

# 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 nul-hypothese 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 ( $\text{dag}^{-1}$ ),  $\alpha$  de macht en  $r_0$  (km) de schalingsafstand. De kern parameters  $h_0$ ,  $\alpha$  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 ( $t_{\text{intro}}$ ) als

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

In deze vergelijking is  $t_{\text{min}}$  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  $t_{\text{min}}$ . Om hiervoor te corrigeren in de aangepaste methode tellen we  $t_{\text{adj}}$  op bij de minimum schatting  $t_{\text{min}}$ . Om  $t_{\text{adj}}$  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  $\leq 3$  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  $t_{\text{intro}}$  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  $t_{\text{adj}}$  werd berekend als de gemiddelde per diersoort. Voor het introductietijdvenster werd de berekening op een analoge wijze gedaan als voor  $t_{\text{intro}}$ .

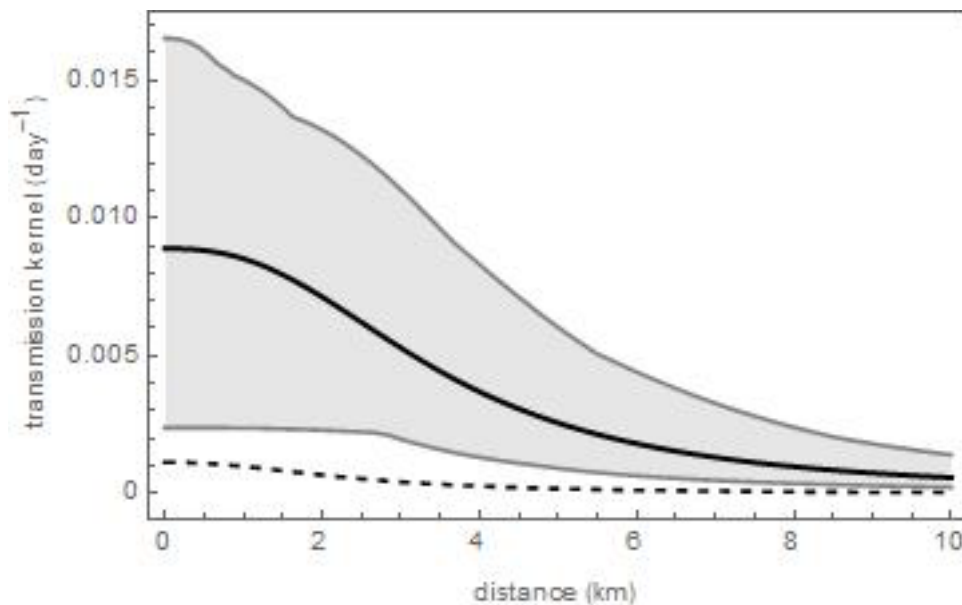
## Resultaten analyse transmissiekern

In Tabel 2 worden de geschatte kernelparameters  $h_0$ ,  $\alpha$  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 <sup>-1</sup> )	0.0089 (0.0024, 0.0169)	0.0011
$\alpha$	2.5 (1.7, 3.7)	2.2
$r_0$ (km)	3.5 (1.1, 8.4)	2.4

De referentiewaarden van de kernelparameters  $\alpha$  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 transmissiekern 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.





