

Influenzavirussen, continu in verandering

E.C.J. Claas, A.D.M.E. Osterhaus

Influenzavirusepidemieën worden al eeuwenlang beschreven, met de eerste Europese referentie in de twaalfde eeuw. Het influenza-achtige ziektebeeld werd al door Hippocrates zelf waargenomen en opgeleekend rond 400 voor Christus. Naast wereldwijde epidemieën zoals de Spaanse (1918)-, Aziatische (1957)-, en de Hongkong-griep van 1968, hebben we nagenoeg jaarlijks te maken met influenza-epidemieën. Ook tegenwoordig vergen deze infecties nog ieder jaar een aanzienlijk aantal doden. Het succes van het virus is terug te voeren op zijn continue variabiliteit.

Trefwoorden: influenza, H5N1, vaccinatie, drift, shift.

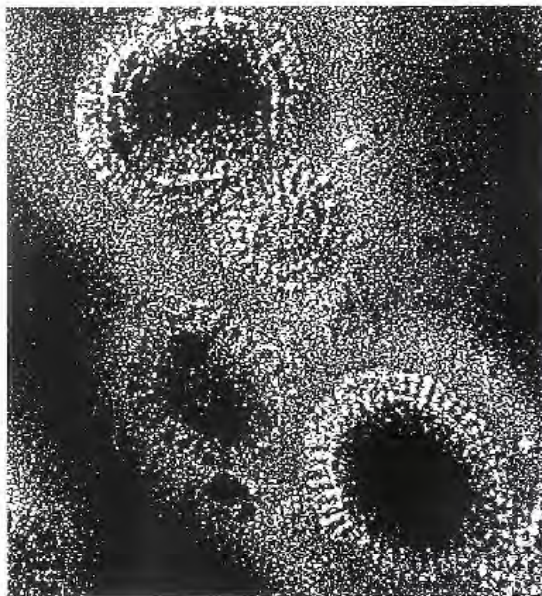
Influenzavirussen (*Orthomyxoviridae*) worden verdeeld in drie types, te weten influenza A, B en C. Over influenza-C-infecties kunnen we kort zijn, deze zijn van weinig klinisch belang en leiden slechts tot banale verkoudheden. Klinisch belangrijker zijn de influenza-A- en -B-virussen. Infecties met deze virussen leiden in Nederland gemiddeld tot ruim 2000 doden per jaar.¹ Het grootste deel van deze sterfte wordt gezien bij ouderen met een onderliggend leiden, de zogenaamde risicopatiënten. Het betreft hier onder anderen mensen met hart- en vaatziekten, longaandoeningen, en diabetespatiënten. Door een aantal influenzavaccinatiecampagnes in Nederland wordt een aanzienlijk deel van de risicopatiënten tegenwoordig gevaccineerd, waardoor zij in het algemeen beschermd zijn tegen complicaties die optreden bij infecties met influenzavirussen.

Influenzavirusactiviteit is min of meer seizoengebonden. De winterperiode is de tijd bij uitstek voor influenza-epidemieën, zowel op het noordelijk als het zuidelijk halfrond. Niettemin is een koude winter als zodanig niet de oorzaak van een effectieve verspreiding van het virus. Immers, ook in meer gematigde streken rond de evenaar komt influenza voor en daar is de ziekte minder gebonden aan het winterseizoen. De verspreiding van pandemische influenzavirussen is zelfs onafhankelijk van seizoenen. Het eerste influenzavirus werd bij de mens in 1933 geïsoleerd door de Engelse onderzoekers Smith, Andrews en Laidlaw, waarbij de eerste onderzoeker ook als patiënt betrokken was.² Het virus, influenza A/Ws/33 draagt zijn initialen (Wilson Smith) en wordt momenteel nog steeds voor allerlei onderzoek gebruikt. Enkele jaren eerder was een influenzavirus al bij varkens geïsoleerd (influenza A/swine/Iowa/30). Het duurde tot 1940 voor het eerste influenza-B-virus werd geïdentificeerd. In tegenstelling tot influenza-A-virussen, die een groot scala aan gastheren hebben, beperken influenza-B-virusinfecties zich tot de mens.

