ARTIKLEN ER SKREVET AF:

MICHELLE S. FENGER
Københavns Professionshøjskole, København, Danmark
Klinisk Immunologisk Afdeling, Rigshospitalet, København, Danmark

SANNE DAHDOUH
Københavns Professionshøjskole, København, Danmark
Klinisk Immunologisk Afdeling, Nordsjællands Hospital, Hillerød, Danmark

ANN-BRITT FRØSTRUP
Klinisk Immunologisk Afdeling, Rigshospitalet, København, Danmark
Klinisk Immunologisk Afdeling, Sjællands Universitetshospital, Roskilde, Danmark

ANJA S. LARSEN
Klinisk Immunologisk Afdeling, Nordsjællands Hospital, Hillerød, Danmark,

RANDA ZOEL-GHINA
Klinisk Immunologisk Afdeling, Rigshospitalet, København, Danmark

LEIF K. NIELSEN[1],
Københavns Professionshøjskole, København, Danmark

HENRIETTE LORENZEN
Københavns Professionshøjskole, København, Danmark

Rørpost transport af blodprøver

påvirker hæmostase- og trombocytfunktionsanalyser – sekundærpublikation

Hurtig transport af blodprøver til kliniske laboratorier er en essentiel forudsætning for rettidige testresultater, hvilket er grundlaget for, at prøvetransport har fået øget fokus (1). I forbindelse med intern prøvetransport bruges ofte rørpost-systemer for at minimere arbejdsbyrden, optimere workflow samt for at sikre omkostningseffektiv levering til de respektive laboratorier (2,3). Monitorering af hæmostasen har afgørende betydning for forudsigelsen af risikoen for blødning og trombotiske komplikationer og er klinisk vigtig ifm. blodkomponentterapi (4). Den præanalytiske fase er dog kritisk og kan påvirke prøvekvaliteten og ændre prøveresultatet. Transport af prøver vha. rørpost-systemer kan være en kilde til fejl og bør derfor valideres for at sikre kvaliteten (5,6).

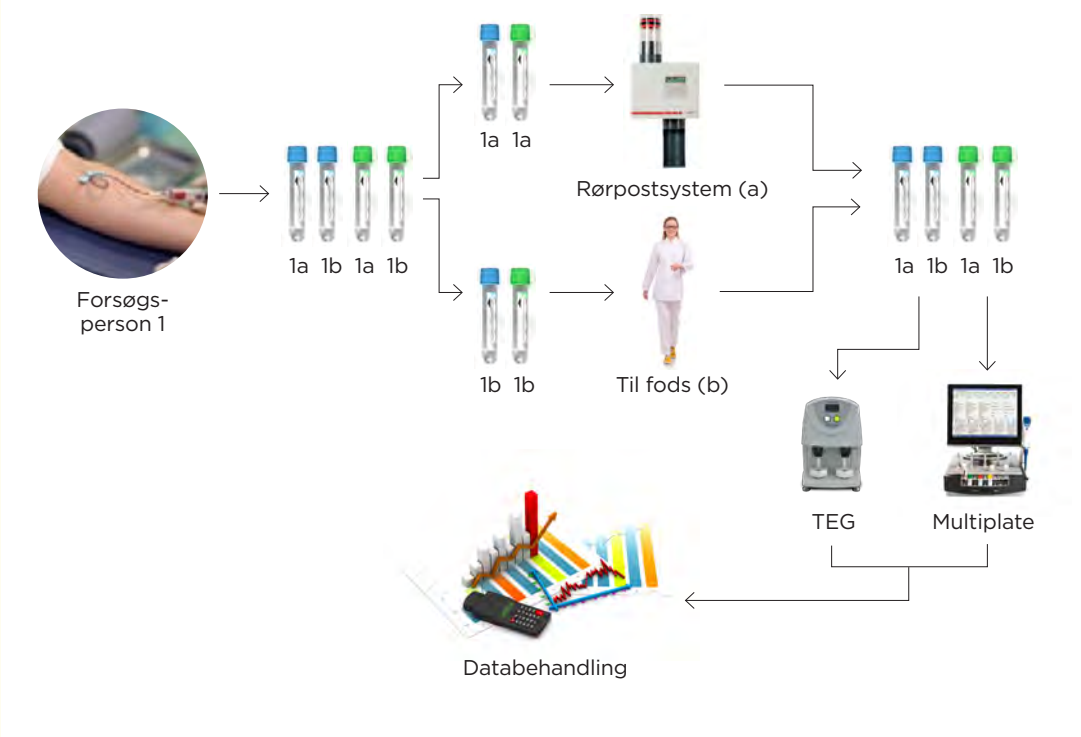
Hæmostase- og trombocytfunktionsanalyser

Den viskoelastiske hæmostase-analyse thrombelastografi (TEG) anvendes til hæmostasemoni-

TABEL 1: PARAMETRE OPNÅET VED TEG-ANALYSERNE (8,10,11,12)

TEG-analyser inddelt efter aktivator	Vigtige parametre	Tolkning
TEG Citrat Kaolin (CK) + TEG Citrat Kaolin Heparin (CKH)	R-tid	Initieringstid for klotdannelse. Afspejler koagulationsfaktorernes funktion og trombocytreaktiviteten (koagulationstid)
	Angle	Hastighed for koageldannelsen. Afspejler koagulationsfaktorer, fibrinogen og trombocytter (trombindannelseshastighed)
	Maximum amplitude (MA)	Koaglets maksimale styrke. Afspejler trombocytkoncentrationen, trombocytternes funktion og interaktionen mellem fibrin og trombocytter
	Lysis30 (LY30)	Den fibrinolytiske aktivitet. Afspejler hvor meget af koaglet, der er lyseret 30 min. efter, at MA er opnået
TEG Citrat Funktionel Fibrinogen (CFF) + TEG Citrat Funktionel Fibrinogen Heparin (CFFH)	Maximum amplitude (MA)	Afspejler fibrinogens bidrag til koagelstyrken
Citrat Rapid TEG (CRT) + Citrat Rapid TEG Heparin (CRTH)	Activated Clotting Time (ACT)	Accelereret udgave af R-tid

* SE FAKTABOKS SIDE 22



FIGUR 1: FORSØGSDESIGN

Der blev taget blodprøver på forsøgspersonerne. Glas "a" blev sendt med rørpost-system, og glas "b" blev transporteret til fods. Alle Na-citrat-glas blev analyseret på TEG, og samtlige Li-hep-glas blev analyseret på Multiplate Analyzer.

torering ved at give oplysninger om alle faserne i koagulationsprocessen (7). TEG detekterer koagulationsfaktorernes, fibrinogens og trombocytternes funktionsevne ved koageldannelse og fibrinolyse* og giver dermed information om, hvorvidt patienten har en blødningsforstyrrelse, som har indflydelse på den funktionelle hæmostase (8). Der bruges forskellige koagulationsaktivatorer i TEG-analysen for at afspejle diverse aspekter af koagulationsprocessen og dermed opnå viden om patientens tilstand, se tabel 1 (9). TEG-analysen udføres i neutralkopper og heparinasekopper. Sidstnævnte er fordelagtig for patienter i heparinbehandling, hvor det vurderes, om abnorme TEG-resultater forårsages af heparinbehandling eller skyldes andre faktorer (8).

