Dansk Veterinær Konsortium

KØBENHAVNS UNIVERSITET

STATENS SERUM INSTITUT

ROFUS

Risikoanalyse og **O**vervågning af **FU**gle- og **S**vineinfluenza

Lene Jung Kjær (KU)

Tariq Halasa (KU)

Lars Erik Larsen (KU)

René Bødker (KU)

Charlotte Kristiane Hjulsager (SSI)

Anette Boklund (KU)

Carsten Kirkeby (KU)

December 2020

DK-VET rapport December 2020

ROFUS: Risikoanalyse og Overvågning af FUgle- og Svineinfluenza

Udarbejdet af Lene Jung Kjær (LJK), Charlotte Kristiane Hjulsager (CKH), Lars Erik Larsen (LEL), Anette Boklund (AB) og Carsten Kirkeby (CK).

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).

Opgavenummer i 2020: 30369300-5044125003-0000000.

Projektperiode: 01-01-2020 – 31-12-2020

Udgivet af Section for Animal Welfare and Disease Control, Department for Veterinary and Animal Sciences, University of Copenhagen.

Resumé

Formålet med ROFUS (Risikoanalyse og Overvågning af FUgle- og Svineinfluenza) projektet var at benytte de eksisterende data for overvågning af fugle- og svineinfluenza i Danmark, for at 1) screene for spatiale mønstre med højere eller lavere forekomst i Danmark 2) Analysere om spatio-temporale variable kan kædes sammen med forekomsten af fugleinfluenza, og 3) se om overvågningen kan optimeres spatio-temporalt. Projektet blev gennemført i 2020 og blev kun berørt af COVID-19 udbruddet i form af øget arbejdspres på SSI, som gjorde, at anskaffelsen af data blev fordelt ud over hele 2020 i stedet for i starten af projektet. Desuden blev skrivearbejdet med denne rapport forsinket, idet flere af forfatterne deltager i arbejde med COVID-19. I projektet har vi benyttet de eksisterende diagnostiske data fra passiv og aktiv overvågning for fugleinfluenza (2006-2020), samt opgørelser for udsatte fugle med henblik på jagt (2018-2019). For svineinfluenza har vi benyttet de eksisterende overvågningsdata fra SSI (2012-2019).

Vilde fugle

Vi undersøgte om den passive overvågning af fugleinfluenzavirus (Avian Influenza Virus, AIV, uanset subtype) i vilde fugle repræsenterede tilfældige stikprøver af vilde fugle fra hele landet, og fandt at der var betydelig bias i data: testede fugle kommer fra områder, der ligger tættere på veje, byer og kyster end generelt for Danmark. Det betyder, at den passive overvågning ikke er tilfældigt fordelt over hele landet, og derfor ikke kan forventes at være repræsentativ for den generelle situation. Da denne bias både findes for de positive og negative prøver, vurderede vi, at data kunne bruges til videre analyse i projektet alligevel. Vi undersøgte ydermere, om forskellige miljøvariable såsom habitattype, kyst og vådområder havde en effekt på, hvor man finder AIV i Danmark. Vi undersøgte også, om der kunne identificeres hot spots (områder med højere koncentration af AIV tilfælde end omkringliggende områder) eller coldspots (områder med lavere koncentration af AIV tilfælde end omkringliggende områder) af danske AIV fund baseret på både den passive og aktive overvågning.

Vi fandt en sammenhæng mellem AIV forekomst påvist i prøver indsamlet via den passive overvågning og afstand til kyst og afstand til vådområder. Baseret på disse miljøvariable kunne vi efterfølgende plotte prædiktionskort for hele Danmark. Baseret på data fra den aktive overvågning fandt vi en effekt af arealet af byer på forekomsten af AIV fund. Ydermere identificerede vi for begge overvågningstyper hotspots (områder med signifikant højere forekomst) og coldspots (områder med signifikant lavere forekomst). Forekomsten af hotspots og coldspots varierede over årene, men det generelle mønster viste hotspots i det sydlige Danmark – især på Lolland/Falster.

På baggrund af analyserne af overvågningen af AIV i vilde fugle er der udfærdiget og indsendt et manuskript til et fagfælle-bedømt tidsskrift.

Fjerkræbesætninger

Vi undersøgte, om geografiske variable, såsom afstand til vådområder og kyst og positive AIV forekomster i vilde fugle inden for samme postnummer som en besætning, kunne bidrage til at forklare fund af AIV (påvisning af virus og/eller antistoffer) i fjerkræbesætninger. Vi fandt, at antallet af positive AIV tilfælde i vilde fugle inden for samme postnummer havde en signifikant sammenhæng med antallet af positive besætninger, men fandt ingen signifikant effekt af afstand til kyst eller vådområder.

Desuden undersøgte vi, om der kunne identificeres clustre af hotspots og coldspots af fund af AIV i besætninger i hele landet. Vi fandt ingen clustre i AIV forekomsten i danske besætninger, hverken i individuelle år, eller samlet set for alle år.

Svinebesætninger

Vi undersøgte, om der kunne identificeres clustre af hotspots eller coldspots i forekomsten af svineinfluenzavirus (Swine Influenza Virus, SIV) i svinebesætninger i Danmark, både samlet set, dvs. uagtet hvilken subtype der var påvist, og på subtypeniveau. Vi identificerede ingen clustre, når alle subtyper blev analyseret samlet over årene eller de enkelte år. Ved opdeling i subtyper, identificerede vi clustre, når analysen blev kørt over alle år samlet, men ikke for de enkelte år. Generelt blev der identificeret hotspots i Midt-Nordjylland og coldspots på Sjælland og øerne.

Indholdsfortegnelse

Resumé ... 3
Indholdsfortegnelse ... 5
Formål og afgrænsning ... 6
Baggrund, relevans og perspektiv ... 6
Metode ... 7
Data ... 7
Fugleinfluenza ... 8
Svineinfluenza ... 9
Resultater ... 10
Vilde fugle – opgørelse af data, passiv og aktiv overvågning ... 10
Vilde fugle – sammenhæng mellem findesteder og tilgængelighed (passiv overvågning) ... 10
Vilde fugle - Analyse af den passive overvågning ... 11
Vilde fugle - Analyse af den aktive overvågning ... 11
Vilde fugle - Analyse af sammenhængen mellem udsætning fjervildt og forekomst af AIV ... 12
Vilde fugle - clusteranalyser ... 12
Fjerkræbesætninger - opgørelse af data ... 12
Fjerkræbesætninger – analyse af den aktive overvågning ... 14
Fjerkræbesætninger - clusteranalyser ... 14
Svineinfluenzavirus – opgørelse af data ... 14
Diskussion ... 16
Vilde fugle ... 16
Fjerkræbesætninger ... 17
Svinebesætninger ... 17
Fugleinfluenza ... 18
Svineinfluenza ... 18
Litteraturliste ... 19
BILAG 1: Figurer (må ikke offentliggøres – publiceres videnskabeligt) ... 20
BILAG 2: Analyser af miljøvariable og deres effekt på AIV forekomst i Danmark (må ikke offentliggøres – publiceres videnskabeligt) ... 28
BILAG 3: Cluster-analyse af den passive og aktive AIV/SIV overvågning i Danmark ... 33

Formål og afgrænsning

Fugle- og svineinfluenza er kerneområder i forhold til det veterinære beredskab, som KU og SSI ønsker at styrke og derfor igangsættes dette indledende projekt inden for områderne. Projektet skal afdække muligheder og begrænsninger ved de allerede indsamlede influenza-data med henblik på at benytte dem til videre analyser. Resultaterne fra dette projekt vil som udgangspunkt blive brugt til at definere opfølgende projekter. For eksempel vil simuleringsmodeller kunne anvendes til at undersøge, hvordan overvågning og kontrol af fugleinfluenza evt. kan optimeres. Simuleringsmodeller kan opbygges på baggrund af en lang række data, herunder også overvågningsdata. Ligeledes kan det være fordelagtigt at bruge spatio-temporale data fra humane udbrud af svineinfluenza sammen med de veterinære data. Endelig vil modellerne kunne anvendes i risikovurderinger i tilfælde af udbrud af zoonotiske influenza virus i fjerkræ eller svin.