Het virus

Het erfelijk materiaal van influenza A- en -B-virussen bestaat uit acht RNA-segmenten. Deze zitten verpakt in nucleoproteïnes en polymerase-eiwitten die weer door een lipidenmembraan omgeven zijn. De lipidenmembraan is aan de binnenkant bezet met matrixeiwitten en in de membraan zit een drietal eiwitten geïnsersteerd. Allereerst het M2-eiwit, een ionenkanaal, en daarnaast twee glycoproteïnes: het hemagglutinine (HA) en het

neuraminidase (NA). Deze laatste twee zijn de meest immunodominante eiwitten (met HA>NA) van het virus, waartegen het grootste deel van de antistoffen is gericht. Het feit dat het virus een enkelstrengs RNA-genoom bezit, betekent dat replicatie van het virus gepaard gaat met een hoge mutatiefrequentie. Dit geeft de mogelijkheid tot selectie van de 'beste' virussen, dat wil zeggen die virussen die het minste last hebben van de door de gastheer opgebouwde immuniteit. Dit is de hele basis van het succes van influenzavirussen: het ontduiken van de afweer in de gastheer door zelf te veranderen (figuur 1).



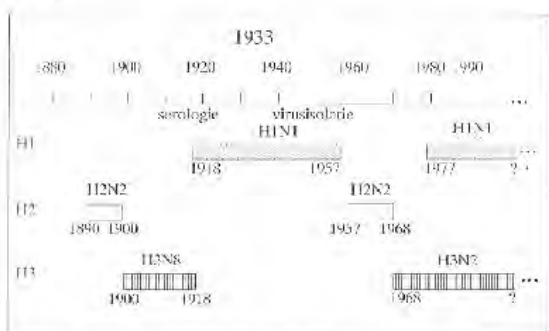
Figuur 1. Elektronenmicroscopische opname van influenzavirussen. De als spikes uit het virus stekende oppervlakteglycoproteïnes zijn duidelijk zichtbaar.

Veranderingen

We kennen twee mechanismen die door influenzavirussen worden gebruikt om de afweer te omzeilen. Allereerst het mechanisme van de 'antigene drift'. Veranderingen in het RNA-gen van het desbetreffende eiwit zorgen ervoor dat de oppervlakteglycoproteïnes H en N geleidelijk en cumulatief steeds een beetje veranderen waardoor ze heel geleidelijk wegdrijven of driften van de aanwezige

antistoffen. Bij influenza-B-virussen is dit het enige mechanisme van verandering. Bij influenza-A-virussen is er nog een veel ingrijpendere methode, de 'antigene shift'. Dit houdt in dat het virus niet geleidelijk, maar heel abrupt een verschuiving naar een ander subtype virus maakt. Concreet betekent het dat een virus dat in de humane populatie circuleert en epidemieën veroorzaakt, wordt vervangen door een virus van een nieuw subtype met compleet andere oppervlakteglycoproteïnes. Deze beide mechanismen komen tot uitdrukking in de tijdsbalk zoals die in figuur 2 wordt weergegeven.

Tot de shift van 1957 circuleren influenza-A(H1N1)-virussen die door antigene drift steeds een beetje veranderen. In 1957 wordt het influenza A(H2N2) virus geïntroduceerd. Een onopgeloste vraag is waarom vervolgens geen influenza A(H1N1) meer wordt gedetecteerd tot 1977. Het H2N2 drift vrolijk verder totdat het in 1968 wordt vervangen door influenza A(H3N2), wederom gepaard gaande met het geheel verdwijnen van het H2N2-subtype. Het H3N2-virus circuleert nu nog steeds, al is het virus zo ver veranderd dat het serologisch in het geheel niet meer lijkt op het virus dat in 1968 werd geïntroduceerd.



