Udarbejdet af	Rene Bødker, KU
Øvrige deltagere	Lars Erik Larsen, KU
Kontaktperson i FVST	Pernille Dahl Nielsen

Dato for henvendelse	Dato for svarfrist	Dato for afsendelse	Versionsnummer
30.11.2020	7.12.2020	7.12.2020	1

Journalnummer/sagsnummer	FVST	KU	SSI
	2020-14-81-07654	061-0176/20-3680	

Besvarelse vedr.

- Insekters betydning for introduktion af aviær influenza i fjerkræbesætninger

Bestilling

- FVST ønsker en vurdering af insekters mulige betydning for introduktion af aviær influenza i fjerkræbesætninger

Svar

-

KONKLUSION
Mens det er meget sandsynligt, at fugleinfluenza kan smitte fra vilde fugle til indendørs fjerkræbesætninger, er der ingen undersøgelser, der viser, at insektbåren spredning af fugleinfluenza til fjerkræbesætninger har nogen praktisk betydning i forhold til andre introduktionsveje. Imidlertid er der heller ingen undersøgelser eller interventionsstudier, der har forsøgt at vise, at fluer spiller en betydende praktisk rolle. Derfor er det i dag uafklaret om risikoen for introduktion af fugleinfluenza til fjerkræbesætninger via kontaminerede insekter spiller nogen rolle i forhold til risikoen for introduktion af fugleinfluenza via luft, partikler, foder, mennesker, maskiner eller helt ukendte introduktionsveje.

REDEGØRELSE

Generelt om vektorbåren spredning af patogener til fjerkræbesætninger
Insekter kan tiltrækkes af vilde fugle og af deres afføring og de kan dermed komme i kontakt med patogener. Hvis insekterne derefter trænger ind i en fjerkræbesætning kan de teoretisk medbringe patogener og således smitte produktionsdyr i besætningen. Der er her ikke tale om traditionel vektorbåren smitte, hvor vektoren er inficeret og opformerer patogenet, men alene tale om, at insektet er kontamineret med et patogen (passiv smitte). Når denne potentielle introduktionsvej af smitte til produktionsbesætninger kan være relevant, skyldes det, at mange insekter aktivt opsøger vilde fugle og deres fæces, og at de tiltrækkes af tamfugle og varme bygninger og derefter aktivt kan trænge ind i staldbygninger. Insekterne bliver således rent mekaniske vektorer, der aktivt opsøger og forbinder vilde fugle med de isolerede tamfugle. Da patogenet ikke opformeres på mekaniske vektorer, kræver denne mekaniske smittevej, at patogenet kan overleve den tid, det tager for vektoren, at bevæge sig fra en inficeret vildfugl/fugleklat i det fri til en modtagelig tamfugl indendørs.
En række virus er helt tilpasset denne form for mekanisk spredning mellem værter f.eks. via bidende fluer, der spreder infektiøs hesteanæmi mellem heste og lumpy skin disease mellem drøvtyggere.

Derudover kan mange andre patogener af og til tilfældigt spredes med mekaniske vektorer mellem to værter. Der er mange kendte eksempler på tilfældig spredning af patogener. Ofte spiller denne spredningsmetode ingen eller kun minimal praktisk rolle i den samlede smittespredning. Men netop i det moderne husdyrbrug, hvor der er høj biosecurity (f.eks. tøjskifte, brusebade for ansatte, desinficerende bade til sko og lignende) kan insektbåren mekanisk introduktion af virus i besætningerne have en praktisk betydning, netop fordi al direkte kontakt til vilde fugle og deres afføring er forhindret.

Den insektbårne introduktion betyder, at patogenet 'udstyres' med et insekt med dettes omfattende sanseapparat og indbyggede værtssøgningsstrategi, der gør insektet i stand til aktivt at identificere værtsdyr over betydelige afstande, og herefter trænge ind i de identificerede stalde og her aktivt opsøge husdyr og endda aktivt opsøge modtagelige slimhinder og sår på disse husdyr. Det betyder at denne målrettede mekaniske vektorbårne spredning i nogle tilfælde kan være mere effektiv end den tilfældige spredning af patogener via luft, støv og kontakt til redskaber og personer. Selv om mængden af fx influenza virus, der til en given tid er bundet til fluer, vil være uendeligt lille sammenlignet med mængden af virus, der findes frit i miljøet, så vil fluernes aktive værtssøgning omvendt øge sandsynligheden for, at en viruspartikel, der er bundet til en vektor rent faktisk når frem til svælget på en ny vært være uendeligt meget større sammenlignet med sandsynligheden for at en viruspartikel i miljøet når frem til en vært. At vektorbåren spredning netop kan være en meget effektiv måde at overføre patogener på fra en vært til en anden, kan ses på de mange vira, bakterier og parasitter, der udelukkende beror på spredning via biologiske vektorer (f.eks. malaria parasitter, Bluetongue virus og borrelia bakterier). For fjerkræbesætninger gælder det endvidere, at kyllinger aktivt forsøger at fange og spise mange af de insekter, der trænger ind i staldene, således at både fluer og værter på en gang jagter hinanden.
Stuefluer og spyfluer kan sprede virus via munddelene, deres overflade, deres maveindhold, deres fæces samt via dråber, der udskilles fra munddelene i forbindelse med indtagning af føde. Stikmyg, mitter og andre blodsugende insekter kan bære virus i ikke-fordøjede blodmåltider.

