Udarbejdet af	Lars Larsen, Charlotte Hjulsager, Anette Boklund
Øvrige deltagere	
Kontaktperson i FVST	Gudrun Sandø

Dato for henvendelse	Dato for svarfrist	Dato for afsendelse	Versionsnummer
15.11.2021	30.11.2021	30.11.2021	1

Journalnummer/sagsnummer	FVST	KU	SSI
	2021-14-81-15988	061-0267/21-3680	21/06945

Besvarelse vedr.

Opfølgning på LPIA om håndteringsmuligheder

Bestilling

OIE har nedklassificeret LPAI og i AHL er LPAI nu en kategori D sygdom (undgå spredning) og ikke længere en kategori A sygdom (pligt til at bekæmpe). Fødevarestyrelsen vurderer derfor nu, hvordan der skal følges op på fund af LPAI i fjerkræbesætninger, herunder fjervildt.

Bestillingen skal ses i sammenhæng med tidligere bestilling: Spørgsmål om LPAI (FVST journalnummer: 2021-14-81-14651).

Af jeres svar på ovenstående bestilling, fremgår det, at "det er meget tvivlsomt om en tomgangsperiode på 60 dage er nok til at inaktivere deponeret virus specielt i perioder med køligt vejr.", som svar på, om en tomgangsperiode kan anvendes som alternativ til rengøring og desinfektion i LPAI-smittede fjervildtvirksomheder.

Kan DK-Vet angive sikkerheden ved længere tomgangsperioder, som f.eks. 6, 9 eller 12 måneder?

Der vil formentlig ikke være krav fra myndighederne om aflivning af besætninger, der er positive for LPAI. I stedet vil besætningen blive sat under offentligt tilsyn. Det indebærer, at der ikke kan flyttes dyr eller produkter fra besætningen, der kan ikke tilføres nye dyr, der er krav til håndtering af gylle, gødning og døde dyr osv.

Der er nogle undtagelser, f.eks. kan fjervildtbesætninger udsætte fjervildt og slagtekyllinger eller slagteænder kan sendes til slagtning, ligesom æg kan flyttes til ægpakker/ægproduktvirksomhed.

Ved ophævelse af det offentlige tilsyn, og inden der kan sættes nye dyr ind, skal det dokumenteres, at fjerkræet ikke længere udgør en risiko(fritestning), eller besætningen skal tømmes med efterfølgende rengøring og desinfektion.

Derudover overvejer FVST at indføre en genindsættelsesprocedure, hvor flokken/besætningen undersøges efter indsættelse af nye fugle, og hvor disse prøver skal være negative, før der kan flyttes fjerkræ fra besætningen igen.

I den forbindelse, har vi følgende spørgsmål:

- Hvilket prøveset-up er tilstrækkeligt til at teste fjerkræet/besætningen fri for LPAI?
  Afklaring: Der undersøges for virus-cirkulation, og derfor har vi antaget at der er tale om PCR-test.
- Indebærer fritestning af fjerkræet, at huse, redekasser, bure, volierer mv. ikke formodes at udgøre en smitterisiko?
- Er der behov for en tomgangsperiode, f.eks. 3 uger, efter tømning af besætningen samt rengøring og desinfektion, før der kan indsættes nye fugle?
- Hvis der indføres en genindsættelsesprocedure som nævnt, hvor lang tid efter indsættelse af nye fugle skal der udtages prøver og hvor mange?
  Afklaring: Dette kan både være i en situation, hvor besætningen har været tømt, evt. har været rengjort og desinficeret, eller ikke har været tømt.