Figuur 2. Tijdsbalk met daarop de influenza-A-virussubtypes zoals die de afgelopen eeuw in de humane populatie zijn gevonden. Voor 1933 is dat gebaseerd op serologische gegevens, daarna waren ook werkelijk virus-isolaten voor onderzoek beschikbaar.

Reservoir

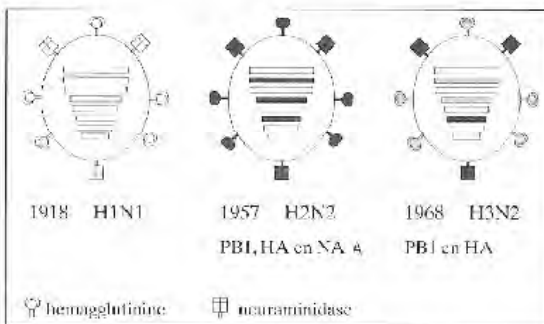
Een antigene shift is de introductie van een influenza-A-virus met een nieuw hemagglutinine en soms ook neuraminidase in de humane populatie. Dit betekent dat het virus, dat zich uiteraard ook goed moet kunnen verspreiden in de populatie teneinde een succesvol pathogeen te zijn, een populatie tegenkomt waarin nauwelijks antistoffen tegen dat virus aanwezig zijn. Deze nieuwe H en N eiwitten mochten natuurlijk ergens vandaan komen. Zoals al eerder gemeld, is de mens niet de enige gastheer voor influenza-A-virussen. Bij paarden komen influenza-A(H7N7)- en influenza-A(H3N8)-virussen voor, bij varkens H1N1- en H3N2-virussen, bij pluimvee de zeer beruchte vogelpestvirussen met een H5 of H7 hemagglutinine en nog legio andere dieren waarin influenzavirussen zijn gedetecteerd. Al deze dieren worden ook ziek door de infectie. Een andere groep dieren wordt dat niet en mede daarom worden juist deze dieren als het grote influenza-virusreservoir beschouwd. Het betreft hier eenden en trekvogels, waarbij inmiddels 15 H's en 9 N's zijn gevonden, hetgeen in theorie dus tot 135 verschillende subtypes van influenzavirus kan leiden. De influenzavirussen wor-

den echter niet in de luchtwegen gevonden maar in het maag-darmkanaal. De virussen kunnen bijvoorbeeld uit een cloaca-'swab' worden geïsoleerd, en zelfs uit oppervlaktewater indien daar veel eenden aanwezig zijn.³ Door middel van nucleotidensequentie-analyse is inmiddels de gehele samenstelling van het influenzagenoom opgehelderd. Via vergelijkingen van de virussen uit verschillende gastheren is ook een hypothese opgesteld voor het ontstaan van nieuwe humane pathogene virussen.

Figuur 3 geeft schematisch de opbouw van de drie subtype influenza-A-virussen die epidemieën bij de mens hebben veroorzaakt. Het influenza-A(H2N2) virus dat in 1957 het H1N1-subtypevirus verving, blijkt te zijn opgebouwd uit vijf gensegmenten die afkomstig zijn van de daarvoor aanwezige H1N1-virussen. Slechts drie gensegmenten hebben een andere oorsprong en lijken het meest op segmenten uit het vogelreservoir. Twee van deze drie gensegmenten coderen wel voor de twee oppervlakte-eiwitten H en N, waardoor het virus er aan de buitenkant helemaal anders uitziet. Dit nieuwe virus lijkt dus te zijn ontstaan door een vermenging van het erfelijk materiaal van twee virussen, bijvoorbeeld na dubbelinfectie van de gastheer. Het virus dat in 1968 werd geïntroduceerd, heeft slechts twee nieuwe gensegmenten, maar één daarvan is wel het immunodominante hemagglutinine.

Blijft er één probleem over, namelijk het experimenteel bevestigde onvermogen van aviaire influenzavirussen om direct de mens te kunnen infecteren. Een belangrijke waarneming in deze context is dat varkens door zowel aviaire als de humane influenzavirussen kunnen worden geïnficeerd.