Formålet var at benytte de eksisterende data for overvågning af fugle- og svineinfluenza med henblik på:

1. at lave spatio-temporale hotspot analyser for at se, om positive prøver i overvågningen (2012-2019 for svineinfluenza og 2006-2020 for fugleinfluenza) er knyttet til bestemte områder.

2. at korrelere disse hotspots spatielt med landskabstyper m.m. for at undersøge, hvor risikoen for hhv. introduktion til fjerkræbesætninger og spredning i lokalområdet er størst.

3. at analysere overvågningerne indtil nu for spatio-temporale coldspots (områder med få indsendelser) for at se, om de prøver som indsamles i Danmark dækker optimalt og i givet fald, hvor der mangler information. Analyserne fokuserer på både subtyper og grupperinger, hvor det er muligt.

Baggrund, relevans og perspektiv

Der er i en årrække analyseret prøver for både fugle- og svineinfluenza i Danmark. Disse prøver er fordelt på både passiv (vilde fugle og svin) og aktiv (vilde fugle og fjerkræ) overvågning. I den passive overvågning for fugleinfluenza testes fugle for AI virus, som findes døde af borgerne. I den aktive overvågning testes rask fjerkræ for AI antistoffer og/eller AI virus, mens et udvalgt antal tilsyneladende raske vilde fugle fra hele landet testes for AI virus, typisk indfanges fugle i forbindelse med ringmærkning, eller de er nedlagt ved jagt. Overvågningen for influenza i svin er udelukkende baseret på indsendelser til diagnostisk undersøgelse for influenzavirus.

En tidligere analyse har identificeret clusters (”hotspots” og ”coldspots”) i hhv. Jylland og på Sjælland, som muligvis kan hænge sammen med faktorer som besætningsstørrelse eller tidsperioder med humane udbrud. Nogle af disse faktorer har vi undersøgt i dette projekt.

Danmark ligger på flere forskellige ruter for trækfugle, som kan være blevet smittet andetsteds og føre AIV til Danmark fra bl.a. Sydeuropa, Grønland og Sibirien (Hjulsager et al. 2014). For fugleinfluenza findes der hvert år positive prøver i de passive og aktive overvågninger af fjerkræ og vilde fugle. De positive prøver fordeler sig tilsyneladende i clusters både spatielt og temporalt. Dette mønster kan tænkes at være kædet sammen med spatiale faktorer som f.eks. landskabstyper, der kan være habitat for fugle med højere risiko for at bære fugleinfluenza, og meteorologiske faktorer som f.eks. nedbør. Derfor kan forekomsten af fugleinfluenza i Danmark tænkes at hænge sammen med forskellige landskabstyper.

Der udsættes hvert år betydelige antal fjervildt med henblik på jagt i Danmark. Disse fugle opdrættes både i Danmark og i udlandet og kan derfor tænkes at bidrage til en spredning af fugleinfluenza i de lokalområder, hvor de udsættes. Fuglene går ofte tæt i større flokke, når de slippes løs, hvilket øger risikoen for spredning til vilde fugle i området og dernæst til fjerkræbesætninger i nærheden.

Data for prøver analyseret for fugle- eller svineinfluenza udtaget fra besætninger og fugle indsamlet i den passive og aktive overvågning, kan sammen med relevante potentielle risikofaktorer bruges til at lave statistiske modeller, der kan identificere områder og perioder med høj eller lav risiko for udbrud.

Hvis vi kan finde områder i Danmark og perioder med højere risiko for fugle- og svineinfluenza, vil det være muligt at optimere overvågningen af disse sygdomme. Formålet med dette projekt var derfor at benytte de allerede indsamlede data til at evaluere overvågningen indtil nu. Dette kan bidrage til en mere optimal overvågning fremadrettet, hvor udbrud kan opdages hurtigere.

Baseret på undersøgelserne af vilde fugle fra både den aktive og passive overvågning af AIV har vi udarbejdet og publiceret en videnskabelig artikel i Transboundary and Emerging Diseases (Kjær et al., 2021). Mange af figurerne i denne rapport omhandlende data fra de vilde fugle er taget fra dette manuskript, og derfor er nogle af dem på engelsk. De figurer, som er indsendt med manuskriptet, er vedlagt i Bilag 1, som derfor ikke skal offentliggøres sammen med denne rapport.

Metode

Data

Der foreligger allerede en del data tidligere indsamlet af DTU Vet / SSI, som vi har benyttet os af i dette projekt. For fugleinfluenza foreligger passive overvågningsdata for vilde fugle (observationer på koordinat-niveau) siden 2006 hos FVST. Desuden findes data fra den aktive overvågning hos FVST og SSI, som vi har inkluderet. Den aktive overvågning er foretaget på både tilsyneladende raske vilde fugle (observationer på postnummer-niveau, 2007-2019) og fjerkræbesætninger (2006-2019).

Udsætning af fuglevildt til jagt kan potentielt påvirke forekomsten af fugleinfluenza i områder, hvor disse fugle udsættes. Derfor blev data for udsætninger af fuglevildt til jagt (lokation og tidspunkt) i 2018 og 2019 rekvireret fra Miljøstyrelsen og inddraget i analyserne.

For svineinfluenza er der anvendt data fra diagnostiske indsendelser til Veterinærinstituttet og SSI i perioden 2012-2019. For både svin og fugle er inkluderet data vedrørende besætninger (størrelse, koordinater) fra Fødevarestyrelsen.

Vi har i analyserne desuden brugt frit tilgængelige data, såsom landskabstyper (European Environment Agency, 2018), kort over kyststrækninger og det danske vejnet (Kortforsyningen, 2020), humane populationsdata (Socioeconomic Data and Applications Center, NASA, 2015) samt data for klimavariable i Europa (kun tilgængeligt for EDENext partnere, (EDENext, 2014) (Bilag 2).

Data fra de disse kilder blev kombineret i følgende 5 datasæt, som dannede baggrund for følgende analyser:

1. Passiv overvågning af vilde fugle (virus påvisning)- repræsentativitet af findesteder, logistisk regressionsmodel, clusteranalyse

2. Aktiv overvågning af raske vilde fugle (virus påvisning)- logistisk regressionsmodel, clusteranalyse
3. Fjerkræbesætninger (antistof og/eller viruspåvisning) – logistisk regressionsmodel, clusteranalyse
4. Udsætning af fjervildt – logistisk regressionsmodel
5. Svinebesætninger (viruspåvisning og subtypning) - clusteranalyse

I alle analyser har vi brugt et P-niveau på 5% som indikation af signifikante sammenhænge.