Svar

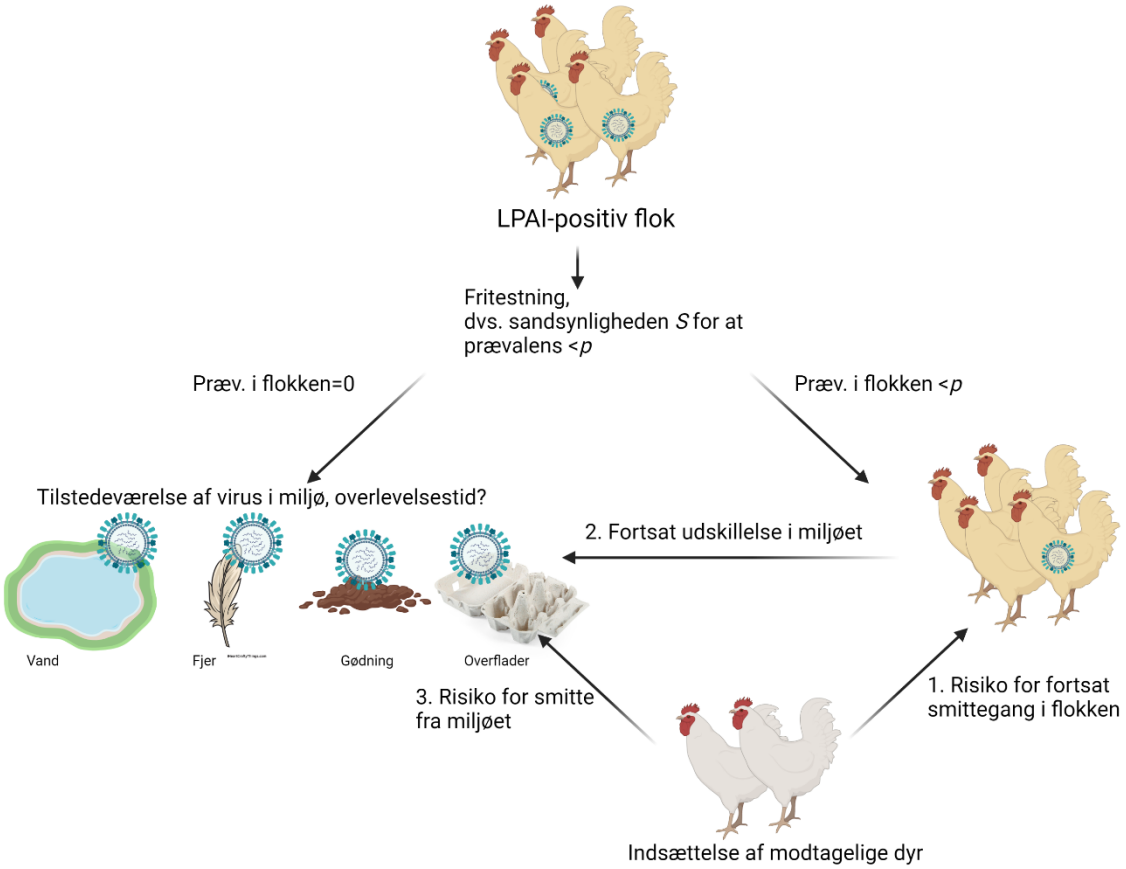
1. Hvilket prøveset-up er tilstrækkeligt til at teste fjerkræet/besætningen fri for LPAI?

En fritestning for LPAI vil afhænge af såvel arten af fjerkræ i besætningen, antallet af dyr i besætningen og med hvilken sandsynlighed man ønsker at kunne sige sig fri for LPAI.

Dette emne er beskrevet udførligt i en tidligere besvarelse, hvor vi netop svarede på, hvor længe man kunne forvente cirkulation af LPAI og hvornår man kunne tage prøver mhp. at teste besætningen fri ("Cirkulering af LPAI i smittede besætninger, 2020", FVST, 2020-14-81-01084). Således beskriver tabel 1 det forventede antal smittede dyr på dag 20, 30, 40 og 50 i besætninger af forskellig størrelse for hhv. høns, ænder og kalkuner. Desuden fremgår det af en tabel på side 4, hvilke stikprøvestørrelser der bør udtages i forskellige flokstørrelser, afhængigt af hvor mange smittede der forventes at være i besætningen. Ved at kombinere disse to tabeller for den aktuelle besætning, vil det således være muligt at fastlægge en passende stikprøve.

2. Indebærer fritestning af fjerkræet, at huse, redekasser, bure, volierer mv. ikke formodes at udgøre en smitterisiko?

Overlevelse af virus i besætningen vil i høj grad afhænge af besætningstypen og management forhold, samt hvorvidt 1) fjerkræet aflives og der rengøres og desinficeres, 2) fjerkræet aflives uden rengøring og desinfektion, eller 3) fjerkræ aflives ikke og der sker ingen rengøring og desinfektion. Fritestning er ikke en garanti for, at virus ikke længere cirkulerer i flokken, men vidner om, at hvis virus stadig er til stede i flokken, vil prævalensen med en given sandsynlighed være lavere end en given prævalens, *p* (Figur 1).



