

Evaluering af anthraxvaccination i Danmark

Reservelæge Kristian Hveysel Bork,
overlæge Erik Deichmann Heegaard, cand.scient. Jesper Nielsen,
laboratorietekniker Ewa Kogutowska &
afdelingschef Niels Henrik Helweg Heegaard

Statens Serum Institut, Center for Biologisk Beredskab og
Autoimmunafdelingen

Bacillus anthracis giver sjældent anledning til sygdomstilfælde hos mennesker i den industrialiserede verden. I Danmark er der ikke registreret tilfælde af anthrax siden 1960'erne, og i USA har der ikke været inhalationsanthrax i perioden 1976-2001. *B. anthracis* har fået fornyet aktualitet, idet forskellige statslige aktører og muligvis også terrorgrupper har våben-gjort bacillens sporeform.

Baggrund

Fra det sovjetiske biologiske våbenprogram kendes ulykken ved Sverdlovsk i 1979, hvor 66 mennesker døde efter eksponering for få gram våben-gjort anthrax. I USA blev der i 2001 af-sendt anthraxbreve af ukendte gerningsmænd, hvilket førte til fem dødsfald. Væsentligt flere mennesker var eksponeret, men forblev asymptomatiske på grund af aktiv antibiotikaprofy-lakse og immunisering [1]. I forbindelse med udredning af en

type I-hændelse forestår Center for Biologisk Beredskab (CBB) på Statens Serum Institut (SSI) bl.a. prøvetagning ved mistanke om udlægning af biologiske kampstoffer. Arbejdet med sikring af prøvemateriale indebærer en risiko for eksponering over for en bred vifte af kemiske og biologiske kampstoffer, herunder anthrax. Personellet sikres mod skadevoldende eksponering ved hjælp af omfattende personligt sikkerhedsudstyr samt antibiotikaprofylakse og immunisering, hvis det er muligt.

Anthraxvaccination i Danmark

Udvalgt dansk forsvarspersonel er tidligere blevet anthraximmuni-seret, primært i forbindelse med udstationering, men erfaringer fra denne immunisering er aldrig blevet systematisk opgjort.

Den eneste kommercielt tilgængelige bioterrorrelevante vaccine er rettet mod *B. anthracis*. På baggrund af en konkret risikovurdering og den fortsatte anthraxtrussel er der siden 2003 iværksat anthraximmunisering af personale, der indgår i prøvetagningsholdene. I det følgende søges de danske erfaringer fra vaccination, immunologisk testning og bivirkninger sammenholdt med resultaterne af internationale studier.

Klinisk mikrobiologiske aspekter

B. anthracis kan forårsage alvorlige infektionssygdomme hos mennesker. Disse sygdomme er traditionelt kategoriseret efter primær fokus i enten kutan, gastrointestinal eller inhalations-

Tabel 1. Kendte anthraxvacciner, karakteristika og administrationsvej.

Produktionsland	Udviklingsår	Vaccinetype	Administrationsmåde
Sovjetunionen	1940'erne	Levende svækket, Sterne- eller Zenkowsky-stamme	Inhalation, skarificering eller subkutan
Kina	?	Levende svækket, type ej oplyst	Inhalation, skarificering eller subkutan
USA	1960'erne	Bakterielt filtrat af Sterne-kultur og aluminiumhydroxid	Subkutan
Storbritannien	1950'erne	Bakterielt filtrat af Sterne 34 F2-kultur med aluminiumsulfæddning	Subkutan eller intramuskulær