Fugleinfluenza

Data fra den passive overvågning i vilde fugle genereres ved, at borgere indrapporterer fund af døde vilde fugle til FVST. De senere år har dette kunnet ske via en app. Myndighederne visiterer fuglene på findestedet og bringer dem derefter til det nationale reference laboratorie til undersøgelse for AIV. En lille andel af fuglene er indleveret af private borgere til faldvildtundersøgelser hos Vildtsundhed.dk, der støttes af Naturstyrelsen. Vi undersøgte om disse data var tilfældigt fordelt over hele landet eller var influeret af offentlig adgang og let tilgængelighed til de områder, hvor fuglene blev fundet. Derfor kiggede vi udelukkende på lokationer, hvor vilde fugle blev fundet (findesteder) i det passive datasæt, uagtet deres AIV-status samt variable, der kunne indikere tilgængelighed og adgang. Vi udregnede afstand til nærmeste kyst, afstand til nærmeste by (>200 indbyggere/km^2), samt afstand til nærmeste vej. Vi udvalgte derefter det samme antal tilfældige lokationer i Danmark som antal findesteder i det passive overvågningsdatasæt, udregnede de samme variable som ovenfor og sammenlignede findesteder med de tilfældigt udvalgte lokationer ved hjælp af en simpel non-parametrisk test (Kolmogorov-Smirnov). Vi gjorde dette for at undersøge, om der var en signifikant forskel imellem de to dataset mht. fordelingen af de forskellige variable, som et udtryk for tilgængelighed.

Sammenhængen mellem forekomsten af AIV i vilde fugle og forskellige miljøfaktorer blev undersøgt ved hjælpe af logistiske regressionsmodeller. Vi inkluderede afstand til kyst, afstand til vådområder og habitattype i analysen af den passive overvågning. I analysen af den aktive overvågning i vilde fugle inkluderede vi arealet af kyst, arealet af vådområder samt arealet af by (>200 indbyggere/km^2), da disse data var på postnummer-niveau og ikke havde eksakte koordinater. Vi medtog arealet af by som et mål for, om dette postnummer var mere præget af land end af by (for detaljer om analyserne se Bilag 2).

For den aktive AI overvågning i fjerkræbesætninger opdelte vi besætningstyperne i hovedgrupperne ”Hønsefugle” og ”Fjervildt” (se Tabel 1), og undersøgte om afstand til kyst og vådområder kunne have en effekt på AI-forekomst i besætningerne. Vi undersøgte ydermere, om forekomst af AIV i vilde fugle (på det samlede passive og aktive datasæt) inden for 6 måneder i samme postnummer kunne have betydning for forekomst af AI i besætninger (for detaljer om analyserne se Bilag 2).

Tabel 1. Opdelingen af forskellige CHR-besætningstyper i hovedgrupper til analyse

Hovedgruppe	Besætningstype i CHR-registret
Hønsefugle	Økologisk hønsehold, konsumæg, Frilandshønsehold, konsumæg, Slagtekalkuner, Centralopdræt, avl, slagtekyllinger, Centralopdræt, slagtekyllinger, Formering, slagtekyllinger, Skrabeægshønsehold, konsumæg, Stimulerede/berigede burhønsehold, konsumæg, Økologisk opdræt, konsumæg, Økologiske slagtekyllinger,

	Opdræt, konsumæg, Slagtekyllinger, Stalddørssalg, konsumæg, Æglæggere
Fjervildt	Blandet ænder, gæs og prydfugle, Formering, avl, gæs, Formering, gæs, Gråandehold, Slagteænder, Formering, ænder, Slagtegæs, Fasanhold, Økologiske slagteænder, Agerhønsehold

Data fra hver besætning (med samme CHR-nummer) med flere test inden for samme måned blev samlet. Derfor fremgik hvert CHR-nummer kun én gang per måned. Hvis et CHR-nummer var testet positiv for AIV (uanset subtype og om det var virus eller antistof fund) bare én gang inden for en måned med adskillige negative test inden for samme måned, blev det sat som værende positiv.

Vi lavede en selvstændig analyse af sammenhængen mellem forekomst af AIV i vilde fugle og udsætning af fuglevildt til jagt for årene 2018-2019. I denne analyse inkluderede vi udelukkende data fra den passive og aktive overvågning fra årene 2018-2020 (2020, da vi tillod at en udsætning fandt sted op til 8 måneder før sampling af overvågningsdata). I det passive datasæt undersøgte vi betydningen af afstand til nærmeste fjervildtudsætning (inden for 8 måneder), arten af de udsatte fugle (fasaner eller gråænder), samt antallet af udsatte fugle i udsætningen. For det aktive datasæt for vilde fugle, undersøgte vi effekten af det samlede antal fjervildt udsat inden for samme postnummer som observationen (inden for 8 måneder) og det samlede antal udsætninger inden for samme postnummer? (for detaljer om analyserne se Bilag 2).

Data for de passive og aktive vilde fugle og de aktive besætningsovervågningsdata fra fjerkræbesætninger benyttede vi ydermere i temporale og spatiale cluster-analyser for at se, om vi kunne identificere hotspots (områder med højere koncentration af AIV-tilfælde end i de omgivende områder) eller coldspots (områder med lavere koncentration af AIV-tilfælde end i de omkringliggende områder) af AIV i Danmark (for detaljer om analyserne se Bilag 3).

Da mange af observationerne fra både den passive og aktive overvågning af vilde fugle var en blanding af enkelte fugle og pools af flere fugle, opsummerede vi unikke lokationer/postnumrer per måned per år, således at den unikke lokation/det unikke postnummer blev sat som værende AIV positiv, hvis der bare var én positiv AIV observation fra denne lokation/postnummer inden for måneden og året. Vi undersøgte først om Machine Learning (ML) metoder kunne bruges til at vurdere effekten af landskabsvariable på forekomsten af AIV. Men vi fandt at ML ikke kunne bruges og brugte derfor mixed logistiske regressionsmodeller i alle analyserne (for detaljer se Bilag 2).

Svineinfluenza

Vi udførte en cluster-analyse for at se, om der var temporale og spatiale eller coldspots (for detaljer om analyserne se Bilag 3). Vi analyserede SIV data både samlet uanset subtype og individuelt i tre hovedgrupper af SIV subtyper baseret på HA-subtypen, som er den primære antigen markør, og som er

afgørende for valg af vaccinationsstrategi: H1av, H1pdm og H3hu. Vi har ikke undersøgt om forekomsten af SIV var relateret til miljøfaktorer.

Data fra 2012 manglede nøjagtig dato på prøvetagningen, så vi kørte alle analyser på årsbasis alene. Derfor opsummerede vi data, så et CHR-nummer kun fremgik én gang per år. Hvis et CHR-nummer blev testet positiv for SIV bare én gang inden for et år, uanset antallet af negative indsendelser inden for samme år, blev det sat som værende positiv. Kun et fåtal af svinebesætningerne indsendte prøver til undersøgelse for SIV oftere end én gang i løbet af et år.

