

Laag Pathogene Aviaire Influenza Virus Infecties op pluimveebedrijven in Nederland

Jeanet van der Goot, Josanne Verhagen, Jose Gonzales, Jantien
Backer, Johan Bongers, Gert Jan Boender, Guus Koch

CVI rapport 12/CVI0036

Februari 2012

Laag Pathogene Aviaire Influenza Virus Infecties op pluimveebedrijven in Nederland

Jeanet van der Goot, Josanne Verhagen¹, Jose Gonzales,
Jantien Backer, Johan Bongers, Gert Jan Boender, Guus Koch

Centraal Veterinair Instituut

Wageningen Universiteit en Researchcentrum
Houtribweg 39, 8221 RA Lelystad
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Tel 0320 238 800
Fax 0320 238 668
Internet: www.cvi.wur.nl

¹Nationaal Influenza Centrum en Afdeling Virologie

Erasmus Medisch Centrum
Rotterdam
Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam
Tel 010 4088066

Samenvatting

Laag Pathogene Aviaire Influenza (LPAI) is een aandoening bij pluimvee die wordt veroorzaakt door LPAI virussen. In het algemeen geven LPAI virussen milde verschijnselen in de koppels zoals eilegdaling, en soms verloopt de infectie subklinisch. Wilde vogels worden beschouwd als het reservoir van influenza virussen.

In Nederland worden elk jaar meer infecties met LPAI virussen op pluimveebedrijven gedetecteerd. In dit rapport is gekeken naar een aantal mogelijke oorzaken voor deze toename, maar er kon geen duidelijke verklaring worden gevonden.

Leghen bedrijven met uitloop hebben een 11 keer zo grote kans om geïnfecteerd te raken door LPAI virussen dan leghen bedrijven zonder uitloop.

Ook bedrijven met kalkoenen of eenden hebben een grotere kans om geïnfecteerd te raken. Opgemerkt moet worden dat het hierbij om veel kleinere aantallen bedrijven gaat.

Het risico van introductie van LPAI op bedrijven met vrije uitloop kan op basis van de huidige beschikbare gegevens niet direct gecorreleerd worden aan de aanwezigheid van wilde vogels op of bij bedrijven. Uit onderzoek is gebleken dat wilde vogels wel pluimveelocaties bezoeken en dat het buitenvoeren van pluimvee een risicofactor lijkt te zijn voor het aantal bezoeken. Bij het Erasmus Medisch Centrum wordt op dit moment onderzoek gedaan naar de relatie tussen de aanwezigheid van water in de buurt van pluimveebedrijven en het risico op introductie. Om alle risicofactoren in kaart te brengen is een *case control* studie nodig, waarbij een groep geïnfecteerde bedrijven vergeleken wordt met een vergelijkbare groep niet-geïnfecteerde bedrijven.

Uit clusteranalyses blijkt dat er in Nederland geen gebieden zijn waar vaker dan gemiddeld AI virus infecties op pluimveebedrijven voorkomen.

Op pluimveebedrijven zien we een piek in het aantal virologische detecties in het voorjaar (maart-juni). Van de virologisch gedetecteerde bedrijven kunnen we grofweg zeggen dat ze 3 tot 70 dagen voor de detectie geïnfecteerd zijn geraakt.

Inhoudsopgave

Samenvatting	5
1. Inleiding	7
2. LPAI virus infecties op pluimveebedrijven.....	8
LPAI virus infecties bij pluimvee in Europa	8
LPAI virus infecties bij pluimvee in Nederland	8
3. Hebben pluimveebedrijven met vrije uitloop een grotere kans op een introductie van een LPAI virus dan bedrijven zonder uitloop?	11
Situatie in Nederland	11
Informatie uit de ons omringende landen	13
4. LPAI virus infecties en wilde vogels	14
Onderzoek naar AI virussen bij wilde vogels	14
De wilde vogelsoorten in Nederland waarin AI virussen worden gevonden.....	14
Het voorkomen van deze risicosoorten in Nederland	17
Contact tussen wilde vogels en pluimvee	18
De overeenkomst tussen LPAI virussen die gevonden worden op pluimveebedrijven en bij wilde vogels	19
5. Relatie tussen het risico op introductie en de tijd van het jaar.....	21
Seizoensvariatie in aviaire influenza virus prevalentie in wilde vogels	21
Is er een periode in het jaar aan te wijzen waarin het risico op een introductie op een pluimveebedrijf groter is?	23
6. Ruimtelijke analyses	25
Zijn er gebieden in Nederland waar het risico op introductie van een LPAI virus groter is dan gemiddeld?	25
Komen de locaties waar AI in wilde vogels wordt gevonden overeen met de locaties van geïnfecteerde bedrijven?.....	28
7. Discussie.....	29
8. Referenties.....	31

1. Inleiding

Laag Pathogene Aviaire Influenza (LPAI) is een aandoening bij pluimvee die wordt veroorzaakt door LPAI virussen. In het algemeen geven LPAI virussen milde verschijnselen in de koppels zoals eilegdaling, en soms verloopt de infectie subklinisch. Wilde vogels worden beschouwd als het reservoir van influenza virussen. Er zijn verschillende subtypes (H1 tot en met H16) van het LPAI virus. LPAI virussen van het subtype H5 of H7 kunnen overgaan in Hoog Pathogene Aviaire Influenza virussen, daarom is LPAI veroorzaakt door virussen van de subtypes H5 en H7 sinds 2005 een bestrijdingsplichtige aandoening. Sinds de HPAI H7N7 uitbraak in Nederland in 2003 wordt er intensiever gezocht naar besmettingen met LPAI virussen bij pluimvee door middel van serologische monitoring en de zogenaamde 'early warning'. In 2011 is op twee bedrijven een H7 virus gevonden via de early warning. Daarnaast worden er regelmatig serologisch positieve bedrijven gevonden en op een aantal van die bedrijven worden ook LPAI virussen van het subtype H5 of H7 of van een ander subtype geïsoleerd.

Het vermoeden bestaat dat serologisch en / of virologisch positieve bedrijven vaker dan gemiddeld bedrijven zijn met vrije uitloop. De vraag is of dit werkelijk zo is, en zo ja welke maatregelen dan genomen kunnen worden om de kans op een introductie op een bedrijf met vrije uitloop te verminderen.

Kennisvragen

- Hebben pluimveebedrijven met vrije uitloop een grotere kans op introductie van een LPAI virus dan bedrijven zonder buitenuitloop? Zo ja, is deze verhoogde kans kwantitatief uit te drukken?
- Is de kans op introductie van een LPAI virus bij pluimveebedrijven (met vrije uitloop) gerelateerd aan de wilde vogels?
- Is er een periode in het jaar aan te wijzen waarin het risico op een introductie groter is?
- Kunnen er factoren geïdentificeerd worden die de kans op een introductie van een LPAI virus op een pluimveebedrijf met vrije uitloop verminderen?

2. LPAI virus infecties op pluimveebedrijven

LPAI virus infecties bij pluimvee in Europa

-De Europese lidstaten rapporteren jaarlijks via de Nationale Referentie laboratoria (NRL) welke aviaire influenza (AI) virussen in hun land bij pluimvee gevonden zijn. Uit de rapportages van de Nationale Referentie Laboratoria blijkt dat er steeds meer AI virussen gevonden worden. In 2001: 2, in 2002: 7, in 2003: 12, in 2004: 19, in 2005: 23, in 2006: 20, in 2007: 18, in 2008: 27, in 2009: 29 en in 2010: 33 (European Commission-a).

-Binnen Europa is er sinds 2005 een verplichte surveillance naar LPAI virussen bij pluimvee. Per pluimveecategorie wordt daarbij voorgeschreven hoeveel bedrijven er per land bemonsterd moeten worden. De resultaten worden jaarlijks gerapporteerd, en uit deze gegevens blijkt dat de gevonden prevalenties schommelen. In 2006: 0.5%, in 2007: 0.15%, in 2008: 0.27%, in 2009: 0.31% en in 2010: 0.27%. Tussen de verschillende bedrijfstypen worden grote verschillen gevonden (European Commission-b). Er moet wel worden opgemerkt dat deze surveillance primair gericht is op het voorkomen van infecties met de subtypes H5 en H7.

LPAI virus infecties bij pluimvee in Nederland

In Nederland worden infecties met aviaire influenza virussen op de volgende manieren gedetecteerd:

-Verdenkingen. Hierbij wordt onderzoeksmateriaal door de nVWA rechtsreeks naar het Centraal Veterinair Instituut (CVI) gestuurd.

-Early warning. Hierbij wordt onderzoeksmateriaal rechtstreeks naar het CVI gestuurd buiten de nVWA om.

-Serologische monitoring. Alle pluimveebedrijven in Nederland worden afhankelijk van het type bedrijf 1 tot 4 keer per jaar serologisch onderzocht door de Gezondheidsdienst voor Dieren (GD), positieve sera worden bevestigd en getypeerd door het CVI. De verplichte Europese surveillance wordt binnen deze monitoring uitgevoerd.

Het aantal bedrijven op jaarbasis waar LPAI virussen en/of antilichamen werden gedetecteerd neemt toe, vooral in de jaren 2010 en 2011 (Tabel 1). Hoewel er een duidelijke toename is in het aantal detecties is de onderzochte periode (2006-2011) nog te kort om van een trend te kunnen spreken. Op pluimveebedrijven worden verschillende virussubtypes gevonden (Tabel 2).

Tabel 1. Aantal pluimveebedrijven waar LPAI virussen en/of antilichamen werden gedetecteerd in de periode 2006-2011

Jaar	Aantal gedetecteerde bedrijven met LPAI ¹	Aantal primaire introducties ²
2006	4	2
2007	13	8
2008	10	9
2009	11	10
2010	20	18
2011	33	23
Totaal	91	70

¹ Een bedrijf is als geïnfecteerd beschouwd als: een AI virus werd geïsoleerd, AI antigeen werd gedetecteerd door middel van de PCR, of antilichamen tegen AI virus werden aangetoond door middel van de influenza A Np antistof-Elisa. Het gaat hierbij om alle subtypes van het virus, dus niet alleen om H5 en H7.

² Een bedrijf is als secundair geïnfecteerd beschouwd (door spreiding vanuit een ander bedrijf) als hetzelfde virussubtype in dezelfde periode in de omgeving van een reeds gedetecteerd bedrijf werd gevonden, of als er een epidemiologische link kon worden gelegd. Hierbij moet worden opgemerkt dat het op basis van subtypering

nooit 100% zeker is of het om hetzelfde virus gaat, want ook bij hetzelfde subtype kan het om meerdere introducties gaan, zie de genetische analyse in hoofdstuk 4.