Figur 1: Skitsering af risikoen for fortsat virus cirkulation efter en flok er fritestet for LPAI.

I en situation, hvor flokken er testet fri, men den sande prævalens ikke er nul (Figur 1, 1.), vil risikoen for en fortsat smittegang i flokken afhænge af, hvor mange modtagelige dyr, der indsættes, og med hvilken frekvens der sker tilførsel af nye modtagelige dyr (herunder også tilførsel af nyklækkede dyr fra egen produktion), samt på hvilket niveau man ønsker at teste flokken fri. I denne situation vil man desuden kunne forvente en fortsat kontaminering af miljøet (Figur 1, 2.), og der kan således både ske direkte og indirekte smitte til de nyindsatte dyr.

I en situation, hvor prævalensen i besætningen er 0, enten fordi der ikke er cirkulation af LPAIV, eller fordi man har aflivet/slagtet den LPAI-positive flok, men ikke har rengjort og desinficeret, vil der være risiko for at LPAIV kan overleve i miljøet, og dermed at der kan ske indirekte smitte, hvis der indsættes modtagelige dyr i flokken (herunder også tilførsel af nyklækkede dyr fra egen produktion) (Figur 1, 3.). I en sådan situation vil det være nødvendigt at vurdere i den enkelte besætning, om der er søer eller vådområder, der skal tages hensyn til, og om der er fjer og lignende tilbage i besætningen. Grundet den længere overlevelsestid i disse materialer, vurderes de at have større betydning end tilstedeværelsen af gødning.

I kyllingefjer har Yamamoto et al. (2017) vist, at det krævede 5-10 dage at opnå 90% reduktion af infektiøst HPAIV (H5N1) (=1 log) ved en temperatur på 20°C, mens det tilsvarende krævede 40-56 dage ved en temperatur på 4°C. Desuden påviste Yamamoto et al. (2017) at HPAIV maksimalt overlevede hhv.

240[1] og 30 dage[1] i kyllingefjer ved 4°C og 20°C, mens Yamamoto et al. (2010) tidligere har vist at HPAIV (H5N1) maksimalt overlevede i 160[2] dage i andefjer. De samme studier viste endvidere overlevelse af virus i 160 dage i muskler. Gaide et al. (2021) viste desuden høj koncentration af clade 2.3.4.4b H5N8 HPAIV i fjer fra smittet fjerkræ, hvilket indikerer, at persistens af HPAIV i fjer også gælder for andre varianter af HPAI.

Brown et al.(2009)[3] undersøgte stabiliteten af 12 forskellige AI stammer under forskellige forhold i vand. Resultaterne viste at ved en temperatur på 4°C vil det tage 75 dage (medianværdi, min-maks.: 31-176 dage) før der er sket en $\log_{10}$-reduktion i $TCID_{50}$/ml, hvilket svarer til 90% reduktion i infektiviteten (Table 1, Brown et al., 2009).

I sediment fra søer viste Nazir et al. (2011)[4], at for 4 forskellige HPAIV (H5N1) stammer krævede det 19-54 dage at opnå 90% reduktion af infektiøst virus (=1 log) ved en temperatur på 10°C, mens det i fæces krævede 14-21 dage ved samme temperatur (se også svar på bestilling: " AI virus overlevelse i søer på ejendommens udeareal, 2021", FVST – 2020-14/81-08627).

3. Er der behov for en tomgangsperiode, f.eks. 3 uger, efter tømning af besætningen samt rengøring og desinfektion, før der kan indsættes nye fugle?

Såfremt en besætning er komplet rengjort og desinficeret vil der ikke længere være gødning eller fjer tilbage i besætningen og det antages derfor, at der her udelukkende tænkes på LPAIVs evne til at overleve på rene overflader i besætningen. Tiwari et al., (2006) har undersøgt AIV's (H13N7) evne til at overleve på 12 forskellige porøse eller ikke porøse overflader, og fandt at virus kunne overleve i 6 dage[5] på latex og fjer, men på de øvrige materialer overlevede i mindre end 6 dage (stål, fliser, træ, gummistøvler, dæk, æggebakke, æggeskal, stof af bomuld eller polyester, plastik).