Als hypothese werd derhalve opgesteld dat het varken als een 'mengvat' optreedt. Na dubbelinfectie met virussen van verschillende oorsprong kan een mengvorm van het virus optreden. De nauwe interacties tussen eenden, varkens en mensen in zuidoost Azië, alsmede de waarneming dat daar zowel de 1957- als 1968- pandemie begonnen, lijken deze hypothese te steunen.³ De hypothese werd verder ondersteund door de waarneming in Nederland in 1993, dat een mengvorm van twee in varkens voorkomende influenzavirussen, een aviaire influenza A(H1N1) en een humane H3N2-stam, ook weer de mens kon infecteren.⁴



Figuur 3. Schematisch principe van de antigene shifts die ten grondslag hebben gelegen aan de influenza pandemieën van 1957 en 1968. Het 1957-H2N2-virus bevat slechts drie nieuwe gensegmenten; het hemagglutinine (HA), neuraminidase (NA), en een polymerase-eiwit (PB1). Het 1968-H3N2-virus heeft slechts twee nieuwe segmenten, HA en PB1.

De vogelgriep in Hongkong

In mei 1997 overleed in Hongkong een driejarige jongen aan een gecompliceerd klinisch beeld waarbij ook een influenzapneumonie werd vastgesteld. Uit een tracheaal aspiraat werd een influenzavirus geïsoleerd, dat niet kon worden gekarakteriseerd als een virus dat al eerder bij de mens was waargenomen. Onderzoek in ons laboratorium toonde aan dat het hier om een influenza-A(H5N1)-virus ging.⁵ Verdere analyses maakten duidelijk dat het virus nauw verwant was aan een influenzavirus dat in de periode maart-mei 1997 aviaire influenza (=vogelpest) had veroorzaakt op drie kippenboerderijen in Hongkong. Deze verwantschap was zo nauw dat het onwaarschijnlijk was dat het virus via een andere, intermediaire gastheer was overgebracht.⁶ Met andere woorden, het betrof een virus dat wel direct de vogel-mens gastheerbarrière kon nemen. Deze gebeurtenis kreeg een half jaar later (november-december 1997) een vervolg. In deze periode werden nog zeventien mensen geïnfecteerd met een influenza-A(H5N1)-virus, van wie er vijf overleden.⁷ Ook hier betrof het weer directe transmissie vanuit besmette vogels. Gelukkig was het verspreidend vermogen van dit virus onder de humane populatie beperkt.

De geïsoleerde virussen bleken gevoelig te zijn voor amantadine, hetgeen dan ook als behandeling werd toegediend. De nieuwe generatie antivirale middelen tegen influenza, de zogenaamde neuraminidaseremmers, bleken in vitro ook in staat de influenza-A(H5N1)-virussen te remmen. Deze middelen bevinden zich echter nog in een (vergevoerde) ontwikkelingsfase.

Eind december werden in Hongkong alle kippen en ander pluimvee dat op de markten werd verkocht, afgemaakt. Deze maatregel bleek afdoende, want vervolgens hebben zich geen nieuwe gevallen meer voorgedaan. Niettemin is het influenza-A(H5N1)-verhaal nog niet ten einde. De virussen die tot nu toe gekarakteriseerd zijn, zijn genetisch gezien allemaal nog van vogelafkomst. Dat wil zeggen dat alle RNA-segmenten van het erfelijk materiaal lijken op die van bij vogels voorkomende virussen. Het is echter waarschijnlijk dat het virus nog steeds als zodanig in de regio aanwezig is. De dreiging is dat dit virus zich tijdens een dubbelinfectie met een van de humane influenzavirussen zal reassorteren, waardoor een mengvorm van het virus kan ontstaan dat zich wel makkelijk van mens tot mens kan verspreiden. Als deze mengvorm het H5-hemagglutinine bevat, heeft het virus een reële pandemische potentie. Omdat het virus de mens rechtstreeks kan infecteren, is een intermediaire gastheer overbodig en zou de mens zelf als 'mengvat' kunnen dienen. Waakzaamheid blijft dus geboden. Reden voor de WHO om ook in de aangrenzende Chinese provincies de influenzasurveillance te intensiveren zodat een mogelijke gereassorticeerd influenza-A(H5N1)-virus snel zal worden gedetecteerd.

