

# Overvågning af influenza A virus i svin

## Slutrapport 2019

*Pia Ryt-Hansen*

*Jesper Schak Krog*

*Charlotte Kristiane Hjulsager*

*Lars Erik Larsen*

April 2020



DK-VET rapport april, 2020

Overvågning af influenza A virus i svin – slutrapport 2019

Udarbejdet af Pia Ryt-Hansen, Jesper Schak Krog, Charlotte Kristiane Hjulsager, Lars Erik Larsen

Udarbejdet i henhold til den veterinære myndighedsaftale mellem Miljø- og Fødevareministeriet og Københavns Universitet i samarbejde med Statens Serum Institut; Dansk veterinær Konsortium (DK-VET).

I2RG2 2020

Projektperiode 01-01-2019 – 31-12-2019

Udgivet af Københavns Universitet, Institut for veterinær og husdyrvidenskab, Dyrlægevej 88, 1870 Frederiksberg C.

## Forord

Denne rapport beskriver resultaterne fra overvågningen af influenza A virus i danske svinebesætninger, der har fundet sted i 2019, og sammenholder resultaterne med overvågningen fra forgående år, samt udenlandske studier.

Laboratorieundersøgelser og databehandling er udført på DTU Veterinærinstituttet/Center for Diagnostik, Statens Serum Institut (SSI) og Københavns Universitet, Institut for veterinær og husdyrvidenskab (KU-IVH). Indledende screening af prøver for tilstedeværelsen af influenza A virus er betalt af indsendende dyrlæger og medicinalfirmaet CEVA, mens de øvrige analyser er finansieret af Fødevarestyrelsens (FVST) overvågningsprogram. Slutrapporten er den endelige opgørelse af analyserede indsendelser for det pågældende år. Der kan være mindre afvigelser mellem slutrapport og de kvartalsrapporter, der løbende er udarbejdet, som følge af forsinkelser i dataregistreringen.

## Definitioner

Influenzavirus har et RNA genom, der er fordelt på 8 segmenter, som hvert indeholder minimum et gen, der koder for influenzavirusproteiner. Ud over overfladegenerne "HA" og "NA", der bestemmer subtypen af influenzavirus, er det vigtigt også at kende de øvrige såkaldte "interne gener", da disse er med til at bestemme virulens og værtsspecificitet af et givent influenzavirus og definere virus varianten. For at kunne karakterisere alle gensegmenterne fra ét virus, er det mest optimalt, at udføre sekvensanalyse på et dyrket virus isolat, da primær materialet (væv, spyt og næsesvabere) potentielt kan indeholde flere forskellige virus, hvorved det ikke kan afgøres hvordan sekvenser fra segmenterne "hører sammen". Hvis man blot ønsker at kende poolen af gensegmenter i en prøve, kan det omvendt være en fordel at sekventere på primærmaterialet.

Hvis to influenzavirus inficerer den samme celle samtidigt, kan et nyt virus blive dannet, ved at de 8 gensegmenter kombineres på en ny måde inde i de nydannede viruspartikler, inden de forlader cellen. Et sådant virus kaldes et reassortment, og kan lede til dannelsen af nye subtyper, hvis en ny kombination af overfladegener opstår.

For at lette læsningen af rapporten, vil der i det følgende, gives en beskrivelse af de influenzasubtyper og gensegmenter, der nævnes i rapporten. Denne nomenklatur vil blive benyttet konsekvent gennem rapporten.

|                 |  |
|-----------------|--|
| <u>H1avN1av</u> | "Avian-like" svine H1N1. Opstod ved en introduktion af et helt virus til svin fra fugle i slut 70'erne/start 80'erne i Europa. Dette virus blev påvist første gang i Danmark i 1981, og anses for at være enzootisk i Danmark.                               |
| <u>H3swN2sw</u> | "Svine H3N2". Stammer fra det humane H3N2 oprindeligt fra Hong Kong influenzaen 1968, der adapterede til svin og i 1984 reassorterede og tog de interne gener fra "avian-like" svine H1avN1av. Dette virus blev påvist første gang i Danmark i 1990.         |
| <u>H1avN2sw</u> | Dette virus navngives også "H1N2dk". Virus har det samme "avian-like" svine H1 og "avian-like" svine interne gener, men med N2 genet fra dansk svine H3swN2sw. Dette virus blev påvist første gang i Danmark 2003, og anses for at være enzootisk i Danmark. |

|                  |  |
|------------------|--|
| <u>H1N1pdm09</u> | Det virus, der i 2009 forårsagede en human influenza pandemi oprindeligt fra Mexico. HA, NA og de interne gener er forskellige fra de andre enzootiske subtyper. Dette virus anses nu også for at være enzootisk i Danmark.                  |
| <u>H1huN2sw</u>  | Det virus der første gang blev påvist i England i 1994 og som er et reassortant mellem et human sæson influenza, der cirkulerede i 80'erne, og svine H3swN2sw. Dette virus er aldrig påvist i Danmark, men cirkulere i store dele af Europa. |
| <u>H1pdm09</u>   | Virus med det specifikke HA fra H1N1pdm09.   |
| <u>N1pdm09</u>   | Virus med det specifikke NA fra H1N1pdm09.   |
| <u>H1av</u>      | HA gen fra "avian-like" svine H1avN1av.  |
| <u>N1av</u>      | NA gen fra "avian-like" svine H1avN1av.  |
| <u>N2sw</u>      | NA gen fra "svine" H3swN2sw og H1avN2sw.   |
| <u>N2hu</u>      | NA gen beslægtet med NA-genet i H3huN2hu humant sæson virus, der cirkulerede i mennesker i midten af 90'erne.  |
| <u>H3hu#</u>     | HA gen beslægtet med HA-genet fra den humane sæsoninfluenza H3huN2hu "#" angiver det årstal genet er observeret i mennesker. Det er forskelligt fra HA genet i svine H3swN2sw.   |

## Indholdsfortegnelse

|   |    |
|---|----|
| Forord .....                                    | 3  |
| Definitioner.....                               | 3  |
| Indholdsfortegnelse.....                        | 5  |
| Kort sammendrag .....                           | 6  |
| Short summary .....                             | 6  |
| Opsummering og konklusion.....                  | 7  |
| Indledning.....                                 | 10 |
| Formål.....                                     | 12 |
| Resultater og diskussion.....                   | 13 |
| Indsendelser.....                               | 13 |
| Indsendelser med påvist influenza A virus ..... | 14 |
| Svineinfluenzavirus subtyper .....              | 15 |
| Svineinfluenzavirus reassortments .....         | 17 |
| Resistens og virulens markører.....             | 18 |
| Samlet analyseoversigt .....                    | 18 |
| Overordnet diskussion.....                      | 19 |
| Benchmarking .....                              | 19 |
| Veterinære aspekter .....                       | 20 |
| Zoonotiske aspekter.....                        | 21 |
| Materialer og metode .....                      | 22 |
| Bilag 1a. H1av fylogeni .....                   | 23 |
| Bilag 1b: H1pdm fylogeni.....                   | 24 |
| Bilag 2a. N1 fylogeni .....                     | 25 |
| Bilag 2b. N2 fylogeni.....                      | 26 |
| Bilag 3. Fuld genom data .....                  | 27 |

## Kort sammendrag

Der er i 2019 gennemført en systematisk, prospektiv, passiv overvågning af cirkulerende influenzavirus subtyper i danske svin. Det overordnede formål med overvågningen var, at identificere hvilke influenzavirus subtyper og stammer, der cirkulerer blandt danske svin.

Totalt blev der i 2019 iværksat undersøgelse for influenza A virus på 1906 prøver fordelt på 586 indsendelser fra 458 besætninger registreret med forskelligt CHR nr. I alt havde 318 (54 %) af indsendelserne fra 276 forskellige besætninger minimum en positiv prøve. Indsendelserne fordelte sig over hele landet og over hele året. Der var flest indsendelser til undersøgelse i vinterhalvåret, men andelen af positive prøver var relativt ensartet over hele året.

I alt blev 139 influenzavirus positive indsendelser subtyperet for både HA og NA. Disse analyser sammenholdt med screeningen for H1pdm09, viste at de to mest almindelige subtyper i danske svin i 2019 var den danske variant af H1avN2sw og H1N1pdm09. Tilmed sås en markant stigning i antallet af prøver, der testede positive for det almindelige svineinflenzavirus "avian-like" svine H1avN1av i forhold til 2018, hvilket gør at "avian-like" svine H1avN1av igen påvises på samme niveau som i 2016-2017. Virus med HA-subtypen H1pdm09 blev påvist i 65 indsendelser fra 60 besætninger og udgjorde således 20,4 % af de influenzavirus positive indsendelser. Andelen af H1pdm09 positive prøver har nu været stabil siden 2014.

## Short summary

A systematic, prospective, passive monitoring of circulating influenza virus subtypes in Danish pigs was carried out in 2019. The overall purpose of the monitoring was to identify which influenza virus subtypes and strains that circulated among Danish pigs.

In 2019, a total of 1906 influenza A virus tests were performed on 586 submissions from 458 herds registered with different CHR No. In total, 318 (54%) of the submissions from 276 different herds had at least one positive sample. Submissions were distributed across the country. There were more submissions during the winter, but the proportion of positive samples was relatively uniform throughout the year.

In total, 139 influenza virus positive submissions were subtyped for both HA and NA. These analyzes, together with the screening for H1pdm09, showed that the two most common subtypes in Danish pigs in 2019 were the Danish variant of H1avN2sw and H1N1pdm09. In addition, there was a marked increase in the number of samples that tested positive for the common swine influenza virus "avian-like" swine H1avN1av compared to 2018, which means that "avian-like" swine H1avN1av was detected at the same level as in 2016-2017. Virus with the HA subtype H1pdm09 was detected in 65 submissions from 60 herds, thus accounting for 20.4% of influenza virus positive submissions. The proportion of H1pdm09 positive samples has now been stable since 2014.

## Opsummering og konklusion

Der er i 2019 gennemført en systematisk, prospektiv, passiv overvågning af cirkulerende influenzavirus subtyper i danske svin. Det overordnede formål med overvågningen var, at identificere hvilke influenzavirus subtyper og stammer, der cirkulerer blandt danske svin, samt at kortlægge sygdomsårsager i svinepopulationen med henblik på at sikre det strategiske mål: at mindske antibiotikaforbruget i danske svinebesætninger.

Overvågningen bestod i:

- 1) Undersøgelse for influenzavirus vha. pan-influenza A virus real time RT-PCR på brugerbetalte diagnostiske indsendelser til influenzavirusundersøgelse på DTU Veterinærinstituttet/Center for Diagnostik eller Statens serum institut (SSI).
- 2) Test af influenzavirus positive prøver for pandemisk H1N1 (H1N1pdm09) ved real time RT-PCR, der specifikt detekterer HA-genet i H1N1pdm09 virus (H1pdm09).
- 3) Subtypning af influenza, baseret på multiplex real time RT-PCR.
- 4) Sekvensanalyse af HA og NA generne på prøver, der ikke gav et entydigt resultat jf. punkt 3.
- 5) Isolation af virus i MDCK- eller SIAT celler fra udvalgte prøver.
- 6) Next generation sequencing (NGS) af udvalgte virusisolater og samt positive prøver, der ikke gav et entydigt svar jf. punkt 4. Dette blev udført på sekventeringsplatformen Illumina MiSeq (SSI). Herved opnås sekvensanalyse og karakterisering af både overfladegenerne HA og NA og de interne gener.