Såfremt rengøring og desinfektion ikke er perfekt, gælder disse overlevelsestider ikke.

4. Hvis der indføres en genindsættelsesprocedure som nævnt, hvor lang tid efter indsættelse af nye fugle skal der udtages prøver og hvor mange?

Genindsættelses-procedurer vil afhænge af hvorvidt besætningen er tømt og rengjort og desinficeret, eller om der er tale om genindsættelse i en besætning, der ikke er blevet tømt.

[1] Materiale blev udtaget til virus isolation næste gang på hhv. dag 280 og dag 40.
[2] Materiale blev udtaget til virus isolation næste gang på dag 200.
[3] H1N1, H2N4, H3N2, H4N6, H5N2, H6N4, H7N6, H8N4, H9N2, H10N7, H11N6, H12N5
[4] H4N6, H5N1, H6N8, H1N1
[5] Men ikke efter 9 dage.

Det antages, at formålet med denne test er at påvise LPAI såfremt det er tilstede med en given prævalens. I figur 2 er beskrevet udviklingen af LPAI i en flok på 100, 300 eller 1000 modtagelige fjerkræ, dette antages at være det antal dyr, der indsættes. Det antages, at 1 dyr smittes enten direkte ved kontakt med tilbageværende smittede fugle eller indirekte ved kontamineret miljø. Og kurverne beskriver, hvordan smitten udvikles efter det første dyr er smittet. Dvs. at der evt. skal lægges noget tid til, fra introduktion af de nye dyr, til det første individ smittes. Omvendt kan flere modtagelige dyr smittes, fra enten direkte ved kontakt med tilbageværende smittede fugle, eller indirekte fra et kontamineret miljø, og dermed må udviklingen forventes at forløbe hurtigere end beskrevet i figur 2.

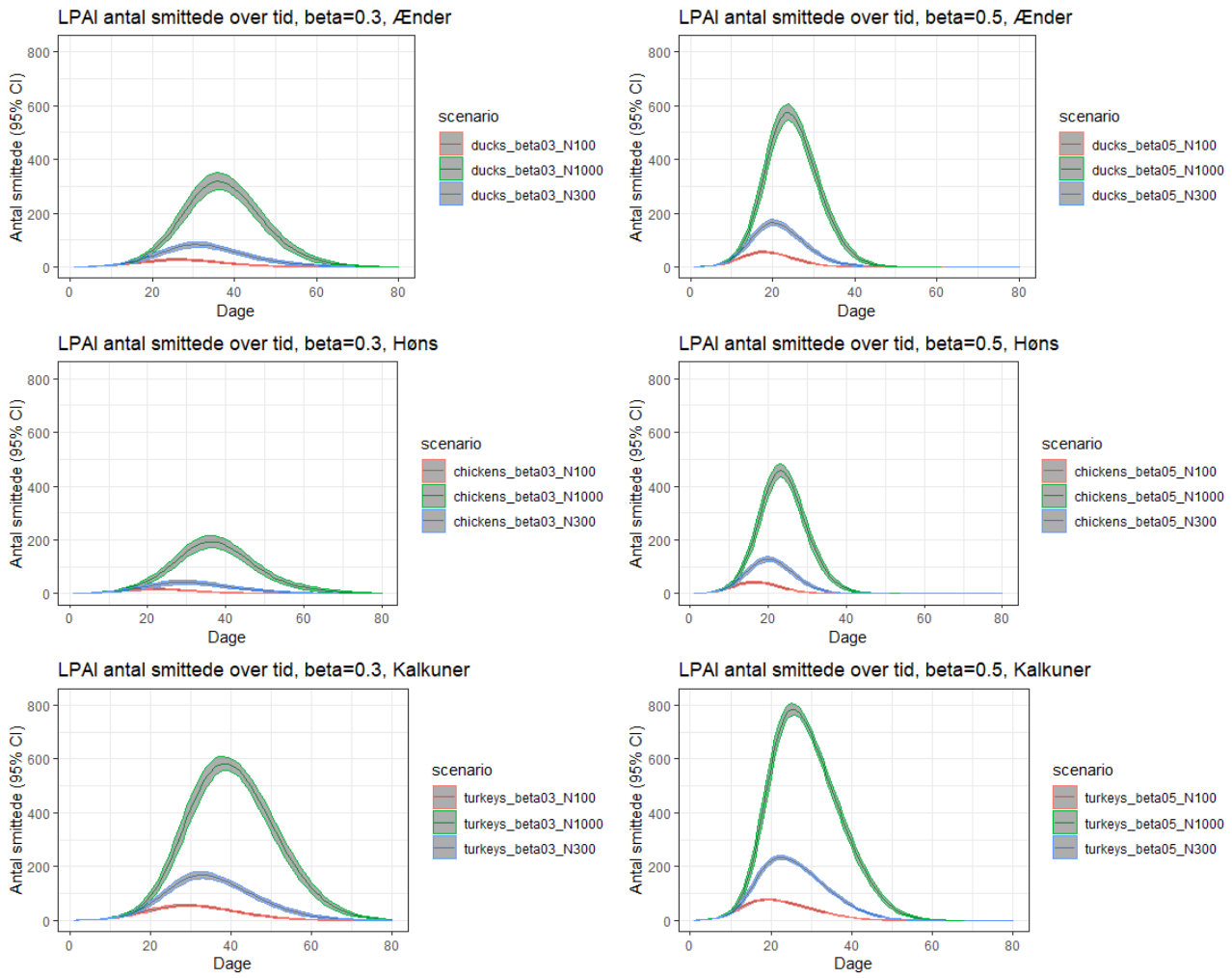
Det optimale tidspunkt for, hvornår man bør teste, afhænger af flere faktorer, herunder: arten af fjerkræ, antallet af nyindsatte dyr, hvorvidt dyrene indsættes i en tom besætning eller en besætning, hvor der står dyr i forvejen, samt hvorvidt man ønsker at detektere LPAI hurtigst muligt, eller ønsker at opnå størst sandsynlighed for at detektere LPAI såfremt det er tilstede.