Maatregelen bij een pandemie

Een influenzapandemie zal het dagelijks leven kunnen ontregelen. Niet alleen zal er een aanzienlijke sterfte optreden, maar ook zal er een enorme druk op de capaciteit van de ziekenhuizen komen. Daarnaast zullen veel maatschappelijk belangrijke activiteiten worden ontregeld door het hoge ziekteverzuim. Het is belangrijk een draaiboek 'influenzapandemie' klaar te hebben voor het geval dat een dergelijke gebeurtenis zich voordoet. Met name

een snelle productie en distributie van vaccins en antivirale middelen zijn medisch erg belangrijk en moeten nu al tot op bepaalde hoogte worden geregeld.

De waarschuwing die we in Hongkong hebben gekregen, heeft in ieder geval geleid tot meer voortvarendheid bij het tot stand komen van een draaiboek. Want dat we ooit te maken gaan krijgen met een nieuw pandemisch influenzavirus staat als een paal boven water. Wanneer dat is en welk virus blijft de vraag. Het kan een virus zijn van een subtype dat al eerder bij de mens is aangetroffen, zoals het A(H2N2)-virus. Het kan ook zijn dat de swine-H1N1-virussen die al bij varkens in Europa en Azië worden gevonden de oversprong naar de mens kunnen maken. Ook deze virussen voldoen aan het pandemische criterium dat in de populatie onvoldoende afweer tegen deze virussen aanwezig dient te zijn. Ondanks dat ze van hetzelfde subtype zijn als de humane influenza-A(H1N1)-virussen, is er geen serologische kruisreactiviteit. Daarnaast kan natuurlijk het influenza-A(H5N1)-virus worden geïntroduceerd of een virus van een nog nooit bij de mens aangetroffen subtype.

Surveillance

Naast waakzaamheid voor nieuw opduikende influenzavirussubtypen bij de mens, blijft het identificeren van varianten van bestaande humane influenzavirussen zeker zo belangrijk. Ook tijdens de interpandemische periodes blijft influenza een 'killer' die cumulatief gezien meer slachtoffers eist dan de laatste twee pandemische golven van 1957 en 1968. De wereldwijde influenzasurveillance zoals die wordt verzorgd door het WHO netwerk van ruim honderd Nationale Influenza Centra in meer dan tachtig landen, waarborgt een zo goed mogelijke keus betreffende het influenzavaccin voor het komende seizoen. Een goed vaccin is vooralsnog de beste remedie tegen influenza en kan veel onnodige slachtoffers voorkomen.

Summary

Epidemics caused by influenza viruses have been described for many centuries with the first European reference in the 12th century. Hippocrates himself already examined a patient with an influenza-like illness in the fifth century BC. Besides occasional worldwide epidemics as the notorious Spanish flu (1918), the Asian flu (1957) and the Hong Kong flu (1968), we have to deal with epidemic influenza almost annually. These epidemics are responsible for a considerable number of fatalities each year, despite all our efforts to combat flu. The success of the influenza virus is determined by its ability to change. Here we give an overview of the strategies used by influenza viruses to change and to remain pathogenic for humans. In addition, the implications of the bird-flu outbreak in Hong Kong in 1997 are being discussed together with the measures to be taken in case of an influenza pandemic.