Totalt blev der i 2019 iværksat undersøgelse for influenza A virus på 1906 prøver fordelt på 586 indsendelser fra 458 besætninger registreret med forskelligt CHR nr. Der var i 2018 registreret 3125 bedrifter med svin hvilket betyder at ca. 15 % af danske svinebesætninger har fået foretaget undersøgelse for influenza virus i 2019. I alt havde 318 (54 %) af indsendelserne fra 276 forskellige besætninger minimum en positiv prøve. Indsendelserne fordelte sig over hele landet og over hele året. Der var flest indsendelser til undersøgelse i vinterhalvåret, men andelen af positive prøver var relativt ensartet over hele året.

I alt blev 139 influenzavirus positive indsendelser subtypet for både HA og NA vha. multiplex real time RT-PCR, sekventering af HA og NA generne eller NGS. Disse analyser, sammenholdt med screeningen for H1pdm09, viste at de to mest almindelige subtyper i danske svin i 2019 var den danske variant af H1avN2sw og H1N1pdm09. Tilmed sås en markant stigning i antallet af prøver, der testede positive for det almindelige svineinfluenzavirus "avian-like" svine H1avN1av i forhold til 2018, hvilket gør at "avian-like" svine H1avN1av igen påvises på samme niveau som i 2016-2017. Influenzavirus af subtypen svine H3swN2sw, der blev påvist første gang i Danmark i 1990, blev ikke påvist i 2019, og har dermed ikke været påvist siden 2014. Den centraleuropæiske variant af H1huN2sw, der har et human-like HA gen, er stadig ikke påvist i danske svin.

Virus med HA-subtypen H1pdm09 blev påvist i 65 indsendelser fra 60 besætninger og udgjorde således 20,4 % af de influenzavirus positive indsendelser. Andelen af H1pdm09 positive prøver har nu været stabil siden

2014. Hos mennesker dominerede H1N1pdm09 både 2018/2019 sæsonen og den tidlige 2019/2020 sæson<sup>1</sup>.

I 2019 blev der observeret en øget påvisning af den nye subtype H1pdmN1av, der for første gang blev påvist i 2018 og det lykkedes for første gang at få fuldgenom karakteriseret fire prøver af denne subtype. Resultatet af denne karakterisering viste, at de interne gener fra H1pdmN1av også er af H1N1pdm09 oprindelse i lighed med andre reassortment, der indeholder overfladegener fra H1N1pdm09. En lignende stigning i forekomst blev også observeret for subtypen H1avN2hu, som i år har nået sit højeste niveau siden 2013. I 2019 blev tre af disse virus fuld genom karakteriseret, hvilket afslørede at to ud af de tre virus havde interne gener af H1N1pdm09 oprindelse, hvilket bekræftede at dette virus er et såkaldt triple reassortant. Dette er i overensstemmelse med fuld genom karakteriseringen fra 2018. Et andet triple reassortant virus, H3huN2sw, blev modsat sidste år, ikke fundet i år, og dette selvom de positive indsendelser modtaget fra medicinalfirmaet CEVA, specifikt er screenet for HA-subtypen H3hu. Dog har forekomsten af dette virus været lav de forrige år, så der er risiko for at vi ikke finder dette virus i overvågningen. Som nævnt de tidligere år, skal vi være specielt opmærksom på virus af denne subtype af to årsager; for det første forventes det at størstedelen af svinene i de danske svinebesætninger er fuldt modtagelige for dette virus, da denne subtype kun har cirkuleret i et fåtal af besætningerne de seneste år, og for det andet da serologiske undersøgelser har vist en meget begrænset krydsreaktion mellem dette H3huN2sw virus, og det H3swN2sw virus, der er inkluderet i den kommercielle vaccine tilgængelig i Danmark.

Resultaterne fra overvågningen er vigtige i forhold til at vurdere den zoonotiske trussel, som danske svinebesætninger udgør, idet de må betragtes som et reservoir for et stigende antal forskellige influenza A virus subtyper, der potentielt kan spredes til mennesker. Resultaterne fra overvågningen gennem de seneste år har bekræftet at H1N1pdm09, som stadig må betragtes som en zoonose, nu er etableret i den danske svinepopulation, hvor den cirkulerer uafhængigt af den humane influenzasæson. Overvågningen har endvidere påvist en stigning i antallet af nye virus reassortments, hvor gener fra H1N1pdm09 indgår. De to nye subtyper H1avN1pdm og H1pdmN1av, der blev identificeret for første gang sidste år, er i år begge blevet genfundet. Tilmed er der konstateret en markant stigning af H1pdmN1av i forhold til 2018, hvilket kan tyde på, at dette nye reassortment har en fordel i forhold til ældre subtyper. Derfor skal der holdes øje med udviklingen af specielt dette virus de kommende år. Som nævnt ovenover, er der i år ikke observeret nogen spill-over fra den humane sæson influenza med H3huN2hu i danske svin.

Den oftest påviste subtype i Danmark er stadig H1avN2sw, hvor der igen i år er sket en mindre stigning i påvisning i forhold til 2018. Tilmed oplever vi ligeledes en stigning i antallet af H1avN2sw, som har interne gener fra H1N1pdm09. Når vi observerer en stadig stigning i andelen af influenzavirus med interne pandemiske gener, må det betyde, at virus med denne genkonstellation har en bedre fitness/overlevelsessevne ude i besætningerne. Dette kan både være et resultat af en forøget/forbedret replikation, eller en øget evne til at undgå værtsens immunrespons. Tilmed er der global bevågenhed omkring svineinflenzavirus med interne gener fra H1N1pdm09, da der i flere tilfælde er vist smitte med sådanne virus til mennesker, fx H3N2v i USA.

Generelt har overvågningen bidraget til, at vi tidligt har påvist nye virus med zoonotisk potentiale: H3hu05N2sw og H3hu16N2sw. Dette betyder, at der kan foretages en nærmere genetisk og biologisk

---

<sup>1</sup> <http://www.ssi.dk/Aktuelt/Nyhedsbreve/INFLUENZA-NYT.aspx>



karakterisering af virus, som kan danne evidens-baseret baggrundsviden for risikohåndteringen, i det tilfælde at der konstateres human smitte. Den fremtidige overvågning vil bl.a. have fokus på at undersøge, om disse virus bliver etableret i danske svin.

Fra et veterinært synspunkt er overvågningen ligeledes meget betydningsfuld, da den tilbyder diagnostik af høj kvalitet, som resulterer i at rådgivningen af landmændene bliver baseret på et fagligt grundlag. Resultatet fra subtypningen er ydermere essentiel for dyrlægerne, når den korrekte vaccine skal udvælges, eller når manglende effekt af vaccination opleves i besætningerne. Det er derfor positivt, at der i år er sket en stigning i antallet af indsendelser, da korrekt diagnostik gør det muligt at udvælge den rette vaccinationsstrategi, hvilket i sidste ende er afgørende for at nedbringe risikoen for antibiotikakrævende sekundære infektioner. Det er også positivt at den H1N2 subtype (med human-like HA-gen), der er dominerende i andre dele af Europa, stadig ikke findes i Danmark. Introduktion af dette virus kan frygtes at få epizootisk karakter, da immuniteten i populationen mod dette virus forventes at være meget lille, på trods af at dette virus er inkluderet i RespiPorc FLU3 vaccinen, da det hovedsageligt er søer, som er vaccineret.

Det kan konkluderes, at den iværksatte overvågning har givet et betydeligt indblik i hvilke influenza A virus, der cirkulerer i danske svin, og at denne information dagligt bruges proaktivt til håndtering af sygdom i danske svinebesætninger. Overvågningen har endvidere vist, at virus med nye gen kombinationer er blevet etableret i danske svin, og der de kommende år bør holdes øje med, om disse virus smitter til mennesker.

## Indledning

Influenza A virus infektion i dyr udgør en trussel mod dyresundheden, dyrevelfærden, produktionsøkonomien, fødevarer sikkerheden og har jævnligt givet anledning til pandemier i mennesker, som i 2009 (H1N1pdm09). For at kunne agere hurtigt på nye trusler (early warning) og derved holde konsekvenser ved fund af et nyt virus på et minimum, er det nødvendigt, at virologiske og epidemiologiske informationer om cirkulerende influenzavirus udveksles hurtigt og effektivt mellem sundhedsmyndigheder og veterinærmyndigheder både nationalt og internationalt. Nye og/eller ændrede influenzavirus, der har potentiale til at kunne smitte mennesker (zoonoser), opstår oftest i det animale reservoir. Derfor er det oplagt, at der indenfor det veterinære område implementeres effektive systemer til overvågning og karakterisering af influenzavirus i relevante dyrearter. Det danske overvågningsprogram for influenza i svin bygger på anbefalinger vedr. overvågning for influenza beskrevet af OIE<sup>2</sup>, FAO<sup>3</sup> samt EFSA<sup>4</sup>.

Der er globalt identificeret utallige varianter af forskellige cirkulerende svineinfluenza subtyper (kombinationer af HA og NA gener). I Europa og Danmark cirkulerer der flere forskellige subtyper, der kan betragtes som enzootiske. Herudover er der adskillige rapporter om sporadiske fund af influenzavirus i svin, som indeholder gener fra fugle-, menneske- og enzootiske svineinfluenzavirus. Svin betragtes derfor som et reservoir for influenzavirus og for influenzavirusgener, der kan kombineres og danne nye influenzavirus, som potentielt kan smitte mennesker.

Influenza er en vidt udbredt sygdom blandt danske svin, hvilket bl.a. kan konkluderes ud fra, at influenza virus er det mest prævalente patogen fundet i diagnostiske indsendelser med historik om respiratorisk sygdom. Tilmed har et tidligere studie påvist, at mere end 90 % af danske svinebesætninger har influenza antistofpositive svin. Tre subtyper af svineinfluenzavirus kan betragtes som enzootiske i danske svin; H1avN1av og H1avN2sw, som har cirkuleret de sidste 15-35 år, samt H1N1pdm09 virus, der var pandemisk i mennesker i 2009, og første gang blev påvist i danske svin i 2010. H1N1pdm09 har sidenhen givet anledning til fire nye subtyper og et utal af nye influenzavirus varianter med ukendt zoonotisk potentiale.

Influenzainfektioner hos svin forårsager en lokal infektion i de øvre luftveje, og en vis andel af grisene vil udvikle en reel lungebetændelse. Virus findes dermed ikke i kødprodukter. Influenzavirus, i sig selv, ødelægger cellerne i de øvre luftveje, og giver således anledning til hoste, nysen, næseflåd, nedsat ædelyst og feber. Tilmed forårsager influenzavirus også en generel svækkelse af immunsystemet, og tilsammen med en ødelagt cellebarriere, kan dette medføre sekundær bakteriel infektion, hvilket vil være behandlingskrævende i form af antibiotika.