Resultater

Vilde fugle – opgørelse af data, passiv og aktiv overvågning

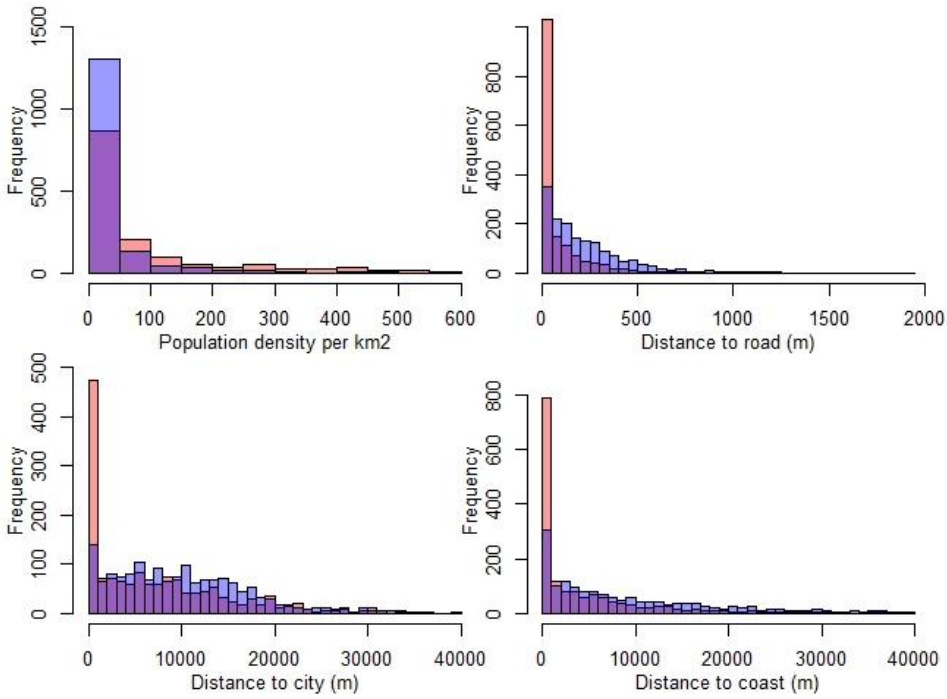
Efter oprensning af data og uden hensyntagen til, om en observation (givet ved lokation og tidspunkt) var af én eller flere fugle, indgik der i analysen 2.089 observationer (189 AIV positive) fra den passive overvågning fra 1.601 unikke findesteder. Fra den aktive overvågning af vilde fugle indgik 8.912 observationer (1.066 AIV positive) fra 234 unikke postnumre i analysen. Figurerne A1-A3 (Bilag 1) viser fordelingen af de forskellige datatyper og deres AIV status over år og måneder, samt forskellige fuglearter.

Ved opsummering af data per lokation/postnummer per måned og år havde vir 1.614 datapunkter (144 AIV positive) for den passive overvågning og 873 datapunkter (319 AIV positive) for den aktive overvågning i vilde fugle som blev brugt i vores videre analyser. Grundet få positive AIV-observationer, valgte vi ikke at opdele data i AIV subtyper eller fuglearter i vores videre analyser. Introduktion af virus i besætninger forventes heller ikke at være relateret til subtypen.

Data fra den aktive overvågning af vilde fugle er koncentreret fra september til december, hvor der også findes flest AIV positive fugle. Data fra den passive overvågning i vilde fugle er koncentreret omkring marts. Der blev generelt fundet flest positive fugle i marts og november, sammenfaldende med de måneder hvor der har været mange fund af AIV under de store udbrud af HPAIV i 2006, 2016/17 og 2018. I den passive overvågning dominerer prøver fra knopsvane, musvåge, spurvehøg, sølvmåge, skarv og troldand. De positive prøver stammer overvejende fra troldand, musvåge, knopsvane og havørn. I den aktive overvågning dominerer gråand, og de positive prøver stammer hovedsagligt fra gråand og krikand (Se Bilag 1, Figur A3).

Vilde fugle – sammenhæng mellem findesteder og tilgængelighed (passiv overvågning)

Vi undersøgte, om den passive overvågning af fugleinfluenza i vilde fugle repræsenterede tilfældige stikprøver af vilde fugle fra hele landet og fandt betydelig bias i data: de testede fugle kom fra områder, der ligger tættere på veje, byer og kyster end generelt for Danmark (Figur 1). Det betyder, at den passive overvågning ikke er tilfældigt fordelt over hele landet, og derfor ikke kan forventes at være repræsentativ for den generelle situation.



Figur 1. Histogrammer over findesteder i den passive AIV overvågning (rød) samt tilfældige lokationer (blå) i Danmark. Histogrammerne viser fordelingen af findesteder/lokationer i forhold til populationsdensitet/km^2, nærmeste afstand til vej, nærmeste afstand til by (> 200 indbyggere/km2) og nærmeste afstand til kyst. Alle x-akser er trunkerede for at udelukke store ekstreme observationer. Barerne i histogrammet er overlappende og gennemsigtige for at de kan sammenlignes visuelt, dvs. at lilla farve indikerer begge datasæt. Bemærk at fordelingerne ikke syner ens.

Vilde fugle - Analyse af den passive overvågning

I den logistiske regressionsmodel for den passive overvågning var landskabstyper ikke en signifikant variabel. Vi beholdt den dog i modellen, da AIC (Akaike Information Criterion) værdien steg, hvis den blev ekskluderet. En model med højere AIC angiver, at kvaliteten af modellen er lavere sammenlignet med en anden model på de samme data. Vi fandt en statistisk signifikant sammenhæng mellem afstand til kyst og vådområder og forekomsten af AIV, dvs. at sandsynligheden for at finde en positiv prøve falder med stigende afstand til kyst og vådområder. Den samlede statistiske model var svag i sin prædiktive evne (med en *accuracy* på 0.91, sensitivitet 0 og specificitet 1), da den med en sensitivitet på 0 prædikterede alle positive AIV observationer som falsk negative. På trods af den svage prædiktive evne af modellen, udarbejdede vi et prædiktionskort for hele Danmark. Modellen prædikterer høj risiko for forekomst af AIV langs kyster og fjorde (Figur A5, panel A, Bilag 1).

Vilde fugle - Analyse af den aktive overvågning

I den logistiske regressionsmodel for den aktive overvågning hos de vilde fugle fandt vi, at forekomsten af AIV var negativt korreleret med arealet af byer i samme postnummer. Arealet af vådområder og kyst var ikke signifikante, men arealet af kyst blev stadig inkluderet i modellen, da AIC-værdien var uændret, hvis den blev ekskluderet (Bilag 2, Tabel B1). De prædiktive evner af denne model var bedre end for de passive data med en sensitivitet på 0.62 og en specificitet på 0.85 (*accuracy* = 0.77). Baseret på dette udfærdigede vi et prædiktionskort for hele Danmark, baseret på postnummer. Her fandt vi også højrisikozoner i postnumre, der grænsede op til kyst eller fjord (Figur A5, panel B, Bilag 1).

Vilde fugle - Analyse af sammenhængen mellem udsætning fjervildt og forekomst af AIV

Vi fandt ingen sammenhæng mellem påvisning af AIV i vilde fugle og udsætning af fjervildt, hverken for de passive eller aktive overvågningsdata fra vilde fugle (Bilag 2, Tabel B1).