Patienter, som modtager antitrombotisk behandling, kan blive monitoreret med analysen Multiplate, der bruger impedans aggregometri* som måleprincip. Her vurderes trombocytfunktionen i fuldblod baseret på trombocyt-aggregering*, som aktiveres af forskellige agonister*, se tabel 2 (9,13,14). Resultatet fra Multiplate Analyzer udtrykkes i Area Under the Curve (AUC), hvilket er udtryk for den øgede impedans (elektrisk modstand), som registreres, når trombocytter aggregerer.

Rørpost-systemets betydning for hæmostase- og trombocyt-funktionsanalyser

Resultater fra to bachelorprojekter udført på Klinisk Immunologisk Afdeling, Nordsjællands Hospital, Hillerød (NOH) og Klinisk Immunologisk Afdeling, Rigshospitalet (RH) er blevet publiceret i *International Journal of Laboratory Hematology* (17). Formålet med studiet var at undersøge om rørpost-systemet påvirker funktionelle hæmostase-analyser sammenlignet med manuel transport (17). NOH bidrog med data fra Multiplate, hvor 28 raske forsøgspersoner deltog. RH bidrog med data fra både TEG-analyser og fra Multiplate, hvor hhv. 32 og 39 raske forsøgspersoner deltog. For begge bachelorprojekter blev der taget to blodprøver på hver forsøgsperson, hvor den ene prøve blev transporteret manuelt til fods og den anden sendt via rørpost-system, se figur 1. Herefter blev resultaterne vurderet vha. statistiske beregninger.

TABEL 2: MULTIPLATE-TESTENES AGONISTER OG EFFEKTEN HERAF (15,16)

Multiplate-test	Aktivator (agonist)	Effekt
ADP	Adenosindiphosphat	Trombocyt-aggregering fremkaldt af ADP-receptorer
ASPI	Arachidonsyre	Trombocyt-aggregering fremkaldt af Thromboxan A2*
TRAP	Trombin-receptor-aktiverende-peptid	Maksimal trombocyt-aggregering
RISTO-High	Ristocetin-High	Trombocyt-aggregering fremkaldt af Ristocetin og von Willebrand Faktor (vWF)*

* SE FAKTABOKS SIDE 22

Tabel 3 viser, hvordan analyseresultaterne påvirkes af rørpost-transport. Det ses, at rørpost-transport øger trombocyt-aggregering analyseret på Multiplate på NOH, men ikke på RH. For TEG indikerer resultaterne, at rørpost-transport aktiverer koagulationsfaktorer og evt. trombocytter. Disse ændringer i analyseresultater kan udløse fejlfortolkninger med kliniske konsekvenser – fx ved TEG-analyse, hvor forsendelse af prøve via rørpost-system kan få den konsekvens, at patienter med forlænget R-tid og lav Angle kan blive fejlbehandlet og påvirke beslutninger ift. blodkomponentbehandlingen. På samme måde kan prøver med falsk forhøjede Multiplate-resultater, forårsaget af rørpost-transport, blive fortolket som normale og påvirke behandlingsstrategien.

Ud fra vores og andres studier, tabel 4, er det ikke muligt at afklare, om der er en generel indflydelse af rørpost-systemer på hæmostase-analyser. Studiet anbefaler de respektive laboratorier at undersøge effekten af deres lokale rørpost-systemer på funktionelle hæmostase- og trombocytfunktionsanalyser (17). Det er kendt viden, at blodprøver sendt via rørpost-system udsættes for lufttryk, tyngdekraft, acceleration og deceleration, hvilket medfører voldsomme vibrationer, som kan forårsage hæmolyse og/eller aktivering af cellerne (2,16,18). Det antages, at disse påvirkninger kan aktivere trombocytterne (19, 20), men undersøgelser af rørpost-systemets indflydelse på den hæmostatiske proces giver modstridende resultater, og derfor er rørpost-systemets indvirkning på analyseresultaterne stadig ikke entydig, se tabel 4.

FAKTA-BOKS

Fibrinolyse: Nedbrydning af fibrin

Impedans aggregometri: Er baseret på, at trombocytter i den aktive tilstand udtrykker overfladereceptorer, der tillader forankring til kunstige overflader som metaltråde. Når trombocytter binder til Multiplates metaltrådssensorer, øges den elektriske modstand mellem disse, hvilket kan måles vha. et apparatur (15).

Trombocyt-aggregering: Sammenklumpning af trombocytter

Agonist: Aktiverende testreagenser

Thromboxan A2: Når der opstår defekter i karvæggen, udsender de aktiverede trombocytter tromboxan A2 til blodet. Her fremkalder det aktivering og yderligere ophobning af trombocytter samt sammentrækning af pulsårerne, som forsyner de defekte kar (31)

von Willebrand Faktor (vWF): Protein, hvis funktion indgår i de allerførste trin af blodets hæmostase (32)

Koagulationstid: Fra start af koagulationsprocessen med aktivator til begyndelsen af fibrindannelse. Især udtryk for koagulationsfaktorernes funktion og trombocytaktiviteten (8).

TABEL 3: RESULTATER EFTER BLODPRØVERNE BLEV SENDT VIA RØRPOST (17)

		Rigshospitalet (RH)		Nordsjællands Hospital, Hillerød (NOH)
MULTIPLATE				
	ADP	AUC ↔		AUC ↑
	ASPI	AUC ↔		AUC ↑
	TRAP	AUC ↔		AUC ↑
	RISTO-High	AUC ↔		
TEG		**Uden Heparinase**	**Med Heparinase**	
	CK	R-tid ↓	R-tid ↔**	
		Angle ↑	Angle ↔	
		MA ↔	MA ↔	
		LY30 ↔	LY30 ↔	
	CFF	MA ↑	MA ↔	
	CRT	ACT ↓	ACT ↔	
RØRPOST	**System**	Swisslog TranspoNet		Tempus 600
	Prøvens distance	325 m.		228 m.
	Hastighed	2-3 m/s		7-10 m/s
	Transporttid	2 min.		46 sek.