Fund af influenzavirus i svin er ikke anmeldeligt i EU, herunder Danmark, med mindre det drejer sig om subtyperne H5 og H7. Besætninger med udbrud af influenza hos svin pålægges derfor ikke restriktioner af myndighederne. Diagnostik af influenza A virus i danske svin foretages på materiale, der indsendes direkte til DTU Veterinærinstituttet/Center for diagnostik, Statens Serum Institut eller via SEGES Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup, i forbindelse med almindelig rutinediagnostik. Derudover må det antages at en

---

<sup>2</sup><http://www.fao.org/docrep/012/ak738e/ak738e00.pdf> (FAO guidelines for surveillance of pandemic H1N1/2009 and other influenza viruses in swine populations)

<sup>3</sup><http://www.offlu.net/fileadmin/home/en/publications/pdf/OFFLUSurveillance.pdf> (OFFLU strategy document for surveillance and monitoring of influenzas in animals)

<sup>4</sup><http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1770.pdf> (Scientific Opinion on the pandemic (H1N1) 2009 influenza and its potential implications for animal health)

vis mængde prøver analyseres på udenlandske laboratorier. Resultater af sidstnævnte er ikke tilgængelige for forfatterne af denne rapport. Influenzavirus i mennesker kommer formodentligt oprindeligt fra dyr. Influenzavirus kan i nogle tilfælde smitte mennesker direkte fra fugle (eksempelvis H5N1 og H7N9), hvilket kan give en infektion med dødelig udgang, men fugleinfluenzavirus smitter normalt dårligt til mennesker. Svineinfluenzavirus er tættere relateret til de humane influenzavirus end fugleinfluenzavirus er. Hvis et svineinfluenzavirus kan give anledning til smitte mellem mennesker, er der risiko for hurtig udvikling af en ny influenzapandemi. Pandemien i 2009 er et eksempel herpå. Det er derfor vigtigt, i relation til den humane sundhed, at vide hvilke virus, der cirkulerer i svin.

## Formål

Det overordnede formål med overvågningen var:

- At undersøge hvilke influenza subtyper og varianter, der cirkulerer blandt danske svin.
- At kortlægge sygdomsårsager i svinepopulationen med henblik på at sikre det strategiske mål: at mindske antibiotikaforbruget i danske svinebesætninger.

Desuden blev nedenstående aspekter belyst:

### Zoonotiske aspekter

1. Tidlig påvisning af molekyllære markører, der indikerer øget risiko for human smitte, i de cirkulerende virus.
2. Tidlig påvisning af virus, som indeholder genetiske markører, der indikerer at de er resistente overfor antivirale midler.
3. Identifikation af genetiske ændringer i cirkulerende influenzavirus øger muligheden for at forberede effektive diagnostiske tests og beskyttende vacciner, hvis der sker smitte til mennesker.

### Veterinære aspekter

1. At opnå en bedre forståelse af den komplekse epidemiologi af svineinflenzavirus under danske forhold.
2. At muliggøre en tidlig etablering af virus stocks til hurtig produktion af vacciner mod nye virus subtyper, der giver forøget sygdom i svin.
3. At sikre at de i landet anvendte diagnostiske tests identificere alle kendte svineinflenzavirus subtyper.
4. At kunne dokumentere, specielt over for eksportmarkeder, hvilke svineinflenzavirus subtyper, der er til stede i Danmark – dette er specielt relevant i de tilfælde, hvor nye virus opdages i svin andre steder i verden/Europa.
5. Bidrage til at der opnås et fælles europæisk overblik over cirkulerende influenzavirus i svin.

### Overvågningen i 2019 bestod af:

1. Subtypning (HA og NA subtype) af influenzavirus fundet i indsendelser til influenza undersøgelse. Subtypningen er udført ved segment specifikke real time RT-PCR.
2. Test af influenzaviruspositive prøver for H1N1pdm09 ved real time RT-PCR, der er specifik for HA-genet i H1N1pdm09 virus.
3. Sekvensanalyse af HA og NA generne på udvalgte prøver, der ikke kunne subtypes vha. overnævnte multiplex real time RT-PCR.
4. Fuld genom karakterisering af udvalgte virusisolater og positive prøver.

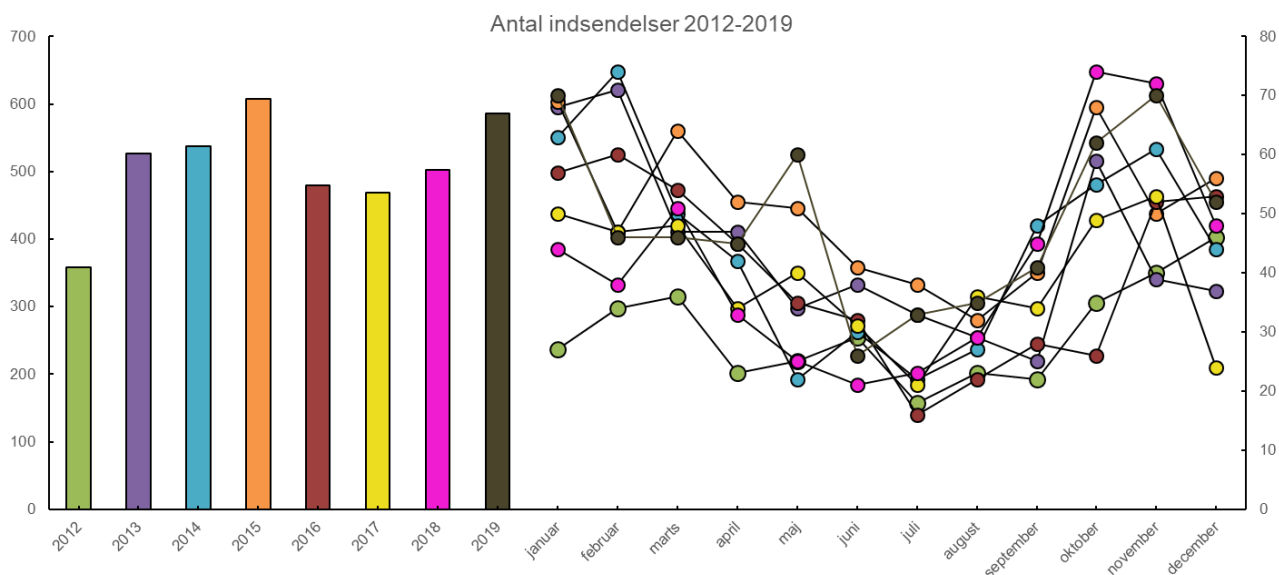
## Resultater og diskussion

### Indsendelser

Alle indsendelser fra danske svinebesætninger til DTU Veterinærinstituttet/Center for diagnostik og Statens serum institut med ønske om undersøgelse for influenzavirus blev testet og indgår i rapporten. Prøverne er udtaget fra svin med anamnesen respirationsvejslidelse. Omkostningerne til influenzaviruspåvisning, der foretages med real time RT-PCR, er løbende faktureret de indsendende dyrlæger. Cirka 1/3 af indsendelserne var sponsoreret af medicinalfirmaet CEVA. I 2019 blev der i gennemsnit indsendt 3,2 prøver per indsendelse, hvilket er en anelse højere end sidste år, og er en markant stigning fra de tidligere år, hvor der i gennemsnit var 2,2 - 2,3 prøver pr. indsendelse. Prøvematerialet bestod af næsesvabere, lungevæv eller sputum. Nogle besætninger har indsendt prøver mere end én gang i løbet af året.

I 2019 blev der totalt modtaget 1906 prøver fordelt på 586 indsendelser til undersøgelse for influenza A virus fra danske svinebesætninger fordelt over hele landet (se Bilag 4a).

Antallet af indsendelser til influenzavirusundersøgelse i årene 2012 til 2019, samt den månedlige fordeling af indsendelser for hvert af de otte år fremgår af Figur 1. Det ses at antallet indsendelser i 2019 er steget i forhold til de tre foregående år, og at det totale antal indsendelser i 2019 er steget med 14,2 % i forhold til 2018. Den generelle tendens i det månedlige antal indsendelser ligner de tidligere år, hvor der generelt modtages flere indsendelser i efterårs- og vintermånederne. Andelen af positive indsendelser er derimod forholdsvis jævn fordelt over året. I år ser mønsteret dog let forandret ud i forhold til tidligere år, da der i februar-april er en meget stabil mængde af indsendelser, og derefter en markant stigning i maj måned. Dette er modsat tidligere år, hvor mængden af prøver i maj allerede var nedadgående. Dog er der stor lighed til de forrige år i månederne juni-december. Årsagen til stigningen i maj måned var et øget antal indsendelser af lunger til undersøgelse for influenza og andre patogener, en det er ikke lykket at identificere årsagen til stigningen.

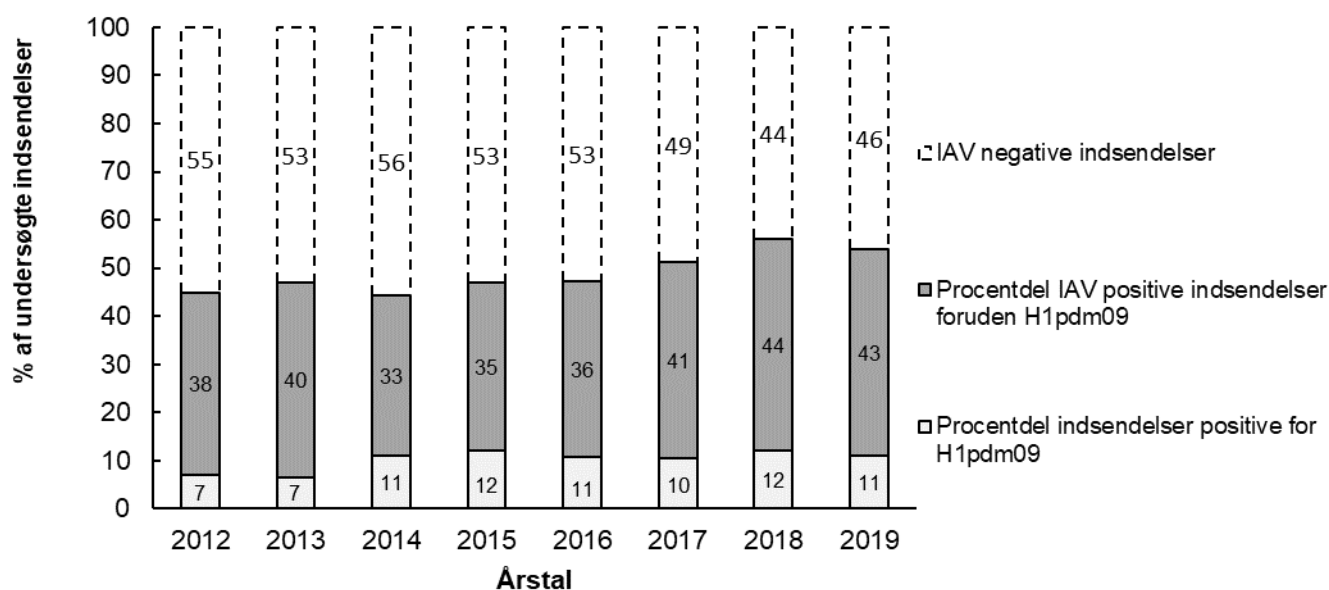


**Figur 1.** Fordelingen af antallet af indsendelser til diagnostik af influenzavirus i svin fra 2012 til 2019 fordelt på år (søjler til venstre) og måned (graf til højre) med tilsvarende farve.

