

Transmissiekern- en introductiemoment-analyse voor interpretatie van gevonden genetische uitbraakclusters in het vogelgriepseizoen 2021-2022

Gert Jan Boender, Thomas Hagens, Armin Elbers, Peter Hobbelen

(Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad), 14 april 2022

Achtergrond

Er zijn drie clusters van pluimveebedrijven geïdentificeerd in het vogelgriepseizoen 2021-2022 waarbij de genetische sequenties van de geïsoleerde virussen van het geïnfecteerde pluimvee binnen de clusters sterk overeenkomen. De achterliggende gedachte daarbij is dat de pluimveebedrijven binnen clusters: a) elkaar besmet zouden kunnen hebben (tussenbedrijfstransmissie); of b) besmet zijn door een gemeenschappelijke infectiebron in de buitenomgeving (bijv. gecontamineerde omgeving door besmette wilde vogel(s)).

Vraagstelling

De vraag is of

- 1) het ruimtelijke patroon van de uitbraakbedrijven binnen de clusters in overeenstemming is met wat kan worden verwacht onder de hypothese (a) van indirecte tussenbedrijfstransmissie;
- 2) de schatting van introductiemomenten/tijdvensters van de verschillende pluimveebedrijven binnen de clusters aanwijzingen zouden kunnen geven voor een belangrijke rol van dag van ruiming van een uitbraakbedrijf voor transmissie naar naburbedrijven (door relatief frequente aanwezigheid overlap ruimingsdatum ene bedrijf met tijdvenster van virus-introductie op naburbedrijf).

Materiaal en Methode

Gegevens

In Tabel 1 staan de gegevens van de 13 uitbraakbedrijven onderverdeeld in drie clusters. De latente periode van een bedrijf na insleep is gelijk gesteld aan 1 dag (gelijk aan de geschatte latente periode van eerst-besmette dier(en)). In Tabel 1 varieert de lengte van de infectieuze periode van uitbraakbedrijven tussen 7 en 14 dagen, met een gemiddelde van 10.5 dagen. Aangezien er voor de meeste van deze uitbraken geen gedetailleerde data beschikbaar waren over verhoogde sterfte in de dagen voorafgaand aan ruiming afgezien van een genoteerde 'eerste dag van verhoogde mortaliteit', konden we een meer geavanceerde methode om het

introductietijdstip (insleep-dagen in tabel 1) te bepalen m.b.v. het fitten van een transmissiemodel aan de mortaliteitsdata niet gebruiken. In plaats daarvan hebben we een aangepaste methode ontwikkeld, en deze gebruikt om de data van insleep en infectieus worden uit Tabel 1 te schatten. Deze methode wordt hieronder beschreven.

Tabel 1. Uitbraakbedrijven met hun bedrijfstype, bedrijfsgrootte, datum van ruiming, cluster waar ze toe behoren, en de geschatte data van insleep en infectieus worden.

UITBRAAKBEDRIJF	GROOTTE	INSLEEP_DAG	INFECTIEUS_DAG	GERUIMD_DAG	CLUSTER
A					ZEEWOLDE
B					ZEEWOLDE
C					ZEEWOLDE
D					ZEEWOLDE
E					HIERDEN
F					HIERDEN
G					HIERDEN
H					HIERDEN
I					HIERDEN
J					WOLTERSUM
K					WOLTERSUM
L					WOLTERSUM
M					WOLTERSUM

Analyse van de transmissiekern onder hypothese van tussen-bedrijfstransmissie

De vraagstelling beantwoorden we door het spatio-temporele patroon van de uitbraken binnen de clusters te analyseren alsof het tussen-bedrijfstransmissie betreft, d.w.z. door schatting van de tussen-bedrijfstransmissiekern (afstands-afhankelijke kans per dag op transmissie tussen in dit geval een besmet en een gevoelig pluimveebedrijf); En door deze transmissiekern vervolgens te vergelijken met de volgende referentie-transmissiekern: de transmissiekern zoals bepaald uit de ruimtelijke transmissie in het verleden, namelijk uit de grote HPAI-epidemie in Nederland in 2003 waarin tussenbedrijfstransmissie heeft plaatsgevonden. De nulhypothese die daarbij getoetst wordt, is dat de geschatte transmissiekern voor de clusters overeenkomt met de referentie; de alternatieve hypothese wordt daarbij gedefinieerd als dat de kernschatting van clusters niet overeenkomt met de referentie.