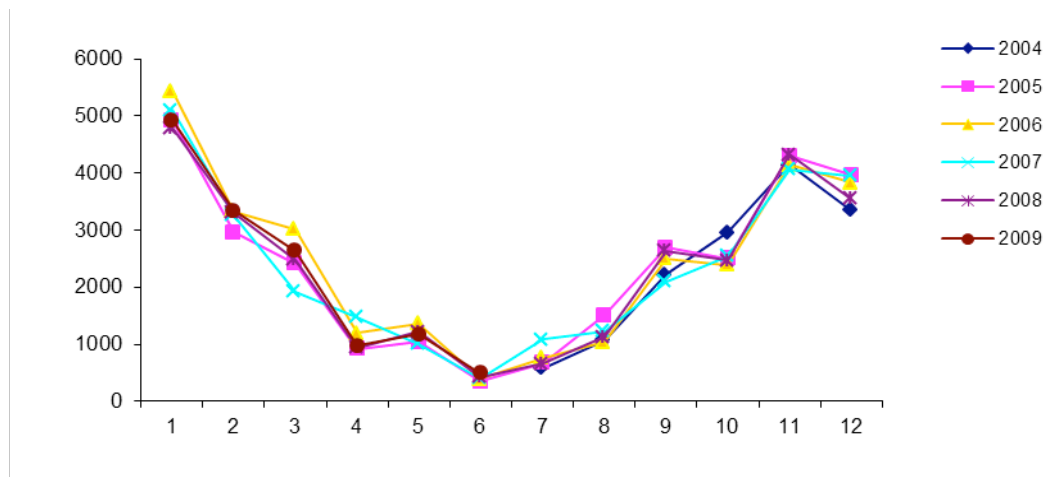
Tabel 2. Aviaire influenza virus subtypes gedetecteerd op pluimveebedrijven in Nederland in de periode 2006-2011.

HA	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N?*	Totaal
H1	2				1					3	6
H2			2							1	3
H3										2	2
H4											
H5		1								10	11
H6	1				1					3	5
H7	1		1	2			4			4	12
H8				3						9	12
H9		3								1	4
H10							2			1	3
H11											
H12										1	1
H13											
H14										1	1
H16											
H?*		1								13	14
Totaal	4	5	3	5	2		6			49	74

* De meeste bedrijven worden serologisch gedetecteerd door middel van de influenza A Np antistof-Elisa. Na het aantonen van antistoffen tegen Influenza worden deze getypeerd door middel van de Haemagglutinatieremmingstest en / of de Neuraminidase Inhibitietest. Deze typering is niet altijd mogelijk en dan is dit in de tabel aangegeven als H? en N?

Hieronder wordt een aantal mogelijke oorzaken voor het verhoogde aantal detecties besproken:

- Intensiever zoeken naar LPAI infecties. De meeste bedrijven (57/70) zijn gedetecteerd door middel van de serologische monitoring, deze vindt echter al plaats sinds 2004. Dit kan dus geen verklaring zijn voor de sterke toename van het aantal detecties in de laatste jaren.
- Hogere gevoeligheid van de gebruikte serologische test voor de monitoring. De sera worden bij de GD getest in een ELISA, de GD is in januari 2009 overgestapt naar een andere test. Uit de validatie van de GD blijkt dat de gevoeligheid van de nieuwe test vergelijkbaar is met de oude test. Dit is dus geen verklaring voor het verhoogde aantal detecties.
- Instellen van de early warning. De early warning is van kracht sinds 2008/2009, maar omdat de meeste bedrijven (57/70) serologisch zijn gedetecteerd, kan dit niet alleen het verhoogde aantal detecties verklaren.
- Een hogere prevalentie van LPAI virussen in wilde vogels. De aviaire influenza virus prevalentie in wilde vogels varieert per seizoen, per jaar, per wilde vogelsoort en per locatie (zie hoofdstuk 5), maar uit het onderzoek van het Erasmus Medisch Centrum (EMC) blijkt dat er op dit moment onvoldoende bewijs is voor een toegenomen prevalentie van LPAI virussen in wilde vogels.
- Een toename van het aantal wilde watervogels in Nederland. Uit de rapporten van SOVON blijkt dat de aantallen watervogels min of meer constant zijn in de periode 2004-2009 (Figuur 1). Dit kan dus ook geen verklaring zijn voor de toename van het aantal detecties.
- Meer contact tussen pluimvee en wilde fauna door een toename van het aantal bedrijven met vrije uitloop. Uit de gegevens van het Productschap voor Pluimvee en Eieren blijkt dat het totaal aantal bedrijven met vrije uitloop in 2008 en 2009 zelfs lager was dan in de jaren ervoor, het aantal neemt nu geleidelijk weer toe. In het aantal biologische bedrijven zit wel een stijgende lijn. De cijfers voor 2011 zijn nog niet bekend (Tabel 3).



Figuur 1. Aantallen wilde watervogels en enkele extra soorten per maand (x1000) in Nederland in de periode 2004-2009 (Van Roomen 2006, van Roomen 2007, Hustings 2008, Hustings 2009, Horman 2011).

Tabel 3. Aantallen pluimveebedrijven met leghennen naar houderijsysteem (Productschap voor Pluimvee en Eieren 2011).

jaar	Biologisch	Vrije uitloop	Totaal uitloop	Scharrel	Kooi	Totaal binnen
2006	72	225	297	580	318	898
2007	77	196	273	554	306	860
2008	84	181	265	546	309	855
2009	83	184	267	546	289	835
2010	94	188	282	558	278	836

Samengevat, er is op dit moment geen duidelijke oorzaak aan te geven voor het verhoogde aantal detecties van LPAI virus infecties op pluimveebedrijven.

3. Hebben pluimveebedrijven met vrije uitloop een grotere kans op een introductie van een LPAI virus dan bedrijven zonder uitloop?

Situatie in Nederland

Voor de Nederlandse situatie is dit onderzocht door J.L. Gonzales (Gonzales 2012a). Hij heeft voor de periode 2007 tot juli 2010 de pluimveebedrijven ingedeeld naar bedrijfstype en op basis van de gegevens uit de serologische monitoring van de GD en van het CVI onderzocht wat de kans op introductie per bedrijfstype is (Tabel 4).

Ongeveer 95% van de pluimveebedrijven in Nederland houdt kippen, deze bedrijven kunnen worden onderverdeeld in bedrijven met ouderdieren ($\approx 18\%$), vleeskuikens ($\approx 31\%$), binnen gehouden leghennen ($\approx 35\%$) en leghennen met uitloop ($\approx 10\%$)(Gonzales 2012a).

Tabel 4. Totaal aantal pluimveebedrijven (farms) en totaal aantal monsternames (No of samplings) van 2007 tot juli 2010 in Nederland. (Gonzales 2012a)

Year		Poultry Type							Total	
		Duck breeders	Duck meat	Turkeys	Layers-indoor	Layers-outdoor	Pullets	Broiler breeders		Broilers
2007	farms #	12	44	87	802	272	261	256	719	2453
	No of	19	46	300	1057	652	261	256	811	3402
	frequency	1.6	1.0	3.4	1.3	2.4	1.0	1.0	1.1	1.5
	time_risk	9.8	1.2	3.7	10.4	6.3	3.7	8.9	1.2	
	positive	2	0	6 ^{&}	0	3	1	0	0	12
2008	farms	12	42	70	714	295	250	249	775	2407
	No of	22	45	248	952	830	250	249	908	3504
	frequency	1.8	1.1	3.5	1.3	2.8	1.0	1.0	1.2	1.5
	time_risk	8.8	1.2	3.7	10.3	5.2	3.7	8.9	1.2	
	positive	1	1	0	1	4	0	1	0	8
2009	Farms	13	56	68	678	286	239	240	808	2388
	No of	13	62	210	841	796	239	240	899	3300
	frequency	1.0	1.1	3.1	1.2	2.8	1.0	1.0	1.1	1.4
	time_risk	10.3	1.2	3.7	10.9	5.6	3.7	8.9	1.2	
	positive	0	0	1	2	7	0	0	0	10
2010	Farms	9	27	60	351	227	231	236	547	1688
	No of	11	27	115	408	444	231	236	570	2042
	frequency	1.2	1.0	1.9	1.2	2.0	1.0	1.0	1.0	1.2
	time_risk	5.6	1.2	3.7	5.6	3.6	3.7	8.9	1.2	
	positive	0	0	1	6 [†]	9 [†]	0	0	0	16

Bedrijven zijn ingedeeld naar type pluimvee, ook zijn gegeven de gemiddelde frequentie van bemonstering per jaar (frequency), het gemiddelde aantal maanden dat een koppel dieren blootstaat aan infectie tussen twee opeenvolgende monsternames in (time_risk) en het totaal aantal seropositieve detecties in dat jaar (positive). Eén bedrijf geldt als één monstername.

Duck breeders: ouderdieren van vleeseenden, Duck meat: vleeseenden, Turkeys: kalkoenen, Layers indoor: leghennen zonder uitloop, Layers outdoor: leghennen met uitloop, Pullets: opfok leghennen, Broiler breeders: vleeskuiken-ouderdieren, Broilers: vleeskuikens.

Aantal bedrijven per jaar tijdens de surveillance. Alle bedrijven in Nederland zijn in ieder geval een keer per jaar bemonsterd.

& Deze bedrijven waren allemaal geïnfecteerd met LPAI virus van het subtype H1N5. Vijf van deze bedrijven waren secundaire geïnfecteerd vanuit het eerste bedrijf. Deze vijf bedrijven zijn niet meegenomen in de statistische analyse.

† Eén leghen-bedrijf zonder uitloop en twee leghen bedrijven met vrije uitloop waren geïnfecteerd met LPAI virus van het subtype H6N1. Twee van deze bedrijven (één zonder en één met vrije uitloop) waren secundair geïnfecteerd en zijn niet meegenomen in de statistische analyse.

Omdat de studie gaat over *het risico op introductie* is er alleen gekeken naar de bedrijven die als eerste met een bepaald virussubtype besmet zijn geraakt. Dit virus kan daarna spreiden naar andere bedrijven (secundaire infecties), maar deze bedrijven zijn in de analyse niet meegenomen. Voor dit onderzoek zijn de gegevens voor de tweede helft van 2010 en 2011 niet meegenomen, omdat die ten tijde van de analyse nog niet beschikbaar waren.

Uit het onderzoek van Gonzales blijkt dat leghen bedrijven met uitloop een 11 keer zo grote kans hebben om geïnfecteerd te worden dan leghen bedrijven zonder uitloop, waarbij gecorrigeerd is voor de frequentie van bemonstering (Tabel 5).

Ook blijkt dat eenden- en kalkoenenbedrijven een grotere kans hebben om geïnfecteerd te raken dan leghenbedrijven zonder uitloop (de referentiecategorie). Opgemerkt moet worden dat het vooral bij de eendenbedrijven om kleine aantallen bedrijven gaat waardoor de betrouwbaarheidsintervallen erg groot zijn. De eenden in Nederland worden binnen gehouden, maar toch is op bedrijven met ouderdieren van vleeseenden de kans op een LPAI virus introductie het grootst (RR=23), gevolgd door bedrijven met vleeseenden (RR=12.8). Een reden hiervoor zou kunnen zijn dat eenden gevoeliger zijn dan kippen voor LPAI virussen die uit wilde eenden, ganzen en zwanen komen (Mundt 2009). Een reden voor het verschil tussen ouderdieren en vleeseenden is dat de ouderdieren langer leven dan vleeseenden en daardoor een grotere kans hebben om serologisch positief te worden.

In Nederland worden alle kalkoenen binnen gehouden. Het is van kalkoenen bekend dat ze gevoeliger zijn voor infecties met LPAI virussen, dat wil zeggen dat bij kalkoenen minder LPAI virusdeeltjes nodig zijn om besmet te raken dan bij kippen (Tumpey 2004).

Tabel 5. Het aantal keren dat een introductie zal optreden per maand (rate) en relatief risico (RR) op introductie van een LPAI virus infectie op een pluimveebedrijf. Leghen-bedrijven zonder uitloop zijn gekozen als referentie categorie (RR=1) (Gonzales 2012a).