↑= Forøget værdi ift. blodprøven, der blev manuelt transporteret. ↓= Formindsket værdi ift. blodprøven, der blev manuelt transporteret. ↔ = ingen resultatforskel prøverne imellem. ** = Tendens til reduceret R-tid

TABEL 4: STUDIERS EVALUERING AF RØRPOST-SYSTEMER OG DERES INDFLYDELSE PÅ FORSKELLIGE HÆMOSTASE-ANALYSER (2,16,17,19,21-30)

Analyser	Studier	Effekt
Multiplate Analyzer	Thalén et al. (2013) (16) Bolliger et al. (2009) (19) Glas et al. (2013) (21)	Fald i trombocyt-aggregering
	Lorenzen et al. (2021) (17)	Stigning i trombocyt-aggregering
	Braun et al. (2009) (22) Gils et al. (2020) (23)	Ingen påvirkning
PFA-100	Hübner et al. (2010) (24)	Fald i trombocyt-aggregering
	Wallin et al. (2008) (25)	Ingen påvirkning
Chronolog 700 Aggregometer	Enko et al. (2017) (26)	Ingen påvirkning
ROTEM	Amann et al. (2012) (27) Martin et al. (2012) (28)	Fald i koagulationstid*
	Le Quellec et al. (2017) (2)	Ingen påvirkning
TEG	Wallin et al. (2008) (25) Poletaev et al. (2018) (29) Espinosa et al. (2016) (30) Lorenzen et al. (2021) (17)	Fald i koagulationstid + stigning i trombindannelseshastighed

PFA-100 (Platelet Function Analyzer), ROTEM (Rotational thromboelastometry), TEG (thrombelastografi)

* SE FAKTABOKS SIDE 22

Fremtidige perspektiver

Vores studie (17) tydeliggør forskellen på rørpost-systemer og deres påvirkning. NOH kommer med konklusionen, at deres rørpost-system ikke kan anvendes ved forsendelse af blodprøver til analyse på Multiplate Analyzer, mens det modsatte er tilfældet for RH. Resultaterne skal ses i lyset af, at der findes utallige typer/modeller af rørpost-systemer, som varierer i design og opsætning. Det gælder bl.a. transportdistance, antal af transportstationer, antal bøjninger, transporttid, lufttryk og hastighed, som i kombination kan påvirke prøvekvaliteten i forskellige grader (1,18). Det skyldes bl.a., at hospitalsbygningernes udformning og arkitektur ikke er ens. Det er derfor ikke muligt at generalisere rørpost-systemets påvirkning af de hæmostatiske analyser eller at komme med en anbefaling til enkelte laboratorier – ikke engang inden for samme region. Det er vigtigt at overveje, hvordan systemets design og opsætning skal være, og at hospitalerne selv undersøger deres lokale rørpost-systems påvirkning af de hæmostatiske og trombocytfunktionsanalyser. På baggrund af studiernes modstridende konklusioner ser vi muligheder i at identificere, hvorvidt det er afstand, hastighed, acceleration, deceleration, antal bøjninger, transporttid, forskellige prøveindpakninger eller en kombination af disse faktorer, der skaber effekten. Dette kræver naturligvis yderligere studier, og på baggrund af disse vil det måske være muligt at designe rørpost-systemer, der ikke påvirker prøvernes kvalitet og dermed laboratorieresultater.

Denne artikel er baseret på studiet "Pneumatic tube transport of blood samples affects global hemostasis and platelet function assays" udgivet i International Journal of Laboratory Hematology. 2021;00:1-9. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13470

* SE FAKTABOKS SIDE 22

LITTERATUR:

