

# ScandTick: Kartlegging av analysemetoder for diagnostikk av skogflåttencefalitt (TBE) i ØKS regionen

## Forfattere:

Åshild K Andreassen, Avdeling for Virologi, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge  
Tomas Bergstrøm, Virologiska laboratoriet, Sahlgrenska Universitetssykehus, Göteborg, Sverige  
Per-Eric Lingren, Medicinsk diagnostik, Länssjukhuset Ryhov, Jönköping, Sverige  
Claus Bohn Christiansen, Kliniskmikrobiologisk avd. 9301, Rigshospitalet, København, Danmark  
Vivian Kjelland, Forskningsenheten, Sørlandet Sykehus Helseforetak, Kristiansand, Norge  
Kirsti Vainio, Avdeling for Virologi, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge  
Susanne G Dudman, Avdeling for Virologi, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge  
Hege R Fremstad, Avdeling for Virologi, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge  
Arnulf Soleng, Avdeling for Skadedyr, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge  
Preben Ottesen, Avdeling for Skadedyr, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge.  
Emily MacDonald, Avdeling for Infeksjonsovervåking, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge.  
Line Vold, Avdeling for Infeksjonsovervåking, Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo, Norge.  
Sølvi Noraas, Medisinsk mikrobiologi, Sørlandet Sykehus Helseforetak, Kristiansand, Norge  
Malin Lager, Forskning och utveckling, Länssjukhuset Ryhov, Jönköping, Sverige  
Anna J Henningsson, Klinisk mikrobiologi, Länssjukhuset Ryhov, Jönköping, Sverige  
Anders Fomsgaard, Mikrobiologisk Diagnostik & Virologi, Statens Serum institut, København, Danmark

Utgitt av Nasjonalt Folkehelseinstitutt og Interreg IV A-prosjektet ScandTick WP2  
mars 2015

Tittel: **ScandTick: Kartlegging av analysemetoder for diagnostikk av skogflåttencefalitt (TBE) i ØKS regionen**

**Bestilling:**

Rapporten kan lastes ned som pdf  
på prosjektets hjemmeside:

[www.scandtick.com](http://www.scandtick.com)

[www.fhi.no](http://www.fhi.no)

ISBN elektronisk utgave ISBN: 978-82-8082-656-5

## Innhold

<b>Forord</b>	4
<b>Kartlegging av analysemetoder for diagnostikk av skogflåttencefalitt -TBE i ØKS regionen</b>	
Skogflåttencefalitt	5
Diagnostikk	5
Meldekriterier	5
Forebyggende	6
<b>Resultat</b>	6
Tabell 1	6-7
Tabell 2	7-8
<b>Konklusjon</b>	8
<b>Referanser</b>	8

## Forord

ScandTick er et [Interreg IV A prosjekt i Øresund, Kattegat og Skagerrak \(ØKS\) regionen](#), og er et grenseoverskridende samarbeidsprosjekt mellom Norge, Sverige og Danmark. Bakgrunnen for prosjektet er det stadig økende problemet med flått og flåttbårne sykdommer i de skandinaviske landene, spesielt innen ØKS-regionen.

De vanligste flåttbårne sykdommene er borreliose og flåttbåren encefalitt (TBE). De siste årene har stadig flere personer blitt syke etter infeksjon med flåttbårne bakterier og virus. Et forsiktig estimat viser at over 40.000 mennesker i regionen ble smittet i 2011, de fleste av disse i Sverige. Trolig er antall tilfeller enda høyere, da meldingssystemene for flåttbårne sykdommer er ufullstendige. Meldingssystemene for flåttbåren sykdom i de tre landene er også forskjellige, noe som gjør at datagrunnlaget ikke blir direkte sammenlignbart.

De problemene flåttbårne infeksjoner medfører er forholdsvis like i våre tre skandinaviske land, og et sterkere samarbeid over grensene vil føre til økt samlet kunnskap om flått og flåttbårne sykdommer. ScandTick ønsker å styrke kapasiteten på forskning om flått og flåttbårne sykdommer, samt å forbedre tilhørende helsetjenester.