Poultry Type	rate/month			RR		
	Mean	LCI	UCI	Mean	LCI	UCL
breeders	1.0×10^{-4}	1.4×10^{-5}	7.8×10^{-4}	0.3	0.0	2.4
pullets	2.5×10^{-4}	3.2×10^{-5}	1.9×10^{-3}	0.7	0.1	5.7
layers indoor	3.5×10^{-4}	1.5×10^{-4}	8.1×10^{-4}	1.0		
layers outdoor	3.9×10^{-3}	2.1×10^{-3}	7.2×10^{-3}	11.0	4.9	24.8
turkeys	2.7×10^{-3}	7.9×10^{-4}	9.2×10^{-3}	7.6	2.0	29.0
duck meat	4.5×10^{-3}	5.9×10^{-4}	3.4×10^{-2}	12.8	1.6	102.7
duck breeders	8.1×10^{-3}	2.4×10^{-3}	2.7×10^{-2}	23.0	6.2	85.7
broilers ^{&}	0.0	0.0	8.1×10^{-4}	0.0		

LCI: ondergrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval, UCI: bovengrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval. Broiler breeders: vleeskuiken ouderdieren, Pullets: opfok leghennen, Layers indoor: leghennen zonder uitloop, Layers outdoor: leghennen met uitloop, Turkeys: kalkoenen, Duck meat: vleeseenden, Duck breeders: ouderdieren van vleeseenden, Broilers: vleeskuikens.

Informatie uit de ons omringende landen

-Tijdens de jaarlijkse Europese AI surveillance is er in 2007 extra aandacht geweest voor pluimveehouderijen met vrije uitloop. Op basis van dit onderzoek bleek dat er niet zulke grote verschillen werden gevonden tussen de prevalenties bij leghennen met vrije uitloop en leghennen zonder vrije uitloop, 0.15% en 0.09% respectievelijk. Geen van de vleeskuiken-bedrijven met vrije uitloop was positief. Ook in de zgn. "backyard flocks" werden lage prevalenties gevonden. De conclusie destijds was dat andere factoren zoals de levensduur van de dieren, handel, dierstromen en dierdichtheid wellicht ook een invloed hebben op de prevalentie van AI (European Commission-b).

-Er is contact opgenomen met de Nationale referentielaboratoria voor Aviaire Influenza in de ons omringende landen. Aan deze laboratoria is gevraagd of men gegevens heeft of rapporten kent waarin gekeken is naar een verhoogd risico voor de introductie van AI op bedrijven met vrije uitloop. Uit de reacties van de Nationale referentielaboratoria van Italië, Duitsland, Engeland en de Epidemiologische groep van het Friedrich Löffler Instituut in Duitsland blijkt dat men wel denkt dat er een verhoogd risico is op bedrijven met vrije uitloop, maar men heeft dit (nog) niet door middel van onderzoek aangetoond.

4. LPAI virus infecties en wilde vogels

Onderzoek naar AI virussen bij wilde vogels

-De Europese Commissie heeft sinds 2005 een verplicht surveillance programma voor AI virussen bij wilde vogels ingesteld voor alle lidstaten. De resultaten van de surveillance in wilde vogels worden jaarlijks gerapporteerd door het Community Referentie Laboratorium in de vorm van een "Annual report on surveillance for avian influenza in wild birds in the EU". Deze rapporten zijn te vinden op de website van de Europese commissie (European Commission-c).

-Voor Nederland wordt deze surveillance uitgevoerd door de groep van Ron Fouchier van het Erasmus Medisch Centrum (EMC). Deze groep doet sinds 1998 onderzoek naar Aviaire Influenza virussen bij wilde vogels.

De wilde vogelsoorten in Nederland waarin AI virussen worden gevonden

Uit onderzoek van het EMC blijkt dat het overgrote deel van de LPAI virussen wordt aangetoond in eenden, ganzen, zwanen en meeuwen. De hoogste prevalenties worden gevonden bij wilde eenden en overige eendensoorten (Tabel 6).

Tabel 6. Overzicht bemonsterde wilde vogels voor aviaire influenza virus surveillance in Nederland in periode 1998-2011. Aantal monsters virus positief = aantal monsters positief getest in PCR specifiek voor matrix segment van influenza A virussen. Overige Anseriformes: ganzen en zwanen, Charadriiformes: meeuwen, sternes, alken en steltlopers.

	Aantal monsters getest (n)	Aantal monsters virus positief (n)	Influenza virus prevalentie (%)	Aantal virussen geïsoleerd (n)	Aantal virussen geïsoleerd (%)
Wilde Eend	45449	3016	6.6	554	1.2
Overige eenden	14618	701	4.8	39	0.3
Overige Anseriformes	23393	767	3.3	51	0.2
Charadriiformes	19914	451	2.3	254	1.3
Overige soorten	6945	4	0.1	0	0.0
Totaal	110319	4939	4.5	898	0.8

Hieronder volgt een meer gedetailleerd overzicht waarin is aangegeven in welke soorten en hoe vaak aviaire influenza virussen werden aangetoond in Nederland (Tabel 7).

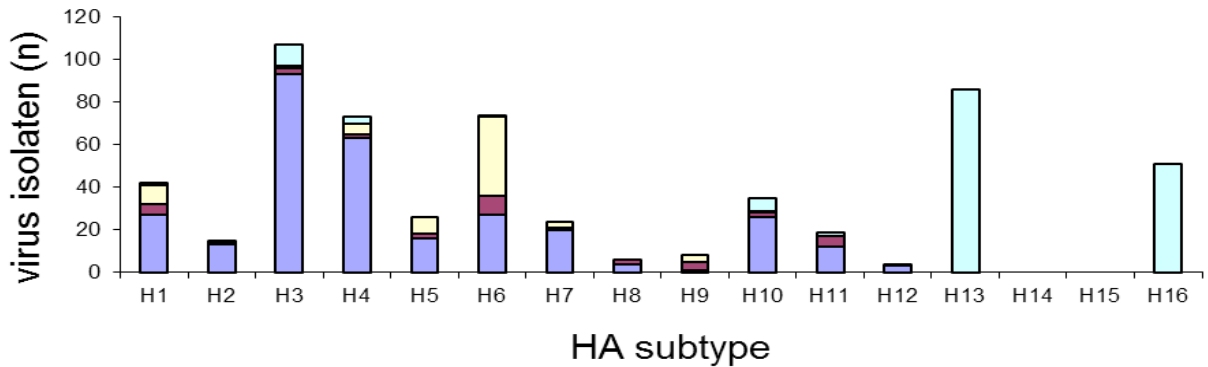
Tabel 7. Overzicht van soorten wilde vogels positief getest op de aanwezigheid van aviaire influenza virussen in de periode 1998 - 2010 in Nederland.

Orde	Familie	Soort	Aantal monsters(n)	Virus prevalentie(n)	Virus prevalentie(%)
Anseriformes	Eenden	10 soorten	52757	3372	6.4
		Wilde eend (<i>Anas platyrhynchos</i>)	40009	2748	6.9
		Smient (<i>Anas penelope</i>)	8545	395	4.6
		Wintertaling (<i>Anas crecca</i>)	1569	117	7.5
		Krakeend (<i>Anas strepera</i>)	1015	54	5.3
		Slobeend (<i>Anas clypeata</i>)	495	26	5.3
		Pijlstaart (<i>Anas acuta</i>)	534	18	3.4
		Bergeend (<i>Tadorna tadorna</i>)	361	4	1.1
		Eidereend (<i>Somateria mollissima</i>)	128	8	6.3
		Kuifeend (<i>Aythya fuligula</i>)	85	1	1.2
		Tafeleend (<i>Aythya ferina</i>)	16	1	6.3
	Ganzen	8 soorten	20627	604	2.9
		Kolgans (<i>Anser albifrons</i>)	12299	492	4.0
		Brandgans (<i>Branta leucopsis</i>)	2444	46	1.9
		Grauwe gans (<i>Anser anser</i>)	2096	15	0.7
		Taigarietgans (<i>Anser fabalis</i>)	1449	28	1.9
		Rotgans (<i>Branta bernicla</i>)	934	9	1.0
		Nijlgans (<i>Alopochen aegyptiaca</i>)	614	5	0.8
		Canadese gans (<i>Branta canadensis</i>)	501	3	0.6
		Kleine rietgans (<i>Anser brachyrhynchus</i>)	290	6	2.1
	Zwanen	3 soorten	2892	24	0.8
		Knobbel zwaan (<i>Cygnus olor</i>)	2453	7	0.3
		Fluit zwaan (<i>Cygnus colombianus</i>)	267	16	6.0
		Kleine zwaan (<i>Cygnus bewickii</i>)	172	1	0.6
Charadriiformes	Meeuwen	6 soorten	15930	358	2.2
		Kokmeeuw (<i>Chroicocephalus ridibundus</i>)	10822	341	3.2
		Kleine mantelmeeuw (<i>Larus fuscus</i>)	1986	2	0.1
		Stormmeeuw (<i>Larus canus</i>)	1874	2	0.1
		Zilvermeeuw (<i>Larus argentatus</i>)	1201	9	0.7
		Dwergstern (<i>Sternula albifrons</i>)	20	2	10.0
		Grote mantelmeeuw (<i>Larus marinus</i>)	27	2	7.4
	Steltlopers	7 soorten	3624	34	0.9
		Bonte strandloper (<i>Calidris alpina</i>)	2002	8	0.4
		Steenloper (<i>Arenaria interpres</i>)	743	19	2.6
		Red Knot (<i>Calidris canutus</i>)	383	1	0.3
		Kemphaan (<i>Philomachus pugnax</i>)	362	1	0.3
		Tureluur (<i>Tringa totanus</i>)	79	2	2.5
		Wulp (<i>Numenius arquata</i>)	50	2	4.0
		Roodkeelstrandloper (<i>Calidris ruficollis</i>)	5	1	20.0
Gruiformes	Rallen	2 soorten	923	2	0.2
		Meerkoet (<i>Fulica atra</i>)	624	1	0.2
		Waterhoen (<i>Gallinula chloropus</i>)	299	1	0.3
Passeriformes	Gorzen	1 soort	135	1	0.7
		Rietgors (<i>Emberiza schoeniclus</i>)	135	1	0.7
	Vliegenvangers	1 soort	21	1	4.8
		Bonte vliegenvanger (<i>Ficedula hypoleuca</i>)	21	1	4.8
Totaal			96909	4396	4.5

In wilde vogels worden alle bekende AI virus subtypes gevonden. De grootste diversiteit in subtypes wordt in wilde eenden en overige eendensoorten gevonden in de maanden september en oktober (Tabel 8 en Figuur 2a en 2b).