1. Nybo M, Lund ME, Titlestad K, Maegaard CU. Blood sample transportation by pneumatic transportation systems: A systematic literature review. Clin Chem. 2018;64(5):782-790.
2. Le Quellec S, Paris M, Nougier C, et al. Pre-analytical effects of pneumatic tube system transport on routine haematology and coagulation tests, global coagulation assays and platelet function assays. Throm Res. 2017;153:7-13.
3. Fernandes CMB, Worster A, Eva K, Hill S, McCallum C. Pneumatic tube delivery system for blood samples reduces turnaround times without affecting sample quality. J Emerg Nurs. 2006;32(2):139-143.
4. Fahrendorff M, Oliveri RS, Johansson PI. The use of viscoelastic haemostatic assays in goal-directing treatment with allogeneic blood products - A systematic review and meta-analysis. Scand J Trauma Resusc Emerg Med. 2017;25(1):1-12.
5. Adcock DM, Favaloro EJ, Lippi G. Critical pre-examination variables in the hemostasis laboratory and their quality indicators. Clin Biochem. 2016;49(18):1315-1320.
6. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Preanalytical issues in the haemostasis laboratory: Guidance for the clinical laboratories. Thromb J. 2016;14(1):1-14.
7. Johansson PI. Treatment of massively bleeding patients: introducing real-time monitoring, transfusion packages and thrombelastography (TEG®). ISBT Sci Ser. 2007;2(1):159-167.
8. Johansson PI, Ostrowski SR, Stensballe J. Introduktion til koagulation, hæmostase og TEG. Region H. Blodbanken. 2011
9. Dias JD, Haney EI, Mathew BA, Lopez-Espina CG, Orr AW, Popovsky MA. New-generation thromboelastography: Comprehensive evaluation of Citrated and heparinized blood sample storage effect on clot-forming variables. Arch Pathol Lab Med. 2017;141(4):569-577.
10. Rafiq S, Steinbrüchel DA, Johansson PI. Funktionelle hæmostaseanalyser er hurtige og pålidelige ved transfusionskrævende blødning. Ugeskr Læger. 2011;173/18:1287-1290.
11. Johansson PI, Stissing T, Bochsen L, Ostrowski SR. Thrombelastography and tromboelastometry in assessing coagulopathy in trauma. Scand J Trauma Resusc Emerg Med. 2009; 17:45.
12. Curry NS, Davenport R, Pavord S, Mallett SV, Kitchen D, Klein AA et al. The use of viscoelastic haemostatic assays in the management of major bleeding. Bjh. 2018;10.1111.15524:1-18.
13. Würtz M, Hvas AM, Christensen KH, Rubak P, Kristensen SD, Grove EL. Rapid evaluation of platelet function using the Multiplate® Analyzer. Platelets. 2014;25(8):628-633.
14. Connelly CR, Yonge JD, McCully SP, et al. Assessment of three point-of-care platelet function assays in adult trauma patients. J Surg Res. 2017;212:260-269.
15. Petricevic M, Konosic S, Biocina B, Dirkmann D, et al. Bleeding risk assessment in patients undergoing elective cardiac surgery using ROTEM® platelet and Multiplate® impedance aggregometry. Anaesthesia. 2016:71:636-647.
16. Thalén S, Forsling I, Eintrei J, Söderblom L, Antovic JP. Pneumatic tube transport affects platelet function measured by multiplate electrode aggregometry. Thromb Res. 2013;132(1):77-80.
17. Lorenzen H, Frøstrup AB, Larsen AS, Fenger MS, et al. Pneumatic tube transport of blood samples affects global hemostasis and platelet function assays. Int J Lab Hematol. 2021;00:1-9.
18. Tiwari AK, Pandey P, Dixit S, Raina V. Speed of sample transportation by a pneumatic tube system can influence the degree of hemolysis. Clin Chem Lab Med. 2012;50(3):471-474.
19. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA, et al. Pre-analytical effects of pneumatic tube transport on impedance platelet aggregometry. Platelets. 2009;20(7):458-465.
20. Aursnes I, Sundal J, Nome T. Shear stress activation of platelets with subsequent refractoriness. Thromb Res. 1987;45(1):29-37.
21. Glas M, Mauer D, Kassas H, et al. Sample transport by pneumatic tube system alters results of multiple electrode aggregometry but not rotational thromboelastometry. Platelets. 2013;24(6):454-461.
22. Braun S, Von Beckerath N, Ellert J, et al. Assessment of platelet function in whole blood by multiple electrode aggregometry: Transport of samples using a pneumatic tube system. Am J Clin Pathol. 2009;132(5):802-803.
23. Gils C, Broell F, Vinholt PJ, Nielsen C, Nybo M. Use of clinical data and acceleration profiles to validate pneumatic transportation systems. Clin Chem Lab Med. 2020;58(4):560-568.
24. Hübner U, Böckel-Frohnhöfer N, Hummel B, Geisel J. The effect of a pneumatic tube transport system on platelet aggregation using optical aggregometry and the PFA-100TM. Clin Lab. 2010;56(1-2):59-64.
25. Wallin O, Söderberg J, Grankvist K, Jonsson PA, Hultdin J. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine haematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. Clin Chem Lab Med. 2008;46(10):1443-1449.
26. Enko D, Mangge H, Niedrist T, Mahla E, Metzler H. Pneumatic tube system transport does not alter platelet function in optical and whole blood aggregometry, prothrombin time, activated partial thromboplastin time, platelet count and fibrinogen in patients on anti-platelet drug therapy. Biochem Media. 2017;27(1):217-224.
27. Amann G, Zehntner C, Marti F, Colucci G. Effect of acceleration forces during transport through a pneumatic tube system on ROTEM® analysis. Clin Chem Lab Med. 2012;50(8):1335-1342.
28. Martin J, Schuster T, Moessmer G, Kochs EF, Wagner KJ. Alterations in rotation thromboelastometry (ROTEM®) parameters: Point-of-care testing vs analysis after pneumatic tube system transport. Br J Anaesth. 2012;109(4):540-545.
29. Poletaev AV, Koltsova M, Ignatova A, et al. Alterations in the parameters of classic, global, and innovative assays of hemostasis caused by sample transportation via pneumatic tube system. Thromb Res. 2018;170:156-164.
30. Espinosa A, Ruckert J, Navarro V, Videm V, Sletta BV. Are TEG results in healthy blood donors affected by the transport of blood samples in a pneumatic tube system? Int J Lab Hematol. 2016;38(4):e73-e76.
31. Rucker D, Dhamoon AS. Physiology, Thromboxane A2. StatPearls. 2020.
32. Peyvandi F, Garagiola I, Baronciani L. Role of von Willebrand factor in the haemostasis. Blood Transfus. 2011;9(2):3-8.

FAGLIG

Lidt over et år er gået siden SARS-CoV-2, som er årsag til sygdommen Covid-19, dukkede op i Wuhan-provinsen i Kina. I marts 2020 erklærede WHO udbruddet af Coronavirus for en pandemi, og dette blev starten på en af de mest omfattende pandemier, vi har oplevet i moderne tid.

SARS-COV-2; LIVSCYKLUS, MUTATIONER, IMMUN-REAKTIONER OG VACCINER

ARTIKLEN ER SKREVET AF:

KARL A. BROKSTAD
Institutt for sikkerheit, kjemi- og bioingeniørfag, Høgskolen på Vestlandet.
Broegelmann Forskningslaboratorium, Klinisk Institutt 2, Universitetet i Bergen.

REBECCA J. COX
Influensasenteret, Klinisk Institutt 2, Universitetet i Bergen.
Avd. for Mikrobiologi, Helse-Bergen.

Coronavirus – taksonomi og sygdom

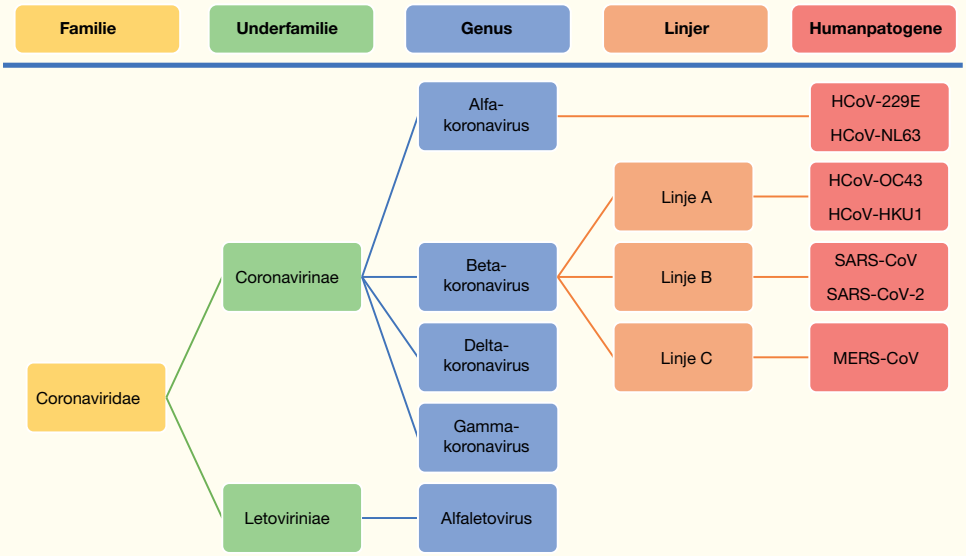
SARS-CoV-2 er et coronavirus. Der findes i dag cirka 50 kendte coronavira, som er isoleret fra forskellige pattedyr, fugle og amfibier. Tallet vil antagelig stige med tiden, nu hvor der er mere opmærksomhed rettet mod denne gruppe af virus.