### Indsendelser med påvist influenza A virus

Prøver til undersøgelse for influenza A virus blev først testet med en generel influenza A real time RT-PCR test, som kan genkende alle kendte varianter af influenza A virus. I 2019 var i alt 318 indsendelser positive for influenza A virus i minimum én prøve, hvilket svarer til 54 % af de 586 undersøgte indsendelser. Det totale antal indsendelser fordelte sig på 485 forskellige besætninger registreret med forskellige CHR-numre, hvoraf 276 fik påvist influenza A virus.

Figur 2 viser hvor mange procent af de undersøgte indsendelser, der i årene 2012 til 2019 blev fundet positive for influenza A virus. Det fremgår af opgørelsen, at andelen af positive prøver i år er faldet fra 56 % til 54 % i forhold til 2018. Dog er vi stadig på et niveau, der ligger højere end de tidligere år, hvor andelen af positive indsendelser lå mellem 44 og 51 %.



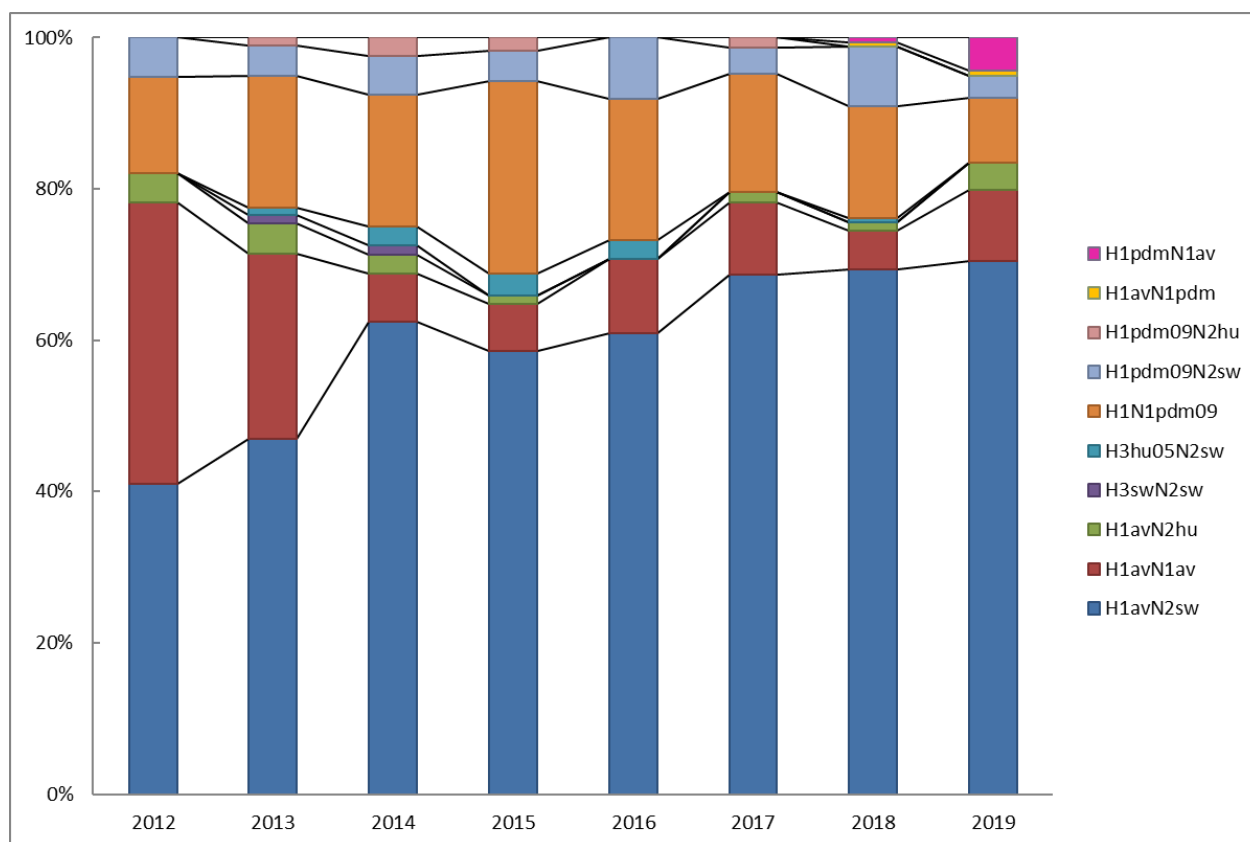
**Figur 2.** Andelen (%) af de undersøgte indsendelser der testede positiv for influenza A virus og andelen der var positiv for H1pdm09 i årene 2012 til 2019.

Der blev fundet positive prøver i alle landsdele (Bilag 4a), hvilket følger billedet fra de forrige år. Alle prøver fundet positive for influenza A virus blev undersøgt for H1N1pdm09 med real time RT-PCR analyse, der er specifik for HA-genet i dette virus. I 2019 blev 751 influenza A positive prøver fra 276 besætninger (318 indsendelser) undersøgt for H1pdm09, hvoraf 65 (20,4 %) af indsendelserne var positive, repræsenterende 60 forskellige besætninger. Det høje niveau, der er set siden 2014 opretholdes dermed. Den geografiske fordeling af H1N1pdm09 virus fremgår af Bilag 4b, hvor det ses at denne subtype i år, modsat sidste år, er fundet i alle landsdele, inklusiv Sjælland, Bornholm og Lolland/Falster. Af figur 2 fremgår andelen af indsendelser, der indeholder H1pdm09, forstået således at tallene omfatter både reassortments, hvor H1pdm09 indgår, samt indsendelser hvor flere subtyper blev konstateret. H1pdm09 positive indsendelser udgør således stadig en stor del af de positive indsendelser. I år er den geografiske fordeling af alle subtyper påvist på forskellige CHR-numre også inkluderet i rapporten (Bilag 4c).

### Svineinfluenzavirus subtyper

I 2019 var 318 indsendelser positive for influenza A virus og af disse blev subtypen bestemt for 139 forskellige indsendelser svarende til 43,7 % af de positive indsendelser. Der er i år ikke blevet subtypet samme andel af positive indsendelser som sidste år.

Fordelingen af subtyper i procent, ud af det totale antal af subtypede indsendelser, fremgår af Figur 3 for årene 2012-2019. Tilmed er antallet af indsendelser, der var positive for de forskellige subtyper, beskrevet i Tabel 1. Der er som udgangspunkt kun blevet subtypet på den mest positive prøve fra hver indsendelse. Dog er der i tilfælde af et resultat, der indikerede tilstedeværelse af flere subtyper i multiplex real time RT-PCR, udvalgt flere prøver fra samme indsendelse til videre subtypning. I årets overvågning fandt vi flere subtyper i fem indsendelser. I alt var der tale om dobbelt infektioner med H1avN2sw og H1N1pdm09 (n=2), H1avN2sw og H1avN1av (n=2) og H1N1pdm09 og H1pdmN2sw (n=1).



**Figur 3.** Fordeling af subtyper i procent ud af de subtypede influenzavirus positive indsendelser for årene 2012-2019.

Fordelingen af subtyper i 2019 skiller sig ud fra 2018, ved at der ses en stigning i den nye subtype H1pdmN1av, der i år udgør en større andel end fx H1pdm09N2sw. Denne stigning skyldes ikke flere indsendelser fra samme besætning. Tilmed ses der også en stigning i andelen af H1avN2hu, som nu er på niveau med andelen i 2013. Denne stigning kan heller ikke tilskrives flere indsendelser fra samme besætning. Der ses tilmed en markant stigning i andelen af "avian-like" svine H1avN1av, som ellers overordnet har været faldende siden 2012. Det er igen H1avN2sw, der dominerer i Danmark, og den stigende trend observeret siden 2015 er igen i år evident. Den nye subtype H1avN1pdm, påvist for første gang i 2018, holder samme lave niveau i år. En faldende andel af H1N1pdm09 og H1pdm09N2sw er i år

observeret blandt de subtypedede prøver. Det skal dog understreges at det generelle niveau af subtyper indeholdende H1pdm, påvist ved real-time RT-PCR, er på niveau med de tidligere år (Figur 2). Derfor kan den faldende andel af H1N1pdm09 og H1pdmN2sw subtypet i år, skyldes bias i udvælgelsen af prøver til subtypning eller være grundet i, at flere prøver af denne type i år, har haft for lavt virus niveau til videre subtypning. Den europæiske variant af H1huN2sw, der opstod i England i 90'erne, er fortsat ikke påvist i danske svin og det samme gør sig gældende for er svine H3swN2sw, som nu ikke har været påvist siden 2014. I år er ingen prøver testet positivt for H3huN2sw, på trods af alle positive indsendelser fra medicinalfirmaet CEVA (144/318) initialt blev screenet specifikt for H3hu.

En detaljeret fordeling af subtyper kan ses i Tabel 1.

**Tabel 1.** Indsendelser hvor subtypen af influenzavirus blev bestemt fra årene 2014-2019. Subtypen blev enten påvist ved sekventering af HA og NA generne, real time multiplex RT-PCR eller NGS.

| Subtype     | Antal indsendelser |                  |                  |                  |                  |                  | Kommentar   |
|-------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---|
|             | 2019<br>n<br>(%)   | 2018<br>n<br>(%) | 2017<br>n<br>(%) | 2016<br>n<br>(%) | 2015<br>n<br>(%) | 2014<br>n<br>(%) |   |
| H1avN1av    | 13<br>(9,3)        | 9<br>(5,1 %)     | 14<br>(9,5)      | 12<br>(9,8)      | 11<br>(6,3)      | 5<br>(6,3)       | "Normal" europæisk svineinfluenza A virus subtype "avian-like" svine, som har cirkuleret i DK siden 1981. |
| H1avN2sw    | 98<br>(70,5)       | 122<br>(69,3)    | 101<br>(68,7)    | 75<br>(61,0)     | 103<br>(58,5)    | 50<br>(62,5)     | Dansk svineinfluenza A virus subtype fundet første gang i 2003.   |
| H1avN2hu    | 5<br>(3,6)         | 2<br>(1,3 )      | 2<br>(1,4)       | 0<br>(0)         | 2<br>(1,1)       | 2<br>(2,5)       | "Normal" europæisk svine H1 subtype sammen med human N2hu gen. Fundet første gang i danske svin i 2011.   |
| H3swN2sw    | 0<br>(0)           | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 1<br>(1,25)      | "Normal" svine H3N2 virus. Ikke detekteret 2010-2011.   |
| H3hu05N2sw  | 0<br>(0)           | 1<br>(0,56)      | 0<br>(0)         | 3<br>(2,4)       | 5<br>(2,8)       | 2<br>(2,5)       | Ny reassortment med humant H3, der cirkulerede i mennesker i DK 2005, sammen med dansk svine N2sw         |
| H1N1pdm09   | 12<br>(8,6)        | 26<br>(14,8)     | 23<br>(15,6)     | 23<br>(18,7)     | 45<br>(25,6)     | 14<br>(17,5)     | Pandemisk svineinfluenza A virus subtype. Fundet første gang i danske svin januar 2010.                   |
| H1pdm09N2sw | 4<br>(2,8)         | 14<br>(7,9)      | 5<br>(3,4)       | 10<br>(8,1)      | 7<br>(4)         | 4<br>(5)         | Pandemisk H1 gen sammen med dansk svine N2 gen. Fundet første gang i danske svin i 2011.                  |
| H1pdm09N2hu | 0<br>(0)           | 0<br>(0)         | 2<br>(1,4)       | 0<br>(0)         | 3<br>(1,7)       | 2<br>(2,5)       | Pandemisk H1 gen sammen med human N2 gen. Fundet første gang i danske svin i 2011.                        |
| H1avN1pdm09 | 1<br>(0,7)         | 1<br>(0,56)      | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | Dansk "avian-like" svine H1 sammen med pandemisk N1   |
| H1pdm09N1av | 6<br>(4,3)         | 1<br>(0,56)      | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | 0<br>(0)         | Pandemisk H1 gen sammen med N1 fra dansk "avian-like" svine H1avN1av                                      |