Keywords: influenza, H5N1, vaccination, antigenic drift, antigenic shift, pandemic

Literatuur

1. Sprenger MW, Mulder PGH, Beyer WEP, Strik VR, Masarel N. Impact of influenza on mortality regarding age and entity of underlying disease, during the period 1967-1989. *Int J Epidemiol* 1993; 22: 334-40.
2. Smith W, Andrewes CH, Laidlaw. A virus isolated from influenza patients. *Lancet* 1933; 2: 66-8.
3. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992; 56: 152-79.
4. Claas EJC, Kawaoka Y, Jong JC de, Masarel N, Webster RG. Infection

- of children with avian-human reassortant influenza virus from pigs in Europe. *Virology* 1994; 204: 453-7.
5. Jong JC de, Claas ECI, Osterhaus ADME, Webster RG, Lim WL. A pandemic warning? *Nature* 1997; 389: 551.
6. Claas ECI, Osterhaus ADME, Beek R van, et al. Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 1998; 352: in press.
7. Anonymous. Influenza A(H5N1). *Wkly Epidemiol Rec* 1998; 73: 24.

Dr. E.C.J. Claas, viroloog
Prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus, viroloog
Erasmus Universiteit
Afdeling Virologie en WHO Nationaal Influenza Centrum
Postbus 1738, 3000 DR Rotterdam

WERKGROEPEN EN VERENIGINGEN

Centraal Begeleidingsorgaan voor de Intercollegiale Toetsing

In het afgelopen jaar is onder auspiciën van de Medisch Wetenschappelijke Raad van het CBO weer een aantal richtlijnen verschenen. Deze CBO-richtlijnen blijken nog onvoldoende bekendheid te genieten. In verband met implementatie is het van belang medisch specialisten hierover te informeren.

De volgende consensusteksten zijn recent verschenen:

- Radiotherapie bij het niet-kleincellig longcarcinoom;
- Consensus diagnostiek en behandeling van arteriële claudicatio intermittens;

- Behandeling en preventie van coronaire hartziekte door verlaging van de plasmacholesterolconcentratie;
- Consensus diagnostiek en behandeling van cystic fibrosis;
- Consensus hemofilie: Behandeling en verantwoordelijkheid.

De teksten zijn tegen de kostprijs van f 10,- verkrijgbaar bij het secretariaat van het CBO, postbus 20064, 3502 LB Utrecht, tel: 030-2960647, fax: 030-2943644.

PERSONALIA

Nieuwe aanmeldingen NVMM

- Dr. M.E.C. Beersma, Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Virologie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden
- Mw. drs. J. Berkhout, Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Infectieziekten, C5-P, Postbus 9600, 2300 RC Leiden
- Dr. A.C. Fluit, Universiteit van Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht
- Prof. dr. J. Goudsmit, Universiteit van Amsterdam/AMC, afd. Humane Retrovirologie, Meibergdreef 15, 1105 AZ Amsterdam
- Mw. dr. C. Heylen, Biotest Serali, A. de Conichestraat 13, B-3070 Kortenberg, België
- Dr. A.J. van Houte, Diaconessenhuis, afd. Medische Microbiologie, Postbus 80250, 3508 TG Utrecht
- Ir. P.A. Klinkenberg, Elsevier Science BV, afd. Microbiologie, Molenwerf 1, 1014 AG Amsterdam
- Drs. K. Maquelin, Erasmus Universiteit Rotterdam, afd.

- Algemene Heelkunde, EDC kamer Ce023, Dr. Molewaterplein 50, 3015 GE Rotterdam
- Prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus, Erasmus Universiteit Rotterdam, afd. Virologie, Postbus 1738, 3000 DR Rotterdam
- Mw. dr. Y. Pannekoek, Universiteit van Amsterdam/AMC, afd. Medische Microbiologie, Postbus 22660, 1100 DJ Amsterdam
- Drs. F.P. Schröder, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, afd. Immunologische Technieken, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen
- Mw. dr. P.M.E. Wertheim-van Dillen, Academisch Medisch Centrum, afd. Klinische Virologie, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam
- Dr. E. de Wolf, Universiteit van Amsterdam/AMC, afd. Humane Retrovirologie, Meibergdreef 15, 1105 AZ Amsterdam