Coronavirus er et forholdsvis stort sfærisk RNA-virus med en størrelse på 120-160 nm i diameter. Navnet kommer af, at de ligner kongekroner i elektronmikroskopet på grund af de pigge, som stikker ud af membranen.

Coronavirus er systematiseret i fire stammer (alfa, beta, delta og gamma), baseret på fylogenetiske forskelle i arvematerialet (figur 1). Der er også mindre forskelle i den genetiske organisering af arvematerialet imellem grupperne. Vi finder de humanpatogene coronavira i alfa- og betacoronavirusstammerne. Desuden er betacoronavira inddelt i grene, som yderligere definerer fylogenetiske forskelle. Dertil er SARS-CoV-2 inddelt i grupper baseret på genetisk udvikling.

Vi kender til fire coronavira, som har cirkuleret længe hos mennesker. De giver kun milde respiratoriske symptomer og har derfor indtil for nyligt kun været genstand for begrænset opmærksomhed. Dette gælder alfa-coronavirusstammerne 229E og NL63, og beta-coronavirusstammerne OC43 og HKU1 (figur 1). Først med SARS-epidemien, som fandt sted i 2002-2004 med epicenter i Sydøst-Kina, startede forskere på at studere denne virusgruppe i detaljer. I 2012 brød MERS ud, med epicenter på den arabiske halvø, og dette virus cirkulerer stadig i området.

De nyere vira giver alvorlige respiratoriske symptomer hos mennesker. SARS og MERS havde en mortalitetsrate på henholdsvis 9,5 % og 35 %. Dødeligheden i Norge for SARS-CoV-2 ligger på cirka 1 %, mens den gennemsnitlige dødsrate på verdensplan er på 2 %. Fælles for de nye vira er, at smitten for nylig er overført fra dyr til mennesker (zoonose), så de har kun i mindre grad tilpasset sig et balanceret forhold til mennesket som vært. Når vi analyserer slægtskab og oprindelse i detaljer, tyder det på, at virus er opstået i flagermus, også selv om det har været gennem en anden værtscelle før mennesket.



FIGUR 1:

Coronavirus-systematik. Der findes en mængde coronavira, og de smitter både mennesker og dyr. Der er fire kendte coronavira, som har cirkuleret blandt mennesker i mange år (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 og HCoV-HKU1), men som kun har fået begrænset opmærksomhed, idet de kun medfører milde forkølelsessymptomer.

Dette har ændret sig, efter at de nye vira med oprindelse fra dyr (zoonose) er dukket op.

Opbygning og arvemateriale

SARS-CoV-2 er sfærisk og har en membran, der består af to lag fosfolipider (figur 2). I membranen finder vi membranproteiner (M), «envelope»-proteiner (E) og «spike»-proteiner (S). Sidstnævnte er vigtige for virussets binding til værtscellen og inficering. Inden i virusset finder vi virusgenomet (vRNA), som er beklædt med nukleokapsidproteiner (N). Vi kan desuden også finde små polymerasekompleksproteiner.

Virussets genom, på cirka 30 kb, er enkeltstrenget positiv sense RNA +ssRNA) og indeholder flere gener af forskellig størrelse, hvor hvert gen kan kode for et eller flere genprodukter (figur 3). I skrivende stund er der identificeret 38 viruproteiner, som tilhører to grupper, ikke-strukturelle (nsp) og strukturelle proteiner. De ikke-strukturelle er primært enzymer eller andre proteiner, som har med virusreplikationen at gøre. De strukturelle proteiner er nukleokapsidet, membran-, «envelope»- og «spike»-proteinerne. Desuden kan der også produceres små regulatoriske ikke-kodende nukleinsyresekvenser.

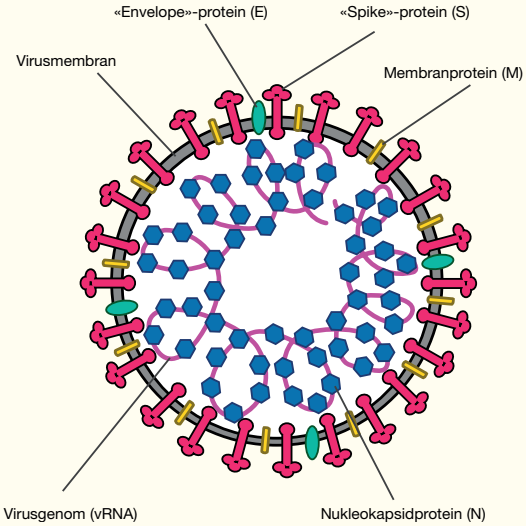
Livscyklus

Humane coronavira smitter mennesker, først og fremmest ved dråbesmitte og kontaktsmitte, med mund og svælg som indgangsport for smitte (figur 4). I de øvre luftveje fæstner SARS-CoV-2 (virionet) sig til angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)-receptoren på overfladen af værtscellerne. Virus bliver så internaliseret i cellen ved receptor-medieret endocytose, og derefter smelter virusmembranen sammen med den endosomale membran, således at virussets indhold kan tømmes ud i cytoplasma. Med i lasten følger også virusenzymer, som er vigtige i virussets replikationsproces. Derefter bliver virusgenomet transkriberet til enkeltstrenget negativ sense RNA (-ssRNA). Denne RNA-streng bliver transkriberet til mRNA, som ved translation fører til dannelse af de strukturelle proteiner (S, M, N og E) og andre ikke-strukturelle proteiner. Denne tråd er desuden templat for nydannelse af vRNA (+), som skal inkorporeres i den nysyntetiserede virus. Virusreplikationen foregår i eller i nærheden af endoplasmatisk retikulum (ER) og Golgi-apparatet, hvor virus pakkes og sættes sammen. De nydannede virioner bliver dernæst frigjort ved eksocytose.

Pandemisk RNA-virus

SARS-CoV-2, influenzavirus og HIV er alle RNA-virus, som har forårsaget pandemier, men de er forskellige i opbygning og har forskellige mekanismer (Tabel 1).

Smittemåderne er derfor også forskellige. Mens SARS og influenza primært smitter via øvre luftveje som dråbe- eller kontaktsmitte, overføres HIV via kropsvæskerne blod, sæd, skedesekret og modermælk. HIV er mindre smitsomt og kan lettere begrænses ved ændring af adfærd. De tre viras livscyklus er også forskellig, de benytter forskellige receptorer på forskellige celletyper (Tabel 1). HIV vil ved indtrængning i cellen transportere virusgenomet ind i cellekernen, hvor det integreres i værtscellens kromosom. I denne position kan virusset ligge latent eller aktiveres for at producere nye vira. Genomsegmenterne til influenzavirus transporteres også ind i cellekernen, men fungerer her aktivt som templat for nye vira. Coronavirus er kun i cytoplasma i tilknytning til ER og Golgi-apparatet.



