

---

# Inventarisatie van sneltesten voor vogelgriep

(KD-2022-096)

Fimme Jan van der Wal, Sylvia Pritz-Verschuren, Arnout de Bruin, Nancy Beerens, Evelien Germeraad

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Bioveterinary Research, in opdracht van en gefinancierd door het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, in het kader van Beleidsondersteunend Onderzoek, thema 'Veilige en duurzame primaire productie' (project nummer BO-43-111-093 (KD-2022-096))

Wageningen Bioveterinary Research  
Lelystad, Mei 2023

---

Rapport 2314469

---

Van der Wal FJ, Pritz-Verschuren S, De Bruin A, Beerens N, Germeaad E, 2023. *Inventarisatie van sneltesten voor vogelgriep*. Lelystad, Wageningen Bioveterinary Research, Vertrouwelijk Rapport 2314469.

Dit rapport is te downloaden op <https://doi.org/10.18174/653286> of op [www.wur.nl/bioveterinary-research](http://www.wur.nl/bioveterinary-research) (onder Wageningen Bioveterinary Research publicaties).

© 2023 Wageningen Bioveterinary Research  
Postbus 65, 8200 AB Lelystad, T 0320 23 82 38, E [info.bvr@wur.nl](mailto:info.bvr@wur.nl), [www.wur.nl/bioveterinary-research](http://www.wur.nl/bioveterinary-research).

© Dit rapport is uitgegeven onder een Creative Commons (CC) license: CC **BY-NC-ND** 4.0.  
BY: het werk kan worden geredistribueerd (kopiëren, publiceren, communiceren etc.), bij gebruik van het werk moet er wel worden gerefereerd naar het originele werk.  
NC: non-commercial use; ND: no derivative works.

---

# Inhoudsopgave

	<b>Samenvatting</b>	<b>4</b>
	<b>Verklarende woordenlijst</b>	<b>5</b>
<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Uitvoering</b>	<b>7</b>
	2.1 Inventarisatie en selectie van sneltesten	7
	2.2 Gebruiksgemak en gevoeligheid in het laboratorium	7
	2.3 Extrapolatie naar veldmonsters	8
<b>3</b>	<b>Resultaten</b>	<b>9</b>
	3.1 Inventarisatie van sneltesten	9
	3.1.1 Beschikbare sneltesten	9
	3.1.2 Sneltesten getest voor pluimvee in de literatuur	9
	3.1.3 Selectie van sneltesten	9
	3.2 Evaluatie van sneltesten in het laboratorium	10
	3.2.1 Gebruiksgemak	10
	3.2.2 Gevoeligheid	11
	3.3 Mogelijke betekenis voor gebruik in het veld	12
	3.3.1 Theoretische afkapwaarden (gevoeligheden) van de sneltesten	12
	3.3.2 Extrapolatie naar veldmonsters	13
<b>4</b>	<b>Discussie en aanbevelingen</b>	<b>14</b>
	4.1 Discussie	14
	4.2 Aanbevelingen	15
	<b>Literatuur/bronnen</b>	<b>16</b>
	<b>Bijlage 1 Sneltesten voor gebruik in pluimvee</b>	<b>18</b>
	<b>Bijlage 2 Sneltesten voor humane monsters</b>	<b>19</b>
	<b>Bijlage 3 Gebruik van sneltesten voor pluimvee</b>	<b>20</b>
	<b>Bijlage 4 Voorselectie van goed verkrijgbare sneltesten</b>	<b>22</b>

---

# Samenvatting

Vogelgriepvirussen zijn endemisch aanwezig in wilde vogels in Nederland, en uitbraken van vogelgriep (aviaire influenza, AI) bij pluimveebedrijven komen inmiddels veelvuldig voor. Diagnostiek vindt plaats met behulp van PCR's, waarvoor in het laboratorium 24/7 wordt getest. Op grond van deze resultaten kan een koppel pluimvee worden geruimd. In een situatie met veel gelijktijdige verdenkingen bij pluimveebedrijven kan een sneltest op locatie wellicht helpen om te prioriteren.

Het doel van dit onderzoek is om te onderzoeken welke sneltesten voor AI virus er beschikbaar zijn en om van een aantal sneltesten de gevoeligheid voor het huidige vogelgriepvirus in het laboratorium te bepalen.