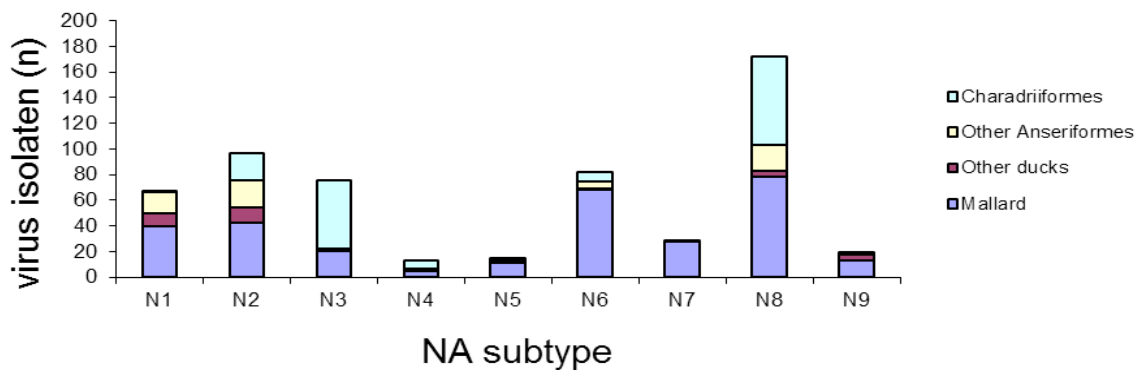
Tabel 8. Aviaire influenza virus subtypes gedetecteerd tijdens AIV surveillance in wilde vogels in Nederland 1998-2011 (n=570).

HA	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	Totaal
H1	36	2	1	1	1			1		42
H2		3	7						5	15
H3	1	17	1		1	17		69	1	107
H4		6			7	55		5		73
H5		17	8			1				26
H6	15	21			3			35		74
H7	9	1	5	1			7	1		24
H8	1			5						6
H9		8								8
H10	3			6		4	22			35
H11	2	1	1					2	13	19
H12					3			1		4
H13		21	3			5		57		86
H16			50					1		51
Totaal	67	97	76	13	15	82	29	172	19	570



Figuur 2a. Verdeling HA subtypes per categorie wilde vogel gebaseerd op virus isolaten, Nederland, 1998-2011(oktober), n=570.

■Charadriiformes ■Other Anseriformes ■Other ducks ■Mallard



Figuur 2b. Verdeling NA subtypes per categorie wilde vogel gebaseerd op virus isolaten, Nederland, 1998-2011(oktober), n=570. Charadriiformes: meeuwen, stern en steltlopers; Other anseriformes: ganzen en zwanen; Other ducks: overige eenden; Mallard: wilde eend.

Er lijkt geen overeenkomst te zijn tussen de prevalenties in subtypes in de wilde vogels en in pluimvee: uit tabel 8 blijkt dat van de geïsoleerde virussen de types H3(N8), H4(N6) en H13(N8) het meest worden gevonden bij wilde vogels. Deze subtypes werden niet of nauwelijks gevonden bij pluimvee (Tabel 2).

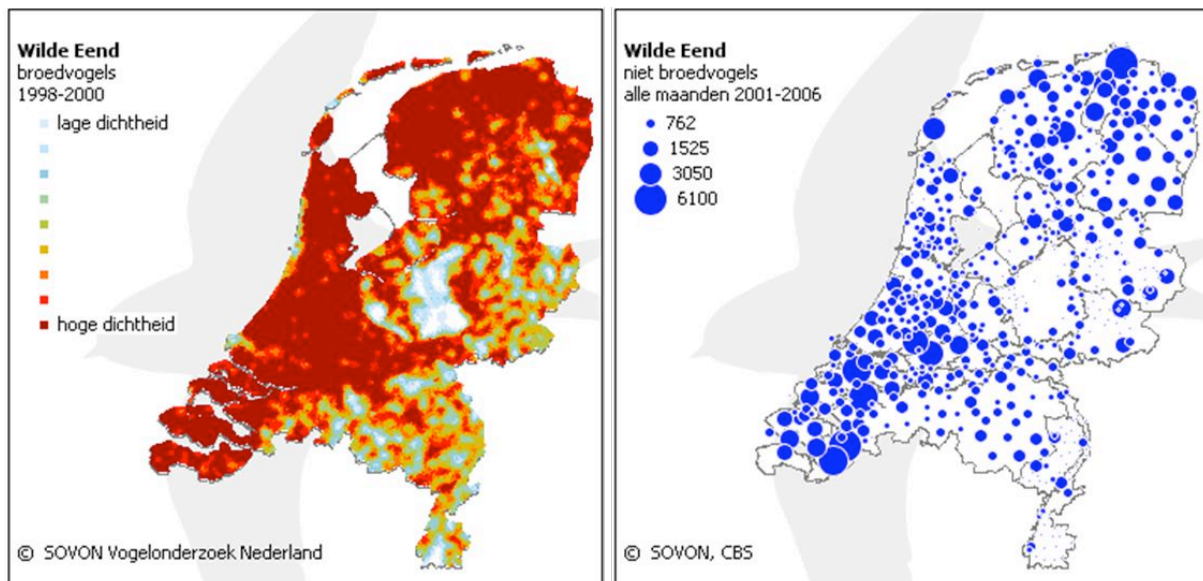
Het voorkomen van deze risicosoorten in Nederland

In Nederland wordt door de vereniging SOVON Vogelonderzoek Nederland (SOVON) onderzoek gedaan naar het voorkomen van wilde vogels.

Er is een watervogelmeetnet (een samenwerking van het Ministerie van Economische zaken, Landbouw en Innovatie, Rijkswaterstaat, het Centraal Bureau voor de Statistiek en SOVON). Resultaten worden gepubliceerd als watervogelrapporten (zie www.SOVON.nl).

Ook wordt er een jaarlijkse soortentelling uitgevoerd, waarbij aantallen en locaties worden vastgelegd van een groot aantal vogels (zie www.SOVON.nl).

Uit de gegevens van SOVON blijkt dat de soorten waarin AI virussen worden gevonden in grote aantallen in ons land voorkomen. Ter illustratie zijn hieronder de kaarten weergegeven met daarop de verspreiding en de aantallen van de wilde eend in Nederland (Figuur 3).



*Figuur 3: Voorkomen van de wilde eend (anas platyrhynchos) in Nederland (www.SOVON.nl)
 -De broedvogelkaart is gebaseerd op de Atlas van de Nederlandse Broedvogels (2002). Weergegeven de relatieve broedvogel dichtheid per vierkante kilometer. In Nederland komen 350.000-500.000 broedparen voor.
 -De gegevens op de niet-broedvogel kaart zijn afkomstig van het watervogelmeetnet. Weergegeven is het gemiddeld aantal vogels per hoofdgebiet.*

Contact tussen wilde vogels en pluimvee

Voor een overdracht van AI virus van wilde vogels naar pluimvee is direct contact tussen pluimvee en wilde vogels of indirect contact via feces van wilde vogels nodig. Het grootste risico op contact is er als de wilde vogels en het pluimvee (gelijktijdig) op hetzelfde terrein lopen, een kleiner risico wordt gevormd door overvliegende vogels die feces boven het pluimveebedrijf laten vallen.

- Er zijn ons drie publicaties bekend waarin gekeken is naar contact tussen wilde vogels en pluimvee:
- Voslamber B. 2005. Wilde Vogels op en rond pluimveebedrijven. SOVON-informatierapport 2005/18. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Beek-Ubbergen.
 - Voslamber B. 2006. Wilde Vogels op en rond pluimveebedrijven, juli/augustus 2006. SOVON informatierapport 2006/08. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Beek-Ubbergen.
 - Welby et al 2010 (Welby et al., 2010)

SOVON rapport 2005 bevindingen:

Er is op 60 bedrijven met vrije uitloop gedurende 1 uur geobserveerd in de maand oktober. Tijdens het veldwerk werd geen pluimvee in uitlooprennen aangetroffen. Van een mogelijk direct contact tussen pluimvee en wilde vogels kon daardoor geen sprake zijn. In hoeverre dit wel optreedt in situaties waarbij het pluimvee wel buiten loopt is onduidelijk.

De belangrijkste resultaten waren:

- Hoog-risico soorten (watervogels) werden in zeer kleine aantallen op of bij het terrein van hoog-risico bedrijven (bedrijven op minder dan één kilometer van een watervogelgebied) gezien: gemiddeld 3 op het bedrijf, 6 overvliegend en 63 op meer dan 100 meter afstand van het bedrijf. De soorten die werden waargenomen waren: Blauwe Reiger, Kogans, Wilde Eend, Waterhoen en met name Kokmeeuw.
- Bij hoog risico bedrijven worden meer hoog-risico soorten gezien dan bij laag risico bedrijven, zowel op het terrein als in de omgeving.
- Op de pluimveebedrijven verblijven vooral standvogels (Huismus, Spreeuw, Houtduif, Turkse Tortel) die vrijwel continu in de directe omgeving te vinden zijn.

SOVON rapport 2006 bevindingen:

Er is op 32 bedrijven met uitloop gedurende één uur geobserveerd in de maanden juli en augustus 2006. De belangrijkste resultaten zijn:

- Hoog-risico soorten (watervogels) werden vrijwel niet op of bij het terrein van hoog-risico bedrijven (bedrijven op minder dan één kilometer van een watervogelgebied) gezien: gemiddeld 0 op het bedrijf, 2 overvliegend en 1 op meer dan 100 meter afstand van het bedrijf. De enige soort die werd waargenomen was de Wilde Eend.
- Op de pluimveebedrijven verblijven vooral standvogels (Huisemus, Spreeuw, Houtduif, Turkse Tortel, Kauw) die vrijwel continu in de directe omgeving te vinden zijn.
- Doordat pluimvee niet buiten werd gevoerd is het voedselaanbod op de bedrijven (met name voor soorten als de Kokmeeuw) zeer gering. De meeste wilde vogels hebben dan ook geen enkele reden om op een pluimveebedrijf te komen. Dit in tegenstelling tot wilde vogels die zich bij vogels in watervogelcollecties (aangetroffen bij 4 bedrijven) bevonden en daar volop mee-aten van het buiten uitgestrooide voer.

Welby 2010:

Deze groep heeft in België twee locaties met pluimvee gedurende 2 winters geobserveerd, één locatie in een stedelijke omgeving en één in de nabijheid van een wetland. Er werd 24/7 video-opnames gemaakt om het aantal bezoeken van wilde vogels aan de pluimveelocaties te tellen en wekelijks werden de wilde watervogels in de directe omgeving geteld. Gedurende de seizoenen werd er gevarieerd in het wel of niet buiten voeren.

De belangrijkste risicofactor voor het aantal bezoeken van wilde vogels bleek het wel of niet buiten voeren te zijn. Er werden significante clusters gevonden in het aantal bezoeken in november en maart-april van het eerste jaar en maart van het tweede jaar. Er was geen verschil in het aantal bezoeken tussen de beide locaties ondanks de verschillende ligging ten opzichte van wetlands met wilde watervogels.

Uit de drie onderzoeken blijkt dat er hoog risico soorten op pluimveebedrijven worden gezien, zij het in kleine aantallen. Voor de pieken in het aantal vogels die Welby vond werd geen verklaring gegeven. Het buiten voeren bleek een risicofactor, hetzelfde werd gezien door SOVON bij de watervogelcollecties op de pluimveebedrijven. Hierbij moet worden opgemerkt dat het om beperkt onderzoek gaat, in België zijn slechts twee locaties onderzocht en in Nederland zijn alleen bedrijven bezocht in juli, augustus en oktober.

De overeenkomst tussen LPAI virussen die gevonden worden op pluimveebedrijven en bij wilde vogels

De meeste pluimveevirussen zijn genetisch nauw verwant aan wilde vogel LPAI virussen.