Vektorbåren spredning af fuglevirus under udbrud
Der er udført en række undersøgelser af mulig mekanisk vektorbåren spredning af influenza A, Newcastle Disease, Turkey coronavirus med flere til fjerkræ. Disse undersøgelser inkludere både eksperimentelle forsøg og undersøgelser i forbindelse med udbrud i fjerkræbesætninger. Ved udbrud af højpatogen H5N1 i Japan i 2014 blev levende virus isoleret fra en lokal spyflueart (*Calliphora nigribarbis*) nær en udbrudsfarm i Japan i 2004. Op mod 5% af alle spyfluer 500-2000 m fra udbrudsfarmen blev estimeret til at have indeholdt levende virus (Swabe et al., 2006). Samtidigt blev der isoleret virus fra de døde kyllinger og fra vilde krager, men ikke fra 102 døde vilde fugle fordelt på 21 andre arter. Det kunne ikke afgøres om fluerne var kontamineret via fuglene i besætningen eller via vilde fugle, men det blev konkluderet, at det var sandsynligt, at fluerne havde bragt H5N1 virus ind i besætningen. Under et tilsvarende udbrud af højpatogen H5N1 i Thailand blev Culex myg tilfældigvis indsamlet fra en farm dagen før alle høns begyndte at dø af influenza. En høj andel af disse blodfyldte myg var RT-PCR positive for H5N1, mens alle de ikke-blodfyldte myg testede negative (Barbazan et al., 2008). Der således fundet insekter med influenza virus under udbrud og med betydelig prævalens. Dette viser dog ikke, at det er insekter, der oprindeligt har spredt virus fra vilde fugle til produktionsdyr, blot at virus findes i insekter i udbrudsområder.

Virusoverlevelse i insekter i laboratoriet
For at afgøre om virus kan overleve på insekter længe nok til, at det er sandsynligt, at insekterne kan flytte virus fra vilde fugle eller fra vilde fugles fæces ind i produktionsbesætninger, er der udført en række laboratorieeksperimenter med overlevelse af influenzavirus på insekter. Et dansk studie med lavpatogen H7N1 viste, at virus ikke blev opformeret i stuefluer (*Musca domestica*) og at virus kun kunne isoleres fra fordøjelseskanalen i relativt få stuefluer efter 24 timer (Nielsen et al., 2011). En overlevelse

på op mod 24 timer er dog nok til, at stuefluer kan nå at flyve aktivt virus ind i en staldbygning, og stuefluer er meget almindelige i og omkring danske fjerkræbesætninger. Andre laboratorieforsøg har vist betydeligt længere overlevelse af virus. Et forsøg i Thailand med H5N1 fandt, at virus overlevede i mindst 72 timer i og på stuefluer, og fandt at den længste overlevelsestid var på overfladen af fluerne (Wanaratana et al., 2011). Tilsvarende er det påvist at Newcastle Disease kan overleve længe på insekter. Et studie af insektbåren campylobacter smitte i danske fjerkræbesætninger viste, at et stort antal fluer dagligt blev transporteret igennem ventilationsanlæggene i en slagtekyllingebesætning (Hald et al. 2004). Der kan altså under danske forhold være en ikke ubetydelig transport af fluer fra udendørs områder til fjerkræstalde. Men dette viser ikke at kontaminerede fluer rent faktisk flyver influenza virus ind i fjerkræbesætninger, blot at fluer kan bære på virus længe nok til at de kan trænge ind i en besætning mens virus stadig er infektiøst.

Smitte fra insekter til høns i laboratoriet
Der udført en række eksperimentelle forsøg med smittespredning til høns via insekter. Stuefluer der eksperimentelt blev givet foder kontamineret med højpatogen H5N1 og derefter holdt levende i 24 timer, blev herefter fodret til kyllinger. Kyllingerne døde alle indenfor 7 dage (Wanaratana et al., 2013). Dette viser dog ikke at kontaminerede insekter i praksis smitter fjerkræ under naturlige forhold.