Als kernvorm is de volgende parameterisatie genomen:

$$h(r) = \frac{h_0}{1 + \left(\frac{r}{r_0}\right)^\alpha}.$$

Hierin is r de tussen-bedrijfsafstand in km, h_0 de kern-amplitude (dag^{-1}), α de macht en r_0 (km) de schalingsafstand. De kern parameters h_0 , α en r_0 worden geschat met behulp van een likelihood-optimalisatie (maximum-likelihoodschatting).

Aangezien het aantal pluimveebedrijven van de drie clusters zeer beperkt is, is er een schatting gedaan waarin de clusters worden samengenomen (in de likelihood), waarbij transmissie alleen binnen clusters plaatsvindt en waarbij het eerst-besmette bedrijf in elk cluster als gegeven introductie van buitenaf wordt beschouwd. Voor alle drie clusters gelden alle overige pluimveebedrijven in NL als bedrijven die ontsnappen aan infectie vanuit de bedrijven in het cluster. Het beperkte aantal uitbraakbedrijven in deze analyse is ook de reden dat in de transmissiekernel geen afhankelijkheid van bedrijfstype en/of bedrijfsgrootte is geïncorporeerd. Als referentiekernel wordt dan ook de overeenkomstige transmissiekernel genomen, d.w.z. die bepaald uit de HPAI-epidemie in 2003 zonder afhankelijkheid van bedrijfstype en/of bedrijfsgrootte.

Aangepaste methode voor schatten moment/tijdvenster introductie

De aangepaste methode voor het schatten van het moment van virusintroductie wanneer er onvoldoende data van verhoogde sterfte in aanloop naar ruiming beschikbaar zijn, berekent de periode tussen introductie en ruiming (t_{intro}) als

$$t_{\text{intro}} = t_{\text{min}} + t_{\text{adj}}.$$

In deze vergelijking is t_{min} een minimum-schatting van de periode tussen introductie en ruiming die berekend is door de latente en gemiddelde infectieuze periode van een geïnfecteerd dier op te tellen bij het tijdsinterval tussen (wel beschikbare) eerste dag van verhoogde mortaliteit en ruiming. De analyse van eerdere uitbraken gedurende de periode 2014 tot 2022, waarvoor de schatting aan de hand van mortaliteitsdata wel uitgevoerd kon worden met behulp van de meer geavanceerde methode, schat de periode tussen introductie en ruiming altijd langer in dan t_{min} . Om hiervoor te corrigeren in de aangepaste methode tellen we t_{adj} op bij de minimum schatting t_{min} . Om t_{adj} te berekenen hebben we het gemiddelde introductietijdstip genomen over de schattingen van de eerdere uitbraken. In dit gemiddelde hebben we alleen uitbraken meegenomen waarvoor er ≤ 3 dagen met significant verhoogde mortaliteit waren. Dit met het doel om de vergelijkbaarheid met de uitbraken in de drie clusters te vergroten.

Bij het berekenen van t_{intro} hebben we onderscheid gemaakt tussen diersoorten, maar niet tussen bedrijfstypes (hiervoor was niet genoeg data beschikbaar). Voor de analyse m.b.t. transmissie op de dag van ruiming is voor kippen en eenden gebruik gemaakt van twee scenario's voor de latente en infectieuze periode: gebaseerd op literatuur over transmissie-experimenten met de H5N8 variant uit 2014, respectievelijk de H5N8 variant uit 2016. Voor de kernelschatting is gekozen om de berekening alleen te doen voor het tweede scenario omdat die schatting niet gevoelig is voor de kleine verschillen tussen de twee scenario's. Voor kalkoenen (er is in de hier geanalyseerde uitbraken 1 kalkoenenbedrijf, zie Tabel 1) hebben we deze periodes geschat op basis van literatuur over verschillende HPAI varianten gepubliceerd over een grotere periode (1986-2019). Ook t_{adj} werd berekend als de gemiddelde per diersoort. Voor het introductietijdvenster werd de berekening op een analoge wijze gedaan als voor t_{intro} .