Van de 12 pluimveevirussen geïsoleerd op pluimveebedrijven in Nederland in de periode 2006-2011, zijn van 9 virussen zowel het HA als NA genetisch nauw verwant aan LPAI virussen geïsoleerd bij wilde vogels. Een overzicht van de pluimveevirussen en de nauw verwante virussen met locatie en datum van isolatie (indien bekend) is gegeven in tabel 9.

Het blijkt echter wel dat er een lang tijdsinterval kan zitten tussen detectie van genetisch verwante LPAI virussen. De tijd tussen isolatie van nauw verwante virussen is groot (111 dagen tot langer dan 1880 dagen).

Onafhankelijke introducties van LPAI virussen in pluimvee binnen hetzelfde subtype komen voor.

Van pluimveevirussen met hetzelfde HA en NA subtype kan worden nagegaan d.m.v. een genetische analyse of het om een verwant virus gaat, en mogelijk om een enkele introductie in pluimvee, of dat het om meerdere introducties gaat. De subtypes H1, H9 en N2 zijn in Nederland in de periode 2006-2011 slechts een keer geïsoleerd uit pluimvee. De virussen met de subtypes H8 (2 isolaten), N4 (3 isolaten) en N5 (2 isolaten) bevinden zich in een vertakking in de fylogenetische boom waarbij het niet mogelijk is onderscheid te maken tussen een enkele introductie of meerdere onafhankelijke introducties. De virussen met de subtypes H6 (2 isolaten), H7 (4 isolaten), H10 (2 isolaten), N1 (2 isolaten) en N7 (4 isolaten) bevinden zich in afzonderlijke vertakkingen in de fylogenetische boom en zijn om die reden waarschijnlijk het gevolg van 2 (H6, H10 en N1) of meer (H7 en N7) afzonderlijke introducties in pluimvee.

Tabel 9. Overzicht van de pluimveevirussen en de nauw verwante virussen uit wilde vogels met locatie en datum van isolatie.

Pluimvee virus	Meest verwant aviair virus	Locatie meest verwant virus	Datum meest verwant virus	Tijdsinterval (dagen)	Mate van verwantschap (%)	
A/Ty/Neth/06001571/06 (H6N5) Dinteloord 24-01-2006	BLAST HA	A/WhiteFrontedGoose/Netherlands/1/2006 (H6N2)	Oud Alblas	<16-01-2006	>8	0.996
	Tree HA	A/WhiteFrontedGoose/Netherlands/1/2006 (H6N2)	Oud Alblas	<16-01-2006	>8	0.996
	BLAST NA	A/mallard/Switzerland/WV4060167/2006 (H3N5)	Switzerland	15-12-2006	325	0.99
	Tree NA	A/mallard/Switzerland/WV4060167/2006 (H3N5)	Switzerland	15-12-2006	325	0.99
A/Ch/Neth/06022003/06 (H7N7) Voorthuizen 01-08-2006	BLAST HA	A/Mallard/Netherlands/61/2008 (H7N1) *1	Westerland	15-10-2008	806	0.994
	Tree HA	A/Mallard/Netherlands/61/2008 (H7N1) *2	Westerland	15-10-2008	806	0.994
	BLAST NA	A/mallard/Sweden/95/2005 (H7N7)	Sweden	<28-11-2005	>246	0.987
	Tree NA	A/mallard/Sweden/95/2005 (H7N7)	Sweden	<28-11-2005	>246	0.987
A/Ty/Neth/07016245/07 (H1N5) Weert 22-06-2007	BLAST HA	A/BewicksSwan/Netherlands/1/2007 (H1N5)	Netherlands	<19-03-2007	>95	0.988
	Tree HA	A/BewicksSwan/Netherlands/1/2007 (H1N5)	Netherlands	<19-03-2007	>95	0.988
	BLAST NA	A/Black-backedGull/Netherlands/1/2006 (H4N5)	Netherlands	<03-03-2006	476	0.985
	Tree NA	A/Black-backedGull/Netherlands/1/2006 (H4N5)	Netherlands	<03-03-2006	476	0.985
A/Ty/Neth/09006938/09 (H10N7) Deurne 16-04-2009	BLAST HA	A/Mallard/Netherlands/53/2008 (H10N7)	Westerland	02-10-2008	196	0.993
	Tree HA	A/Mallard/Netherlands/53/2008 (H10N7)	Westerland	02-10-2008	196	0.993
	BLAST NA	A/Mallard/Netherlands/8/2009 (H7N7)	Oudeland van Strijen	17-12-08	245	0.994
	Tree NA	A/Mallard/Netherlands/8/2009 (H7N7)	Oudeland van Strijen	17-12-08	245	0.994
A/Ch/Neth/10010413/10 (H6N1) Idsegahuizum 20-06-2010	BLAST HA	A/BarnacleGoose/Netherlands/1/2010 (H6N8) *3	Eemnes	8-01-10	163	0.986
	Tree HA	A/BarnacleGoose/Netherlands/1/2010 (H6N8)	Eemnes	8-01-10	163	0.986
	BLAST NA	A/mallard/Germany-RP/R193/09(H1N1) *4	Germany	onbekend	onbekend	0.986
	Tree NA	A/mallard/Germany-RP/R193/09 (H1N1)	Germany	onbekend	onbekend	0.986
A/Ch/Neth/10007882/10 (H7N4) Deurne 16-05-2010	BLAST HA	A/Mallard/Netherlands/61/2008 (H7N1) *2	Westerland	15-10-2008	578	0.987
	Tree HA	A/Mallard/Netherlands/61/2008 (H7N1) *2	Westerland	15-10-2008	578	0.987
	BLAST NA	A/Ch/Neth/10009401/10 (H8N4)	Hiaure	4-06-10	19	0.988
	Tree NA	A/Ch/Neth/10009401/10 (H8N4)	Hiaure	4-06-10	19	0.988
A/Ch/Neth/10009401/10 (H8N4) Hiaure 04-06-2010	BLAST HA	A/Ch/Neth/11004004/11 (H8N4)	Vreeland	9-03-11	278	0.977
	Tree HA	A/Ch/Neth/11004004/11 (H8N4)	Vreeland	9-03-11	278	0.977
	BLAST NA	A/Ch/Neth/10007882/10 (H7N4)	Deurne	16-05-2010	19	0.988
	Tree NA	A/Ch/Neth/10007882/10 (H7N4)	Deurne	16-05-2010	19	0.988
A/Ch/Neth/10008427/10 (H10N7) Drachtstercompagnie 20-05-2010	BLAST HA	A/Mallard/Netherlands/67/2008 (H10N7)	Oud Alblas	13-12-08	523	0.993
	Tree HA	A/Mallard/Netherlands/67/2008 (H10N7)	Oud Alblas	13-12-08	523	0.993
	BLAST NA	A/Mallard/Netherlands/74/2008 (H10N7)	Oud Alblas	13-12-08	523	0.991
	Tree NA	A/Mallard/Netherlands/74/2008 (H10N7)	Oud Alblas	13-12-08	523	0.991
A/Ch/Neth/10020245/10 (H9N2) Pijnacker 10-12-2010	BLAST HA	A/Eurasian wigeon/Netherlands/3/2005 (H9N2)	Berkenwoude	<17-10-2005	>1880	0.964
	Tree HA	A/Eurasian wigeon/Netherlands/3/2005 (H9N2)	Berkenwoude	<17-10-2005	>1880	0.964
	BLAST NA	A/Mallard/Netherlands/7/2007 (H4N2)	Krimpen aan den IJss	27-09-2007	1170	0.976
	Tree NA	A/Mallard/Netherlands/7/2007 (H4N2)	Krimpen aan den IJss	27-09-2007	1170	0.976
A/chicken/Netherlands/11004875/11 (H7N1) Schore 24-03-2011	BLAST HA	A/mallard/Poland/446/09 (H7N7)	Poland	27-12-2009	452	0.996
	Tree HA	A/mallard/Poland/446/09 (H7N7)	Poland	27-12-2009	452	0.996
	BLAST NA	A/Mallard/Netherlands/51/2010 (H1N1)	Oud Alblas	3-12-10	111	0.994
	Tree NA	A/Mallard/Netherlands/51/2010 (H1N1)	Oud Alblas	3-12-10	111	0.994
A/Ch/Neth/11004004/11 (H8N4) Vreeland 09-03-2011	BLAST HA	A/Ch/Neth/10009401/10 (H8N4)	Hiaure	4-06-10	278	0.977
	Tree HA	A/Ch/Neth/10009401/10 (H8N4)	Hiaure	4-06-10	278	0.977
	BLAST NA	A/Ch/Neth/10007882/10 (H7N4)	Deurne	16-05-10	297	0.979
	Tree NA	A/Ch/Neth/10007882/10 (H7N4)	Deurne	16-05-10	297	0.979
A/chicken/Neth/11008327/11 (H7N7) Kootwijkerbroek 12-05-2011	BLAST HA	A/mallard/Poland/446/09 (H7N7)	Poland	27-12-2009	501	0.993
	Tree HA	A/mallard/Poland/446/09 (H7N7)	Poland	27-12-2009	501	0.993
	BLAST NA	A/mallard/Poland/446/09 (H7N7)	Poland	27-12-2009	501	0.992
	Tree NA	A/mallard/Poland/446/09 (H7N7)	Poland	27-12-2009	501	0.992

*1 A/Mallard/Netherlands/61/2008 (H7N1); A/Mallard/Netherlands/60/2008 (H7N1); A/muteswan/Hungary/5973/2007(H7N7); A/chicken/Italy/2837-54/2007(H7N3)

*2 A/Mallard/Netherlands/61/2008 (H7N1); A/Mallard/Netherlands/60/2008 (H7N1)

*3 A/BarnacleGoose/Netherlands/1/2010 (H6N8); A/goose/Germany-BB/R1625/08 (H6)