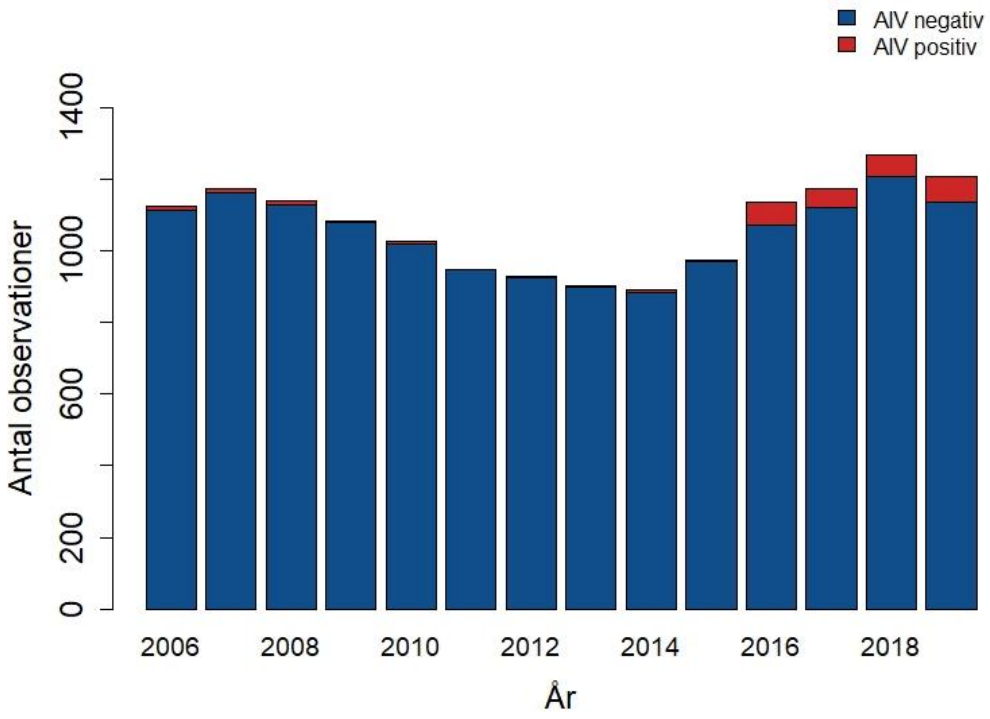
Vilde fugle - clusteranalyser

Baseret på de passive overvågningsdata fra vilde fugle identificerede vi clustre i årene 2006 og 2016-2018 (Figur A5, Bilag 1). Når data blev opsummeret over alle år, identificerede vi coldspots i Jylland og to enkelte hotspots – et omkring Fyn, Ærø og Langeland og et omkring Roskilde på Sjælland (Figur A6, Bilag 1).

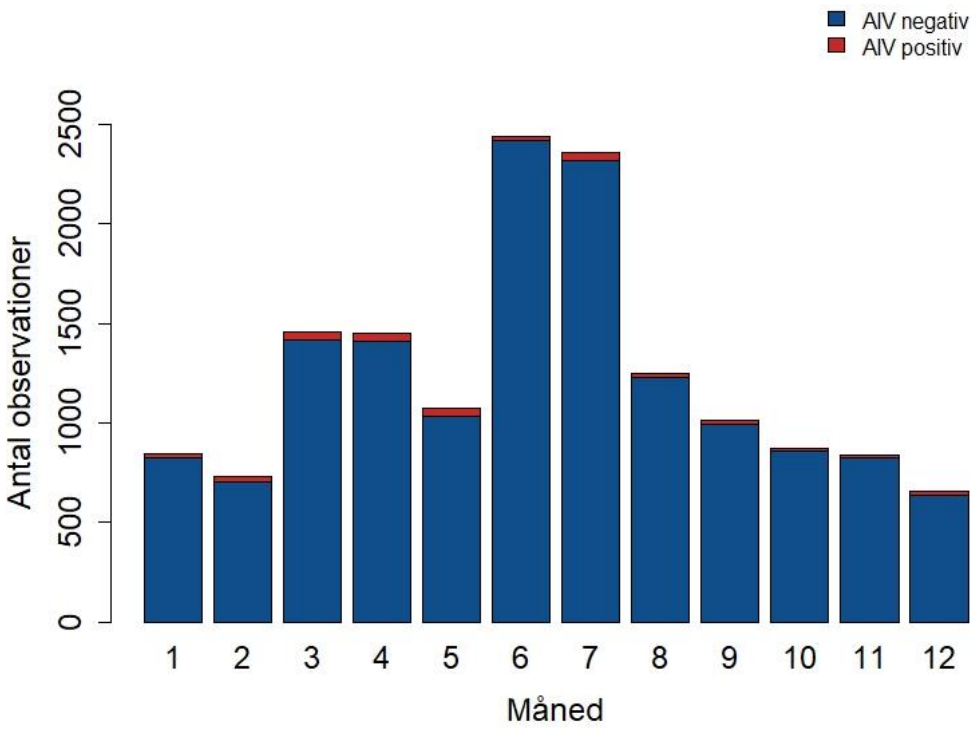
Baseret på de aktive overvågningsdata fra vilde fugle identificerede vi clustre i 2008-2009 og 2011-2016. Generelt identificerede vi coldspots på Nordsjælland, mens hotspots typisk blev identificeret på Midtsjælland, Fyn og øerne (Figur A7, Bilag 1). Når vi samlede data over alle år, identificerede vi et coldspot ved Nordsjælland og et hotspot, der strakte sig fra Nordjylland til Fyn, Sjælland og øerne (Figur A8, Bilag 1).

Fjerkræbesætninger - opgørelse af data

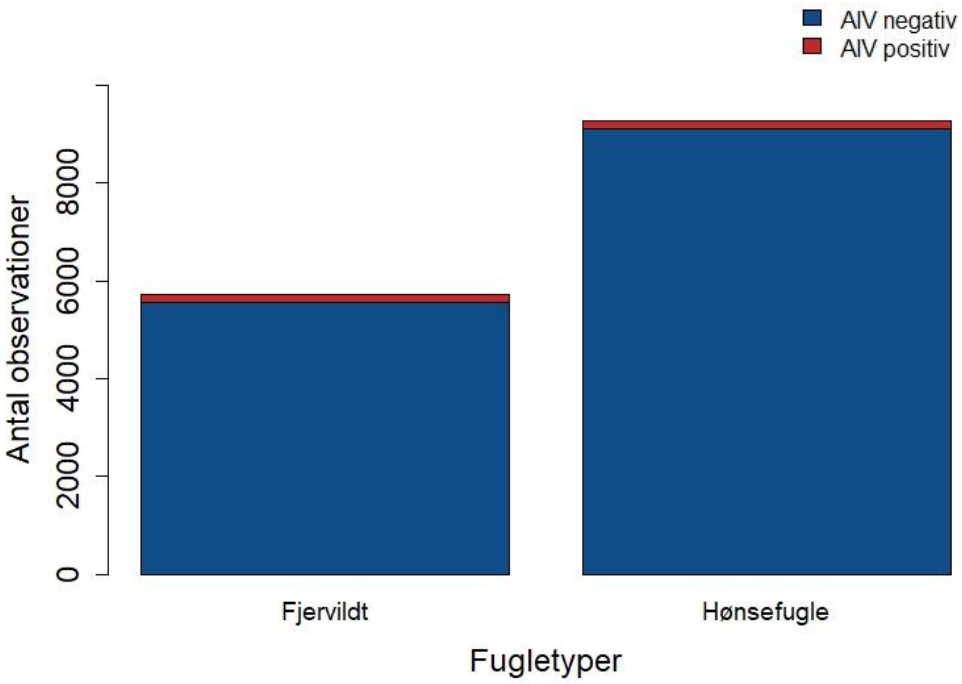
I alt indgik 14.987 observationer fra årene 2006-2019 i analysen. I perioden fra 2007 til 2014 faldt antallet af prøver fra fjerkræbesætninger, mens antallet af prøver steg fra 2015 til 2018 (Figur 2). Størstedelen af de positive prøver fra fjerkræbesætninger er fundet i de senere år. Antallet af prøver var størst i juni og juli, efterfulgt af marts og april (Figur 3). Der er omkring 50% flere prøver i gruppen "Hønsefugle" end i gruppen "Fjervildt", men antallet af positive prøver synes ens i de to grupper (Figur 4).