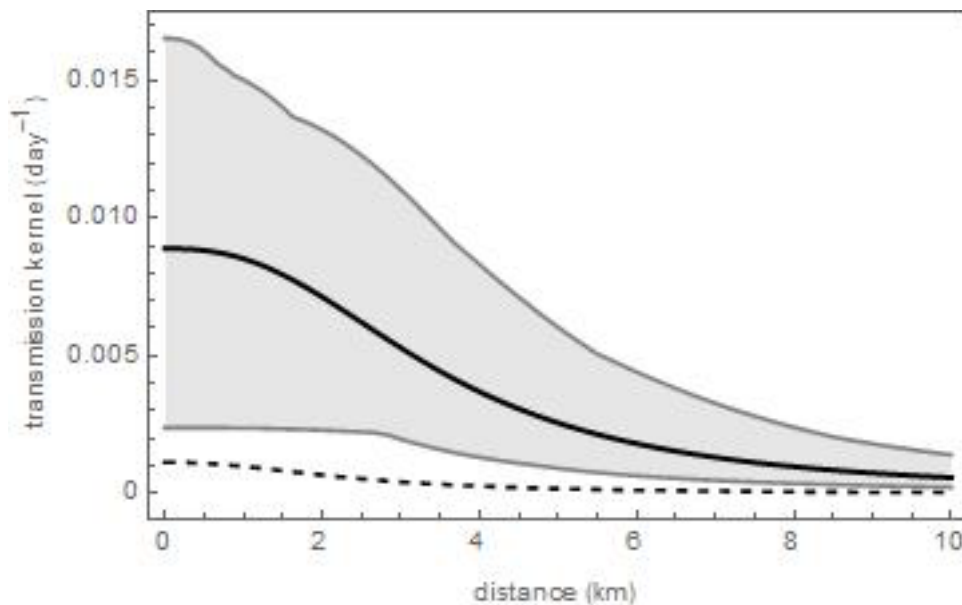
Resultaten analyse transmissiekernel

In Tabel 2 worden de geschatte kernelparameters h_0 , α en r_0 van de clusters en de referentie (2003-epidemie) weergegeven.

Tabel 2. Resultaten van de kernelschatting voor de clusters en vergelijking met referentie.

Parameter	Maximum-likelihood parameterwaarde voor clusters (95%-betrouwbaarheid: ondergrens, bovengrens)	Referentiewaarde (2003)
h_0 (dag ⁻¹)	0.0089 (0.0024, 0.0169)	0.0011
α	2.5 (1.7, 3.7)	2.2
r_0 (km)	3.5 (1.1, 8.4)	2.4

De referentiewaarden van de kernelparameters α en r_0 liggen in de range opgespannen door de 95%-betrouwbaarheidsgrenzen van de kernelparameters geschat voor de drie clusters. Dat geldt echter niet voor de kernel-amplitude h_0 . De maximum-likelihoodwaarde van h_0 voor de clusters is ongeveer 8 maal zo hoog als de referentiewaarde. Om een complete afstandsafhankelijke vergelijking tussen de transmissiekernels te maken is in Figuur 1 de geschatte kernel voor de clusters (vette zwarte lijn) samen met een 95%-betrouwbaarheidsgebied (grijs gebied) geplot samen met de referentie (gestreepte lijn). Het 95%-betrouwbaarheidsgebied is bepaald aan de hand van alle waarschijnlijke combinaties voor de drie kernelparameters.



Figuur 1. Vergelijking van de hypothetische transmissiekernel van de clusters (vette lijn met grijs 95%-betrouwbaarheidsgebied) met de referentie uit 2003 (gestreepte lijn).