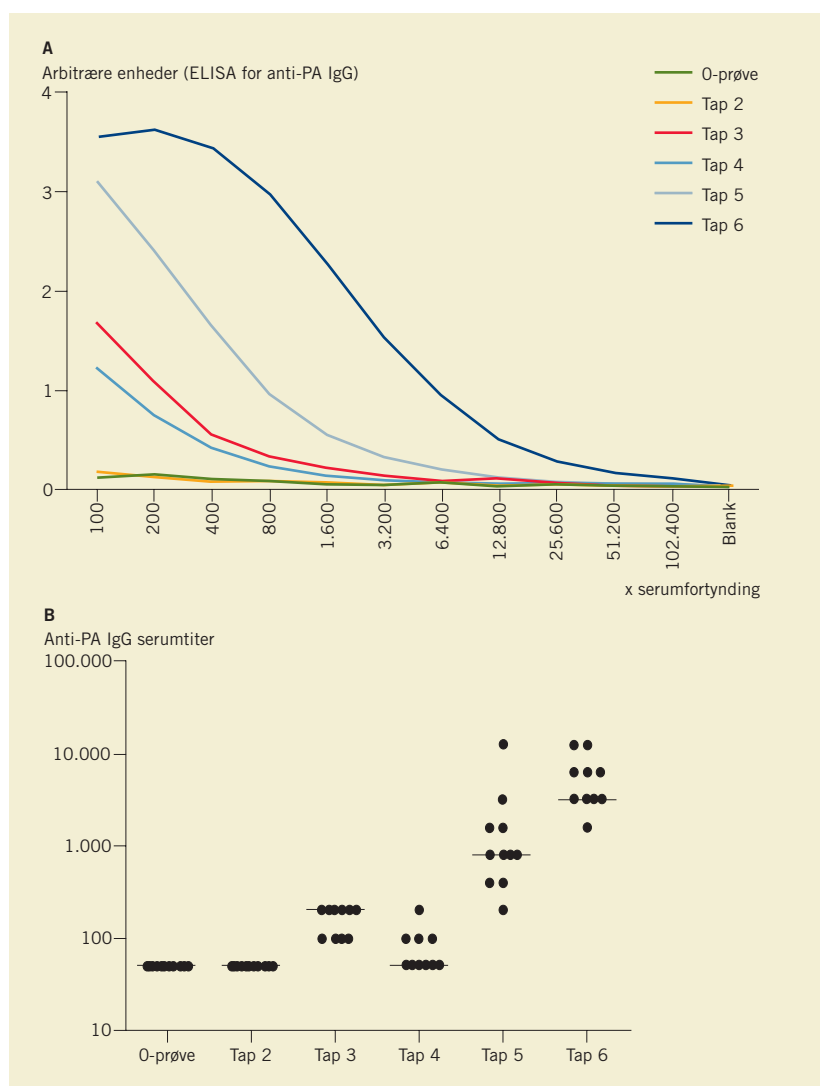
Tabel 2. Amerikansk anbefaling vedr. anthraxantibi-otikaprofylakse og -be-handling. Food and Drug Administration, USA.

Behandling	Regimener	Dosering
Antibiotika	Initial terapi	Ciprofloxacin 400 mg intravenøst (i.v.) × 2/døgn eller doxycyclin 100 mg i.v. × 2/døgn kombineret med 1-2 andre antibiotika i.v. ^a
	Længerevarende terapi	Ciprofloxacin 500 mg per os × 2/døgn eller doxycyclin 100 mg per os × 2/døgn i 60-100 døgn evt. kombineret med AVA
Anden behandling		Kortikosteroid, evt. pleural drænage
Profylakse		
Voksne		Ciprofloxacin 500 mg per os × 2/døgn eller doxycyclin 100 mg per os × 2/døgn i 60-100 døgn, evt. kombineret med AVA
Børn		Ciprofloxacin 10-15 mg/kg × 2 i 60 til 100 døgn

a) Clindamycin, vancomycin, imipenem, meropenem, chloramphenicol, penicillin, ampicillin, rifampicin, clarithromycin. AVA: Anthrax Vaccine Adsorbed.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Figur 1. Vaccinationsrespons hos 11 individer, der har fulgt et vaccinationsprogram. Specifikt immunoglobulin G rettet mod *protective antigen* (PA) blev målt i sera fra de vaccinerede ved hjælp af ELISA. **A.** Typisk vaccinationsrespons. Tofoldsforyndinger af testpersonens sera taget på forskellige tidspunkter i vaccinationsforløbet viser stigning i specifikke titre. **B.** Oversigt over vaccinationsrespons i hele gruppen. Figuren viser de højeste titre (serumforyndinger), der gav en værdi på over 1 arbitrær unit, når alle sera blev testet samtidig. Horisontale linjer angiver den mediane titer i hver tidsgruppe.



anthrax. De to førstnævnte former forekommer stadig endemisk i tredjeverdenslande, mens sidstnævnte sygdomsbillede kun sjældent ses. Inhalationsanthrax optræder næsten udelukkende som følge af maskinel forarbejdning af pels fra anthraxinficerede dyr eller som følge af eksponering for biologiske våben. Dødeligheden for ubehandlet inhalationsanthrax er 99-100%.