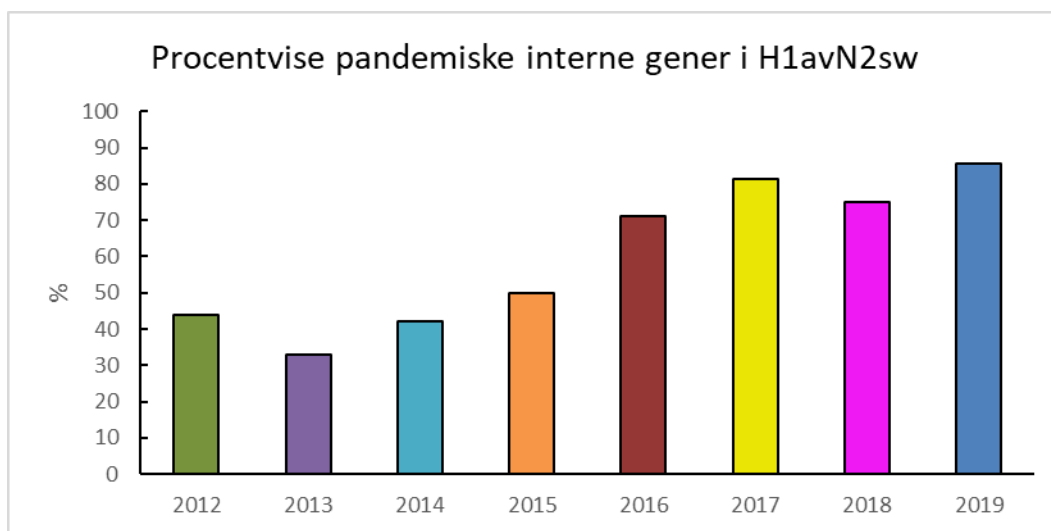
Tallene angiver antallet af subtyper fundet, og en indsendelse, hvor der er fundet to subtyper vil derfor tælle flere steder. Tallet i parentes udregnes i forhold til det totale antal subtypedede indsendelser.



### Svineinfluenzavirus reassortments

For at undersøge hvilke svineinfluenzavirus varianter, der i dag cirkulerer i de danske svin, blev alle gensegmenter fra 25 influenzavirus isolater og positive prøver fra 2019 fuld genom sekventeret vha. NGS. Oprindelsen af de enkelte gener for de undersøgte svineinfluenzavirus blev identificeret ved sammenligning med gensekvenser i tilgængelige databaser og fremgår af Bilag 3. I nedenstående opsummeres resultater for de enkelte subtyper baseret på fuld genom karakterisering ved sekventering. Da det er en lille del af de cirkulerende subtyper, der er blevet karakteriseret, skal udviklingen fra år til år tages med et vist forbehold.

**H1avN2sw** virus udgjorde syv af de fuld genom sekventerede isolater/prøver. En af disse havde "avian-like" interne gener identisk med de gener, der findes i de enzootiske svineinfluenza virus (H1avN1av, H1avN2sw, H3swN2sw). I et tilfælde blev et "avian-like" PB1 segment identificeret i kombination med ellers udelukkende pandemiske interne gener. De resterende fem virus havde udelukkende interne gener fra H1N1pdm09 virus. I 2019 var der derved en stigning i andelen af H1avN2sw med interne pandemiske gener, som nu ligger på 86 %. Årsagen til at færre H1avN2sw er blevet fuld genom karakteriseret i 2019, skyldes at vi har fokuseret på at få data på nogle af de utallige reassortments, der er opstået siden H1N1pdm09 blev introduceret i Danmark. Herunder skal det understreges at alle de reassortments, der enten indeholder HA eller NA fra H1N1pdm09, og som er blevet fuld genom karakteriseret i år, udelukkende har pandemiske interne gener. Derfor er tendensen, at der løbende sker en stigning i andelen af de cirkulerende subtyper i Danmark, som har interne gener fra H1N1pdm09 virus.



**Figur 4.** Andelen af fuld genom sekventerede isolater/prøver med pandemiske interne gener i procent af subtypen H1avN2sw fra 2012-2019.

**H1avN1av "avian-like" svine.** To virus af denne subtype blev i år fuld genom karakteriseret ved sekvensanalyse. Begge prøver havde udelukkende "avian-like" interne gener.

**H1N1pdm09.** Syv H1N1pdm09 virus blev i år fuld genom karakteriseret ved sekvensanalyse og havde alle udelukkende gener af H1N1pdm09 oprindelse.

**H1avN2hu.** I år blev tre H1N2hu virus fuld genom karakteriseret ved sekvensanalyse. Den ene prøve havde komplet "avian-like" interne gener, mens de to andre prøver havde henholdsvis PA, PB1, PB2 og NP eller PA, PB1 og PB2 generne af H1N1pdm09 oprindelse. Dette understreger sidste års fund, der for første gang

viste at de "avian-like" interne gener formodentligt var ved at blive skiftet ud med H1N1pdm09 interne gener. Dermed følger H1avN2hu virus tendensen vi kender fra H1avN2sw.

**H1pdmN2hu.** Dette virus blev, ligesom sidste år, ikke påvist i 2019.

**H1pdmN2sw.** I år blev to virus af denne subtype sekventeret, og havde begge udelukkende interne gener af H1N1pdm09 oprindelse. Denne subtype blev fundet i fire indsendelser, og udgjorde i 2019 kun 2,8 % af alle subtypedede indsendelser, hvilket er et markant fald i forhold til året tidligere, hvor prævalensen var på 7,9 %. Denne subtypekombination er fundet i adskillige Europæiske lande, og er i Nordvesttyskland mere prævalent end det oprindelige H1N1pdm09 virus.

**H1avN1pdm.** Dette virus blev påvist for første gang i 2018, og er også genfundet i årets overvågning. Dog er det ikke lykkedes at opnå fuld genom karakterisering af dette virus i år.

**H1pdmN1av.** Dette virus blev påvist for første gang i 2018 og er i år blevet genfundet i seks indsendelser. I år er fire prøver blevet fuld genom sekventeret, og indeholder alle udelukkende interne gener af H1N1pdm09 oprindelse.

**H3hu05N2sw.** Virusset, der første gang blev påvist i 2013, er ikke fundet i årets overvågning.

**H3swN2sw.** H3N2 med svinegener er ikke detekteret i 2019, og er nu ikke blevet påvist i Danmark de sidste 5 år.

**H1huN2sw.** Europæisk H1N2 svinevirus. Dette virus er ikke detekteret i overvågningen 2019 og har dermed aldrig været påvist i Danmark.

### **Resistens og virulens markører**

Der er i litteraturen beskrevet en række forskellige mutationer, der giver anledning til resistens overfor Oseltamivir (Tamiflu) og Zanamivir (Relenza), der kan anvendes til antiviral behandling af humane influenzatilfælde. Tilstedeværelsen af mutationerne H275Y og N295S i N1 og R292K og E119G/D/A/V i N2 blev undersøgt i alle NA sekvenser fra 2019. Derudover blev alle PB2 gener undersøgt for mutationen E627K, der er forbundet med høj virulens. Ingen af de oven nævnte mutationer blev fundet i årets fuld genom karakteriserede virus.

### **Samlet analyseoversigt**

Tabel 2 viser aktiviteter gennemført i overvågningen af influenza i svin for 2019. Til sammenligning er resultaterne for 2015-2018 angivet. Antallet af indsendelser og prøver i 2019 er steget.

**Tabel 2.** Samlet oversigt over analyser udført i svineinfluenza overvågningen i 2015-2019.

| Parameter   | Endelig opgørelse 2019 | Endelig opgørelse 2018 | Endelig opgørelse 2017 | Endelig opgørelse 2016 | Endelig opgørelse 2015 |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Antal indsendelser undersøgt for influenza A virus <sup>a</sup> | 586                    | 503                    | 469                    | 480                    | 608                    |
| Antal prøver Undersøgt for influenza A virus                    | 1906                   | 1469                   | 1090                   | 1115                   | 1359                   |
| Antal indsendelser med min. 1 influenza A virus positiv prøve   | 318                    | 282                    | 240                    | 227                    | 286                    |
| Antal influenza A virus positive prøver i alt                   | 751                    | 641                    | 446                    | 411                    | 511                    |
| Antal prøver testet for H1N1pdm09                               | 751                    | 641                    | 446                    | 411                    | 511                    |
| Antal H1pdm09 positive indsendelser <sup>b</sup>                | 66                     | 62                     | 49                     | 52                     | 75                     |
| Antal H1pdm09 positive besætninger                              | 60                     | 57                     | 43                     | 48                     | 66                     |
| Indsendelser subtypet på både HA og NA                          | 139                    | 176                    | 147                    | 109                    | 176                    |
| Resistens undersøgelser <sup>c</sup>                            | 25                     | 20                     | 27                     | 29                     | 20                     |
| Partiel karakterisering alle segmenter                          | 0                      | 0                      | 4                      | 0                      |                        |
| Fuld længde sekventering  | 25                     | 20                     | 23                     | 29                     | 20                     |

<sup>a</sup>Udgifterne til påvisning af influenza påhviler indsender og er dermed ikke omfattet af aftalen.

<sup>b</sup>Baseret på påvisning af HA gen fra H1N1pdm09 med real-time RT-PCR.

<sup>c</sup>Analysen er lavet *in silico* og har derfor ikke haft yderligere omkostninger

## Overordnet diskussion

### Benchmarking

Forekomsten af influenza A virus i svin i Danmark er undersøgt systematisk over en periode på 9 år, hvorved der er opnået en dynamisk indsigt i hvilke influenzavirus, der cirkulerer blandt danske svin. Overordnet set har forekomsten af de forskellige subtyper været relativt stabil med dominans af de enzootiske virus, men introduktionen af H1N1pdm09 har medført dannelsen af en række nye virus med kombinationer af gener fra dette virus og de enzootiske svineinflenzavirus, H1avN1av og H1avN2sw. Derudover har der med jævne mellemrum været introduceret human sæsoninfluenza (H3hu) ind i den

danske svineproduktion, som har ledt til yderligere nye reassortments. Heldigvis er disse H3hu virus ikke blevet udbredt endnu, hvilket ville være bekymrende, da der på nuværende tidspunkt er lav immunitet imod denne type i besætningerne, og der ikke er nogen vaccine tilgængelig med god krydsbeskyttelse.

De to nye H1N1pdm09 reassortments (H1pdmN1av og H1avN1pdm), der for første gang blev identificeret i 2018, er stadig til stede i besætningerne, og især H1pdmN1av ser ud til at være i fremgang. Sammen med H1pdmN2sw og H1pdmN2hu er der nu påvist fire nye reassortments, med en overvægt af gener fra H1N1pdm09, som er kendt for at have zoonotiske egenskaber. Derfor bør disse virus zoonotiske potentiale undersøges i dybden.

