

# Naturligt forekommende oseltamivirresistens hos influenza A

Stud.med. Laura Madsen, reservelæge Alex Nielsen & professor Jens Lundgren

I influenzasæsonen 2007-2008 blev der for første gang observeret betydelig oseltamivirresistens blandt influenza A (H1N1)-varianter. De første tilfælde blev rapporteret af de norske myndigheder den 25. januar 2008, og kort tid efter kom der tilsvarende meldinger fra andre europæiske lande og fra USA. I influenzasæsonen 2008-2009 har de resistente varianter af influenza A (H1N1) fuldstændigt udkonkurreret de følsomme H1N1-stammer (Figur 1). I sæsonen 2007-2008 var H1N1 den dominerende influenzastamme i Europa, mens H3N2 dominerede i USA. Flokimmunitet hindrer, at den samme stamme skaber epidemier i en population flere år ad gangen, og H1N1 er derfor dominerende i USA og H3N2 i Europa i sæsonen 2008-2009 (Figur 2).

I behandling af immunsupprimerede patienter, hvor indikationen for antiviral behandling er åbenbar, er oseltamivirresistent influenza et væsentligt problem. En strategi/instruks for håndtering af resistensproblemet for de kommende sæsoner, hvor man må forvente betydelig influenza A (H1N1), er vigtig.

## TEORETISK GRUNDLAG

Influenza A er et orthomyxovirus med et ottedelt enkeltstrengt ribonukleinsyre (RNA)-genom (Figur 3). De enkelte RNA-molekyler koder for et eller flere proteiner. To af proteinerne sidder på overfladen af virus, og på baggrund af disse proteiner underinddeler man influenza A i subtyper:

1. Hæmagglutinin (HA, H) – binder sig til artsspecifikke overfladereceptorer i luftvejsepitheliet.
2. Neuraminidase (NA, N) – fraspalter enzymatisk virus fra de inficerede celler.

Der er beskrevet 16 hæmagglutinin- og ni neuraminidasesubtyper, som kan undergå mutationer (*drift*) og dermed kan undgå genkendelse af immunforsvaret.

Fra 1999 til 2002 blev neuraminidaseinhibitorerne (NAI) oseltamivir (Tamiflu) og zanamivir (Relenza) introduceret på verdensplan (Relenza er et inhalationspræparat, mens Tamiflu administreres peroralt), og sidenhen har oseltamivir været det mest anvendte præparat.

Før og efter introduktionen af NAI'erne er der

ikke beskrevet naturligt forekommende resistens over for disse [3] – før influenzasæsonen 2007-2008. Man har dog kendskab til en række mutationer, som medfører nedsat følsomhed over de to NAI'er [4]. De seneste sæsoners H1N1 besidder mutationen H274Y og er en substitution af histidin med tyrosin i NA-genet svarende til kodon 274. H274Y har vist sig at medføre 400 gange nedsat følsomhed for oseltamivir, men virus er fortsat fuldt følsomt for zanamivir.

Af de seneste sæsoners influenza A er cirkulerende H3N2-varianter amantadinresistente, mens H1N1-varianterne er følsomme.

## ÅRSAGSANALYSE TIL H1N1'S UDVIKLING AF OSELTAMIVIRRESISTENS

Forekomsten af H274Y-mutationen blandt influenza A (H1N1) i 2007-2008-sæsonen varierede meget mellem lande og verdensdele. Europa havde samlet set 25% resistens, herunder havde Norge 67%, Frankrig 47% og Danmark blot 4% resistens [5].