Anthraximmunisering

På verdensmarkedet findes der fire anthraxvacciner, der dog på grund af producentlandenes forsvarspolitiske hensyn ikke alle er kommercielt tilgængelige (Tabel 1). Den engelske og den amerikanske vaccine er stort set identiske. Den russiske og den kinesiske vaccine menes begge at være levende vacciner baseret på Sterne-stamme-varianter (veterinær vaccine-stamme). Immuniseringsregi mernerne varierer betydeligt, og argumentationen for de forskellige strategier synes at være uklar. Vaccinerne er alle udviklet i 1960'erne og har siden stort set ikke været modificerede, hvilket til dels også gælder for immuniseringsregimenerne. Vaccination er traditionelt anvendt

til dyr og personer med erfaringsmæssig høj erhvervsbetinget eksponeringsrisiko. Vaccination anvendes til obligatorisk immunisering af soldater i det amerikanske forsvar, hvilket har ført til en debat om vaccins sikkerhed og bivirkninger [2, 3]. Der er af russiske forskere til militære formål udviklet aerosoliserede vaccinevarianter, der er resistensmodulerede, så de tåler anvendelse sammen med antibiotikaproylaxse [4].

Antibiotikaproylaxse og anthraxbehandling

Som profylaxse for militært personel, prøvetagningshold og muligt ekponerede personer anvendes som førstevalg ciprofloxacin evt. kombineret med et andet antibiotikum. Behandling af de ekponerede fortsættes i minimum 60 dage, hvilket stiller betydelige logistiske krav til myndigheder og militære enheder i tilfælde af masseeksponering. Ved manifest sygdomsudbrud bør der vælges intravenøs kombinationsantibiotikabehandling (Tabel 2), hvilket efter de seneste begrænsede amerikanske erfaringer medfører en dødelighed på ca. 50%, afhængig af interventionstidspunktet [5].



Figur 2. En enkeltstående sværere bivirkningsreaktion med udtalt hævelse og rødme i regio deltoidea et døgn efter en booster-anthraxvaccination.

Danske erfaringer

Elleve personer med tilknytning til Center for Biologisk Beredskab blev fulgt over 18 måneder i forbindelse med anthraxvaccination. Immunisering blev foretaget med UK cell free, Anthrax Vaccine Precipitated, AVP, et sterilt cellefrit mikrofiltrat indeholdende en blanding af bakterielle produkter, herunder de vigtigste immunogene faktorer, *protective antigen* (PA) og mindre mængder af *lethal factor* (LF) og *edema factor* (EF). Immuniseringen gennemførtes ved intramuskulær injektion af 1 ml vaccine i regio deltoidea med intervaller efter anbefaling af producenten. I forbindelse med hver vaccination sikredes sera til at teste immunoglobulin G (IgG)-vaccinationsresponsen.

Vaccinationsprogrammet synes at have medført en væsentlig stigning i antistofniveau (Figur 1), hvilket stemmer godt overens med resultaterne af lignende britiske forsøg [6]. I flere anthraximmuniseringsstudier med både dyr og mennesker konkluderes det, at gentagne vaccinationer øger antistofresponsen, hvilket genfindes i nærværende studie (Figur 1).

Bivirkninger

I flere større internationale studier konkluderes det, at de amerikanske og britiske vacciner er forbundet med højere eller samme grad af bivirkninger som andre bakterielle vaccinationsprogrammer, eksempelvis mod tetanus. Sammenligning af studierne vanskeliggøres af forskelle i vaccineadministration, populationsforskelle og forskellige vaccinationsbetingelser, herunder tvungen immunisering.

Vaccination kan medføre influenzalignende symptomer og betydelig lokal muskelømheden, der fører til hel eller delvis ukampdygtighed i op til et døgn, hvilket er af betydning blandt andet for militær operationsplanlægning af indsættelsehold. Incidensen af systemiske bivirkninger opgøres i store amerikanske og britiske studier til at være på under 1% med en signifikant vaccine-*batch*-afhængighed. Lette bivirkninger i form af lokal muskelømheden, hævelse og rødme (Figur 2) fin-

des i flere studier at forekomme hos ca. 15% af de vaccinerede. Lokale eller systemiske symptomer fører til midlertidig nedsat arbejdsevne hos 3-5% af de vaccinerede [3, 7].

Vaccineeffektivitet

Antistofniveauet kan tjene som vejledning ved evaluering af vaccinationsstatus og serokonverteringsprocent, men det kan ikke med sikkerhed bruges til at kvantificere beskyttelsesgraden. Det skyldes, at der ikke er tilgængelige studier eller sikre dyremodeller, der entydigt har kunnet danne grundlag for at sammenholde humant serum anthrax-antistofniveau med beskyttelsesgraden over for anthraxeksponering. Ingen blandt det involverede danske personel har været udsat for anthraxsmitte.