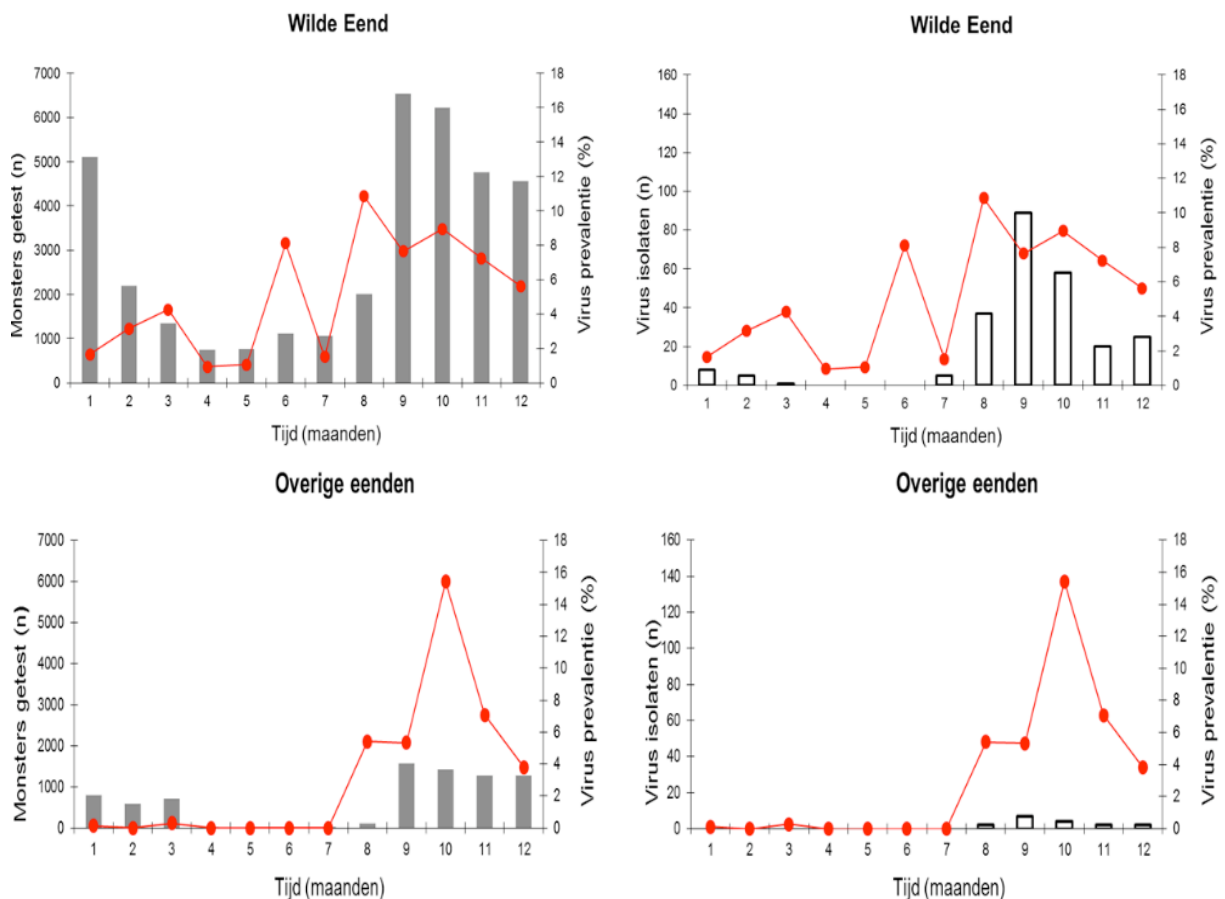
*4 A/mallard/Germany-RP/R193/09(H1N1); A/mallard/Bavaria/185-26/2008 (H1N1); A/mallard/Bavaria/185-8/2008 (H1N1)

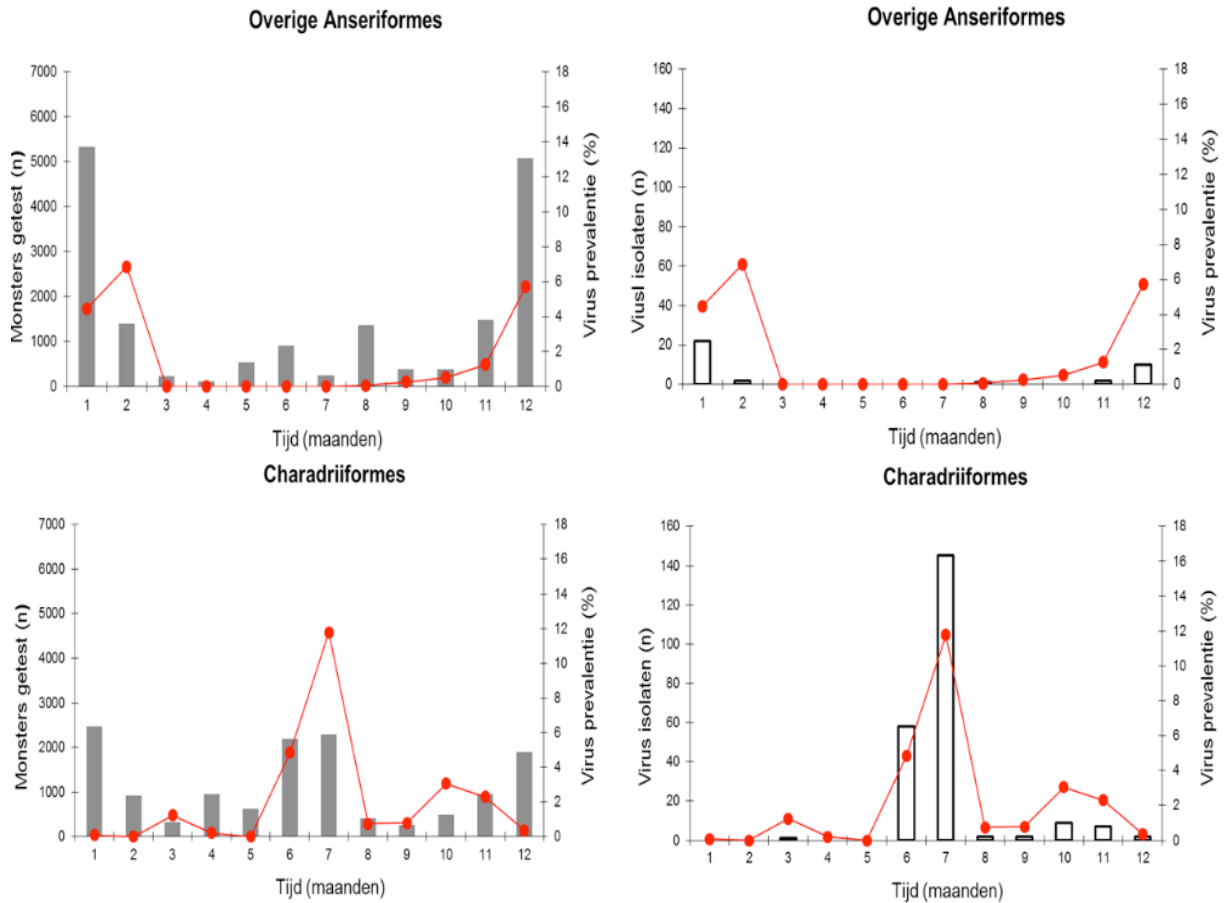
5. Relatie tussen het risico op introductie en de tijd van het jaar

Seizoensvariatie in aviaire influenza virus prevalentie in wilde vogels

Bij wilde vogels worden de meeste LPAI virussen gevonden in het najaar. De meeste virussen worden aangetoond in september en oktober in eenden en in juni en juli in *Charadriiformes* (met name meeuwen) (zie figuur 4).

De variatie gedurende het jaar in influenza subtypes gedetecteerd in wilde vogels is deels te verklaren door variatie in de soorten wilde vogels die bemonsterd worden gedurende het jaar (zie figuur 4). In de zomermaanden worden meeuwen (*Charadriiformes*) in grote aantallen bemonsterd op de broedkolonies, en de subtypes die in de meeuwen worden geïsoleerd tijdens de zomermaanden beperken zich tot H13 en H16 virussen. Vanaf juli neemt het aantal eenden in Nederland toe, net als de bemonstering van de wilde eenden.

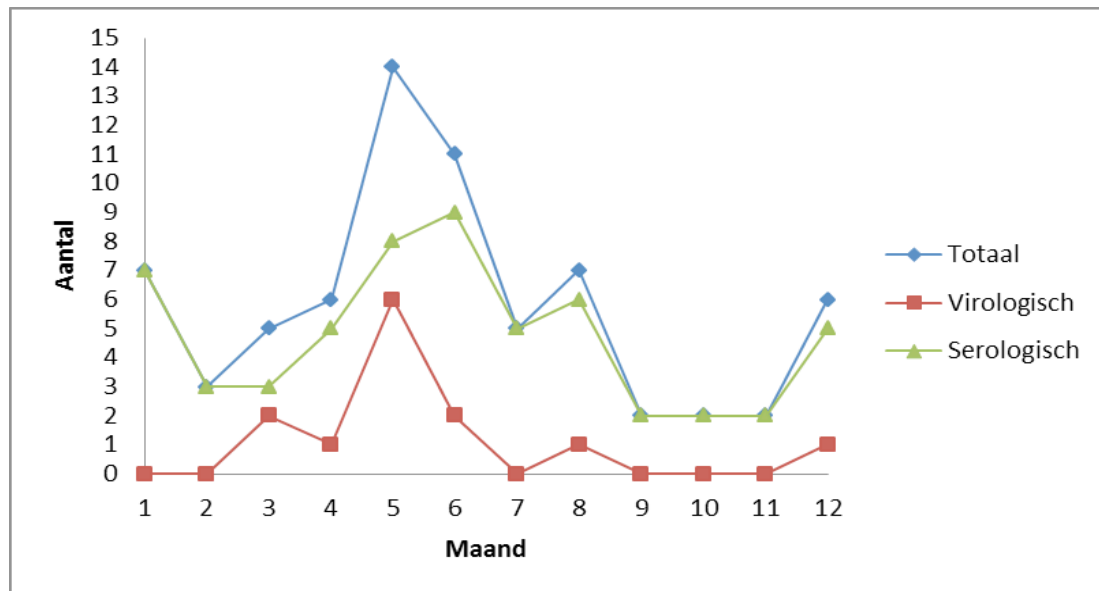




Figuur 4. Overzicht per wilde vogel categorie van aantal bemonsterde wilde vogels, aantal virus PCR positieve monsters en aantal virus isolaten, weergegeven per maand, Nederland, 2006-2011(oktober). Grijze staven=totaal aantal monsters geanalyseerd per maand; Rode lijn=aviaire influenza virus prevalentie gebaseerd op virus PCR positieve monsters per maand; Witte staven= aantal virus isolaten per maand; Overige Anseriformes=ganzen en zwanen; Charadriiformes=meeuwen, sternnen, alken en steltlopers.

Is er een periode in het jaar aan te wijzen waarin het risico op een introductie op een pluimveebedrijf groter is?

Het merendeel van de virologisch positieve bedrijven wordt gedetecteerd in de maanden maart tot en met juni. Bij de serologisch gedetecteerde bedrijven is er ook een piek in mei en juni, maar wat minder duidelijk (figuur 5).



Figuur 5. Aantal gedetecteerde bedrijven per maand in de periode 2006 tot en met oktober 2011.

Bij een bedrijf wat virologisch positief is kan er een ruwe schatting worden gemaakt van het introductietijdstip op basis van schattingen van transmissieparameters uit experimenten met en uitbraken van LPAI virussen.

Als maat voor transmissie worden de transmissieparameter β en de infectieuze periode gebruikt. De transmissieparameter β geeft aan hoeveel dieren per dag besmet worden door één geïnfecteerd dier, de infectieuze periode is het aantal dagen dat een geïnfecteerd dier infectieus is. Er zijn gegevens uit experimenten met H7N1 en H7N3 virussen in leghennen (Gonzales 2011, 2012b), en uitbraken op twee bedrijven met een H7N3 virus (Gonzales 2012b). Voor de H7N1 werd de transmissie parameter β geschat op 0.49 (0.3-0.75) en de infectieuze periode op 7.7 (6.7-8.7) dagen. Voor de H7N3 in de experimenten werd β geschat op 0.91 (0.45-1.62) en de infectieuze periode op 10 (8.5-11.6) dagen. Voor de uitbraken met H7N3 werd β geschat op 0.72 (0.68-0.77) en 0.50 (0.45-0.55), en de infectieuze periodes op 7.7 (5.9-11) en 9.1 (6.3-20) dagen respectievelijk. We gaan er van uit dat bij gedetecteerde bedrijven minimaal 5% van de dieren virus positief is op het moment van detectie (aan het begin en aan het eind van de uitbraak). Op basis van de deze gegevens komen we tot een schatting van de detectiedatum die gemiddeld 25 (18 – 42) dagen na het introductietijdstip ligt, met op zijn vroegst 7.8 (3.0-19) dagen en op zijn laatst 41 (31-70) dagen na introductie. Tussen haakjes zijn de 95% betrouwbaarheidsintervallen gegeven. Grofweg betekent dit dat de introductie 3 tot 70 dagen voorafgaand aan de detectie plaats kan hebben gevonden.

