS.

Gunnar Størvold, Mikrobiologisk avdeling, Ullevål universitetssykehus HF

Påvisning av virusantigen har i mange år vært et godt alternativ og/eller supplement til dyrkning ved diagnostikk av de vanligste og viktigste luftveisvirus. Metodene er hurtige og relativt lite ressurskrevende sammenliknet med dyrkning. De er spesielt nyttige for influensavirus og RSV, men også aktuelle for parainfluenza- og adenovirus.

Antigenpåvisning er ikke aktuelt for enterovirus, rhinovirus, humant metapneumovirus eller coronavirus, hvor dyrkning og/eller nukleinsyreamplifikasjon må gjøres.

Immunfluorescensmikroskopi (IF)

God sensitivitet og spesifisitet ved bruk av IF avhenger av en rekke faktorer. Det er meget viktig at prøven inneholder nok respiratorisk epitel. Nasofarynxaspirat er best, men dette krever jo eget prøvetakingsutstyr og øvet personale, og utføres derfor nesten bare på barn innlagt i sykehus. Dyp nesepensel er mye dårligere egnet, og halsskyllevann og ekspektorat er av liten verdi.

Prøvematerialet må behandles slik at innhold av slim reduseres mest mulig (mekanisk, eller ved behandling med ulike slimløsende kjemikalier) for å unngå uspesifikke fargenedslag.

Et godt IF-mikroskop (sterk nok lampe, som byttes regelmessig, og gode objektiver!) er nødvendig. Avleserens erfaring er meget viktig, og må holdes ved like. Typisk morfologi for de ulike virus bidrar til økt spesifisitet. Det ses lett om prøven evt. ikke inneholder nok respiratoriske epitel for en pålitelig vurdering, noe som må meddeles rekvirenten raskt. Metoden er tungvint ved stort antall prøver.

Mange monoklonale antistoffer, de fleste direkte FITC-merket, finnes kommersielt tilgjengelig fra anerkjente produsenter. Kvaliteten må testes ved starten av sesongen, og ved hver ny batch av antistoff, ved hjelp av kjente kontroller (helst også egne i tillegg til produsentens!).

Optimalt kan sensitiviteten for RSV ligge på samme nivå som for dyrkning, mens den for influensavirus A og B typisk ligger lavere, fra 40 – 90 %, sammenliknet med dyrkning. Spesifisiteten kan være høy, spesielt for RSV.

For parainfluenzavirus type 1, 2 og 3, og spesielt for adenovirus, er sensitiviteten til dels mye lavere. Spesifisiteten kan være god ved typisk morfologi. (Ref 10 gir en god og morsom ”gjenoppfriskning” om IF).

EIA (enzyme immunoassay)

Avlesningen her er tilnærmet objektiv, men en ulempe er at prøvens kvalitet kan ikke vurderes som ved IF.

1. EIA mikrotiterplateformat

Best egnet til et større antall prøver, og tillater delvis automatisering. Ved lite antall prøver i hvert oppsett blir reagensutgiftene store. Sensitivitet og spesifisitet angis grovt sett i samme områder som for IF. Så vidt vites er ikke disse testene i rutinebruk i laboratoriene nå.

2. EIA hurtigtester

Det finnes mange utgaver av disse kommersielt tilgjengelig for RSV og influensavirus. Det er lagt stor vekt på brukervennlighet, det kreves minimalt med laboratorieutstyr, og de er raske (svar innen 15 - 30 min). Avlesningen er oftest enkel, da positiv prøve skal gi typisk mønster eller fargeforandring på en testmembran/stripe. Noen ganger kan dog avlesningen være usikker, spesielt ved svake reaksjoner.

Hurtigtester som skal være tilgjengelige på markedet:

For RSV: BD Directigen RSV (Becton Dickinson), TestPack RSV (Abbott), RSV Respi-Strip (Coris), Now RSV (Binax), ImmunoCard STAT! RSV (Meridian Bioscience).

For influensavirus: Now Flu A, Now Flu B (Binax), BD Directigen Flu A og BD Directigen Flu A +B (Becton Dickinson), FLU OIA (Thermo BioStar) og QuickVue (Quidel). De to siste skiller ikke mellom type A og B.

Det foreligger etter hvert mange studier hvor hurtigtester for RSV og influensavirus er sammenliknet innbyrdes og med dyrkning, IF og seinere tid også PCR (ref. 1-7 er et lite utvalg). De fleste studiene er dog relativt små, med såpass lite antall positive funn at angivelse av (spesielt) sensitivitet blir usikker.