I år blev tre H1avN2hu isolater fuld genom karakteriseret, og bekræftede resultatet fra sidste års karakterisering, idet der igen blev fundet pandemiske interne gener i dette virus. Dermed indeholder dette virus både gener fra de enzootiske svineinfluenza, human sæsoninfluenza samt H1N1pdm09, hvilket bekræfter at dette virus er et triple reassortment.

Reassortments med H1N1pdm09 gener er påvist i adskillige andre lande i Europa, Asien og Nordamerika, hvilket viser, at introduktionen af dette virus har medført en signifikant ændring af influenza virus dynamikken i svin globalt, og har vanskeliggjort diagnostik og kontrol af disse virus. Det faktum at der er en stigning i andelen af H1avN2sw virus, der har interne gener fra H1N1pdm09, sammenholdt med stigning af reassortments indeholdende både overflade gener og interne gener fra H1N1pdm09, indikerer, at disse gener eller gen-konstellationer er en fordel for virus. På baggrund af årets resultater må det konkluderes, at det mest succesfulde svinevirus lige nu ser ud til at være H1avN2sw med pandemiske interne gener. At interne pandemiske gener udgør en fordel understreges af, at der indtil nu ikke er observeret et virus med overflade gener af H1N1pdm09 oprindelse, som har udelukkende "avian-like" interne gener.

I perioden 2010-2013 blev der i regi af et EU projekt (ESNIP3) gennemført en systematisk udveksling af overvågningsdata i 20 europæiske lande inklusiv Danmark. Der var ret store forskelle mellem de enkelte lande, men i gennemsnit var 54 % af de karakteriserede virus af subtypen "avian-like" svine H1avN1av, 14 % var H1N1pdm09, 9 % var svine H3swN2sw og 16 % var H1huN2sw. Udbredelsen af H1N1pdm09 ses altså også i andre lande, men Danmark er anderledes end andre europæiske lande ved fravær af H1huN2sw og med en høj forekomst af H1avN2sw med et "avian-like" svine HA gen. Sidstnævnte subtype bliver dog mere og mere udbredt i andre europæiske lande såsom Tyskland, Frankrig, Spanien og Italien, hvilket enten kan skyldes, at reassortmentet nu også er opstået i andre lande eller at Danmark, som følge af sin store eksport af levende svin, har spredt dette virus til udlandet.

### **Veterinære aspekter**

I 2019 er der igen sket en markant stigning på 14,2 % i antallet af indsendelser til overvågningsprogrammet i forhold til 2018. Dette er formentligt et resultat af, at influenza har fået øget bevågenhed blandt landmændene og dyrlægerne, og at der er øget fokus på at finde årsager til symptomer, fremfor at behandle bredt med antibiotika. Andelen af positive indsendelser ligger 2 %-point lavere end sidste år, hvor den hidtil højeste prævalens af positive prøver i overvågningen blev observeret. Dog ligger prævalensen i år stadig højere end årene 2012-2017. Dette kan skyldes at antallet af prøver per indsendelse, ligesom sidste år, igen er steget, hvilket øger chancen for at finde positive dyr eller det kan afspejle at influenza A virus har fået en relativ større betydning, som årsag til respirationsvejslidelser hos svin. Sammenholdt med at hovedparten af indsendelserne var fra besætninger med kliniske respirationsvejsymptomer, understreger den høje andel af positive indsendelser, at influenzavirus hos svin kan have signifikante sundhedsmæssige

og velfærdsmæssige konsekvenser i besætningerne. Det øgede fokus på influenzavirus som årsag til kliniske symptomer, har i henhold til VETSTAT også medført en kraftig stigning i antallet af solgte vaccinedoser mod influenza A virus til svin. Alt andet lige vil den øgede diagnostik, sammenholdt med øget forebyggelse vha. vaccination, bidrage til at nedbringe forbruget af antibiotika til behandling af respirationsvejslidelser i svinebesætningerne.

Der findes på nuværende tidspunkt to kommercielt tilgængelige vacciner på det danske marked. Den ene vaccine indeholder virus af den pandemiske subtype, og beskytter derved kun mod infektion med denne type, mens den anden dækker de enzootiske H1av, H1hu og H3sw subtyper. Dette understreger igen vigtigheden af influenzavirus diagnostik. Da alle positive influenza prøver testes for H1pdm09 subtypen, bidrager overvågningen til, at der kan forebygges mere effektivt mod svineinfluenza, da den rigtige vaccine kan vælges. Salget af vaccinen mod H1N1pdm09 virus er således også steget kraftigt de senere år.

Overvågningen fungerer hensigtsmæssigt med henblik på at identificere influenzavirus med nye gensammensætninger hurtigt og følge udviklingen, selvom stikprøvestørrelsen, set i forhold til den samlede population af svin, ikke sikrer identifikation af virus, der forekommer med meget lav prævalens (under 5 %). I år har vi blandt andet kunnet fuld genom karakterisere virus, som lader til at være i fremgang. Det drejer sig om både H1avN2hu, som vi sidste år så evidens for har optaget interne gener af H1N1pdm09 oprindelse, og H1pdmN1av, som er en hel ny subtype, der første gang blev identificeret i 2018. Tilmed har vi kunnet dokumentere, at de pandemiske gener generelt vinder indpas i de cirkulerende virus i Danmark. Disse data er dermed unikke i forhold til at kunne overvåge udviklingen i Danmark, og kunne dokumentere hvilke tendenser, der har mulig indflydelse på udbredelsen og overlevelse af virus. Derudover gør denne karakterisering det muligt at være beredte, hvis en specifik virus pludselig øges i prævalens, og der er behov for genetiske analyser for at afgøre hvilke ændringer, der er sket over tid, som kunne forklare fremgangen. Til sidst muliggør fuld genom karakteriseringen også identifikation af resistens- og virulens markører. Det er vigtigt at overvåge tilstedeværelsen af resistens markører i influenzavirus hos svin, da vi ved, at disse virus kan springe frem og tilbage mellem både svin og mennesker. Tilmed kan virulens markørerne også hjælpe til at forklare mulige intensiverede sygdomstegn i en given besætning. Heldigvis har vi dog ikke fundet hverken resistens- eller virulens markører i den danske svineinfluenza overvågning.

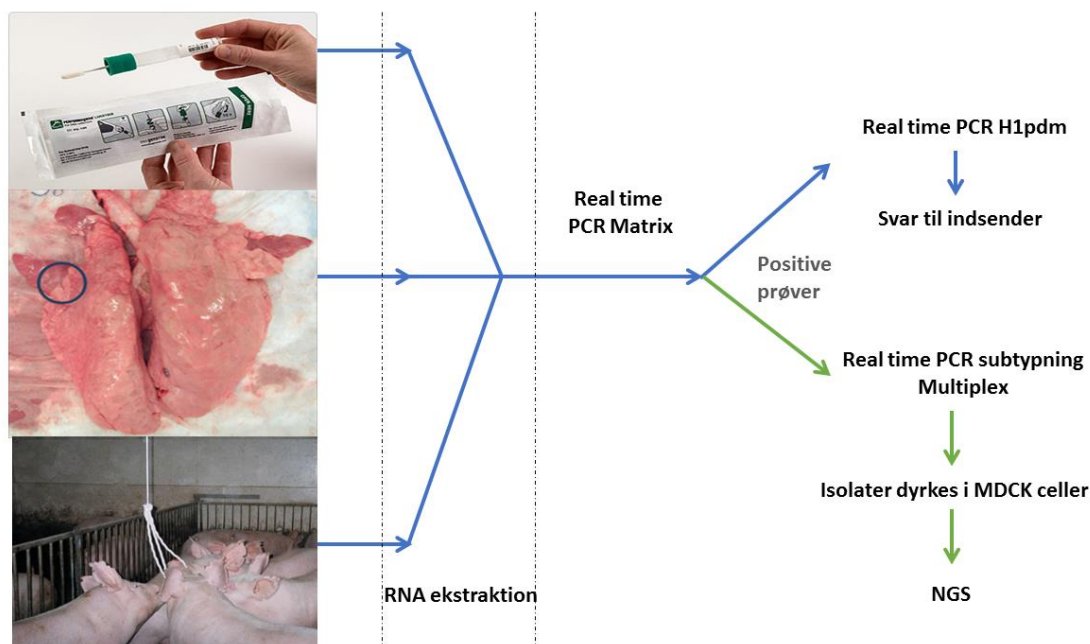
### **Zoonotiske aspekter**

I oktober 2016 blev der i Europa rapporteret to tilfælde af humane infektioner med "avian-like" H1avN1av. En hollandske patient fik en alvorlig respiratorisk infektion men kom sig. Et lignende tilfælde sås i Italien, hvor patienten udviklede akut lungesvigt, og blev behandlet med oseltamivir. Disse virus er nært beslægtet med de "avian-like" H1avN1av, vi ser hos svin i Danmark, og man må derfor formode, at lignende introduktioner kan ske her. Samtidig ser vi en stigning i både antallet af subtyper indeholdende overflade gener fra H1N1pdm09, samt virus varianter med interne gener fra H1N1pdm09. Dette er bekymrende, da vi ved at H1N1pdm09 har zoonotiske egenskaber, og at influenzavirus fra svin i USA indeholdende netop interne gener fra H1N1pdm09, har ledt til adskillige humane infektioner. Overvågningen har derfor den vigtige egenskab at sikre data fra disse nye subtyper og varianter, samt sikre virus-stocks til en hurtigere opdyrkning i tilfælde af en ny pandemi.

## Materialer og metode

Den overordnede arbejdsgang er illustreret i Figur 5. Der modtages næsesvabere, lungestykker eller spytprøver fra praktiserende dyrlæger eller SEGES Laboratorium for Svinesygdomme i Kjellerup. RNA ekstraheres fra de enkelte prøver og testes for influenza A virus med et real time RT-PCR assay, der er rettet mod matrix-genet. Influenzaviruspositive prøver bliver derefter screenet for, om virus har H1pdm09 varianten af HA-genet med to specifikke real time RT-PCR assays. Resultatet svares herefter ud til indsender.

De influenzaviruspositive prøver subtypes yderligere vha. multiplex PCR analyse, der består af to real time RT-PCR reaktioner, som hver især multiplexer fire forskellige subtypnings assays. Derved testes for de otte subtyper af HA og NA, der er relevante for den danske svinepopulation. Ved negativt resultat sekventeres segmenterne, for at kunne påvise eventuel introduktion af en ny variant af HA og/eller NA.



**Figur 5.** Arbejdsgang fra modtagelse af prøver fra besætningerne til endt analyse. Blå pile angiver processer der foregår i rutinediagnostikken. Grønne pile angiver processer der varetages af forskningsafdelingen.

Ud fra subtypningen udvælges prøver til fuld genom karakterisering ved "next generation sequencing" (NGS i Figur 5). Virus isoleres fra de udvalgte prøver ved dyrkning i MDCK eller SIAT celler. NGS udføres på fuld længde PCR produkter fra alle otte segmenter. De resulterende PCR produkter oprenses og sendes til NGS på Illumina MiSeq sekventeringsplatformen (SSI, København S). Rådata databehandles (CLC genomics workbench, QIAGEN) og consensus-sekvenser for hvert segment analyseres med fylogenetiske analyser (CLC main workbench, QIAGEN og MrBayes).