I dyreforsøg, hvor kaniner eksponeres for anthrax, er dyrene kun sufficient beskyttet over for inhalation eller injektion af anthraxsporer efter signifikant IgG anti-PA-stigning. Måling af IgG-titre på forsøgsdyr indikerer i de fleste tilfælde, at immunisering subkutant medfører minimum 100-fold stigning i titre. Lignende resultater findes fra forsøg med marsvin, kaniner og aber [8]. Kun et enkelt studie fra 1962 repræsenterer en klinisk afprøvning af den amerikanske anthraxvaccine. Vaccinen, der ligeledes indeholder PA, blev anvendt til arbejdere med erfaringsmæssig høj risiko over for forskellige former for anthrax [9]. Forsøget demonstrerede overbevisende vaccins beskyttende effekt. Russiske forskere har foretaget klinisk placebo-kontrolleret afprøvning af levende anthraxvaccine i anthraxendemiske områder i Kasakhstan. Interventionsstudiet medførte signifikant regional incidensreduktion som udtryk for vaccineeffektivitet. Vaccinetype og administrationsmåde synes at være af mindre betydning for effektiviteten [2].

Perspektiver

I amerikanske studier indikeres det, at der på trods af færre immuniseringer i opvaccineringsfasen i forhold til producentens anbefaling alligevel fremkommer et acceptabelt immunologisk respons hos 99% af de vaccinerede [10]. For tre ud af 11 vaccinerede i vort studie havde den anbefalede årlige booster ingen målbar immunserologisk effekt, og man kan overveje om booster-vaccination var nødvendig i disse tilfælde set i lyset af bivirkninger og omkostninger (1.000 kr. pr. vaccine, 2004). Det anbefales derfor, at man screener de vaccinerede efter opvaccineringsfasen for hver årlig booster med henblik på vurdering af behov bedømt ud fra den aktuelle antistofiter. For at evaluere antistofmængden hos enkeltindivider er det dog nødvendigt at udvikle et standard-*assay* til kvantificering med et antiserum af kendt styrke.

Anthraxvaccination medfører et immunologisk respons, der gør den anvendelig til udvalgt risikopersonel. Videreudvikling af den amerikanske anthraxvaccine med henblik på reduktion af bivirkninger er angiveligt planlagt. Udviklingsarbejdet finansieres af den amerikanske stat under projekt Biodefence.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | ORIGINAL MEDDELELSE

Antaget: 18. februar 2005
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Brookmeyer R, Blades N. Statistical Models and bioterrorism: application to the U.S. Anthrax Outbreak. *J Am Stat Assoc* 2003;98:781-8.
2. Demicheli V, Rivetti D, Deeks JJ et al. The effectiveness and safety of vaccines against human anthrax: a systematic review. *Vaccine* 2003;16:880-4.
3. Enstone JE, Wale MC, Nguyen V et al. Adverse medical events in British service personnel following anthrax vaccination. *Vaccine* 2003;21:1348-54.
4. Stepanov AV, Marinin LI, Pomerantsev AP et al. Development of novel vaccines against anthrax in man. *J Biotechnol* 1996;44:155-60.
5. Jernigan DB, Raghunathan PL, Bell BP et al. Investigation of bioterrorism-related anthrax, United States, 2001: epidemiologic findings. *Emerg Infect Dis* 2002;8:1019-28.
6. Baillie LW, Fowler K, Turnbull PC. Human immune responses to the UK human anthrax vaccine. *J Appl Microbiol* 1999;87:306-8.
7. Wasserman GM, Grabenstein JD, Pittman PR et al. Analysis of adverse events after anthrax immunization in US Army medical personnel. *J Occup Environ Med* 2003;45:222-33.
8. Fellows PF, Linscott MK, Ivins BE et al. Efficacy of a human anthrax vaccine in guinea pigs, rabbits, and rhesus macaques against challenge by *Bacillus anthracis* isolates of diverse geographical origin. *Vaccine* 2001;19:3241-7.
9. Brachman PS, Gold H, Plotkin SA et al. Field evaluation of a human anthrax vaccine. *Am J Public Health* 1962;52:632-45.
10. Pittman PR, Mangiafico JA, Rossi CA et al. Anthrax vaccine: increasing intervals between the first two doses enhances antibody response in humans. *Vaccine* 2000;19:213-6.