FIGUR 2:

Skematisk præsentation af SARS-CoV-2. Genomet (vRNA) er pakket ind af nukleokapsidproteiner (N) og nogle enzymatiske proteiner (ikke vist i figur). Dette kompleks er omsluttet af en dobbelt lipidmembran, som indeholder forskellige proteiner. Det vigtigste af disse proteiner er «spike»-proteinet, som er ansvarlig for binding til værtscellen, og som også er den immundominante del af virusset og hovedfokus for vaccineudvikling.

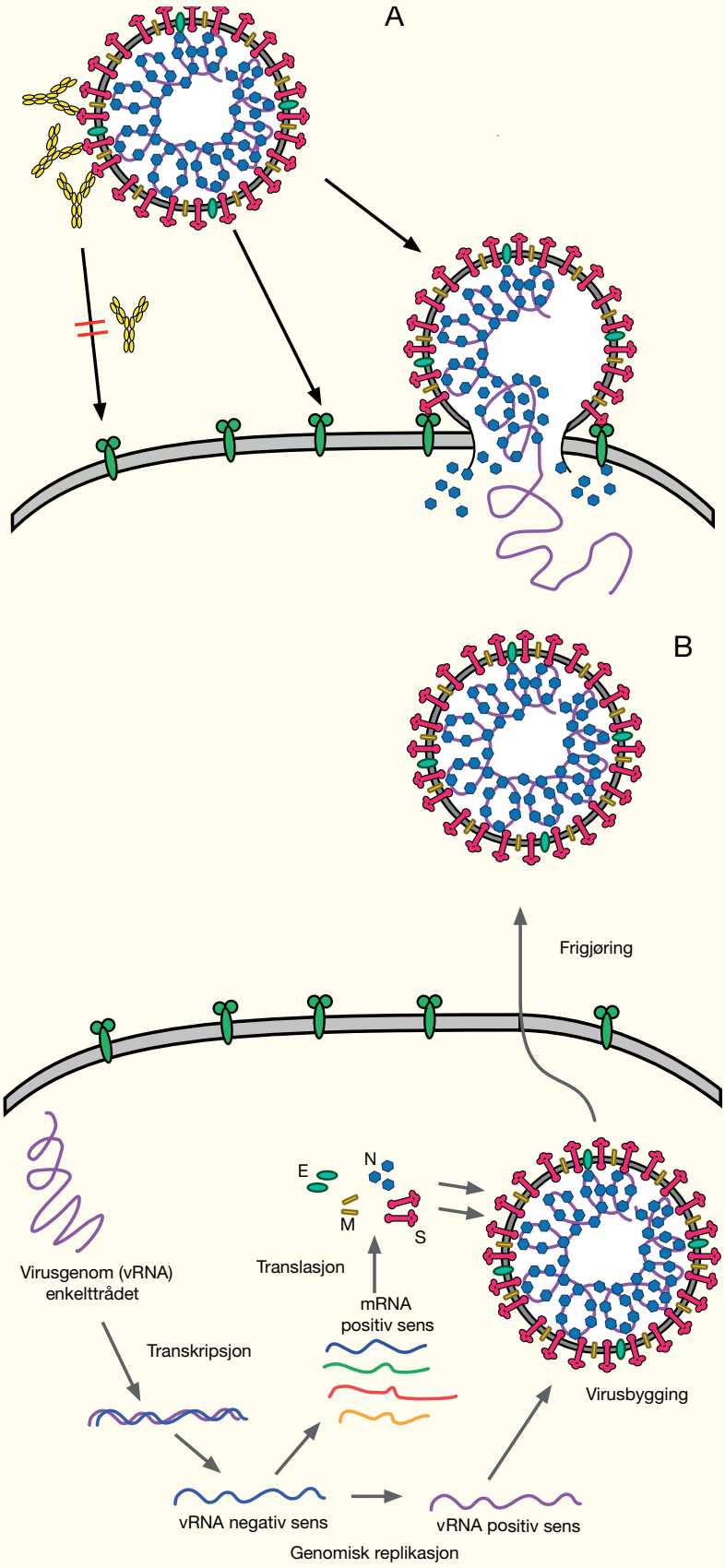
Virusmutationer

Der er et generelt mønster i mutationsrater hos forskellige arter; større og mere komplekse organismer har lavere mutationsfrekvens, og det samme gælder arter med lang reproduktionstid. RNA-vira er små og enkle og hører til den gruppe, som har højest mutationsfrekvens blant vira. Hovedårsagen er, at mange RNA-vira mangler korrekturlæsningsenzymer, så tilfældige fejl, som opstår under replikation, ikke bliver rettet.

Coronavira har lavere mutationsfrekvens end andre RNA-vira, hvilket der er flere grunde til. Coronavira er større og mere komplicerede end andre RNA-vira, og som tidligere nævnt påvirker det mutationsfrekvensen. Men der er én ting, coronavira har, som ikke findes hos andre RNA-vira,

FIGUR 3:

Virusgenomet består af positiv sense enkeltstrenget RNA og koder for en række gener. Et gen kan kode for flere genprodukter. Nogle af generne koder for strukturelle proteiner (S, E, M og N), mens andre koder for ikke-strukturelle proteiner, for eksempel enzymer.



FIGUR 4. SARS-COV-2 LIVSCYKLUS.

A) Virus (virionet) i infektionsfasen, hvor det binder til ACE2-receptorer på overfladen af værtscellen, som så fører til, at virionet bliver endocyteret, og virusgenomet bliver frigivet inde i cytoplasma. Antistoffer dannet ved infektion eller vaccination binder «spike»-proteinet og kan hindre virus fra at trænge ind i celler.

B) Skematisk præsentation af produktion af viruskomponenter for pakning af nye virioner og frigivelse af disse.

og det er et rudimentært reparationsenzymkompleks (1). Så længe SARS-CoV-2 ikke møder immunitet hos værten i smitteøjeblikket, blir virus ikke udsat for selektionspres. Tilsammen fører disse faktorer til lave mutationsfrekvenser hos SARS-CoV-2. Når en større andel af befolkningen opbygger immunitet, enten ved infektion eller vaccination, vil selektionspresset på virusset stige, og sandsynligheden for, at der opstår mutationer, vil øges.