## Bilag 1a. H1av fylogeni

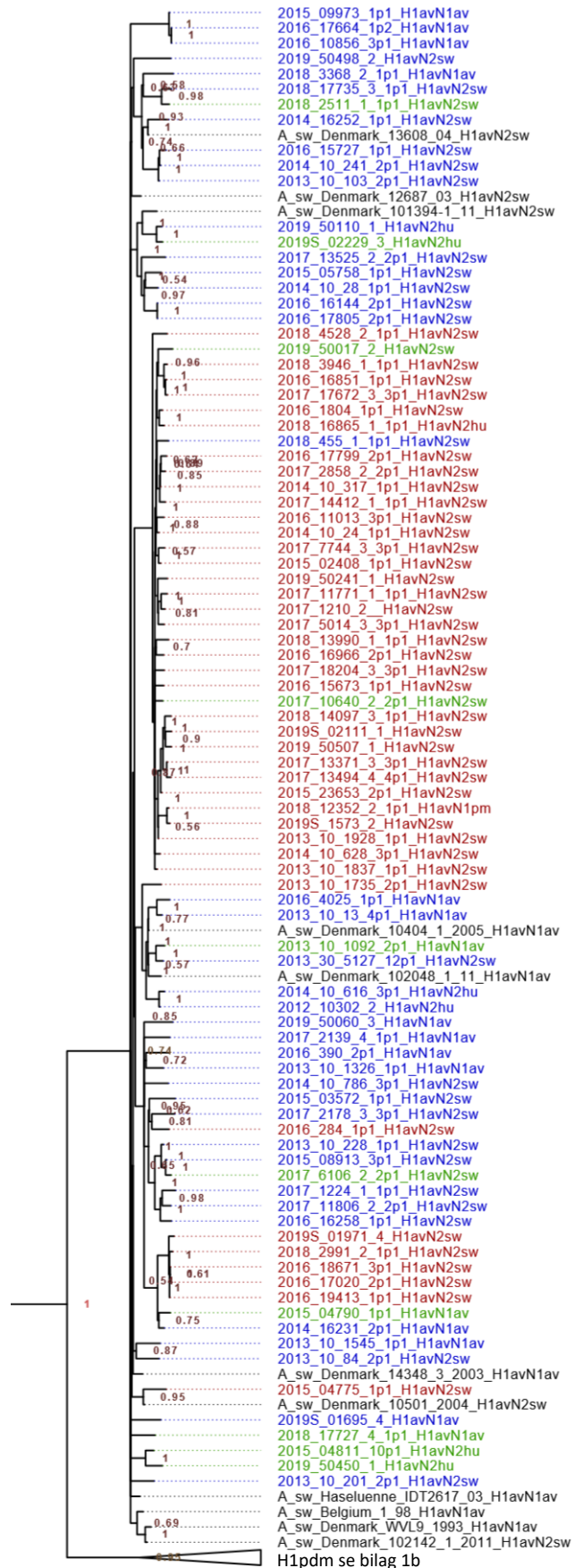
Fylogenetisk træ af "avian like" H1 nukleotid sekvenser fra fuld genom karakteriserede isolater fra overvågningen 2012-2018 baseret på MUSCLE alignment og Bayesian træ fylogeni, der inkluderer posterior probabilities. Navne startende med årstal er prøver fra overvågningen, hvorimod de øvrige er referencer fra tidligere danske prøver eller GenBank. Subtypen for hver prøve er angivet sidst i sekvensnavnet.

### Interne gener farvekoder:

Rød = pandemisk

Blå = "avian-like"

Grøn = blanding af "avian-like" og pandemiske gener



## Bilag 1b: H1pdm fylogeni

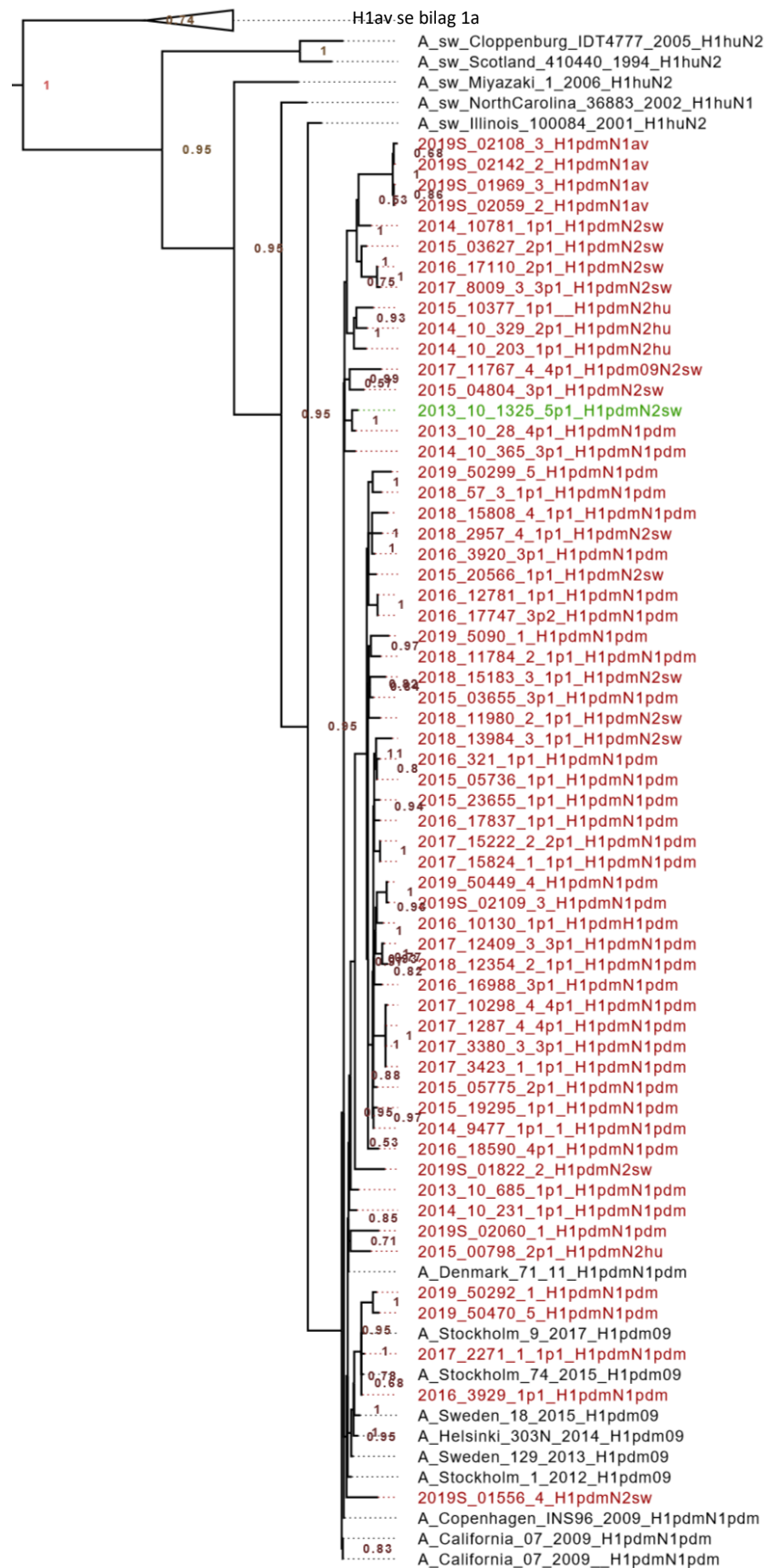
Fylogenetisk træ af "pandemisk" H1 nukleotid sekvenser fra fuld genom karakteriserede isolater fra overvågningen 2012-2018 baseret på MUSCLE alignment og Bayesian træ fylogeni, der inkluderer posterior probabilities. Navne startende med årstal er prøver fra overvågningen, hvorimod de øvrige er referencer fra tidligere danske prøver eller GenBank. Subtypen for hver prøve er angivet sidst i sekvensnavnet.

**Interne gener farvekoder:**

Rød = pandemisk

Blå = "avian-like"

Grøn = blanding af "avian-like" og pandemiske gener





## Bilag 2a. N1 fylogeni

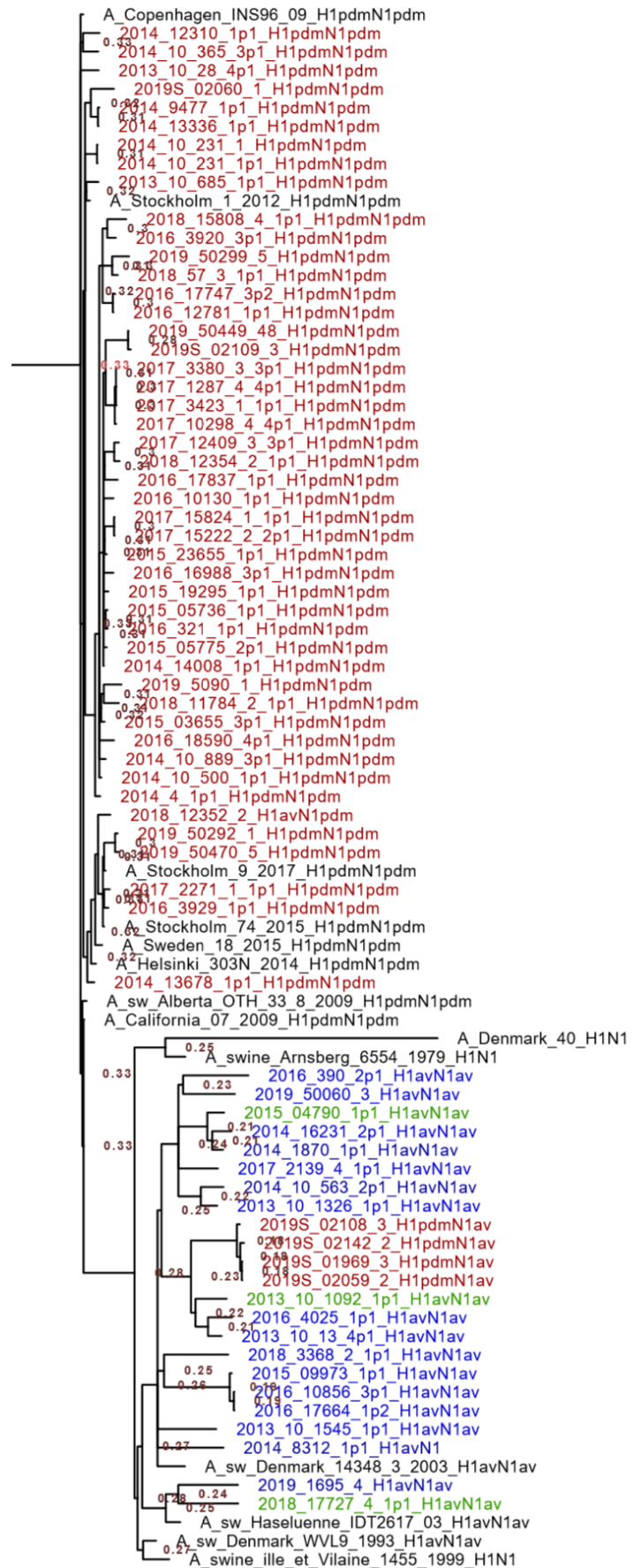
Fylogenetisk træ af N1 nukleotid sekvenser fra fuld genom karakteriserede isolater fra overvågningen 2012-2018 baseret på MUSCLE alignment og Bayesian træ fylogeni, der inkluderer posterior probabilities. Navne startende med årstal er prøver fra overvågningen, hvorimod de øvrige er referencer fra tidligere danske prøver eller GenBank. Subtypen for hver prøve er angivet sidst i sekvensnavnet, og dette træ indeholder på N1 gener af "avian-like" oprindelse og pandemisk oprindelse.