Nasofarynksaspirat (eller neseskyllevæske) er det beste prøvematerialet. Sensitivitet og spesifisitet ligger da grovt sett i samme område som for IF, men for eldre barn og voksne er sensitiviteten dårligere enn hos små barn (8,9).

Dyp nesepensel og ekspektorat er noe dårligere prøve. Halspensel gir lav sensitivitet.

Anvendelse av hurtigtester

Disse synes hovedsakelig beregnet til bruk hos primærleger eller på avdelinger/institusjoner som ikke har rask nok tilgang til hurtigdiagnostikk på et mikrobiologisk laboratorium (som ideelt sett bør kunne utføres samme døgn som prøven er tatt).

Brukeren må ha kunnskap om testenenes sensitivitet og spesifisitet, og om mulige årsaker til feil resultat. Ansvar for opplæring, vedlikehold av kunnskap og kvalitetskontroll må være klart definert.

I det mikrobiologiske laboratoriet kan hurtigtestene være et alternativ dersom IF ikke er tilgjengelig raskt nok. Resultatet bør dog kontrolleres med IF etterpå. Utenom høyprevalenssesongen må det regnes med lav prediktiv verdi av positiv test!

Framtida

Når de mer sensitive (og spesifikke) metodene for nukleinsyreamplifikasjon etter hvert blir enklere og billigere, vil de sannsynligvis helt erstatte antigenpåvisning som rutinemetode, spesielt siden de ikke har noe krav om nasofarynksaspirat som beste prøvemateriale.

Noen referanser

1. Ohm-Smith MJ et al. Evaluation of the Binax Now, BD Directigen, and BD Directigen EZ assays for detection of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol* 2004;42:2996-9.
2. Boivin G et al. Multiplex real-time PCR assay for detection of influenza and human respiratory syncytial viruses. *J Clin Microbiol* 2004;42:45-51.
3. Kanestrom A, Myrmel H. Quick diagnosis of respiratory syncytial virus infection. *Tidsskr Nor Laegefor*. 1996; 16(12):1461-3.
4. Covalciuc KA et al. Comparison of four clinical specimen types for detection of Influenza A and B viruses by optical immunoassay (FLU OIA Test) and cell culture methods. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3971-3974.
5. Boivin G et al. Evaluation of a rapid optical immunoassay for influenza viruses (FLU OIA Test) in comparison with cell culture and reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 39:730-732.

6. Schultze D et al. Evaluation of an optical immunoassay for the rapid detection of influenza A and B viral antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20:280-382.
7. Reina J, Padilla E, Alonso F, Ruiz DGE et al. Evaluation of a new dot blot enzyme immunoassay (Directigen flu A+B) for simultaneous and differential detection of influenza A and B virus antigens from respiratory samples. *J Clin Microbiol* 2002; 40:3513-3517.
8. Steininger C et al. Effectiveness of reverse transcription-PCR, virus isolation , and enzyme-linked immunoassay for diagnosis of influenza A virus infection in different age groups. *J Clin Microbiol.* 2002; 40:2051-6.
9. Casiano-Colon A et al. Lack of sensitivity of rapid antigen tests for diagnosis of respiratory syncytial virus infection in adults. *J Clin Virol.* 2003;28:169-74.
10. Madeley CR et al. Methods in virus diagnosis: immunofluorescence revisited. *J Clin Virol* 2002; 25:121-134.

Generelt:

Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. Lennette, Lennette and Lennette. American Public Health Organization 1995.

Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology 1999.

AGENSPÅVISNING MED GENTEKNOLOGISKE METODER

Svein Arne Nordbø, Avdeling for medisinsk mikrobiologi, St. Olavs Hospital HF

Virale luftveisinfeksjoner forekommer i alle aldersgrupper, men er hyppigst blant barn. Alvorlige infeksjoner opptrer oftest hos de yngste barna og blant eldre og pasienter med nedsatt immunforsvar.

Viktige agens er adenovirus, influensavirus, parainfluensavirus, RS-virus, coronavirus, rhinovirus, humant metapneumovirus og enterovirus. Det er mange forskjellige subtyper av disse virusene som gir store diagnostiske utfordringer mht valg av analyser og bruk av økonomiske ressurser.