Er moeten een paar opmerkingen gemaakt worden bij deze getallen:

-Om deze periode te berekenen is een deterministisch SIR model gebruikt. Een deterministisch model houdt geen rekening met toevalseffecten die vooral in het begin van een uitbraak kunnen optreden. Door toevalseffecten kan het langer duren voordat een uitbraak 'op gang komt'. Zodra er meerdere dieren in een stal geïnfecteerd zijn wordt de rol van het toeval steeds kleiner.

-Deze schattingen zijn gebaseerd op gegevens van slechts twee verschillende virussen: een H7N1 en een H7N3 virus. We weten niet of deze getallen representatief zijn voor alle LPAI virussen.

-In twee van de vier gevallen komen de schattingen uit experimenten. Experimenten zijn heel geschikt om verschillen tussen twee virussen onder gelijke omstandigheden aan te tonen, maar men moet voorzichtig zijn met de extrapolatie naar het veld. Uit deze dataset blijkt echter dat de schattingen uit de experimenten goed overeenkomen met de schattingen uit de bedrijven.

Bij een bedrijf wat serologisch positief is weten we alleen wanneer het bedrijf voor de laatste keer serologisch negatief was en op basis hiervan kunnen we een periode aangeven waarin de introductie heeft plaatsgevonden. Bedrijven met vrije uitloop worden in principe 4 x per jaar serologisch onderzocht, maar uit het onderzoek van J. Gonzales blijkt dat bedrijven met vrije uitloop gemiddeld 2.7 keer per jaar worden onderzocht (Tabel 4). Dit betekent dat er gemiddeld 4.5 maanden tussen twee opeenvolgende monsternames zit. De periode wordt hierdoor zo breed dat het weinig informatie over het introductietijdstip oplevert.

6. Ruimtelijke analyses

Zijn er gebieden in Nederland waar het risico op introductie van een LPAI virus groter is dan gemiddeld?

Om deze vraag te beantwoorden is er een clusteranalyse uitgevoerd. Bij een clusteranalyse wordt er gekeken of het aantal uitbraken evenredig verdeeld is over het aantal aanwezige pluimveebedrijven. Zodra er in gebied meer of minder uitbraken dan gemiddeld zijn en dit niet meer door het toeval te verklaren is spreken we van een cluster.

-Er is een **clusteranalyse uitgevoerd met alle geïnfekteerde bedrijven** in de periode 2006 tot en met oktober 2011 tegen de achtergrond van alle bedrijven in Nederland (gegevens 2007). Het gaat hierbij om 70 geïnfekteerde bedrijven op een totaal van 2825 (Figuur 6).

Er werden 3 clusters gevonden (Tabel 10):

1. Een klein cluster van 3 bedrijven in Deurne: Het gaat om 1 bedrijf dat 4x positief was en verschillende soorten pluimvee heeft, 1 positief leghenbedrijf met vrije uitloop en 1 negatief vleeskuikenbedrijf.
2. Een klein cluster van 3 bedrijven in Hierden: 2 positieve bedrijven met eenden en 1 positief leghenbedrijf met uitloop.
3. Een groot *negatief* cluster met 391 pluimveebedrijven in het zuidelijke deel van Noord-Brabant, binnen dit cluster waren alle bedrijven negatief. Dit negatieve cluster komt overeen met een gebied waar relatief weinig wilde eenden voorkomen. Bij de gevoeligheidsanalyse blijkt dat door het plaatsnemen van 1 denkbeeldig positief bedrijf in dit cluster het cluster niet meer significant is. Om deze reden is het cluster niet aangegeven op de kaart.

Tabel 10: Clusters die werden gevonden bij de clusteranalyse

Cluster	Straal (m)	Totaal aantal bedrijven	Aantal positieve bedrijven	P-waarde
1	302	6	5	0.0002
2	509	3	3	0.038
3	42882	391	0	0.01

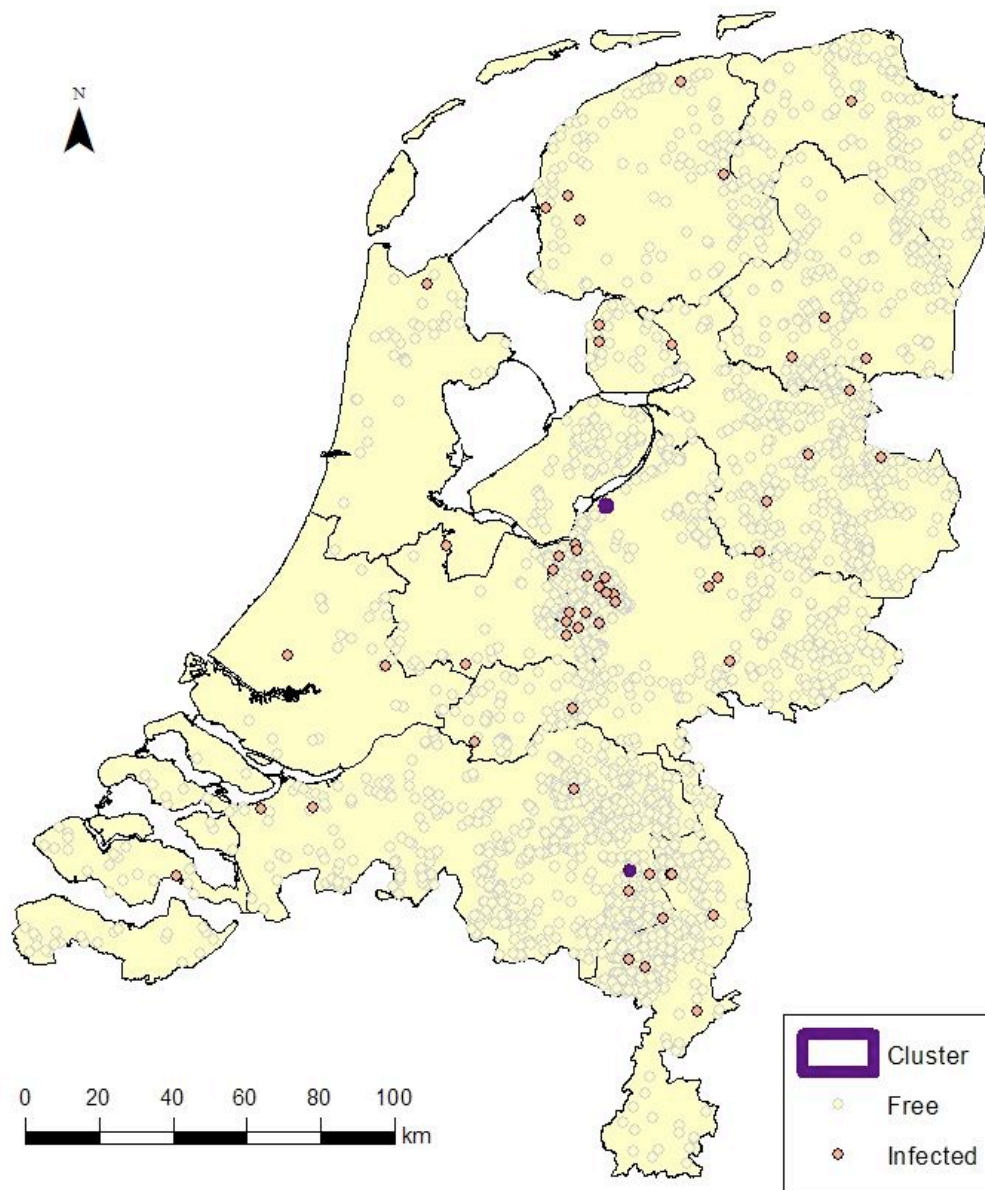
-Vervolgens is er een **clusteranalyse uitgevoerd met alle geïnfekteerd leghen bedrijven met vrije uitloop** in de periode 2006 tot en met oktober 2011 tegen de achtergrond van alle leghen bedrijven met vrije uitloop in Nederland (Figuur 7).

Het gaat hierbij om 37 geïnfekteerde bedrijven op een totaal van 328 bedrijven met vrije uitloop (gegevens 2007).

Hierbij werden geen clusters gevonden, een reden kan zijn dat het om kleinere aantallen gaat, waardoor het moeilijker wordt om statistisch significante verschillen te vinden.

Uit beide clusteranalyses blijkt dat er geen gebieden in Nederland zijn waar vaker dan gemiddeld AI virus introducties plaatsvinden. Er is wel een gebied aan te wijzen waar minder dan gemiddeld AI virus introducties plaatsvinden, maar dit is maar net statistisch significant. Dit negatieve cluster ligt in een gebied waar relatief weinig wilde eenden voorkomen (Figuur 3).

LPAI Infected Flocks in The Netherlands (2006 - 2011)



 CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

Gert Jan Boender 2011

© 2010 Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO Foundation), part of Wageningen UR
No part of this publication may be reproduced or published in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior written permission of Central Veterinary Institute of Wageningen UR (CVI) (e-mail: info.cvi@wur.nl)

Figuur 6. Clusteranalyse van alle geïnfecteerde pluimvee bedrijven in de periode 2006 tot en met oktober 2011 tegen de achtergrond van alle pluimvee bedrijven in Nederland (situatie in 2007).

LPAI Infected Outdoor Layer Flocks in The Netherlands (2006 - 2011)



 CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

Gert Jan Boender 2011

© 2010 Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO Foundation), part of Wageningen UR
No part of this publication may be reproduced or published in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without prior written permission of Central Veterinary Institute of Wageningen UR (CVI) (e-mail: info.cvi@wur.nl)

Figuur 7. Clusteranalyse van alle geïnfecteerde leggen bedrijven met uitloop in de periode 2006 tot en met oktober 2011 tegen de achtergrond van alle leggen bedrijven met uitloop in Nederland (situatie in 2007).

Komen de locaties waar AI in wilde vogels wordt gevonden overeen met de locaties van geïnfecteerde bedrijven?

Aan deze onderzoeksvraag is gewerkt, echter door problemen met de database is het niet gelukt om de analyse binnen dit project af te ronden.

7. Discussie

In deze studie is gekeken of op pluimveebedrijven met vrije uitloop meer infecties met Laag Pathogene Aviaire Influenza virus worden gevonden dan op bedrijven zonder uitloop. Tevens is er gekeken of er een relatie is met wilde vogels, of er een periode in het jaar is waarin het risico op infecties verhoogd is en of er gebieden in Nederland zijn waar het risico op een besmetting met LPAI virussen groter dan gemiddeld is. De studie richt zich op LPAI virus infecties op commerciële pluimveebedrijven, en dus niet op hobby bedrijven, handelaren in wilde watervogels, dierentuinen etc.