Figur 2. Antal observationer og AIV diagnoser (virus- og/eller antistof-fund) i danske fjerkræbesætninger per år fra den aktive overvågning (2007-2019).



Figur 3. Antal observationer og AIV diagnoser (virus og/eller antistof) i danske fjerkræbesætninger per måned fra den aktive overvågning (2007-2019).



Figur 4. Antal observationer af AIV positive og negative besætninger i den aktive besætningsovervågning (2007-2019) fordelt på de to hovedtyper "Hønsefugle" og "Fjervildt".

Fjerkræbesætninger – analyse af den aktive overvågning

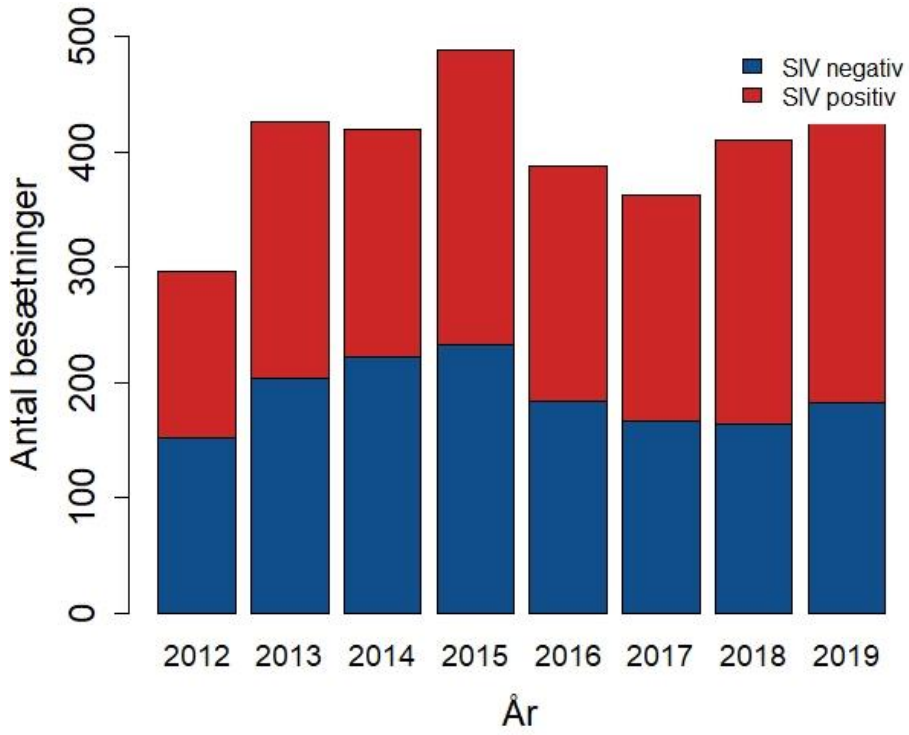
I den logistiske regressionsmodel for den aktive overvågning af fjerkræbesætninger fandt vi en signifikant effekt af antallet af positive AIV tilfælde i vilde fugle inden for samme postnummer og inden for de sidste 6 måneder. Modellen viste, at for hver stigning i antallet af positive AIV tilfælde i vilde fugle inden for 6 måneder i samme postnummer som en besætning, steg sandsynligheden for påvisning af AIV i besætningen med 17.7% (Bilag 2, Tabel B2). Vi fandt ingen signifikant effekt af afstand til kyst eller vådområder.

Fjerkræbesætninger - clusteranalyser

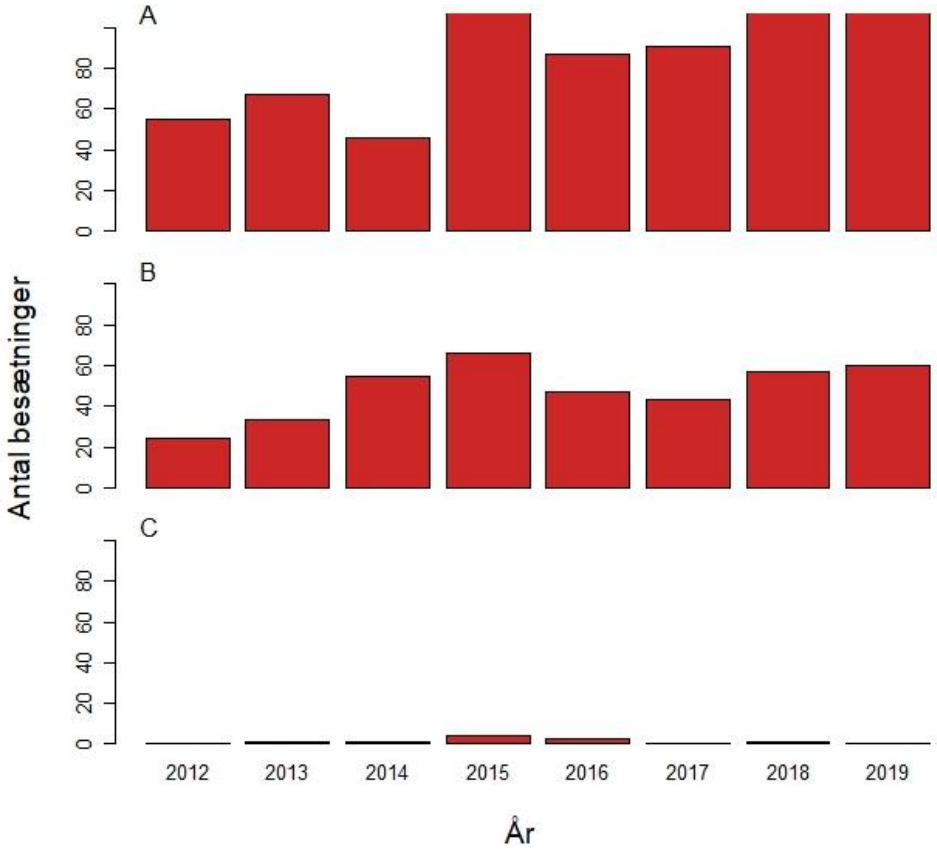
Spatiale cluster-analyser for AIV besætningsdata identificerede ingen signifikante clustre i AIV forekomsten (virus og/eller antistof), hverken for de enkelte år eller for årene samlet.

Svineinfluenzavirus – opgørelse af data

I analysen indgik data fra 2012-2019 med i alt 9.111 prøver fra svinebesætninger med CHR-numre i hele Danmark, hvoraf 3.725 prøver var positive for influenza A virus, svineinfluenzavirus (SIV). Prøverne stammede fra i alt 1.828 svinebesætninger, hvoraf 1.142 (62.5%) testede positive mindst 1 gang inden for årene 2012-2019. En besætning regnes for positiv hvis min. 1 prøve testes positiv for SIV. Til sammenligning var der i december 2020 registreret 5690 svinebesætninger (unikke chr-numre) med >10 dyr i det centrale husdyrbrugsregister (CHR). Både antallet af svinebesætninger, som indsender prøver til analyse for SIV, og andelen af positive prøver er nogenlunde stabile over årene (Figur 5). Subtyperne H1av og H1pdm udgør langt størstedelen af de postive prøver, mens H3hu sjældent påvises (Figur 6).