### Interne gener farvekoder:

Rød = pandemisk

Blå = avian-like

Grøn = blanding af avian-like og pandemiske gener

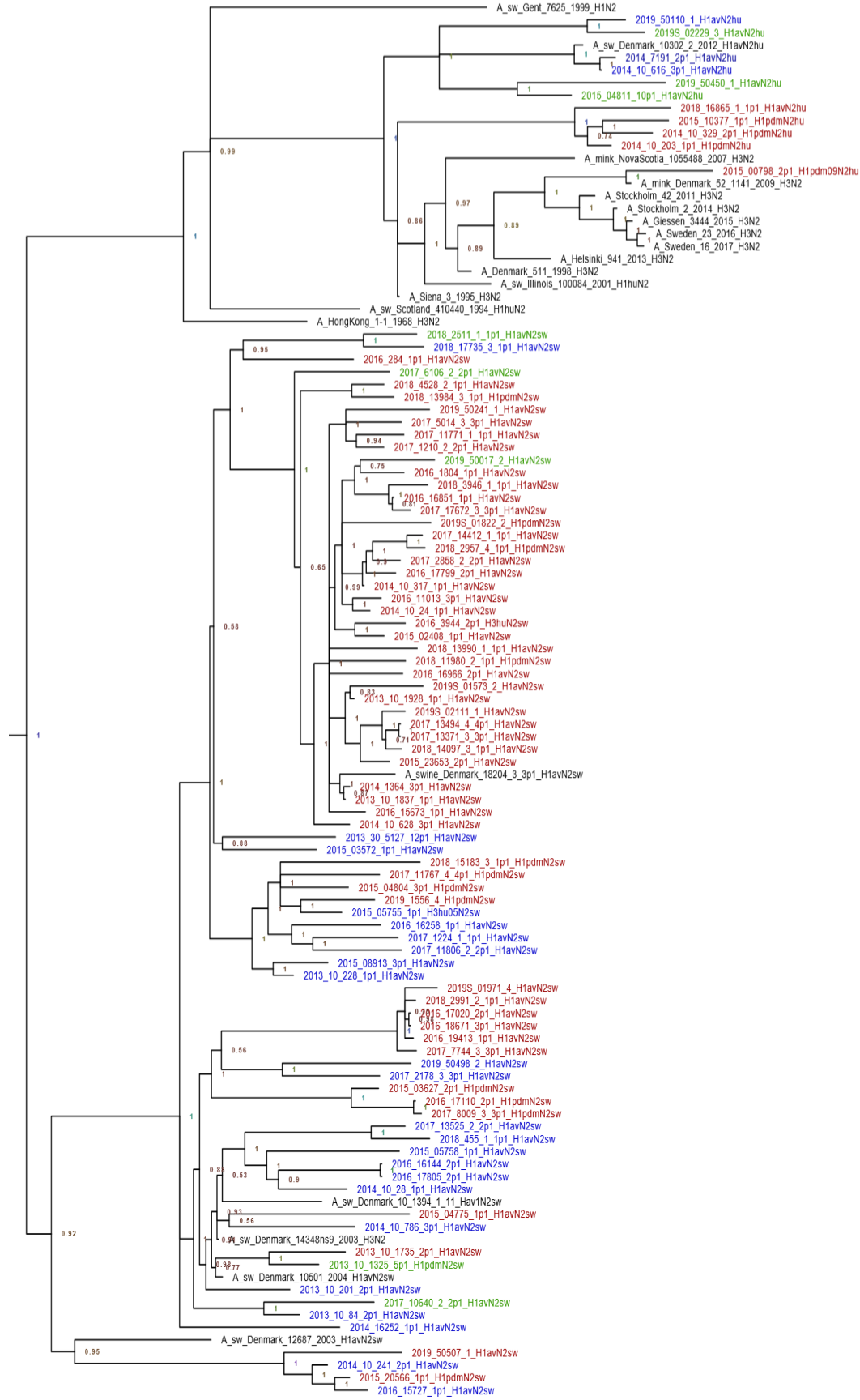


## Bilag 2b. N2 fylogeni

Fylogenetisk træ af N2 nukleotid sekvenser fra fuld genom karakteriserede isolater fra overvågningen 2012-2018 baseret på MUSCLE alignment og Bayesian træ fylogeni, der inkluderer posterior probabilities. Navne startende med årstal er prøver fra overvågningen, hvorimod de øvrige er referencer fra tidligere danske prøver eller GenBank. Subtypen for hver prøve er angivet sidst i sekvensnavnet.

**Interne gener farvekoder:**

- Rød = pandemisk
- Blå = avian-like
- Grøn = blanding af "avian-like" og pandemiske gener



## Bilag 3. Fuld genom data

Skematisk præsentation af oprindelsen af alle otte segmenter fra de undersøgte isolater fra 2012-2019. Hvert gensegment er farvekodet i henhold til deres oprindelse.

|                   | H1   | H3 | N1 | N2 | M | NP                   | NS | PA | PB1 | PB2 |
|-------------------|--|----|----|----|---|----------------------|----|----|-----|-----|
| H1avN2sw          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-258-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-297-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-345-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-448-3p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-779-2p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-789-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-801-2p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-802-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-1844-3p1  |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-84-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-103-2p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-201-2p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-228-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-30-5127-12p1 |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1782-1p1  |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1735-2p1  |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1837-1p1  |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1928-1p1  |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-24-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-28-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-241-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-317-1p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-628-3p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-786-3p1   |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-16252-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-02408-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-03572-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-04775-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-05758-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-08913-3p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-23653-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-284-1p1      |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-1804-1p1     |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-11013-3p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-15673-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-15727-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-16144-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-16258-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-16851-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-16966-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-17020-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-17799-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-17805-2p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-18671-3p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-19413-1p1    |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| Farvekode         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
|                   | Svineinfluenza (H1avN1av, H1avN2sw, H3swN2sw) oprindelse |    |    |    |   | H1N1pdm09 oprindelse |    |    |     |     |
|                   | Nylige humane H3huN2hu                                   |    |    |    |   | Ikke sekventeret     |    |    |     |     |

Overvågning af influenza A i svin, april, 2020

|                         | H1   | H3 | N1 | N2 | M | NP                   | NS | PA | PB1 | PB2 |
|-------------------------|--|----|----|----|---|----------------------|----|----|-----|-----|
| <b>H1avN2sw fortsat</b> |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-1224-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-1210-2p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-2178-3p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-2858-2p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-5014-3p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-6106-2p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-7744-3p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-10640-2p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-11771-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-11806-2p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-13371-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-13494-4p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-13525-2p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-14412-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-17672-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-18204-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-455-1-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-2511-1-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-2991-2-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-3946-1-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-4528-2-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-13990-1-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-14097-3-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-17735-3-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50498-2            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50507-1            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50017-2            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50241-1            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019S-01971-4           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019S-02111-1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019S-01573-2           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| <b>H1avN1av</b>         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-85-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-146-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-169-3p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-235-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-363-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-1143-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-1245-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-13-4p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-214-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-691-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1092-2p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1326-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-1545-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-16231-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-4790-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-09973-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| <b>Farvekode</b>        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
|                         | Svineinfluenza (H1avN1av, H1avN2sw, H3swN2sw) oprindelse |    |    |    |   | H1N1pdm09 oprindelse |    |    |     |     |
|                         | Nylige humane H3huN2hu                                   |    |    |    |   | Ikke sekventeret     |    |    |     |     |

Overvågning af influenza A i svin, april, 2020

|                         | H1   | H3 | N1 | N2 | M | NP                   | NS | PA | PB1 | PB2 |
|-------------------------|--|----|----|----|---|----------------------|----|----|-----|-----|
| <b>H1avN1av fortsat</b> |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-390-2p1            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-4025-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-10856-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-17664-1p2          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-2139-4             |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-3368-2-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-17727-4-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-1695-4             |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50060-3            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| <b>H1avN2hu</b>         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-302-2p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-212-3p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-493-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-616-3p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-7191-2p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-04811-10p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2018-16865-1-1p1        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50110-1            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019-50450-1            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2019S-02229-3           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| <b>H1N1pdm09</b>        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2012-10-162-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-28-4p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-409-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2013-10-685-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-231-1p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-10-365-3p1         |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2014-9477-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-03655-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-05736-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-05775-2p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-19295-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2015-23655-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-321-1p1            |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-3920-3p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-3929-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-10130-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-12781-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-16988-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-17747-3p2          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-17837-1p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2016-18590-4p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-1287-4p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-2271-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-3380-3p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-3423-1p1           |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-10298-4p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| 2017-12409-3p1          |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
| <b>Farvekode</b>        |  |    |    |    |   |                      |    |    |     |     |
|                         | Svineinfluenza (H1avN1, H1avN2sw, H3swN2sw) oprindelse |    |    |    |   | H1N1pdm09 oprindelse |    |    |     |     |
|                         | Nylige humane H3huN2hu                                 |    |    |    |   | Ikke sekventeret     |    |    |     |     |

Overvågning af influenza A i svin, april, 2020

|  | H1 | H3 | N1 | N2 | M                    | NP | NS | PA | PB1 | PB2 |
|--|----|----|----|----|----------------------|----|----|----|-----|-----|
| <b>H1N1pdm09 fortsat</b>                                 |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2017-15222-2p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2017-15824-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>2018-57-3-1p1</b>                                     |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-11784-2-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-12354-2-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-15808-4-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>2019-5090-1</b>                                       |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019-50292-1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019-50299-5   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019-50449-4   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019-50470-5   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-02060-1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-02109-3  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>H1pdm09N1av</b>                                       |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-01969-3  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-02059-2  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-02108-3  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-02142-2  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>H1pdm09N2sw</b>                                       |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2012-10-176-1p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2012-10-845-1p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2013-10-1325-5p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2014-6252-2p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2014-10781-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2015-03627-2p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2015-04804-3p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2015-20566-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2016-17110-2p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2017-8009-3p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2017-11767-4p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-2957-4-1p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-11980-2-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-13984-3-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-15183-3-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019-1556-4  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2019S-01822-2  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>H1pdm09N2hu</b>                                       |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2014-10-203-1p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2014-10-329-2p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2015-00798-2p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2015-10377-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>H3hu05N2sw</b>  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2014-15164-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2015-05755-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2016-3944-2p1  |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>H1avN1pdm09</b>                                       |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| 2018-12352-2-1p1   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| <b>Farvekode</b>   |    |    |    |    |                      |    |    |    |     |     |
| Svineinfluenza (H1avN1av, H1avN2sw, H3swN2sw) oprindelse |    |    |    |    | H1N1pdm09 oprindelse |    |    |    |     |     |
| Nylige humane H3huN2hu                                   |    |    |    |    | Ikke sekventeret     |    |    |    |     |     |