I figur 2 er kurver for transmissionsrater (beta) på hhv. 0,5 og 0,3 anvendt, baseret på værdien for kyllinger (Gonzales et al. 2011, deres median og minimums-værdi), og svarende til et kontakttal (R_0) på 3,8 eller 1,3. Udskillelses-perioden er antaget forskellig for hver af de tre arter, og baseret på Germeraad et al., 2019. Modellen antager er der er random mixing mellem individerne, og at der ikke tilføres yderligere modtagelige dyr.

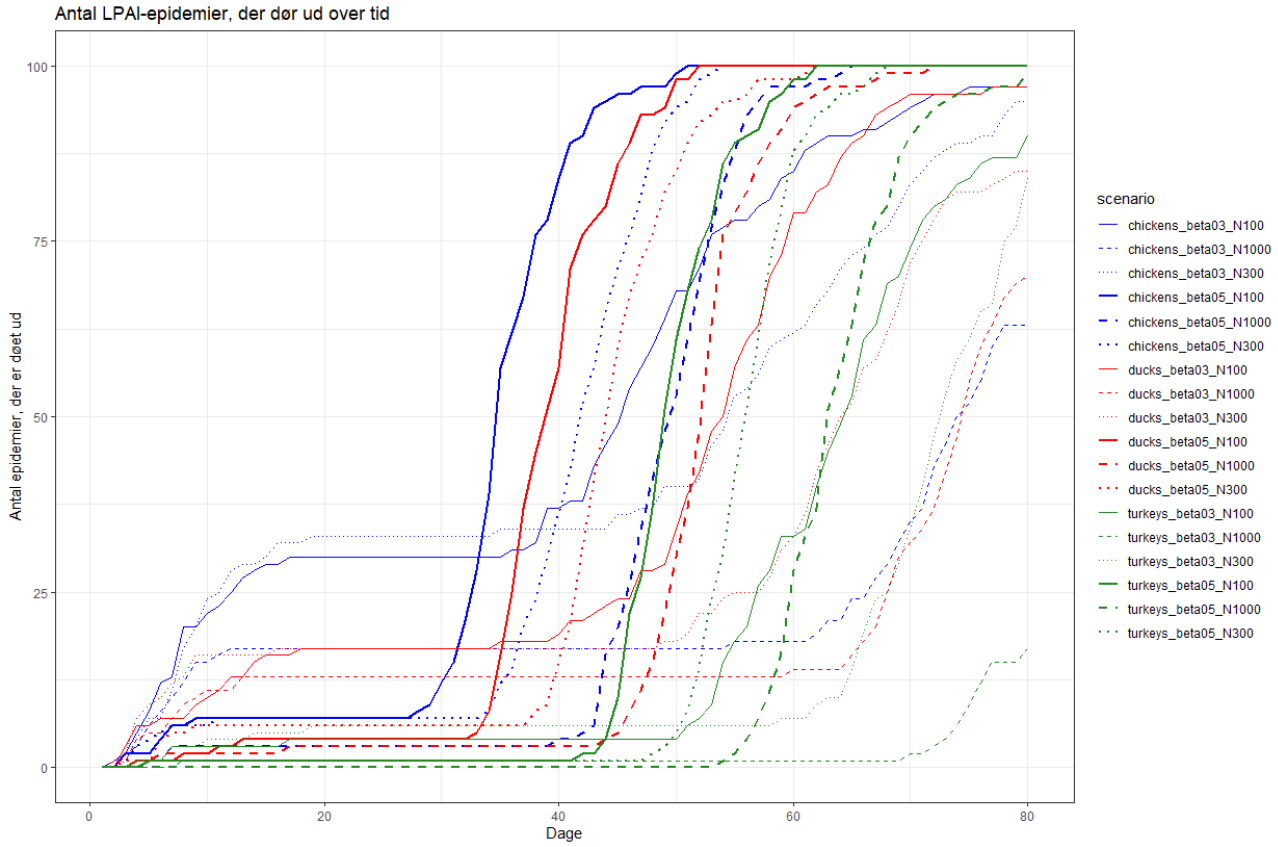
Såfremt de modtagelige dyr indsættes i en flok af tilbageværende fjerkræ, må det antages at transmissionsraten falder, i det de nyindsatte blandes mellem de tilbageværende og dermed bliver antallet af kontakter mellem den smittede og de modtagelige reduceret. En lavere transmissions-rate skubber kurverne mod højre (Figur 2, højre kolonne sammenlignet med venstre kolonne), dvs. at der går længere tid før antallet af smittede peaker, mens det maksimale antal smittede (toppunktet) falder. Såfremt der blandt de tilbageværende dyr er mange modtagelige vil det totale antal modtagelige dyr stige, dvs. det maksimale antal smittede (toppunktet) stiger, og kurven forskubbes en anelse til højre (Figur 2, rød, blå og grøn kurve sammenlignet).

Såfremt der med jævne mellemrum indsættes nye dyr, vil en infektion kunne fortsætte i længere tid. Figur 3 angiver antallet af epidemier (ud af 100), hvor epidemien er døet ud (0 smittede i besætningen) som funktion af tid. Antallet af prøver, der bør