Erfaringsutveksling over landegrensene, som vil stå sentralt i prosjektet, skal blant annet forbedre diagnostikk og risikovurderinger i de tre landene. Problemene med flåttbårne infeksjoner er relativt like i de tre landene, og ved å slå sammen datamateriale fra et større område vil dette gi et større datagrunnlag som kan gi sikrere konklusjoner. ScandTicks satsningsområde er derfor økt samarbeid, for å legge til rette for at de stadig økende utfordringene knyttet til flått håndteres på best mulig måte.

Oslo, januar 2015

## Skogflåttencefalitt (Tick-borne encephalitis, TBE)

Sykdommer som smitter ved flåttbitt er et økende problem i Europa. Flåtten kan overføre en rekke sykdommer til mennesker og dyr, deriblant skogflåttencefalitt.

Det er identifisert tre subtyper av TBE viruset som benevnes etter sine hovedutbredelsesområder: den vestlige/sentraleuropeiske (W-TBEV/CEEV), den sibirske (S-TBEV) og den fra det fjerne Østen (FE-TBEV). Disse subtypene har ulik geografisk utbredelse, ulike hovedvektorer og gir til dels ulike kliniske manifestasjoner.

Skogflåttencefalitt (TBE) også kalt vestlig- eller sentraleuropeisk encefalitt, overføres via skogflåtten *Ixodes ricinus*. Det er hovedsakelig denne flåttarten vi har i ØKS regionen. Den er også utbredt i resten av Europa.

TBE infeksjonen skyldes at et virus som tilhører arbovirus i flaviviridae-familien overføres via flåttbitt og kan forårsake infeksjon i sentralnervesystemet. Infeksjonen gir stor variasjon i det kliniske bildet, fra asymptomatisk til svært alvorlig sykdom. Kliniske infeksjoner har som regel et bifasisk forløp. Etter en inkubasjonsperiode som oftest varer 1–2 uker regnet fra tidspunktet for flåttbitt, kommer den viremiske fasen. Første fase varer i en ukes tid og er klinisk mild med moderat feber, hodepine og myalgi. Deretter er det en symptomfri periode på rundt 7 (1-33) dager. 1/3 av pasientene går videre til fase 2 med høyere og mer langvarig feber enn i fase 1 og nye symptomer og tegn på sentral og/eller perifer nevro-affeksjon som hodesmerter, søvnløshet, forvirring, evt. oppkast, nakkestivhet, muskelsmerter og pareser (lammelser). Mange får langvarig rekonvalesens med hodepine, konsentrasjonsvansker og søvnlager. Sekveler i form nevropsykiatriske symptomer, hodepine, balanse- og bevegelingsproblemer er vanlige og oppstår hos ca. 10 % av dem som får encefalitt. Dødeligheten i Vest-Europa er < 1 %, mens ca. 3 % av encefalittpasientene får permanente pareser. Sykdommen har vanligvis et mildere forløp hos små barn.

### Diagnostikk

Det er nødvendig med laboratorieanalyser for å stille diagnosen TBE, spesielt siden det finnes mange andre virus- og bakterieinfeksjoner som kan gi encefalitt. Til dette brukes antistoffundersøkelser (serologiske tester) som ELISA-tester og immunfluorescens tester. Det finnes ulike analysemetoder for å stille diagnosen og disse er designet for analyse av serum og spinalvæske for spesifikke IgM og IgG antistoffer mot TBE-viruset. Hvilken metode og hvilket analysemateriale som benyttes avhengig av hva som er standard ved den enkelte institusjon. Det er kjent at virus i genus Flavivirus kan kryss-reagere, spesielt gjelder det for IgG, men også for IgM. I de tilfeller der man får mistanke om at det kan være en kryssreaksjon, kan det vurderes å gjøre en nøytralisasjonstest.

Det er åtte laboratorier i ØKS regionen som utfører antistoffundersøkelser for TBE-virus; **Norge:** Sørlandet Sykehus i Kristiansand (SSHF) og Avdeling for virologi ved Nasjonalt folkehelseinstitutt. Sistnevnte er referanselaboratorium for TBE-virus i Norge.

**Sverige:** Sahlgrenska Universitetssykehus i Gøteborg, Unilabs i Skövde, Skånes Universitetssykehus i Malmö, Ryhovd länsykehus i Jönköping, Linköpings Universitet i Linköping,

**Danmark:** Statens Serum Institut (SSI), Danmark

I tillegg til antistoffundersøkelsene kan fire av de åtte laboratoriene også utføre påvisning av virus-RNA i serum og spinalvæske ved bruk av PCR. Dette er kun aktuelt når prøven er tatt i den viremiske første fase av sykdommen, og eventuelt dersom det er et alvorlig forløpende sykdomsbilde.