Bivirkninger ved anthraxvaccination i forbindelse med udsendelse af danske soldater til Irak

Reservelæge Christian Svane, reservelæge Morten Sonne & stabslæge Lars Ravnborg Nissen

Hærens Operative Kommando, Karup

Resumé

Introduktion: I forbindelse med den politiske beslutning om Danmarks deltagelse i krigen mod Irak besluttede forsvaret at vaccinere samtlige udsendte mod anthrax. I denne artikel beskrives type og frekvens af bivirkninger i forbindelse med vaccinationerne.

Materiale og metoder: I perioden fra marts 2003 til februar 2004 blev der ved forsvarets vaccinationssteder registreret 1.899 vaccinationer med anthraxvaccine af i alt 755 personer. Eventuelle bivirkninger blev registreret på et skema udarbejdet af Forsvarets Sundhedstjeneste.

Resultater: Ingen personer havde livstruende/ alvorlige bivirkninger. Dataene viste en statistisk signifikant faldende bivirkningsfrekvens mellem de fire vaccinationsserier. For mænd fandtes bivirkninger efter anden vaccination at være afhængig af evt. bivirkninger efter første vaccination. Bivirkninger ved tredje og fjerde vaccination var derimod uafhængige af evt. bivirkninger ved første og anden vaccination. For kvinder kunne der ikke påvises sammenhæng mellem vaccinationsserierne. Der kunne ikke påvises forskel i bivirkningsfrekvensen mellem mænd og kvinder.

Konklusion: Sammenlignet med andre studier af selvrapporterede bivirkninger var bivirkningsfrekvensen lav. Dataene viste faldende bivirkningsfrekvens mellem de enkelte vaccinationsserier. Ligeledes blev der fundet en afhængighed mellem bivirkninger i forbindelse med anden vaccination ved evt. bivirkninger i forbindelse med første vaccination, som delvist bekræftes af resultaterne af andre studier. Der kunne ikke findes kønsforskelle, men dette skyldes sandsynligvis, at kun få kvinder indgik i undersøgelsen. Ved højt trusselsniveau for anvendelse af biologiske kampstoffer vurderes anthraxvaccination at være relevant.

Anthrax (miltbrand) er en alvorlig sygdom forårsaget af *Bacillus anthracis*. Sygdommen forekommer i tre former – inhalationsanthrax, kutan anthrax og gastrointestinal anthrax. Inhalationsanthrax er ubehandlet dødelig med et hurtigt forløb (timer). Kutan anthrax har ubehandlet en mortalitet på mindre end 20%. Gastrointestinal anthrax er generelt dødelig, da diagnosen er vanskelig at stille i tide [1].

I efterforløbet af 11. september 2001 blev der i USA registreret 11 bekræftede tilfælde af kutan anthrax og 11 bekræftede tilfælde af inhalationsanthrax, heraf var fem fatale. I alle tilfælde blev anthraxsporer spredt via breve [2]. Irak har tidligere anvendt kemiske våben og erkendte i 1995 over for en FN-kommission produktion og besiddelse af våbengjort anthrax [3]. Det vides, at Irak har været i besiddelse af mindst 42 ton koncentrerede miltbrandsporer [3, 4]. WHO har beregnet, at 50 kg *B. anthracis* frigjort i vindretningen mod en by med 500.000 indbyggere vil resultere i 95.000 dødsfald og 125.000 hospitaliseringer [5].

Anthraxvaccination anbefales til personer, der arbejder med forarbejdning af visse skind, eller som arbejder med *B. anthracis* i laboratorier. Siden 1997 har man i USA vaccineret de væbnede styrker af frygt for anthrax benyttet som biologisk våben [6].

I forbindelse med den politiske beslutning om Danmarks deltagelse i krigen mod Irak valgte forsvaret at vaccinere samtlige udsendte (soldater, politi og civile) mod anthrax. Vaccinationerne blev gennemført på forsvarets infirmerier i perioden fra marts 2003 til februar 2004, hvorefter de er ophørt. Forsvarets Sundhedstjeneste (FSU) valgte at registrere alle bivirkninger i forbindelse med vaccinationsprogrammet.

Der eksisterer to humane anthraxvacciner – en amerikansk (Anthrax Vaccine Adsorbed (AVA)) og en engelsk (Anthrax Vaccine). Der foreligger ingen data for beskyttelsesgrad hos