Op basis van een aantal criteria (o.a. verwacht gebruiksgemak en actuele beschikbaarheid) zijn vier sneltesten voor influenzavirus geselecteerd (Abbexa, Anigen, Biopanda, Quidel). Daar is een vijfde sneltest aan toegevoegd die in Nederland al is gebruikt voor wilde vogels (Clungene). Al deze op laterale flow gebaseerde sneltesten zijn eenvoudig in gebruik, en op dit moment goed verkrijgbaar. In dit project zijn deze sneltesten in het laboratorium onderzocht met verschillende concentraties van het huidige vogelgriepvirus (HPAI H5N1). Onder de gebruikte condities is de sneltest van Clungene het gevoeligst, gevolgd door de sneltesten van Biopanda en Anigen. Daarna komt de sneltest van Quidel, en de minst gevoelige sneltest is die van Abbexa. Wanneer de resultaten van deze studie worden vergeleken met PCR-resultaten van met HPAI H5N1 geïnfecteerde bedrijven in de afgelopen anderhalf jaar, zou in theorie circa 92% van de PCR-positieve bedrijven ook met de Clungene sneltest positief voor AI virus worden gevonden. In de praktijk kan dit percentage lager zijn, omdat de gevoeligheid in het laboratorium rechtstreeks met virusverduningen is onderzocht, en niet met behulp van swabs van geïnfecteerd pluimvee. Daarnaast geven de laagste hoeveelheden virus in sneltesten zeer zwakke testlijnen, die onder suboptimale condities (buiten een laboratorium) mogelijk over het hoofd worden gezien.

Voordat screening van verdenkingen met sneltesten geïmplementeerd kan worden, is aanvullend onderzoek nodig. Ten eerste moet de gevoeligheid van de sneltesten worden onderzocht met keel- en cloaca-swabs van pluimvee, want in de huidige studie is de gevoeligheid onderzocht door direct een vast volume van een virusverduning toe te voegen aan de sneltesten. Ten tweede is het belangrijk om vast te stellen of sneltesten ook andere AI-subtypen kunnen detecteren, bijv. H7 virussen. Dit is relevante informatie bij toekomstige uitbraken met andere subtypen. Ten derde is het van belang om te onderzoeken hoe sneltesten in het veld toegepast kunnen worden, met aandacht voor gebruiksgemak en 'afleesbaarheid', en focus op steekproefgrootte (per stal) in een veldstudie, samen met de betrokken overheden.

---

# Verklarende woordenlijst

Antigeen sneltest (= *lateral flow test*): in dit type test loopt de opgebrachte vloeistof met virusdeeltjes door het spons-achtige materiaal van de test (laterale flow). Antigenen op het virusdeeltje worden herkend door antilichamen met een kleurstof, die aan het begin van de test zitten, en door antilichamen die op een vaste positie zitten, verderop in de test (de testlijn). Virusdeeltje die op de testlijn door antilichamen zijn ingevangen én antilichamen met kleurstof hebben gebonden, vormen de zichtbare testlijn.

Ct-waarde: staat voor het aantal cycli in een PCR-reactie dat voor een monster nodig is om een signaal te geven. Voor de M-PCR zijn monsters met een Ct-waarde  $\leq 36$  positief voor AI virus. Een monsters met een Ct-waarde 15 geeft na 15 van de 40 cycli een signaal en bevat dus een grote hoeveelheid virus.

EID<sub>50</sub>/ml: 50 procent Embryo Infectious Dose; één EID<sub>50</sub>-eenheid is de hoeveelheid virus die 50% van geïnoculeerde eieren zal infecteren.

Gevoeligheid (analytische gevoeligheid, detectiegrens, aantoonbaarheidsgrens): de laagste concentratie virus die een test nog kan detecteren.

Sensitiviteit (diagnostische gevoeligheid): het percentage correct positieve uitslagen van een test.

Specificiteit: het percentage correct negatieve uitslagen van een test.

---

# 1 Inleiding

Vogelgriepvirussen zijn endemisch aanwezig in wilde vogels in Nederland en uitbraken van vogelgriep (aviaire influenza, AI) bij pluimveebedrijven kwamen afgelopen twee jaar veelvuldig voor (1, 2). Van vogelgriepvirussen zijn er 16 H-typen en 9 N-typen die in verschillende combinaties (subtypen) voorkomen. Wanneer op een bedrijf een HPAI H5 of H7 subtype wordt aangetoond, zal, om verspreiding van vogelgriep te voorkomen, het bedrijf geruimd worden (3). Voor het detecteren van H5 en H7 AI virus op keel- en cloaca-swabs vindt diagnostiek plaats met PCR-testen in het laboratorium. Op basis van de resultaten worden beleidsmaatregelen genomen.