Til trods for den lavere mutationsfrekvens foregår der en evolution af SARS-CoV-2, så der nu cirkulerer flere varianter. Mange spørger, hvad der sker med virus, når det muterer? En mutation i virusgenomet kan have flere udfald:

1. Ingen effekt
2. Uønsket effekt for virus (negativ effekt)
   a. bliver mindre smitsom eller mister evnen til at smitte
   b. mistet eller svækket evne til at replikere
   c. bliver farligere for værten
3. Ønsket effekt for virus (positiv effekt)
   a. bliver mere smitsom, spredes lettere
   b. bliver «venligere» mod værten

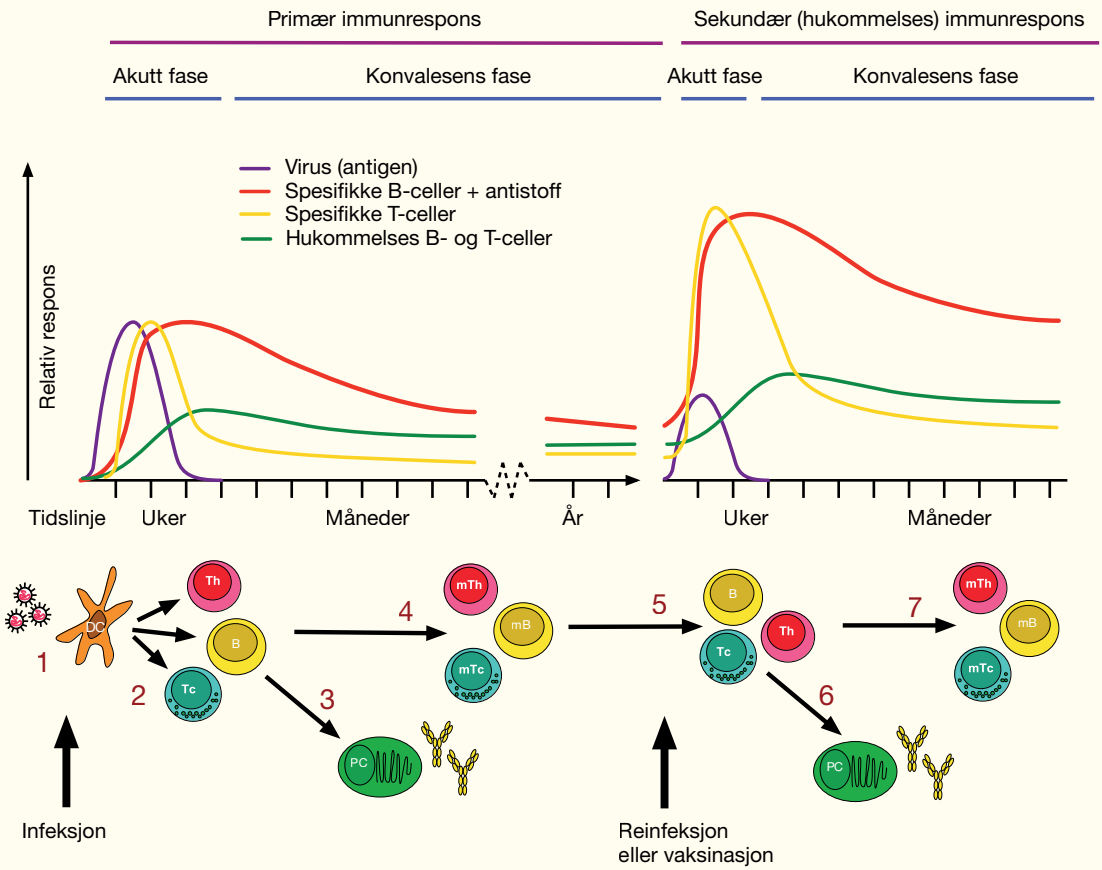
Det mest sandsynlige er, at mutationer ikke har nogen åbenlys effekt. Hvis mutationen påvirker virus, så er det mest sandsynligt, at det går i negativ retning og påvirker smitteevne og replikation. Hvis vi ser på, hvordan andre vira har udviklet sig over tid, så sker der ofte en tilpasning af både virus og vært, som betyder, at virus bliver mildere, så værten lettere kan leve med virusset (darwinistisk evolution).

I december 2020 blev der rapporteret om en ny engelsk virusmutant (Variant of Concern 202012/01), som antages at være mere smitsom og mere aggressiv end den tidligere virus (2,3). I januar 2021 blev der rapporteret om en endnu mere aggressiv variant, den såkalte sydafrikanske mutation (4). Disse antagelser er baseret på matematiske modeller, og det er kun tiden, som kan vise, hvor farlige disse mutationer er. Ud fra nyere studier ser det ud til, at disse varianter begynder at dominere smittetilfældene her i Norge og i andre lande. P.t. har den engelske variant overtaget i Danmark. (Redaktionel tilføjelse).

Immunrespons og vacciner

For at opnå en langsigtet kontrol med pandemien er vaccination den bedste strategi og den mest effektive måde at opbygge det, vi kalder for flokimmunitet, på. Der har været intensive forsknings- og udviklingsaktiviteter for at fremstille kommercielt tilgængelige coronavacciner, siden pandemien blev erklæret (5).

For at opnå et godt immunrespons, som kan håndtere et smittestof, er det vigtigt at involvere så bred en del af immunsystemet som muligt (6). Det vigtigste mål for et sådant respons er «spike»-proteinet på coronavirusset, ved at antistoffer mod



FIGUR 5: IMMUNRESPONS MOD INFEKTION OG/ELLER VACCINATION.

1. Infektion. Virus trigger lokalt immunrespons og aktiverer dendritiske celler (DC).
2. DC tager virusmateriale med til lokale lymfevæv, hvor B- og T-celler aktiveres.
3. B-celler udvikler sig til plasmaceller (PC), også kaldt «antistof-fabrikker».
4. Når virus er bekæmpet, bliver antallet af aktiverede B- og T-celler, PC og antistoffer reduceret. Samtidig bliver der etableret en pool med hukommelses B- og T-celler.
5. Når en person på ny bliver eksponeret for virus eller vaccine, vil hukommelsescellerne hurtigt danne aktiverede B- og T-celler.
6. Dette vil igen give anledning til dannelse af PC og antistoffer.
7. Når virus/vaccinen er ude af kroppen, vil der igen blive dannet en pool med hukommelsesceller.

dette protein neutraliserer virusset (figur 5). B-celler og plasmaceller er de eneste celler i kroppen, som laver antistoffer, og plasmacellerne producerer antistoffer i store mængder. T-hjælpeceller (Th) har en vigtig funktion i at hjælpe andre celler med at blive en virusinfektion kvit, mens T-dræberceller (Tc) ødelægger og hjælper til med at fjerne inficerede celler. Antistofproduktion er vigtig for beskyttelse på kort sigt, men for at opnå langtidsbeskyttelse er det nødvendigt, at der etableres en pool af hukommelsesceller. Lymfocytter i blodet kan veksle mellem at være aktiverede eller hukommelsesceller.