Prøvetaking og nukleinsyreekstraksjon

Flere typer prøvemateriale fra luftveiene kan være aktuelt å undersøke. Mest aktuelt er halsprøve, nasofarynksaspirat (NF) og BAL. Ekspektorat er mer problematisk å undersøke. Valg av prøvetakingsutstyr og transportmedium er langt mindre kritisk for genteknologiske undersøkelser enn om prøvene skal dyrkes. Nasofarynksaspirat er mest benyttet som prøvemateriale for påvisning av respiratoriske virus hos småbarn. Dyp nesepensel eller halspensel kan benyttes hos større barn og voksne pasienter. Luftveivirus er sterkt assosiert med respiratorisk epitel, og det er derfor viktig å få med seg mest mulig celler ved prøvetakingen for å oppnå en god sensitivitet. Prøvepinnen kan sendes i et vanlig virustransportmedium. Det er også mulig å gjøre nukleinsyreekstraksjon fra tørre prøvepinner, men dette er ikke optimalt for påvisning av RNA-virus.

Automatisert nukleinsyreekstraksjon er en forutsetning for å implementere genteknologiske metoder i rutinediagnostikken.

Diagnostiske metoder

Det finnes mange genteknologiske metoder som kan benyttes for påvisning av respiratoriske virus. I dagens situasjon er det de genbaserte amplifikasjonsmetodene som er mest aktuelle å benytte.

PCR er kanskje den metoden som er best egnet til klinisk diagnostikk av virale luftveisinfeksjoner. Utvalget av kommersielle tester er størst med denne teknikken, men det er få produsenter som kan tilby et komplett utvalg av tester mot alle aktuelle agens.

Nested PCR og PCR som bruker hybridiseringsprober er opptil 100 ganger mer sensitiv enn standard single PCR med gelelektroforese. Det finnes også kommersielle multiplex-PCR kit som kan detektere flere agens i samme kjøring.

Real-time PCR har mange praktiske fordeler. Det er en meget rask metode som gir et semikvantitativt svar som kan være nyttig for vurderingen av den kliniske betydningen. Sensitiviteten og spesifisiteten er like god som nested PCR, og kontaminasjonsfaren er betydelig redusert, spesielt hvis man inkorporerer dUTP (deoxyuracil trifosfat) i PCR-produktene og forbehandler alle prøvene med UNG (uracil N glycosylase) før amplifikasjonsprosessen (2). I tillegg er det den best egnede metoden for kvantitering av målsekvensen. Det anbefales å benytte internkontroll til alle prøvene for å påvise evt. inhibisjon av Taq-polymerasen, samt kit-uavhengige kontroller ved alle oppsett (3).

RT-PCR som påviser mRNA i prøven kan være nyttig for å vurdere om det er tegn til aktiv infeksjon.

NASBA (Nucleic acid sequence-based amplification) er en isoterm amplifikasjonsteknikk som benytter RNA som templat. RNA brytes mye raskere ned enn DNA, og er derfor en mer pålitelig markør for en aktuell infeksjon enn DNA som kan persistere i flere måneder etter en infeksjon. Det er utviklet varianter av NASBA-teknikken som benytter real-time prinsippet, og som er like rask og sensitiv som real-time PCR (4), men det finnes få kommersielle tester tilgjengelig for dette testprinsippet, og metoden har derfor fått begrenset anvendelse i praktisk diagnostikk.

Det finnes også andre genbaserte amplifikasjonsteknikker som kan være aktuelle å benytte, men foreløpig er disse metodene lite aktuelle for praktisk diagnostikk.

Mikromatriseteknologien vil sikkert spille en viktig rolle i årene som kommer, og det finnes allerede kommersielle tester for påvisning av noen respiratoriske virus. Av økonomiske grunner vil det imidlertid fortsatt gå noen år før denne teknikken er aktuell å benytte i rutinediagnostikken.

Det bør understrekes at optimal forbehandling og ekstraksjonsteknikk av nukleinsyrener er svært viktig for å oppnå best mulig sensitivitet, uansett hvilken molekylærgenetisk metode man benytter. Viskøse prøver representerer en stor diagnostisk utfordring, og forbehandling med proteinase er viktig.

Konklusjon

Genteknologiske analyser for påvisning av respiratoriske virus representerer et viktig diagnostisk fremskritt pga den høye sensitiviteten og spesifisiteten.