Smitte fra insekter til fjerkræ i danske besætninger
Et case-control forsøg med opsætning af fluenet på danske fjerkræbesætninger viste at nettene i høj grad beskyttede mod udbrud af campylobacter i flokkene sammenlignet med kontrolbesætningerne (Hald et al., 2007). Tidligere undersøgelser viste at 8% af fluerne udendørs var kontaminerede med campylobacter (Hald et al. 2004) nettene beskyttede altså mod introduktion af kontaminerede fluer i besætningerne. Sæsonvariationer i campylobacter-incidencen i danske slagtekyllingebesætninger viser også en høj korrelation mellem fluedensiteten og udbrud af campylobacter.

Potentiale for spredning af influenza A via insekter under feltforhold
Der findes ikke undersøgelser, der dokumenterer, at insekter i praksis introducerer influenza A til fjerkræbesætninger. Men:

1. influenzavirus overlever på fluer længe nok til, at fluerne kan nå at flyve aktivt virus ind i en besætning
2. influenzavirus i fluer smitter effektivt til kyllinger, der fodres med kontaminerede fluer eksperimentelt
3. insekter omkring udbrudsbesætninger tester positive for levende influenzavirus (også højpatogen)
4. danske fjerkræbesætninger smittes tilsyneladende med campylobacter fra vilde fugle via fluer, der bringer smitten ind i fjerkræstaldene

Det må således anses for meget sandsynligt, at stuefluer, der kommer i kontakt med kontamineret afføring fra vilde fugle, eller at spyfluer, der kommer i kontakt med døde vilde fugle eller afføring, og derefter flyver eller suges med ventilationen ind i en fjerkræbesætning, vil kunne overføre levende virus i en mængde, der efterfølgende vil føre til en infektion i kyllingerne. Kyllinger og høns vil aktivt forsøge at fange fluerne og på den måde risikere at indtage virus oralt. Imidlertid ved vi meget lidt om hvor mange fluer, der har kontakt med vilde fugle eller fugleafføring tilhørende de arter, som kan være bærere af influenza A. Og vi ved kun lidt om hvor mange fluer, der rent faktisk flyver ind i besætningerne i efterårsmånederne og hvor mange af disse, der helt eller delvist ender i maven på en kylling. Så mens smitte med stor sikkerhed kan ske via kontaminerede fluer, er det uklart om en sådan smitte i sker i et omfang, der har nogen praktisk betydning for udbrud af fugleinfluenza i danske fjerkræbesætninger. Det milde efterårsvejr i 2020 betyder, at der har været aktive fluer udendørs helt frem til sidst i november. Den danske vektorovervågning omfatter kun blodsugende vektorer og er ophørt i oktober, men det vides fra tidligere år, at især mitter er aktivt værtssøgende frem til december. Andre

vektorbårne infektioner har normalt en incidence top, samtidigt med at densiteten af insekterne topper, men fugleinfluenzasæsonen er primært drevet af introduktionen af virus til Danmark med trækfugle. Den manglende årstidskorrelation mellem insektdensitet og udbrud af fugleinfluenza er derfor ikke et argument for at insekter ikke spiller en praktisk rolle i forbindelse med influenzaudbrud på fjerkræbesætninger.

Referencer

Swabe et al (2006). Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza a viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. Am. J. Trop. Med. Hyg. 75(2) 327.32

Barbazan P, Thitithanyanont A, Missé D, Dubot A, Bosc P, Luangsri N, Gonzalez JP, Kittayapong P. (2008) Detection of H5N1 avian influenza virus from mosquitoes collected in an infected poultry farm in Thailand. Vector Borne Zoonotic Dis. 8(1):105-9. doi: 10.1089/vbz.2007.0142. PMID: 18279078.

Hald, B, Skovgård, H, Bang, DD, Pedersen, K, Dybdahl, J, Jespersen, JB, Madsen, M. (2004). Flies and Campylobacter infection of broiler flocks. Emerging infectious diseases, 10(8), 1490–1492. https://doi.org/10.3201/eid1008.040129.

Hald B, Sommer HM, Skovgård H.(2007) Use of Fly Screens to Reduce Campylobacter spp. Introduction in Broiler Houses. Emerging Infectious Diseases. 13(12):1951-1953. doi:10.3201/eid1312.070488.
Nielsen, AA., Skovgård, H., Stockmarr, A., Handberg K., Jørgensen PH. (2011) Persistence of Low-Pathogenic Avian Influenza H5N7 and H7N1 Subtypes in House Flies (Diptera: Muscidae). Journal of Medical Entomology 48(3), 608-614, (1 May 2011).

Wanaratana, S., S. Panyim, and S. Pakpinyo. (2011). The potential of house flies to act as a vector of avian influenza subtype H5N1 under experimental conditions. Med. Vet. Entomol. 25: 58-63.

Wanaratana S, Amonsin A, Chaisingh A, Panyim S, Sasipreeyajan J, Pakpinyo S. (2013) Experimental assessment of houseflies as vectors in avian influenza subtype H5N1 transmission in chickens. Avian Dis. 57(2):266-72. doi: 10.1637/10347-090412-Reg.1. PMID: 24689184.