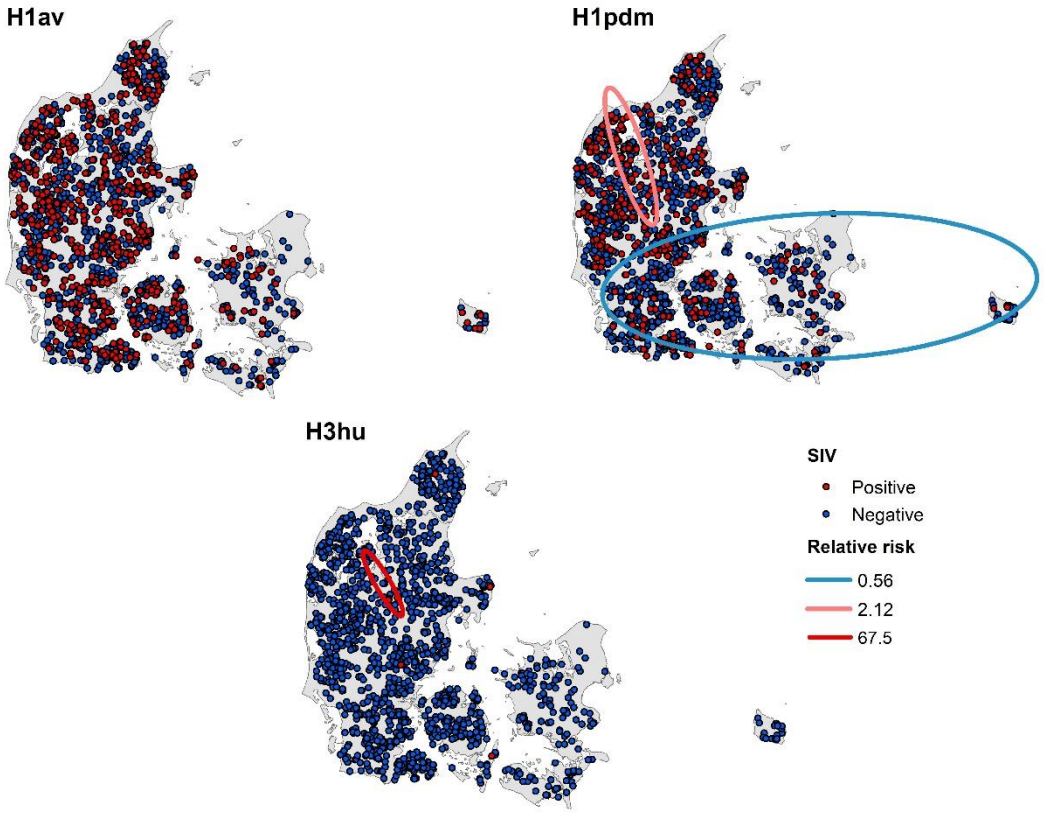


Figur 5. Antal svinebesætninger testet hhv. negativ og positiv for svineinfluenza (SIV) i årene 2012-2019.



Figur 6. Antal positive SIV besætninger per år fra 2012-2019 for HA-subtyperne A) H1av, B) H1pdm og C) H3hu.

Svinebesætninger – clusteranalyser For det samlede SIV data (alle sub-typer slået sammen) blev der ikke identificeret nogle signifikante clustre – hverken over alle år eller individuelle år. For HA-subtypen H1pdm identificerede clusteranalysen et hotspot i Nord-/Midtjylland og et coldspot, der dækker Bornholm, Sjælland, Fyn og øerne og Sydjylland (Figur 7). For H3hu blev et hotspot i Nord-/Midtjylland identificeret. Der blev ikke identificeret clustre for H1av. Alle tre analyser var kørt på hele årrækken samlet. For de individuelle år blev der ikke identificeret clustre.



Figur 7. Observationer af SIV undergrupper og estimerede clustre samlet over alle årene på besætningsniveau 2012-2019. *Relative risk* er den estimerede risiko for SIV inde i et cluster divideret med den estimerede risiko uden for clustret. En *relative risk* på 1 betyder, at der ikke er nogen forskel på risikoen mellem to områder.

Diskussion

Vilde fugle

Vi fandt, at de testede fugle i den passive overvågning kommer fra områder, der ligger tættere på veje, byer og kyster end generelt for Danmark. Hvis den passive overvågning skal kunne repræsentere hele landet, bør der gøres en indsats for at få prøver ind fra områder, der ligger længere væk fra veje, byer og kyster. Denne bias i indsamling indikerer dog sandsynligvis, at folk færdes mindre i disse områder, hvorved risikoen for at komme i kontakt med influenzaramte fugle i disse områder også er mindre.

I analysen af den passive overvågning for vilde fugle var afstand til kyst og vådområder signifikante i forhold til forekomsten af AIV. Det er forventeligt, da disse områder tiltrækker vandfugle som anses for hovedværter for AIV. I analysen af den aktive overvågning var kun arealet af byer (som et mål på ruralt vs. urbant) afgørende for forekomsten af AIV. Resultaterne indikerer, at for at mindske risikoen for introduktion af AIV fra vilde fugle, bør man anlægge fjerkræbesætninger langt fra kyst, vådområder. Dette underbygges af de prædikterede kort for sandsynligheden for forekomst af AIV, hvor vi ser en generel høj prædikteret sandsynlighed for forekomst af AIV langs Vestkysten og Limfjorden, samt ved kyster og vådområder over hele landet. (Figur A4, Bilag A).

I data fra den passive overvågning fandt vi mønstre, som generelt viser hotspots for AIV i det sydlige Danmark – især på Lolland/Falster. Dette kan muligvis skyldes, at fugle, som migrerer til dette område, kommer fra områder med højere forekomst af AIV. Vi fandt desuden coldspots i nogle år i Vest- og Sydjylland, og i hele Midt- og Sydjylland når vi kigger på alle årene samlet.

I data fra den aktive overvågning fandt vi hotspots omkring Sydsjælland og øerne samt Fyn og Sydjylland, men varierende mellem år (Figur A7, Bilag 1). Generelt fandtes et hotspot på Sydsjælland og øerne, samt dele af Fyn, Samsø og Djursland. Derudover et coldspot omkring København. Disse resultater kan også bruges i anbefalingen til placering af fjerkræbesætninger, så besætningerne undlades at etableres eller udbygges i områder med højere risiko for AIV.

Vi fandt ingen signifikant sammenhæng mellem udsætning af fjervildt og forekomsten af AIV. Resultater bygger på et forholdsvis lille datagrundlag, da det kun var muligt at få data for to års udsætninger. Resultatet betyder ikke nødvendigvis, at der ikke er en sammenhæng, men blot at det ikke var muligt at påvise en sammenhæng med de tilgængelige data.