Best egnet til denne diagnostikken er molekylærgenetiske metoder med amplifikasjon. Det er i dag flere kommersielle alternativer på det norske markedet. Av de ulike PCR-variantene har real-time PCR mange åpenbare fordeler både praktisk og kvalitetsmessig, og vil etter hvert kunne bli tilgjengelig for de fleste mikrobiologiske laboratorier som skaffer seg kompetanse innen dette feltet.

Anbefalt litteratur

1. Ieven M, Goossens H. Relevance of nucleic acid amplification techniques for diagnosis of respiratory tract infections in the clinical laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 242-256.
2. Poddar SK, Sawyer MH, Connor JD. Optimized PCR amplification of influenza A virus RNA using Tth DNA polymerase, incorporating uracil N glycosylase (UNG) in a single tube reaction. *J Clin Lab Anal.* 1997; 11:323-7.
3. Niesters HGM. Molecular and diagnostic clinical virology in real time. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 5-11.
4. Lanciotti RS, Kerst AJ. Nucleic acid sequence-based amplification assays for rapid detection of West Nile and St. Louis encephalitis viruses. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4506-13.

DYR KING AV RESPIRATORISKE VIRUS I CELLEKULTUR

Anne-Lise Bruu, Mikrobiologisk laboratorium, Sykehuset i Vestfold HF

Dyrking av virus i cellekultur regnes fortsatt som en diagnostisk referansem metode, selv om påvisning av virusnukleinsyre ved PCR vinner stadig større terreng.

Virus er strikt intracellulære parasitter som trenger levende celler for å vokse og formere seg og for å spre infeksjonen videre. Cellekulturen består av et cellelag på innsiden av et glass- eller plastrør, som holdes fuktig ved tilsetning av medium med næringsstoffer som både er essensielle for cellene og som understøtter veksten av virus. Et alternativ til bruk av rør er mikrotiterplater.

Valg av riktige cellelinjer er viktig, fordi de enkelte cellelinjer har forskjellig sensitivitet og spesifisitet overfor ulike virus. Tabellen nedenfor viser hvilke celler som er aktuelle for respiratoriske virus:

Cellelinje	Opprinnelse	Adenovirus	Rhinovirus	Coronavirus inkl. SARS-CoV	Influenzavirus	Humant metapneumovirus	Parainfl.-virus	RS-virus
A549	Human lungecancer	++						
BGM	Buffalo African Green Monkey nyre	+	(+)		+		++	++
HE/HEL	Humane embryonale fibroblaster	++	+	(+)				
HEK	Human embryonal nyre	++	+	(+)				
HeLa	Human epitelial cervixcancer	++						++
Hep2	Human epidermoid larynxcancer	++						++
LLC-MK2	Rhesusape nyre				++	+	++	
MDCK	Hundenyre				++		+(parainfl. 3)	
MRC-5	Humane fibroblaster (embryolunge)	++	+		+			++
PMK	Primær apenyre				++		++	
RhMK	Rhesusape nyre				+		+	
Vero	African Green Monkey nyre			(+)				
WI-38	Fibroblaster	++	+					++

+++ anbefalt cellelinje, += brukbar cellelinje, (+)= brukbar cellelinje, men vanskelig å dyrke virus

Cellekulturer for dyrking av respiratoriske virus inkuberes vanligvis i 10-12 dager før de vurderes som negative. Det er ikke dokumentert at sakte rotasjon av rørene i ”roller” har noen fordel sammenlignet med stasjonær inkubering. Vanlig inkuberingstemperatur er 33°C. Ved dyrking av orthomyxo- og paramyxovirus tilsettes mediet trypsin i optimal konsentrasjon, uansett hvilken cellelinje man bruker, for at hemagglutinet skal spaltes og føre til økt infektivitet av virus og lettere spredning fra celle til celle.

Metoder for identifikasjon ved påvist cytopatogen effekt (CPE) er:

- Elektronmikroskopi.
- Serologisk typebestemmelse er aktuelt for adenovirus.

- Antigenpåvisning ved immunfluorescens med monoklonale antistoffer, ev. etter hemadsorpsjonstest (HAds) er aktuelt for andre respiratoriske virus som viser CPE og/eller positiv HAds.

Fordi vanlig dyrking tar lang tid, kan man bruke hurtigmetoden ”Shell Vial Culture”, og påvise respiratoriske virus allerede etter 1-2 døgn. Virus dyrkes på små runde dekkglass med monolayer av celler, som er plassert i små rør med flat bunn. Etter inokulering av prøvematerialet sentrifugeres rørene ved lav hastighet slik at virus kan trenge inn i cellene. Etter 1-2 døgn inkubering kan virusantigen påvises ved immunfluorescensmetode. Sensitivitet og spesifisitet er minst like høy som for vanlig dyrking, og spesielt for påvisning av influensavirus har mange tatt denne metoden i bruk.