Der er en række mulige årsager til, at den aktuelle influenza A (H1N1)-variant med H274Y-mutationen er blevet selekteret frem for de følsomme varianter de senere sæsoner:

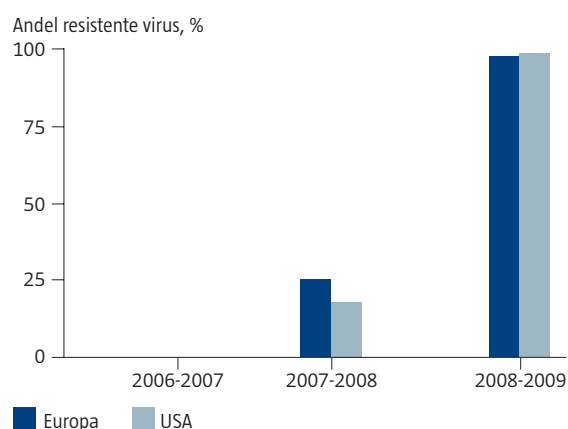
1. Selektion på baggrund af brug af oseltamivir? Det kan ikke udelukkes, at mutationen primært er opstået under oseltamivirbehandling, men der er ikke

## STATUSARTIKEL

Rigshospitalet,  
Klinisk Mikrobiologisk  
Afdeling, og  
Københavns Universitet,  
Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet

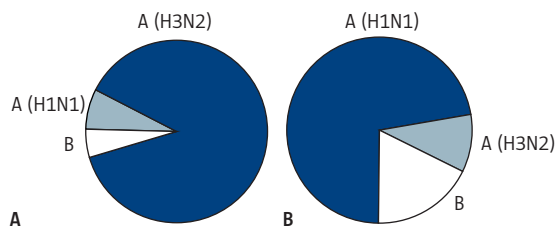
FIGUR 1

Oseltamivirresistens hos influenza A (H1N1). Data er baseret på oplysninger fra *European Influenza Surveillance Scheme* [1] og *Center of Disease Control and Prevention* [2], og 2008-2009-sæsonen er opdateret indtil slutningen af uge 6, 2009.



 FIGUR 2

Fordeling influenza A og B i 2008-2009 i hhv. Europa (A) og USA (B). Baseret på oplysninger fra *European Influenza Surveillance Scheme* [1] og *Centers for Disease Control and Prevention* [2] ved udgangen af uge 6, 2009.



nogen direkte evidens for et antiviralt selektionspres. Der er tværtimod mange argumenter mod dette: (i) forbruget af oseltamivir på verdensplan er relativt begrænset, og i Japan, som er det land, der har det største oseltamivirforbrug pr. indbygger, så man kun begrænset forekomst af resistens (3%) i foregående influenzasæson; (ii) en norsk undersøgelse [6] af influenzasæsonen 2007-2008 viste, at ingen af de patienter, der havde fået påvist resistent influenza A (H1N1), havde fået oseltamivir eller været i kontakt med andre, der havde fået dette, forud for at de blev syge; (iii) de tidligere kendte H274Y-mutationer, som man har observeret under behandling med oseltamivir, har ikke ført til konkurrencedygtige virus i forhold til vildtypen.

2. Selektion på baggrund af ændrede enzymatiske egenskaber, som gør de resistente virus mere konkurrencedygtige? I en fransk undersøgelse [7] har man undersøgt neuraminidasens enzymatiske egenskaber, vækstkinetik samt fylogenesen af den resistente H1N1-variant i forhold til de følsomme H1N1-varianter fra tidligere sæsoner.

Undersøgelse af de enzymatiske egenskaber viste, at de resistente H1N1-varianter havde let øget substrataffinitet i forhold til de følsomme virus fra de forudgående sæsoner ( $K_m = 19,4$  versus  $28,0$ ); de oseltamivirfølsomme H1N1-varianter fra 2007-2008-sæsonen havde endnu højere affinitet ( $K_m = 9,0$ ).

Enzymaktiviteten var ikke signifikant forskellig mellem de følsomme og de resistente virus, men de havde begge signifikant højere enzymaktivitet end de følsomme virus fra de forudgående sæsoner ( $V_{max} = 1,2$ ).

Fylogenetisk analyse på baggrund af sekventering af neuraminidasegenet viste, at de følsomme og resistente H1N1-varianter fra 2007-2008-sæsonen var nært beslægtede (samme clade).

Denne undersøgelse tyder således på, at de aktuelle (fra 2007-2008-sæsonen) H1N1-varianter afviger fra de forudgående sæsoners H1N1-varianter specielt med hensyn til de enzymatiske egenskaber af neuraminidasegenet; på trods af H274Y er substrataffiniteten og enzymaktiviteten højere end de forudgående års H1N1. Da de resistente virus umiddelbart har udkonkurreret de følsomme, kunne det tænkes, at H274Y-mutationen giver en mere fordelagtig funktionel balance mellem hæmagglutinin og neuraminidase – begge gener (og ikke blot det ene) er nødvendige for en effektiv replikation.