Een test die volgens een ander principe werkt dan PCR, is de antigeen sneltest. Sneltesten voor influenzavirussen zijn verkrijgbaar in dezelfde vorm als de inmiddels bekende sneltesten voor coronavirussen. Dit type sneltest is een laterale flow test die met antilichamen het virus aantoonst, zonder tussenkomst van een vermeerdering van het genetisch materiaal, zoals dat wel in een PCR gebeurt. Om die reden zullen sneltesten voor bv. corona en influenza altijd minder gevoelig zijn dan PCR (4, 5). De inzet van sneltesten tijdens de coronapandemie heeft echter laten zien dat ook testen die geen optimale gevoeligheid hebben, toch kunnen bijdragen aan het beleid. Mogelijk kunnen sneltesten ook ingezet worden tijdens uitbraken van vogelgriep in pluimvee en vogels. Tijdens de huidige uitbraak van het H5N1 vogelgriepvirus is door Dierenambulance De Ronde Venen / Amstelland een influenza-sneltest gebruikt voor het aantonen van het vogelgriepvirus in wilde vogels (6), om te kunnen beslissen of een dier wel of niet opgenomen kon worden. Deze sneltesten zullen minder gevoelig zijn dan PCR's en kunnen geen onderscheid maken tussen de verschillende AI-varianten, maar als ze voldoende gevoelig zijn kunnen ze wel helpen bij de prioritering van diagnostiek. Daarmee kunnen beschikbare menskracht en middelen voor het nemen van monsters en het uitvoeren van diagnostiek efficiënt worden ingezet, waardoor er ook bij meerdere verdenkingen op het zelfde moment tijdig actie kan worden ondernomen. Tot op heden is de gevoeligheid van deze sneltesten nog niet voldoende onderzocht. In het geval dat sneltesten worden ingezet blijft confirmatie met een geaccrediteerde test onmisbaar.

Afgelopen decennia zijn er diverse testen voor influenza op de markt verschenen. De meeste van deze testen zijn ontwikkeld voor monsters van mensen, maar er zijn ook sneltesten ontwikkeld voor pluimvee. Het **eerste doel** van dit project is het maken van een overzicht van de verkrijgbare sneltesten, inclusief de beschikbare informatie over het gebruik voor pluimvee. Het **tweede doel** is om van de geselecteerde sneltesten te achterhalen wat de gevoeligheid en het gebruiksgemak is.

---

## 2 Uitvoering

### 2.1 Inventarisatie en selectie van sneltesten

Er zijn vijf criteria waar sneltesten voor influenza aan moeten voldoen om geschikt te zijn voor gebruik in pluimvee in Nederland:

1. Beschikbaarheid in Nederland, bij naar verwachting betrouwbare leveranciers (leveranciers uit Europa of VS met een productvoorraad, om zo problemen met levering voor te zijn);
2. Inzetbaar bij pluimvee, zoals aangegeven door de fabrikant of aangetoond in de literatuur;
3. Gebruiksgemak op locatie bij een verdenking, dat wordt bepaald door het aantal en de soort handelingen die nodig zijn om een test uit te voeren. Dubbeltesten met COVID en RSV (Respiratoir syncytieel virus) zijn buiten beschouwing gelaten, omdat deze meerdere uitleesvensters hebben en mogelijk verwarring kunnen geven;
4. De prijs met als maximum een arbitraire €10,- per enkele test.
5. Een gevoeligheid die voldoende is om een virusinfectie in pluimvee vast te kunnen stellen. De gevoeligheid van sneltesten is deels uit de literatuur en deels uit informatie van de fabrikant af te leiden, maar door de variatie in de gebruikte toepassingen en methodiek kan dit het beste getest worden in eigen beheer.

Er is eerst een inventarisatie gedaan van sneltesten voor influenza om te zien wat er commercieel verkrijgbaar is, met de focus op testen die afkomstig zijn van betrouwbare leveranciers en ontworpen zijn voor monsters afkomstig van pluimvee. Daarnaast is in de literatuur gekeken welke testen eerder onderzocht zijn en/of werden gebruikt voor pluimvee, en met welke resultaten. Op grond van deze informatie is een voorselectie gemaakt van testen die goed verkrijgbaar zijn, waarvan vervolgens een selectie is gemaakt op basis van gebruiksgemak en prijs.