De geschatte kernel van de clusters en die van de referentie (2003-epidemie) komen duidelijk (en statistisch significant) voor geen enkele afstand overeen. Dat de clusters alle drie in een - naar 2003 maatstaven - laag-risicogebied liggen (vanwege relatief lage bedrijfsdichtheid) verklaart waarom een sterk verhoogde amplitude van de transmissiekernel nodig is om het uitbrakenpatroon als transmissiepatroon te kunnen verklaren. Overall is de hypothetische transmissiekans per dag ongeveer achtmaal zo hoog als de berekende transmissiekans voor 2003. Deze resultaten laten zien dat de aanname dat het infectiepatroon in de clusters geïnterpreteerd kan worden als passend bij tussen-bedrijfstransmissie leidt tot een niet-plausibel model. Immers, met een vogelgriepvariant die acht maal zo besmettelijk is tussen bedrijven als in 2003 zou het onwaarschijnlijk zijn dat vanuit de talrijke introducties in het afgelopen seizoen de tussen-bedrijfstransmissie beperkt zou zijn gebleven tot deze drie clusters.

De andere mogelijke verklaring voor de genetische clustering van bedrijven ligt dus meer voor hand: besmetting van bedrijven in een cluster als gevolg van een gemeenschappelijke bron in de buitenomgeving.

Resultaten analyse m.b.t. hypothese van transmissie op de dag van ruiming

In de tabellen 3, 4 en 5 zijn de resultaten weergegeven van deze analyse.

Tabel 3. Virusintroductievensters en ruimingsdata voor de HPAI cluster Zeewolde gebaseerd op de epidemiologie van de H5N8 variant uit 2014 en 2016. Ieder hokje is 1 dag. Ruimingsdatum (rood) en geschatte tijdsvensters van introductie (oranje).

Pluimveebedrijf																				
Epidemiologisch scenario 1: HPAI H5N8-2014																				
A			■	■	■	■											■			
C		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■							■	
D					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■						■
B				■	■	■	■											■		
Epidemiologisch scenario 2: HPAI H5N8-2016																				
A					■	■	■	■	■								■			
C		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■						■	
D					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					■
B						■	■	■										■		

Afstandsmatrix in meters	A	C	D	B
A	0	3748	2812	47438
C	3748	0	1022	44610
D	2812	1022	0	45557
B	47438	44610	45557	0

Alleen bij epidemiologisch scenario 2 is er overlap aan de uiterste rand van het tijdsvenster van introductie tussen uitbraak D en de ruimingsdag van A; daarbij in ogenschouw nemen dat de afstand tussen uitbraken A en D bijna 3 km is.

Tabel 5. Virusintroductievensters en ruimingsdata voor de HPAI cluster Woltersum gebaseerd op de epidemiologie van de H5N8 variant uit 2014 en 2016. Ieder hokje is 1 dag. Ruimingsdatum (rood) en geschatte tijdvensters van introductie (oranje).

Pluimveebedrijf																				
<i>Epidemiologisch scenario: HPAI H5N8-2014</i>																				
J																				
L																				
M																				
K																				
<i>Epidemiologisch scenario: HPAI H5N8-2016</i>																				
J																				
L																				
M																				
K																				

Afstandsmatrix in meters	J	L	M	K
J	0	1798	13293	17251
L	1798	0	11623	16426
M	13293	11623	0	11043
K	17251	16426	11043	0

Bij epidemiologisch scenario 1 is er overlap aan de uiterste rand van het tijdsvenster van introductie tussen uitbraak M en de ruimingsdag van J; daarbij in ogenschouw nemen dat de afstand tussen uitbraken M en J ruim 13 km is.

Bij epidemiologisch scenario 2 is er overlap van het tijdsvenster van introductie tussen uitbraak L en de ruimingsdag van J; daarbij in ogenschouw nemen dat de afstand tussen uitbraken J en L bijna 2 km is.

Enige overlap van introductievensters met ruimingsdagen kunnen sowieso verwacht worden omdat de vensters nu eenmaal een zekere breedte hebben als gevolg van schattingsonbetrouwbaarheid. Maar de gevonden patronen maken de ruimingsdagen niet specifiek verdacht, ook omdat bij het geringe aantal overlappen dat we zien deze niet vaker optreden bij korte als bij langere afstanden. De analyse van de introductiemomenten van de drie clusters overziend zijn er daarom geen aanwijzingen dat er een speciale rol is voor de dag van ruiming in hypothetische transmissie naar nabuurbedrijven.