Respiratoriske virus kan også dyrkes ved podning av befruktet egg, men dette har neppe noen plass i diagnostikken lenger.

Indikasjoner for dyrking i cellekultur

- For diagnostikk av respiratoriske infeksjoner er dyrking fortsatt aktuelt som alternativ til antigenpåvisning. Mens antigenpåvisning er mer sensitiv enn dyrking for RS-virus, har de to metodene tilnærmet samme sensitivitet for parainfluenzavirus og influensavirus A. For påvisning av infeksjoner med adenovirus og influensavirus B er dyrking mer sensitiv. Det er viktig å være klar over at subjektiv avlesning av en analyse, som f.eks. IF, kan være en ulempe og at dyrking har meget høy spesifisitet.
- Dyrking av respiratoriske virus er også viktig i beredskapsøyemed, f.eks. ved en influensapandemi, for å konfirmere resultater av antigenpåvisning og PCR.
- Epidemiologisk kartlegging av utbrudd med f.eks. adenovirus, hvor typebestemmelse er viktig.
- Virologisk overvåking av influensa: Et utvalg av isolerte pasientstammer oversendes hvert år WHO influensasenter i London for analyse, fordi det er viktig å bestemme sammensetningen av neste sesongs influensavaksine på basis av de stammene som er isolert i aktuelle sesong.
- For vaksine og antigenproduksjon må dyrking fortsatt utføres.
- Dyrking kan brukes til fenotypisk resistensbestemmelse av antivirale midler (påvisning av plaque-reduksjon). Slike undersøkelser kan tenkes å bli aktuelle for antivirale midler mot influensavirus for å påvise reduksjon av hemagglutinin og av antall plaques.

Fordeler ved dyrking

- Meget høy spesifisitet (tilnærmet 100%).
- Påviser man levende virus, foreligger det overveiende sannsynlig en aktuell infeksjon. Det er mer usikkert å tidfeste en infeksjon når nukleinsyre påvises.
- Miljøvennlig i forhold til PCR, mye mindre risiko for kontaminering til omgivelsene.
- Ved dyrking er det mulig å oppdage ukjente virus.

Ulemper ved dyrking

- Dyrking tar lang tid sammenlignet med PCR og hurtigmetoder for antigenpåvisning. Dyrking av influensavirus kan ta opptil 12 dager.
- Det må være levende virus i prøvematerialet.
- Dyrking har lavere sensitivitet enn PCR.
- Ved påvist CPE må det gjøres tilleggster for identifikasjon.
- Dyrking krever erfaring og kompetanse, samt løpende tilgang på cellekulturer, medier og andre reagenser.

Oppsummering

Fordi dyrking av respiratoriske virus i cellekultur fortsatt har status som en referansem metode, bør minst 1 laboratorium i hver region opprettholde kompetanse på området. I praksis vil dette være referanse-laboratoriene. For øvrige laboratorier, som ikke har løpende tilgang på cellekulturer, vil det være lite praktisk å satse på dyrking når det i tillegg til antigenpåvisning er mulig å ta i bruk PCR-metoder.

Litteratur

1. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, eds. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Eleventh Edition, St. Louis, USA, Mosby, 2002;799-854.
2. Chapin KC, Westerfeld FW. Reagents, Stains, Media, and Cell Lines: Virology. In: Murray PR, Baron E, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, White

VIRALE LUFTVEISINFEKSJONER – ANTISTOFFPÅVISNING

Nina Evjen, Mikrobiologisk avdeling, Akershus universitetssykehus HF

Innledning

Serologisk diagnostikk av virale luftveisinfeksjoner baserer seg på antistoffbestemmelser og dermed på en indirekte påvisning av sykdomsårsaken. Det tar tid før antistoffresponsen kommer, diagnosen stilles derfor relativt sent i forløpet.

Tilbudet av tester til agenspåvisning, som gir raskt og sikkert resultat, blir stadig bedre, og bruken av slike tester er økende. Tidlig diagnose kan være avgjørende for riktig pasientbehandling og -håndtering. Hurtig diagnostikk får også stadig større betydning ettersom tilbudet av spesifikk antiviral behandling øker.