3. De resistente varianter er mere virulente end de følsomme? I denne forklaringsmodel antages det, at der ikke er sket et reelt skred i resistensforekomsten, men at virus med resistens af andre årsager er blevet mere virulent og derfor øget i repræsentation i de foretagne overvågningsstudier. I flere undersøgelser fra 2007-2008-sæsonen [6, 8] var der dog ikke forskel i den kliniske præsentation, forløbet af udskillelse af virus eller infektionens klinik blandt H1N1-oseltamivirfølsomme og -resistente typer. Denne forklaringsmodel er derfor lidet sandsynlig.

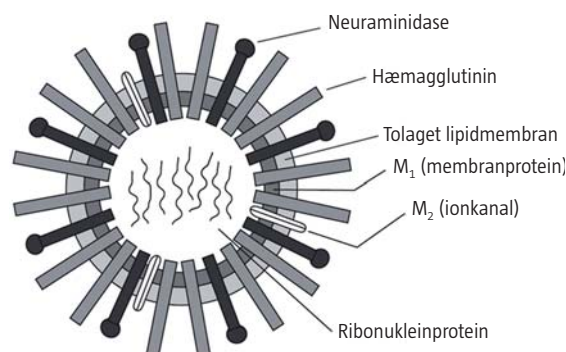
Sammenfattende er forklaringsmodel nummer to derfor den mest sandsynlige forklaring på, at H1N1-isolater nu må forventes alle at være oseltamivirresistente.

#### ANBEFALINGER FOR FREMTIDIG FOREBYGGELSE OG BEHANDLING

I praksis er de fleste forløb af influenza benigne og behandling ikke indiceret. Dette gælder såvel på hospitalerne som i primærsektoren. På hospitalerne bør influenzasmittede patienter dog være isoleret for at undgå nosokomial smitte; vaccination af sundhedspersonel vil formentlig også bidrage til forebyggelse.

 FIGUR 3

Influenza A-virus.



**!** FAKTABOKS

Influenza A er hovedårsagen til årligt tilbagevendende influenza-epidemier i Danmark.

Influenza A kan udvikle resistens over for tilgængelige antivirale midler.

En af to cirkulerende influenza A-typer (H1N1) har udviklet fuld resistens over for oseltamivir.

Resistens skyldes mutation i neuraminidasegenet og kan påvises ved molekylærbiologiske teknikker.

Fremtidig behandling med oseltamivir kræver undersøgelse for resistens af de cirkulerende influenzastammer.

Denne artikel beskriver de to sæsoninfluenzatyper, der var kendt pr. marts 2009 (H1N1 og H3N1) – siden da er der udviklet en ny pandemi med influenza A (H1N1); kun blandt få af disse virus er der indtil videre beskrevet resistens mod oseltamivir.

Specielt immunkompromitterede personer og især i øvrigt syge børn har større virusmængde og forlænget virusudskillelse (ugevis) og deraf følgende øget risiko for morbiditet og mortalitet ved en komplicerende influenzainfektion [9, 10]. For at være mest virksom skal antiviral behandling iværksættes umiddelbart på baggrund af en foreløbig diagnose ved brug af en antigenest (analysetid < 1 time) – diagnosen bekræftes ved polymerasekædereaktion. Hospitaler med ansvar for behandling af sådanne patientgrupper bør derfor have et beredskab, der skal iværksættes under en pågående influenzaepidemi. Beredskabet skal være karakteriseret ved grundig undervisning af det kliniske personale, således at relevant klinisk præsentation afstedkommer prompte diagnostisk udredning. Desuden kræver beredskabet et velfungerende viruslaboratorium med henblik på umiddelbar molekylærbiologisk karakterisering af virus og endelig mulighed for tilpasning af den antivirale behandling.