udtages, afhænger af den forventede prævalens i besætningen på udtagelses-tidspunktet, hvorvidt de indsatte dyr blandes med tilbageværende dyr, og hvorvidt det er muligt at skelne mellem ny-indsatte og øvrige dyr. Hvis det ikke er muligt at skelne må forventes en lavere prævalens, og dermed et større antal prøver. En tabel over sammenhæng mellem stikprøvestørrelse, forventet prævalens og besætningsstørrelse er tidligere leveret i besvarelsen ”Cirkulering af LPAI i smittede besætninger, 2020” (FVST, 2020-14-81-01084).

På baggrund af ovenstående redegørelse og med forbehold for at det optimale tidspunkt for fritesten afhænger af fugleart og af antallet af dyr, der indsættes, vurderer DKVET, at det mest optimale tidspunkt for testning er fire uger efter indsættelse. For at teste en besætning fri for virus, kræves 27-31 prøver, hvis det antages, at man skal kunne opdage infektion ved en prævalens over 10 %, mens der kræves hhv. 46-61 prøver eller 96-299 prøver, hvis det antages at man skal kunne opdage en prævalens over 5 % eller 1%. De angivne intervaller dækker besætninger med hhv. 100 og 10.000 dyr. Der er anvendt en antaget sensitivitet på 0.99 på individ-niveau, 0.95 på populationsniveau og en perfekt specificitet (=1). Hvis prøverne testes i pools, vil det formodentligt medføre en lavere sensitivitet af testen, hvilket der ikke er taget højde for i beregningen (stikprøveberegning fra ”Cirkulering af LPAI i smittede besætninger, 2020” (FVST, 2020-14-81-01084).