Har serologiske tester fortsatt noen plass i diagnostikken av virale luftveisinfeksjoner?

Generelt om serologisk diagnostikk av luftveisinfeksjoner

Sykdomsbildene som fører til at det sendes prøve til serologisk diagnostikk ved luftveisinfeksjoner strekker seg over hele spekteret fra banale infeksjoner i øvre luftveier til alvorlig sykdom som krever sykehusinnleggelse.

Eksempler på kliniske problemstillinger som angis på rekvisisjonene vi mottar er :forkjølelse med sår hals, heshet og tett nese, mer eller mindre langvarig hoste, pharyngitt, krupp/ falsk krupp, bronkitt, bronkiolitt, nedre luftveisinfeksjon, pneumoni, influensalignende sykdom og også konjunktivitt og otitis media. Alt for ofte angis ikke klinisk problemstilling i det hele tatt.

Prøver til serologisk diagnostikk kan tas både tidlig og sent i sykdomsforløpet. Størst utbytte får man av parsera, der den første prøven er tatt i løpet av første sykdomsuke (akutfaseprøve), den andre to til fire uker senere (rekonvalesensfaseprøve). Man kan eventuelt vente med å analysere akutfaseprøven til rekonvalesensfaseprøve foreligger.

En aktuell infeksjon kan påvises serologisk ved funn av

- serokonversjon fra negativ til positiv i parsera
- signifikant titerstigning (verdi x 4 dvs. 2 titertrinn) mellom akutfaseprøve og rekonvalesensfaseprøve
- påvisning av spesifikt IgM (og/eller IgA) i akutfaseprøve

Høyt titer i en prøve kan i gitte tilfeller indikere aktuell sykdom, men kan også være uttrykk for tidligere gjennomgått sykdom.

Uendret titer i parsera indikerer også at infeksjonen ligger noe tilbake i tid.

Negative prøver vil kunne brukes differensialdiagnostisk til å utelukke infeksjon.

Signifikant titerfall er vanligvis lite nyttig, antistofftiter faller gjerne sent og langsomt etter flere måneder.

Fordeler ved serologisk diagnostikk

- Enkel prøvetaking
- Prøvematerialet kan oppbevares for eventuelle senere analyser (retesting, sammenligning med nye prøver)
- Kan brukes av laboratorier med begrensede ressurser og utstyr
- Kan utføres relativt raskt og kan automatiseres

Begrensninger ved serologisk diagnostikk

- Vanskelig å få gode kliniske opplysninger f.eks. om sykdomsvarighet. Dette er ofte avgjørende for tolkning og vurdering
- Mange tilfeller er reinfeksjoner, der på nytt er nødvendig. Det kan ofte være vanskelig å få rekonvalesensfaseprøve, det er også et etisk dilemma å ta prøver fra friske barn
- Det tar tid før antistoffresponser kommer, diagnosen stilles relativt sent i sykdomsforløpet og får gjerne få eller ingen praktiske konsekvenser for pasientbehandlingen
- Immunresponsen kan være svak eller utebli hos nyfødte, gamle og immunsupprimerte
- Både IgG og IgM kan persistere lenge, det kan være vanskelig å tidfeste gjennomgått infeksjon
- Reinfeksjoner gir ikke alltid signifikant titerstigning
- Polyklonal aktivering i forbindelse med annen sykdom kan gi tolkningsproblemer
- Pasienten kan ha fått tilført immunoglobuliner (maternelle antistoffer, transfusjoner, Ig-preparater).
- Prøvematerialets kvalitet kan variere (f. eks. hemolyse, høyt lipidinnhold, bakteriell kontaminasjon)
- Problemer med falsk positive- og falsk negative reaksjoner, med kryssreaksjoner og med hemmere i prøvematerialet
- Tilgangen på kommersielle tester er begrenset
- Det kan være vanskelig å finne egnede antigener
- Svartutrutinene er ikke standardiserte og gir rom for ulik tolkning
- Usikker kost/nytte-effekt på grunn av sen diagnose

Faktorer som påvirker valg av mikrobiologisk diagnostikk ved luftveisinfeksjoner

- Klinisk bilde
- Sykdomsfase:
Agenspåvisning er kun aktuelt i tidlig sykdomsfase, innen 3-4 uker, mens serologi kan gi nyttig informasjon selv om prøven er tatt sent i sykdomsforløpet
- Alder :
Valg av aktuelle agens er avhengig av pasientens alder, f.eks. er undersøkelser m.h.p parainfluenza først og fremst aktuelt hos barn
- Årstid:
Det er uttalt sesongvariasjon for flere av de aktuelle virusene (influenza og RSV: vinter, parainfluenza type 3: vår)
- Epidemiologiske forhold:
F. eks. influensautbrudd, RS-sesong, epidemier med adeno- eller parainfluenzavirus