Uit onderzoek blijkt dat in Nederland leghen bedrijven met uitloop een 11 keer zo grote kans hebben om geïnfecteerd te raken dan leghen bedrijven zonder uitloop. Op Europees niveau werden in 2007 geen grote verschillen gevonden tussen prevalenties bij leghennen met en zonder uitloop. Uit de reacties van de Nationale Referentie Laboratoria uit de ons omringende landen blijkt dat men wel een verband vermoedt tussen AI virus infecties en uitloop, maar het niet heeft onderzocht en dus ook niet heeft aangetoond.

In Nederland worden elk jaar meer infecties met LPAI virussen op pluimveebedrijven gedetecteerd. Deze bedrijven worden vooral gedetecteerd door middel van de serologische monitoring. In dit rapport is gekeken naar een aantal mogelijke oorzaken voor deze toename, maar er kon geen duidelijke verklaring worden gevonden voor het verhoogde aantal detecties.

Op Europees niveau neemt het aantal Aviaire Influenza virussen dat in de lidstaten *geïsoleerd* wordt ook toe. Bij de jaarlijkse Europese *serologische* surveillance echter, waarbij een steekproef wordt genomen uit het totale aantal pluimveebedrijven, wordt geen stijging van het aantal positieve gevallen gezien. Hierbij moet opgemerkt worden dat deze serologische surveillance primair gericht is op het aantonen van antistoffen tegen virussen van de subtypes H5 en H7.

In wilde vogels worden verreweg de meeste AI virussen gevonden in watervogels, met name in eenden. In eenden wordt ook de grootste variatie in subtypes gevonden.

De meeste geïsoleerde pluimveevirussen blijken genetisch nauw verwant te zijn aan LPAI virussen uit wilde vogels. Er kan echter een lang tijdsinterval zitten tussen de detectie van genetisch nauw verwante virussen in pluimvee en wilde vogels.

Er lijkt geen overeenkomst te zijn tussen de prevalenties in subtypes in de wilde vogels en in pluimvee. De meest geïsoleerde virussen bij wilde vogels zijn de subtypes H3(N8), H4(N6) en H13(N8), deze worden niet of nauwelijks gevonden bij pluimvee.

Er is nog niet zoveel bekend over de factoren die op bedrijfsniveau een rol spelen bij de kans op introductie van LPAI virussen. Watervogels werden in kleine aantallen op of in de directe omgeving van pluimveehouderijen met vrije uitloop gezien. Bij het Erasmus Medisch Centrum wordt op dit moment onderzoek gedaan naar de relatie tussen de aanwezigheid van water in de buurt van pluimveebedrijven en het risico op introductie. Uit een Belgisch onderzoek blijkt dat het buiten voeren van pluimvee een risicofactor voor het aantal bezoeken van wilde vogels aan pluimvee is, en ook in Nederland waren wilde vogels aanwezig tussen de watervogelcollecties bij pluimveebedrijven en aten mee van het voer. Om alle factoren in kaart te brengen is een case control studie nodig, waarbij de groep geïnfecteerde bedrijven vergeleken wordt met een vergelijkbare groep niet-geïnfecteerde bedrijven. Bij dit onderzoek kan zowel naar omgevingsfactoren worden gekeken (zoals de nabijheid van water, nabijheid van wilde vogelpopulaties etc.) als naar bedrijfsfactoren (zoals de inrichting van de uitloopruimte, directe toegang tot open water, aantal uren uitloop etc.).

Op pluimveebedrijven zien we een piek in het aantal virologische detecties in het voorjaar (maart-juni). Voor de virologisch gedetecteerde bedrijven komen we tot een schatting van de detectiedatum die gemiddeld 25 (18 – 42) dagen na het introductietijdstip ligt, met op zijn vroegst 7.8 (3.0–19) dagen en op zijn laatst 41 (31–70) dagen na introductie. Tussen haakjes zijn de 95% betrouwbaarheidsintervallen gegeven. Grofweg betekent dit dat de introductie 3 tot 70 dagen voorafgaand aan de detectie plaats kan hebben gevonden.

Op basis van de informatie die we nu hebben is het introductietijdstip voor de serologisch positieve bedrijven niet aan te geven, wel is er een trend te zien die de virologisch gedetecteerde bedrijven volgt. Ook in wilde vogelsoorten wordt een seizoensvariatie gevonden in de prevalentie van LPAI virussen. Bij eenden zien we de hoogste prevalentie in het najaar (sept-okt), bij ganzen en zwanen zien we een piek in de winter (dec-feb).

Uit de clusteranalyses blijkt dat er geen gebieden in Nederland zijn waar vaker dan gemiddeld AI virus introducties plaatsvinden, ook niet als er alleen naar bedrijven met vrije uitloop wordt gekeken. Er is wel een gebied aan te wijzen waar minder dan gemiddeld AI virus introducties plaatsvinden, maar dit is maar net significant. Dit negatieve cluster ligt in een gebied waar relatief weinig wilde eenden voorkomen.

Samenvattend m.b.t. de oorspronkelijke kennisvragen:

1. Hebben pluimveebedrijven met vrije uitloop een grotere kans op introductie van een LPAI virus dan bedrijven zonder buitenuitloop? Zo ja, is deze verhoogde kans kwantitatief uit te drukken?
- Ja, leghen bedrijven met uitloop hebben een 11 keer zo grote kans hebben om geïnfecteerd te raken dan leghen bedrijven zonder uitloop.
2. Is de kans op introductie van een LPAI virus bij pluimveebedrijven (met vrije uitloop) gerelateerd aan de wilde vogels?
- Het risico van introductie van LPAI op bedrijven met vrije uitloop kan op basis van de huidige beschikbare gegevens niet direct gecorreleerd worden aan de aanwezigheid van wilde vogels. Bij het Erasmus Medisch Centrum wordt op dit moment onderzoek gedaan naar de relatie tussen de aanwezigheid van water in de buurt van pluimveebedrijven en het risico op introductie.
3. Is er een periode in het jaar aan te wijzen waarin het risico op een introductie groter is?
-Op pluimveebedrijven zien we een piek in het aantal virologische detecties in het voorjaar (maart-juni). Van de virologisch gedetecteerde bedrijven kunnen we grofweg zeggen dat ze 3 tot 70 dagen voor de detectie geïnfecteerd zijn geraakt.
4. Kunnen er factoren geïdentificeerd worden die de kans op een introductie van een LPAI virus op een pluimveebedrijf met vrije uitloop verminderen?
-Er is nog niet zoveel bekend over de factoren die op bedrijfsniveau een rol spelen bij de kans op introductie van LPAI virussen. Om alle factoren in kaart te brengen is een case control studie nodig, waarbij de groep geïnfecteerde bedrijven vergeleken wordt met een vergelijkbare groep niet-geïnfecteerde bedrijven. Bij dit onderzoek kan zowel naar omgevingsfactoren worden gekeken (zoals de nabijheid van water, nabijheid van wilde vogelpopulaties etc.) als naar bedrijfsfactoren (zoals de inrichting van de uitlooppriimte, directe toegang tot open water, aantal uren uitloop etc.).

8. Referenties

- European-Commission-a, Joint Annual Meetings of the National Laboratories for Avian Influenza and Newcastle Disease of European Union Member States.
http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/avian/crls_proceedings_en.htm.
- European-Commission-b, Annual Report on surveillance for avian influenza in poultry in Member States of the European Union.
http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/avian/eu_resp_surveillance_en.htm.
- European-Commission-c, Annual Report on surveillance for avian influenza in wild birds in the European Union.
http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/avian/eu_resp_surveillance_en.htm
- Gonzales J.L., Van der Goot J.A., Stegeman J.A., Elbers A.R.W., Koch G., 2011. Transmission between chickens of an H7N1 Low Pathogenic Avian Influenza virus isolated during the epidemic of 1999 in Italy. *Veterinary Microbiology* 152; 187-190.
- Gonzales J.L., Stegeman J.A., Koch G., De Wit J.J., Elbers A.R.W., 2012a. Rate of introduction of a low pathogenic avian influenza virus infection in different poultry production sectors in The Netherlands. Accepted. *Influenza and other respiratory diseases*.
- Gonzales J.L., Elbers A.R.W., Van der Goot J.A., Bontje D., Koch G., De Wit J.J., Stegeman J.A. 2012b. Using egg-production data to quantify within-flock transmission of low pathogenic avian influenza virus in layer chickens. Submitted.
- Hustings F., Koffijberg K., van Winden E., van Roomen M., SOVON Ganzen- en Zwanenwerkgroep & Soldaat L. 2008. Watervogels in Nederland in 2006/2007. SOVON-monitoringrapport 2008/04, Waterdienst-rapport 2008.061. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Beek-Ubbergen.
- Hustings F., Koffijberg K., van Winden E., van Roomen M., SOVON Ganzen- en Zwanenwerkgroep & Soldaat L. 2009. Watervogels in Nederland in 2007/2008. SOVON-monitoringrapport 2009/02, Waterdienst-rapport 2009.020. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Beek-Ubbergen.
- Hornman M., Hustings F., Koffijberg K., van Winden E., SOVON Ganzen- en Zwanenwerkgroep & Soldaat L. 2011. Watervogels in Nederland in 2008/2009. SOVON-monitoringrapport 2011/03, Waterdienst-rapport BM 10.24. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Nijmegen.
- Mundt E., Gay L., Jones L., Saavedra G., Tompkins S., Tripp R., 2009. Replication and pathogenesis associated with H5N1, H5N2, and H5N3 low-pathogenic avian influenza virus infection in chickens and ducks. *Archives of Virology* 154(8): 1241-1248.
- Productschap Pluimvee en Eieren, 2011. Voorlopige jaarcijfers 2010 pluimveevlees en eieren.
<http://www.pve.nl/pve?waxtrapp=rduHsHsuOnbPTEcBPR&context=nfMsHsuOnbPTEC>
- Tumpey, T.M., Kapczynski D.R., Swayne D.E., 2004. Comparative susceptibility of chickens and turkeys to avian influenza A H7N2 virus infection and protective efficacy of a commercial avian influenza H7N2 virus vaccine. *Avian Diseases* 48(1): 167-176.
- Van Roomen M., van Winden E., Koffijberg K., Ens B., Hustings F., Kleefstra R., Schoppers J., van Turnhout C., SOVON ganzen en Zwanenwerkgroep & Soldaat L. 2006, Watervogels in Nederland in 2004/2005. SOVON-monitoringsrapport 2006/2, RIZA rapport BM06.14. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Bek-Ubbergen.
- Van Roomen M., van Winden E., Koffijberg K., van den Bremer L., Ens B., Kleefstra R., Schoppers J., Vergeer J.W., SOVON ganzen en Zwanenwerkgroep & Soldaat L. 2007, Watervogels in Nederland in 2005/2006. SOVON-monitoringsrapport 2007/03, Waterdienst-rapport BM07.09. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Bek-Ubbergen.
- Voslamber B. 2005. Wilde Vogels op en rond pluimveebedrijven. SOVON-informatierapport 2005/18. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Beek-Ubbergen.
- Voslamber B. 2006. Wilde Vogels op en rond pluimveebedrijven, juli/augustus 2006. SOVON informatierapport 2006/08. SOVON Vogelonderzoek Nederland, Beek-Ubbergen.
- Welby, S., Poncin, O., Claes, G., Van der Stede, Y., Vangeluwe, D., Marché, S., Lambrecht, B., Van den Berg, T. 2010. Empirical approach for risk based model to enable detection and measures against spread of low pathogenic avian influenza, preliminary results of wild bird contacts with outdoor poultry pens.