Empirisk selektion af forventelig aktiv behandling er altafgørende for optimering af udnyttelsen af den antivirale behandling. Såfremt der er mistanke om H1N1-influenzainfektion, bør zanamavir bruges i såvel forebyggelses- som behandlingsmæssige øjemed. En formulering af zanamavir med henblik på intravenøs infusion er under udvikling i fase 2a. Indtil den markedsføres, anbefales det at bruge en kombination af oseltamivir og rimantidin til influenza A (H1N1)-ramte patienter, der ikke er i stand til at inhalere medicin på forsvarlig vis. Dyreeksperimentelle undersøgelser understøtter, at en sådan kombinationsbehandling virker synergistisk – også selv om influenzaen er resistent over for det ene præparat [11].

**FREMIDIGE BEHANDLINGSMULIGHEDER**

Den aktuelt udbredte oseltamivirresistens blandt influenza A (H1N1) forstærker behovet for nye behandlingsmuligheder for influenza. Desværre er der kun relativt få nye farmaka undervejs [12].

Ud over reformulering af neuraminidaseinhibitoren zanamivir til intravenøs brug er en ny neuraminidaseinhibitor (NAI), peramivir, til intravenøs og intramuskulær brug (fase 2) og en langtidsvirkende NAI (CS-8958) til inhalation (enkeltdosis) på vej.

Andre farmaka i kliniske undersøgelser er DAS181, som er rettet mod den virale binding til overfladeepitelet baseret på *Actinomyces viscosus* samt T-705, som er et mere generelt virkende antiviralt stof rettet mod RNA-polymerasen (på linje med ribavirin).

**KORRESPONDANCE:** Jens Lundgren, Rigshospitalet og Københavns Universitet, Copenhagen HIV Programme, Panum Institutet, 2200 København N.  
E-mail: jdl@cphiv.dk

**ANTAGET:** 11. august 2009

**FØRST PÅ NETTET:** 14. december 2009

**INTERESSEKONFLIKTER:** Ingen

**LITTERATUR**

1. European Influenza Surveillance Scheme. [www.eiss.org](http://www.eiss.org) (5. marts 2009).
2. Center for Disease Control and Prevention (CDC) [www.cdc.gov/flu/weekly/fluactivity.htm](http://www.cdc.gov/flu/weekly/fluactivity.htm) (5. marts 2009).
3. McKimm-Breschkin J, Trividi T, Hampson A et al. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to Zanamivir and Oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2264-72.
4. Ferraris O, Lina B. Mutations of neuraminidase implicated in neuraminidase inhibitor resistance. *J Clin Vir* 2008;41:13-8.
5. World Health Organization. Influenza A (H1N1) virus resistance to Oseltamivir – 2008 influenza season, southern hemisphere. [www.who.int/csr/disease/influenza/H1N1200801013.pdf](http://www.who.int/csr/disease/influenza/H1N1200801013.pdf) (5. marts 2009).
6. Hauge SH, Dudman S, Borgen K et al. Oseltamivir-resistant influenza viruses A (H1N1), Norway, 2007–08. *Emerg Infect Dis* 2009;15:155-62.
7. Rameix-Welti M, Enouf V, Cuvelier F et al. Enzymatic properties of the neuraminidase of seasonal H1N1 influenza viruses provide insight for the emergence of natural resistance to oseltamivir. *PLoS Pathog* 2008;4:e1000103.
8. Dharan NJ, Gubareva LV, Meyer JJ et al. Infections with Oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) virus in the United States. *JAMA* 2009;301:1034-41.
9. Ison MG, Sharma A, Shepard JO et al. Outcome of influenza infection managed with oseltamivir in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2008;27:282-8.
10. Gooskens J, Jonges M, Claas ECJ et al. Morbidity and mortality associated with nosocomial transmission of Oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) virus. *JAMA* 2009;301:1042-46.
11. Ilyushina NA, Hoffmann E, Salomon R et al. Amantadine-oseltamivir combination therapy for H5N1 influenza virus infection in mice. *Antivir Ther* 2007;12:363-70.
12. Hayden F. Developing new antiviral agents for influenza treatment: What does the future hold? *Clin Infect Dis* 2009;48(suppl. 1):3-13.