Indikasjoner for serologisk diagnostikk av virale luftveisinfeksjoner

Ved følgende problemstillinger kan serologisk diagnostikk være til nytte:

- Prøvetaking sent i forløpet:
F.eks. hos voksne med langvarig hoste. Bakterielle infeksjoner som Kikhoste, Mykoplasma- eller Chlamydiainfeksjon er gjerne viktige differensialdiagnoser, og virusserologi kan her bidra til diagnostisk avklaring og eventuelt redusert antibiotikabruk
- Infeksjoner der agens er vanskelig å påvise:
F.eks. hos voksne, spesielt eldre pasienter som gjerne har lavere virusutskillelse enn yngre pasienter (1). Det kan også være vanskeligere å få god prøve til agenspåvisning fra disse pasientene og det tas ofte penselprøve som gir lavere sensitivitet enn aspirater.
- Der andre metoder ikke er tilgjengelig eller hensiktsmessige:
F.eks. ved laboratorier med begrensede ressurser
- Til bruk ved oppklaring av aktuelle epidemier og i epidemiologiske studier:
Viktig for kartlegging av virusinfeksjoners betydning generelt, og for de ulike agens spesielt (1, 2). Det er å håpe at dette kan gi økt bevisstgjøring og bidra til redusert antibiotikaforbruk

Serologi er ikke egnet til å påvise virale luftveisinfeksjoner i den akutte fasen. Ved banale infeksjoner i øvre luftveier er det ikke indikasjon for virusserologi (3).

Aktuelle agens

De viktigste etiologiske agens for virale luftveisinfeksjoner er listet opp under:

Adenovirus	Rhinovirus	CMV
Influenzavirus A og B	Coronavirus	EBV
Parainfluenzavirus 1-3	Enterovirus	
RSV		

Humant metapneumovirus
SARS-coronavirus

For adenovirus, enterovirus, influenzavirus A og B, parainfluenzavirus, RSV, EBV og CMV finnes det et serologisk rutinetilbud i Norge i dag (4).

Det finnes foreløpig ikke noe rutinetilbud for serologisk diagnostikk av humant metapneumovirus eller SARS-coronavirus i Norge.

For rhinovirus og coronavirus finnes det ikke noe serologisk rutinetilbud for denne problemstillingen (4). Disse virusene forårsaker for det meste banale øvre luftveisinfeksjoner, der det ikke er indikasjon for serologisk diagnostikk. Serologiske metoder er dessuten lite egnet, da det her dreier seg om mange ulike vira og mange ulike serotyper.

Aktuelle serologiske metoder

For adenovirus, influensavirus A og B, parainfluenzavirus ("total" og 1-3) og RSV er komplementbindingsreaksjon (KBR) eneste rutinemetode i bruk i Norge pr. oktober 2002 (4).

Andre metoder enn KBR som f.eks. EIA og HAI finnes og er i bruk i andre land. Det er så vidt jeg kjenner til ikke kommersielt tilgjengelige ELISA-tester på det norske markedet. Det er nok flere årsaker til dette. Vi har lang tradisjon for bruk av KBR, og både klinikere og mikrobiologer er fortrolige med en gammel og velprøvet metode. Det er vanskelig å finne egnede antigener for utvikling av gode ELISA-tester. Serologisk diagnostikk av virusinfeksjoner har dessuten liten kommersiell interesse, og dette forsterkes ytterligere av den økte tilgangen på metoder til agenspåvisning.

For diagnostikk av EBV- og CMV- infeksjoner finnes et bredt diagnostisk tilbud av serologiske tester. Det er utarbeidet egne strategidokumenter for diagnostikk av EBV- og CMV- infeksjoner (5, 6), så dette blir ikke omtalt nærmere her.