Ved førstegangseksponering for et virus, vil det tage lidt længere tid at få en produktion af specifikke antistoffer og T-celler i gang, som bidrager til at bekæmpe infektionen og opbygge immunitet. Ved ny eksponering for virusset vil det tage kortere tid og give en stærkere reaktion på grund af hukommelsescellerne.

I dag er mellem 100 og 200 vacciner under udvikling (7-9). Mange vil aldrig nå ud på markedet, og derfor er det blot en håndfuld af dem, som er relevante for os. Vaccinerne er baseret på forskellige teknologier. Kina har udviklet traditionelle vacciner, som består af helt inaktiveret virus (Sinovac og Sinopharm). Disse er godkendt i Kina, Brasilien og i nogle lande i Mellemøsten.

Oxford/AstraZeneca (England/Sverige) og Gamaleyainstituttet i Rusland (Sputnik V) har baseret deres vacciner på rekombinant teknologi, hvor genet for «spike»-proteinet er klonet ind i inaktiverede adenovirua. Gamaleya-vaccinen er godkendt i Rusland og Saudi-Arabien, mens Oxford/AstraZeneca-vaccinen i skrivende stund er godkendt i Storbritannien, EU og andre lande. (P.t. er AstraZeneca taget ud af det danske vaccinationsprogram og Johnson og Johnson, som også bygger på adenovirus-princippet er stoppet af producenten, grundet bivirkning med VITT (vaccine induceret immunologisk trombose thrombocytopeni. (Redaktionel tilføjelse 16. april). Både de inaktiverede og rekombinante vacciner baserer sig på, at proteiner, og her sær-

TABEL 1: SAMMENLIGNING AF SARS-COV-2, SVINEINFLUENZA (H1N1) OG HIV.

Virus	Genom	Organisering	Lengde	Sens	Reseptor	Vertcelle	Sykdom
SARS-CoV-2	RNA	Enkelttråd	29,900 nt	+	ACE2	Epitelcelle	Covid-19 (SARS)
Svineinfluensa (H1N1)	RNA	Åtte segmenter	13,500 nt	-	α2,6-sialinsyre	Epitelcelle	Svineinfluensa
HIV-1	RNA	Enkelttråd	9,200 nt	+	CD4/CCR5	CD4+ T-celle	AIDS

ligt «spike»-proteinet (antigen), bliver injiceret subkutant eller intramuskulært, hvor det kommer i kontakt med og aktiverer immunsystemet.

Moderna (USA) og Pfizer-BioNTech (USA/Tyskland) har udviklet vacciner, som består af mRNA, som koder for «spike»-proteinet, pakket ind i lipidnanopartikler.

Vaccinerne administreres intramuskulært, hvor vaccinepartiklerne bliver endocyteret (optaget) af celler i nærheden. Når partiklerne kommer ind i cellerne, frigives mRNA'et i cytoplasmaet fra lipidnanopartiklen og transporteres til ribosomene, hvor det bliver translateret. mRNA-strengen er modificeret, således at «spike»-proteinet, som bliver syntetiseret, bliver udskilt af cellen og aktiverer immunsystemet.

mRNA-vacciner er helt nye og uafprøvede i stor skala på mennesker. Alle vacciner bliver testet grundigt, før de bliver godkendt og taget i brug, og mRNA-vaccinerne ser ud til at give god beskyttelse. Både Moderna- og Pfizer-BioNTech-vaccinerne er godkendt i USA, EU, Storbritannien og andre lande.

Opsummering

Under den pågående pandemi har vi lært meget, men også gjort nogle dyrtkøbte erfaringer. De lande, som valgte at holde hjulene i gang for at redde økonomien, har alle fundet ud af, at det kun har givet kortsigtet gevinst. Virus har slået tilbage med højere dødelighed og belastning af sundhedssystemet, og den økonomiske gevinst er blevet vasket væk. De lande, som er kommet bedst ud af pandemien, er de, som har taget de mest drastiske midler i brug for at hindre smittespredningen, f.eks. Kina.

Men der er lys for enden af tunnellen. De farmaceutiske virksomheder producerer vacciner i store mængder, og de fleste lande er kommet godt i gang med vaccination af deres befolkninger (10). Vaccinationsgraden er i skrivende stund (februar 2021) på 65 % i Israel, 44 % i De Forenede Arabiske Emirater, 19 % i Storbritannien, 13 % i USA og 4 % i EU. Norge ligger på niveau med EU. Pr. 3. maj 2021 er 11,2 % af Danmarks befolkning færdigvaccinerede. (Redaktionel tilføjelse).

Vi må håbe, at massevaccinationen virker som forventet, at vi får opbygget en flokimmunitet og kan se frem til en mere normal hverdag uden alle de nuværende restriktioner.

Artiklen er tidligere publiceret i det norske fagtidsskrift "Bioingeniøren", 2, 2021. Artiklen er oversat fra norsk af fagbladsredaktør Jytte Kristensen med bistand fra faglig konsulent i dbio, ph.d. Marianne Nielsen. Af tekniske grunde er forklaringerne i selve figurerne ikke oversat.

REFERENCER

1. Ferron F, Subissi L, Silveira De Morais AT, Le NTT, Sevajol M, Gluais L, et al. Structural and molecular basis of mismatch correction and ribavirin excision from coronavirus RNA. Proc Natl Acad Sci USA. 2018;115(2):E162-71.
2. Chand M, Hopkins S, Dabrera G, Achison C, Barclay W, Ferguson N, et al. Investigation of novel SARS-COV-2 variant: Variant of Concern 202012/01. Technical briefing 1. London: Public Health England; 2020.
3. Rambaut A, Loman N, Pybus O, Barclay W, Barrett J, Carabelli A, et al. Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations: https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563 (10.12.2020).
4. Makoni M. South Africa responds to new SARS-CoV-2 variant. Lancet. 2021;397(10271);267.
5. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature. 2020;586:516–27.
6. Cox RJ, Brokstad KA. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. Nat Rev Immunol. 2020;20(10):581-2.
7. Zimmer C, Corum J, Lee S-L. New York Times. Coronavirus Vaccine Tracker: https://www.nytimes.com/interactive/2020/science/coronavirus-vaccine-tracker.html (8.2.2021).
8. Li Y-D, Chi W-Y, Su J-H, Ferrall L, Hung C-F, Wu. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. J Biomed Sci. 2020;27(1):104.
9. Centers for Disease Control and Prevention. COVID-19 Vaccine: Helps protect you from getting COVID-19: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/index.html (8.2.2021).
10. Our world in data. Coronavirus (COVID-19) Vaccinations: https://ourworldindata.org/covid-vaccinations (8.2. 2021).