### Meldekriterier

Melding av skogflåttencefalitt varierer innenfor regionen fra melding ved systemiske infeksjon i Norge og Sverige til ikke å meldes i Danmark. Kriterier for melding i Norge og Sverige er også ulike. Skogflåttencefalitt har vært meldepliktig i Norge siden 1975, og i Sverige har det vært meldepliktig siden 1 juli 2004, men TBE anmeldes ikke i Danmark. EU har anbefalet at alle EU land skal ha felles meldeplikt, men det er ikke implementert enda.

### Forebyggende

Det viktigste er å sjekke seg grundig, både hud og hår, etter opphold i områder med flått, og fjerne flått umiddelbart

Når det gjelder bekledninger viktigste forebyggende tiltaket mot flåttbitt er å kle seg slik at man er godt tildekket ved ankene når man ferdes i områder med mye flått. Gå på stier fremfor på steder med høyt gress, lyng og kratt. Om en ikke får symptomer på infeksjon, er det ikke nødvendig å søke lege for prøvetaking eller behandling etter flåttbitt.

Dyr som hunder og katter må også undersøkes for flått.

Vaksine mot sykdom som overføres med flåttbitt: Vaksine mot skogflåttencefalitt (TBE-vaksine) ble først tilgjengelig i 1976 i Østerrike, hvor den brukes i program. TBE-vaksinen har en beskyttelseeffekt på om lag 95 % etter fullført grunnvaksinasjon (3 doser avhengig av leverandør). Barn og voksne som ferdes mye utendørs og ofte blir bitt av flått i områder med kjent TBE-risiko bør vurdere å vaksinere seg mot skogflåttencefalitt.

### Resultat

Hensikten med denne kartleggingen er å skaffe en oversikt over hvilke metoder som anvendes i ØKS regionen for TBE diagnostikk. Av de åtte laboratoriene i regionen anvender 6 av 8 laboratorier Enzygnost Anti TBE virus IgG og IgM testen som sin primærttest (Tabell 1). De fleste laboratorier har minst en annen test som kan anvendes for bekreftelse. Hvilken test som anvendes som sekundærttest varierer fra lab til lab. I Sverige anvendes EUROIMMUN Anti-TBE Virus ELISA IgG og IgM eller Immunozy m FSME IgG/IgM som sekundærttest, eller for enkelte laboratorier som primærttest.

Når det gjelder tilleggstest til antistoff undersøkelsene kan fire av de åtte laboratoriene også utføre påvisning av virus-RNA i serum, urin og spinalvæske/likvor (Tabell 2). Disse testene varierer fra laboratorium til laboratorium.

**Tabell 1: Serologiske tester som anvendes til Diagnostikk i ØKS regionen**

Laboratorium	Analysemetode	Metode	Leverandør	Prøvetype	IgM	IgG	Akkreditert
FHI	<i>ELISA tester:</i>	Enzygnost Anti TBE virus IgG og IgM.	Siemens	Serum	IgM	IgG	ja
		Serion FSME VIRUS/TBE VIRUS IgG	Montebello	Serum + Spinalvæske/Likvor		IgG	ja
		Serion FSME VIRUS/TBE VIRUS IgM	Montebello	Serum + Spinalvæske/Likvor	IgM		ja
		ved spørsmål om immunitet/vaksinert, Anti-TBE Virus: Elisa «Vienna» (brukes sjelden)	Euroimmun	Serum		IgG	Nei
		antistoff mot TBE virus i hjortevilt sera:	Siemens	Serum		IgG	Nei