Komplementbindingsreaksjon (KBR)

Fordeler:

- Lave reagensutgifter
- Lar seg automatisere
- Velprøvd metode
- Kan brukes der det ikke finnes kommersielle alternativer, eller der bedre eller likeverdige tester mangler eller er for dyre
- Ofte tydelig titerstigning ved reaktivering

Ulemper:

- Relativt lite sensitiv
- Egner seg ikke til immunstatusundersøkelser
- Bør ha serumpar av prøve tatt i akutfasen og prøve tatt minst 10 dager senere, undersøkelse av rekonvalesensfaseprøve alene er mer usikkert da høyt "bakgrunnstiter" ikke er uvanlig
- Tolkning og vurdering kan være svært vanskelig ved mangelfulle kliniske opplysninger
- Dårlig antistoffrespons målt med KBR hos barn
- Er ikke immunglobulinklassespesifikk, skiller ikke immunglobulinklasser
- Dekker IgG 1-3, er relativt lite sensitiv for IgM
- Krever nøye innstilling og standardisering av reagensene
- Subjektiv avlesning
- Usikkerhet rundt fortsatt tilgang på nødvendige reagenser (antigen, komplement, hemolysin, blodlegemer)

Sammendrag og konklusjon

Serologisk diagnostikk av virale luftveisinfeksjoner er basert på påvisning av antistoffer og dermed en indirekte påvisning av sykdomsårsaken. Prøver til serologisk diagnostikk kan tas både tidlig og sent i sykdomsforløpet. Akutfaseprøver har imidlertid liten selvstendig verdi, da det tar tid før en eventuell antistoffrespons kan påvises. Størst utbytte får man ved analyse av parsera. Resultatet av de serologiske undersøkelsene kan gi viktig differensialdiagnostisk informasjon, men diagnosen stilles gjerne for sent i sykdomsforløpet til at det får praktiske

konsekvenser for pasientbehandlingen. Prøvetaking til serologisk diagnostikk er relativt enkel, og serologiske metoder kan brukes av laboratorier med begrensede ressurser og utstyr. KBR er den eneste rutinemethoden i bruk til serologisk diagnostikk av virale luftveisinfeksjoner i Norge i dag (gjelder ikke EBV og CMV).

Serologisk diagnostikk kan være til nytte når prøvetaking må skje sent i sykdomsforløpet, slik at antigenpåvisning ikke lenger er aktuelt, og ved infeksjoner der agens er vanskelig å påvise på grunn av liten virusutskillelse eller dårlig kvalitet på prøvematerialet.

Serologi er et viktig verktøy i epidemiologiske studier.

Ved banale infeksjoner i øvre luftveier er det ikke indikasjon for virusserologi.

Aktuell bakgrunns litteratur

- Timbury MC. Notes on medical virology 10th ed. 1994; 24-48.
- Rose NR, Hamilton RG, Detrick B. Manual of clinical laboratory immunology 6th ed. 2002; 516-521.
- Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical Virology, 2nd. ed. 2002; 243-272.
- Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i serologi og virologi / Statens institutt for folkehelse, 1996. Strategimøte: Komplementbindingsreaksjonen for påvisning av serumantistoffer.

Referanser

1. Farlsey AR, Formica MA, Walsh EE. Diagnosis of respiratory syncytial virus infection: comparison of reverse transcription-PCR to viral culture and serology in adults with respiratory illness. J Clin Microbiol 2002; 40:817-820.
2. Rätty R., Ziegler T., Kleemola M. The value of serology in epidemiological studies of acute otitis media in children J Clin Virol 2004; 29:315-319.
3. Mäkelä MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, Leinonen M, Saikku P, Kimpimäki M, Blomqvist S, Hyypiä, T, Arstila P. Viruses and bacteria in the etiology of common cold. J Clin Microbiol 1998; 36:539-542.
4. Norsk folkehelseinstitutt, Divisjon for smittevern, 8. revisjon 2002. Diagnostiske rutinetester i virologi og bakteriologisk serologi ved medisinske laboratorier.
5. Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i serologi og virologi / Statens institutt for folkehelse, 2000. Strategimøte: Diagnostikk av Epstein-Barr virus infeksjoner.
6. Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i serologi og virologi / Statens institutt for folkehelse, 1998. Strategimøte: Diagnostikk ved cytomegalovirusinfeksjoner.

Utgitt av Nasjonalt folkehelseinstitutt
Divisjon for smittevern

Bestilling:
Nasjonalt folkehelseinstitutt
Postboks 4404 Nydalen
0403 Oslo
Telefon: 23 40 82 00
Telefax: 23 40 81 05

ISBN 82-8082-136-8 trykt utgave
ISBN 82-8082-137-6 elektronisk utgave