Figur 2: Udviklingen af antallet af smittede fjerkræ blandt indsatte modtagelige fjerkræ i en besætning, der enten er kontamineret, eller hvor der er lav-prævalent forekomst af LPAI, dvs. det er antaget at 1 dyr smittes i forbindelse med indsættelsen af nye dyr. Kurverne beskriver det gennemsnitligt antal smittede dyr pr dag, med konfidensintervaller omkring gennemsnittet. Beta beskriver transmissions-raten pr. dag (Gonzales et al., 2011)



Figur 3: Antallet af epidemier, hvor en epidemi af LPAI er døet ud som funktion af tid, efter indsættelse af N modtagelige dyr i en besætning, der enten er kontamineret, eller hvor der er lav-prævalent forekomst af LPAI, dvs. det er antaget at 1 dyr smittes i forbindelse med indsættelsen af nye dyr. Kurverne beskriver antallet af epidemier med 0 smittede på pågældende dag, ud af i alt 100 epidemier. Beta beskriver transmissions-raten pr. dag (Gonzales et al., 2011). Forskellige fjerkræ-arter er angivet med forskellige farver (kyllinger, ænder eller kalkuner), forskellige bredde på kurven angiver forskellige beta, og forskellige stregtyper angiver forskellige antal indsatte dyr (100, 300 eller 1000).

Referencer:

Brown, J. D., Goekjian, G., Poulson, R., Valeika, S., & Stallknecht, D. E. (2009). Avian influenza virus in water: Infectivity is dependent on pH, salinity and temperature. Veterinary Microbiology, 136(1–2), 20–26. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.027

DK-VET: Cirkulering af LPAI i smittede besætninger, 2020: https://dkvet.dk/raadgivning/raadgivningssvar/fugleinfluenza/Cirkulering_af_LPAI_i_smittede_bes_tninger_25-05-2020.pdf

DK-VET: AI virus overlevelse i søer på ejendommens udeareal, 2021: https://dkvet.dk/raadgivning/raadgivningssvar/fugleinfluenza/AI_overlevelse_i_s_er_p__ejendommens_udeareal_03-01-2021.pdf

Gaide N, Foret-Lucas C, Figueroa T, et al. Viral tropism and detection of clade 2.3.4.4b H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in feathers of ducks and geese. Sci Rep. 2021;11(1):5928. Published 2021 Mar 15. doi:10.1038/s41598-021-85109-5

Germeraad, E. A., Sanders, P., Hagenaars, T. J., de Jong, M. C. M., Beerens, N., & Gonzales, J. L. (2019). Virus shedding of avian influenza in poultry: A systematic review and meta-analysis. In Viruses (Vol. 11, Issue 9). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/v11090812

Gonzales, J. L., Stegeman, J. A., Koch, G., de Wit, S. J., & Elbers, A. R. W. (2013). Rate of introduction of a low pathogenic avian influenza virus infection in different poultry production sectors in the Netherlands. Influenza and Other Respiratory Viruses, 7(1), 6–10. https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2012.00348.x

Nazir, J., Haumacher, R., Ike, A. C., & Marschang, R. E. (2011). Persistence of avian influenza viruses in lake sediment, duck feces, and duck meat. Applied and Environmental Microbiology, 77(14), 4981–4985. https://doi.org/10.1128/AEM.00415-11

Tiwari, A., Patnayak, D. P., Chander, Y., Parsad, M., & Goyal, S. M. (2006). Survival of two avian respiratory viruses on porous and nonporous surfaces. Avian Diseases, 50(2), 284–287. https://doi.org/10.1637/7453-101205R.1

Yamamoto, Y., Nakamura, K., Yamada, M., & Mase, M. (2010). Persistence of avian influenza virus (H5N1) in feathers detached from bodies of infected domestic ducks. Applied and Environmental Microbiology, 76(16), 5496–5499. https://doi.org/10.1128/AEM.00563-10

Yamamoto, Y., Nakamura, K., & Mase, M. (2017). Survival of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in tissues derived from experimentally infected chickens. Applied and Environmental Microbiology, 83(16), 1–8. https://doi.org/10.1128/AEM.00604-17