		Enzygnost Anti TBE virus IgG og IgM, modifisert.					
	<i>IF test:</i>	Euroimmun IIFT:flavivirus Profile 2 (IgG)	Euroimmun	Serum + Spinalvæske/Likvor		IgG	Nei
		Euroimmun IIFT:flavivirus Profile 2 (IgM)	Euroimmun	Serum + Spinalvæske/Likvor	IgM		Nei
	In-House test:	TBE-RFFIT test under etablering		Serum			Nei
SSHF							
	<i>ELISA tester :</i>	Enzygnost Anti TBE virus IgG og IgM.	Siemens	Serum	IgM	IgG	ja
SUS	<i>ELISA tester :</i>	Enzygnost Anti TBE virus IgG og IgM.	Siemens	Serum	IgM	IgG	?
		Immunozyim FSME IgM	Progen Biotechnik GMBH	Serum + Spinalvæske	IgM		
US	<i>ELISA tester:</i>	Enzygnost Anti TBE virus IgG og IgM.	Siemens	Serum	IgM	IgG	?
SKUS	<i>IF test:</i>	EUROIMMUN Anti-TBE Virus ELISA IgG og IgM	Euroimmun	Serum	IgG	IgM	Nei
LSR	<i>ELISA tester :</i>	Enzygnost Anti-TBE Virus IgG og IgM	Siemens	Serum	IgM	IgG	Nei
LU	<i>ELISA tester :</i>	Immunozyim FSME IgG/IgM	Progen Biotechnik GMBH	Serum/Plasma	IgM	IgG	Ja
SSI	<i>ELISA</i>	Enzygnost IgG IgM	Siemens	Serum	IgM	IgG	nej

**FHI:** Referanselab for TBEV, Folkehelseinstituttet, Norge; **SSHF:** Sørlandet Sykehus HF, Norge; **SUS:** Sahlgrenska universitetssykehus, Sverige; **US:** Unilabs Skövde, Sverige; **SKUS:** Skånes Universitetssjukhus Malmö, Sverige; **LSR:** Länsykehus Ryhovs Jönköping, Sverige; **LU:** Linköpings Universitet, Sverige; **SSI:** Statens Serum Institut, København, Danmark

**Tabell 2: TBEV PCR diagnostik som anvendes i ØKS regionen**

<b>Laboratorium *</b>	<b>Prøvetype</b>	<b>Metode</b>	<b>Referanse</b>
FHI	Serum, spinalvæske/Likvor	Nested PCR	Skarpaas et al 2006
	Serum, spinalvæske/Likvor	In-house Real-time RT-PCR	Andreassen et al 2012
SUS	Serum, helblod, urin, spinalvæske/Likvor	In-house Real-time RT-PCR	Brinkley, et al., 2008.

LU	Serum	In-house Real-time RT-PCR	Lindblom et al., 2014 (Modifisert etter Gaumann et al, 2010 and Schwaiger and Cassinotti et al 2003)
LSR	Serum	In-house Real-time RT-PCR	Lindblom et al., 2014 (Modifisert etter Gaumann et al, 2010 and Schwaiger and Cassinotti et al 2003)
SSI	Serum, fuldblod, spinalvæske/Likvor	Real-time RT-PCR	Schwaiger and Cassinotti et al 2003

\*FHI: Referanselab forTBEV, Folkehelseinstituttet, Norge; SUS: Sahlgrenska universitetssykehus, Sverige; LU: Linköpings universitet, Sverige; LSR: Länsykehus Ryhovd Jönköping, Sverige; SSI: Statens Serum Institut, København, Danmark

### Konklusjon:

Sammenligningen mellom de ulike laboratoriene i ØKS regionen viser at det er stort sett samme protokoll som anvendes for primærttesting av serum og spinalvæske, men at valg av sekundærttest kan variere. Derimot varierer det om det kjøres PCR på prøvene og det er individuelle PCR metoder som anvendes dersom det benyttes til TBE diagnostikk. Her kan både sensitivitet og spesifisitet variere.

En analyse av eventuelle forskjeller vil være av stor nytte for å systematisere analysene slik at vi får et best mulig resultat for befolkningen i regionen.

### Referanser:

1. Andreassen, A. *et al.* Prevalence of tick borne encephalitis virus in tick nymphs in relation to climatic factors on the southern coast of Norway. *Parasites & vectors* **5**, 177, doi:10.1186/1756-3305-5-177 (2012).
2. Lindblom, P *et al.* Tick-borne encephalitis virus in ticks detached from humans and follow-up of serological and clinical response. *Ticks and Tick-borne Diseases* 2014 Feb;5(1):21-8. doi: 10.1016/j.ttbdis.2013.07.009. Epub 2013 Oct 25.
3. Brinkley, C., *et al.* Tick-borne encephalitis virus natural foci emerge in western Sweden. *International Journal of Medical Microbiology*, 2008, 298, Supplement 1, 73-80, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.12.005 .
4. Schwaiger, M. & Cassinotti, P. Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* **27**, 136-145 (2003).