Fjerkræbesætninger

Siden 2014 er der sket en stigning i antallet af positive fjerkræbesætninger (Figur 2). Der er generelt markant flere prøver fra hønsefugle end for fjervildt, men antallet af positive er tilsyneladende ens i de to grupper, hvorved andelen af positive er relativt lavere i hønsefugle (Figur 4). Vi fandt ingen clustre på enkelte år eller for hele perioden. Det vil sige, at de foreliggende data ikke indikerer noget signifikant geografisk mønster i forekomsten af AIV i fjerkræbesætninger. Da vi for forekomsten af AIV i vilde fugle kunne identificere geografiske forskelle, tyder fraværet af geografiske forskelle mellem fjerkræbesætninger på, at transmissionen fra vilde fugle til fjerkræbesætninger ikke er højt nok til, at denne sammenhæng slår igennem. Det kan dog også skyldes, at der ikke er data nok til at vise dette mønster, eller at der er andre faktorer, vi ikke har medtaget, som spiller en rolle for forekomsten af AIV i fjerkræbesætninger.

For overvågningen af AIV i fjerkræbesætninger blev analyserne foretaget på tværs af besætningstyper. I forbindelse med et notat til Fødevarestyrelsen (Overvågning for fugleinfluenza del 1: LPAI, FVST sagsnummer: 2020-14-81-01084) undersøgte vi forekomsten af clustre for forekomsten af AIV i henholdsvis besætninger med ænder/gæs og for økologiske æg i perioden 2011-2019. Der blev ikke identificeret clustre hverken for de individuelle år eller for den samlede periode.

Svinebesætninger

For SIV typerne H1pdm og H3hu fandt vi hot- og coldspots for hele perioden samlet, dog skal det nævnes at kun 9 besætninger testede positive for H3hu i årene 2012-2019, og derfor bør vi være varsomme med at konkludere noget for denne subtype. For begge typer blev hotspots identificeret i det nordlige Jylland, mens der for H1pdm fandtes et coldspot, der strakte sig fra Bornholm, over Sjælland, Fyn og øerne til Sydjylland. Denne information kan bruges til at målrette prøvetagningen til risikoområderne generelt. Det vil derfor være oplagt at koncentrere indsamlingen af SIV prøver i det nordlige Jylland, hvor vi fandt hotspots. Data viste, at H1pdm og H1av er udbredte i hele landet. Derfor er det vigtigt at opretholde en basal overvågning for SIV i hele landet, også hvis man øger overvågningen i områder, hvor der er estimeret en øget risiko. For H1pdm kan der måske være en korrelation til humane udbrud, da denne subtype også er i den humane sæsoninfluenza. For at afklare dette nærmere kunne man udføre analyserne på virussekvens-niveau, da det er muligt at skelne mellem svine- og humane (på sæson-niveau) H1pdm virus.

I analysen af svineinfluenza indgik data fra 1.828 svinebesætninger. Den store andel af besætninger med ukendt status reducerer signal/støj-forholdet og vanskeliggør analyserne.

Data vedr. svineinfluenza blev modtaget sent i projektforløbet, hvorfor der var begrænset tid til at gennemføre detaljerede analyser. I et opfølgende projekt kunne det være interessant at foretage yderligere opdeling af virus i subtyper ikke mindst med henblik på at analysere forekomsten af humane versus svinerelaterede virus-typer.

Cluster-analyserne identificerer områder med henholdsvis øget eller reduceret forekomst af influenza i forhold til omkringliggende områder Metoden giver os dermed ikke svar på, hvad der forårsager en evt. øget/reduceret forekomst. I visse tilfælde kan metoden identificere signifikante områder på grundlag af relativt få positive observationer. Således blev der for svineinfluenza af typen H3hu fundet hotspots på trods af kun 9 positive besætninger fordelt over landet.

Fugleinfluenza

Den passive overvågning af vilde fugle er overrepræsenteret på steder, der ligger tættere på veje, byer og kyster end generelt for Danmark. For bedre at kunne sige noget om den generelle situation i hele landet, bør der også tages prøver i områder, som indtil videre er underrepræsenterede. Forekomsten af AIV i vilde fugle er korreleret med afstanden til kyst og vådområder. Der bør derfor tages hensyn til dette, når der skal indsamles overvågningsprøver, ligesom denne viden kan inddrages ved etablering af nye fjerkræbesætninger. Således bidrager overrepræsentationen i prøveindsamlingen nær kyster positivt, når det handler om at øge sandsynligheden for at finde AIV-positive fugle. Der blev ikke påvist et geografisk mønster i forekomsten af AIV i fjerkræbesætninger. På baggrund af to års udsætningsdata var det ikke muligt at påvise en sammenhæng mellem områder, hvor der udsættes fugle til jagt og forekomsten af AIV i vilde fugle.

Svineinfluenza

Antallet af testede svinebesætninger samt antallet af SIV-positive besætninger var nogenlunde stabilt over årene. Vi identificerede ingen clustre, når alle subtyper blev analyseret samlet over årene eller de enkelte år. Ved opdeling i subtuper, identificerede vi clustre, når analysen blev kørt over alle år samlet, men ikke for de enkelte år. For subtype-gruppen af SIV H1pdm identificeredes et hotspot i Nord-/Midtjylland og et coldspot, der dækker Bornholm, Sjælland, Fyn og øerne og Sydjylland (Figur 7). For H3hu blev et hotspot i Nord-/Midtjylland identificeret. Der blev ikke identificeret clustre for H1av. Analyserne tyder derfor på, at der kan findes clustre på subtypeniveau, og de to hotspots der blev fundet var begge i Nord-/Midtjylland. Forekomst af hot-spots kan enten skyldes spredning af virus via f.eks. luft eller samhandel hvor grise flyttes mellem besætninger i et afgrænset område. Yderligere analyser på sekvensniveau er nødvendig for at analysere om identificerede hotspots skyldes spredning af virus via eksempelvis flytninger af svin eller for visse influenza-typer om der er tale om gentagne introduktioner til svin fra mennesker.

Litteraturliste

DK-VET: Notat vedr. overvågning for fugleinfluenza del 1: LPAI, FVST sagsnummer: 2020-14-81-01084, KU:061-0082/20-3680, SSI: 20/02649.

EDENext, 2014. MODIS v5: Temporal Fourier Analysis (TFA) Imagery Update 2001-12 [WWW Document]. URL https://www.edenextdata.com/?q=content/modis-v5-temporal-fourier-analysis-tfa-imagery-update-2001-12

European Environment Agency, 2018. Corine Land Cover 2018 raster data [WWW Document]. Eur. Environ. Agency. URL https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/copernicus-land-monitoring-service-corine

Hjulsager, C. K., Breum, S. Ø., Trebbien, R., Larsen, L. E., Therkildsen, O. R., Madsen, J. J., Thorup, K., Handberg, K., Jørgensen, P. H. 2014. Overvågning af aviær influenza i vilde fugle i Danmark 2003-2011.

Kjær, L.J., Hjulsager, C.K., Larsen, L.E., Boklund, A.E., Halasa, T., Ward, M.P. and Kirkeby, C.T. (2021), Landscape effects and spatial patterns of avian influenza virus in Danish wild birds, 2006-2020. Transboundary and Emerging Diseases. Accepted Author Manuscript. https://doi.org/10.1111/tbed.14040

Kortforsyningen, 2020. GeoDanmark [WWW Document]. URL https://kortforsyningen.dk/

R Development Core Team, 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput.

Socioeconomic Data and Applications Center, NASA, 2015. Gridded Population of the World, v4 [WWW Document]. URL http://sedac.ciesin.columbia.edu/data/collection/gpw-v4 (accessed 2.18.19).