### 2.2 Gebruiksgemak en gevoeligheid in het laboratorium

Voor gebruiksgemak is gekeken naar drie praktische zaken: het aantal componenten van de sneltest, de wijze van verpakken, en eventueel voorgeschreven (afwijkende) voorwaarden voor uitvoering. Om uitspraken te kunnen doen over gevoeligheid zijn de testen onderzocht met een HPAI H5N1 virus (A/chicken/Netherlands/21038165-006010/2021) uit de huidige uitbraak. Hiervoor zijn vier dezelfde reeksen met een half-logaritmische verdunning (0,5 log stappen) gemaakt in 2,95% tryptose fosfaat broth (TFB). Per sneltest is in viervoud 20 µl van de virusverdunning toegevoegd aan de meegeleverde assaybuffer van de sneltest. Dit is voor alle sneltesten hetzelfde gedaan, om zo bij elke sneltest dezelfde hoeveelheid virus te testen, zonder invloed van de swab. Per verdunningsreeks zijn minimaal zeven verdunningen (in TFB) en één negatieve controle (alleen TFB) getest, om te laten zien dat TFB in de toegevoegde virusverdunning geen artefacten veroorzaakt. Voor elke sneltest is het maximaal aantal voorgeschreven druppels toegevoegd, behalve bij de geteste dipstick die rechtstreeks in de assaybuffer met virus werd geplaatst (Tabel 1). Na de voorgeschreven incubatietijden zijn de resultaten direct beoordeeld. Van alle testen zijn foto's gemaakt tijdens het aflezen. Met behulp van de Spearman-Kärber formule is voor elke sneltest het punt berekend waarop 50% van de sneltesten in theorie positief is, i.e. de gevoeligheid (detectiegrens).

**Tabel 1.** Aantal druppels en incubatietijden gebruikt voor de onderzochte sneltesten.

Test	Abbexa	Biopanda	Anigen	Quidel	Clungene
Maximaal aantal druppels	3	3	5	nvt*	3
Incubatietijd (minuten)	15	15	20	10	15

\* De sneltest van Quidel is een dipstick waarbij de teststrip in de assaybuffer met virus wordt gezet.

---

## 2.3 Extrapolatie naar veldmonsters

De berekende gevoeligheid is uitgedrukt in termen van de gebruikte verdunningen en omgerekend naar de Ct-waarden van de AI M-PCR, i.e. de routine PCR op het genetisch materiaal dat codeert voor het matrix eiwit van het AI virus. De Ct-waarden zijn afgeleid van een ijklijn, die eerder met de AI M-PCR is bepaald voor een verdunningsreeks van het gebruikte virus. Daarnaast is de aanname gedaan dat de 20 µl van een virusverdunning toegevoegd aan het bij de test behorende volume assaybuffer gelijk staat aan wat een swab van een veldmonster zou opnemen en overdragen aan de assaybuffer. Vervolgens zijn de berekende Ct-waarden als theoretische afkapwaarde gebruikt voor veldmonsters, om uit te rekenen hoeveel M-PCR positieve veldmonsters in theorie ook positief zouden zijn met de onderzochte sneltesten. Deze monsters bestaan uit pools van 5 individuele swabs per pool. Per stal worden er 20 dieren bemonsterd en dus worden er per stal 8 pools getest in de M-PCR (4 pools met trachea-swabs en 4 pools met cloaca-swabs). De voor deze vergelijking gebruikte resultaten zijn de AI M-PCR Ct-waarden van de positief geteste poolmonsters van 92 AI-positieve bedrijven in Nederland, uit de periode oktober 2021 - maart 2023. Het betreft voornamelijk bedrijven kippen, maar er zitten ook enkele monsters van kalkoenen en eenden bij. Dit is in de analyse niet uitgesplitst.



---

## 3 Resultaten

### 3.1 Inventarisatie van sneltesten

#### 3.1.1 Beschikbare sneltesten

Er is eerst een Google search gedaan naar sneltesten voor aviaire influenza. Hierin zijn 38 testen gevonden, waarvan vier sneltesten voldoen aan de criteria dat ze uit Europa of de VS komen en voor pluimvee zijn ontworpen (Bijlage 1). De meeste testen zijn breed voor AI virus en herkennen waarschijnlijk het nucleoproteïne (de target wordt niet altijd genoemd). Een subset van de sneltesten is specifiek voor H5, H7, of H9 subtypes.

Omdat in de wetenschappelijke literatuur ook veel humane testen zijn gebruikt voor de detectie van AI virus in pluimvee, is er een vergelijkbare Google search uitgevoerd voor humane influenza-sneltesten. Er zijn 25 sneltesten gevonden (Bijlage 2), vnl. influenza A/B testen voor neus/keel swabs en aspiraat. Deze zijn in het verleden deels in pluimvee getest, zoals aangegeven in Bijlage 2. Dit aantal is lager dan sneltesten voor pluimvee, wellicht omdat dubbeltesten met COVID en RSV buiten beschouwing zijn gelaten. Deze hebben meerdere uitleesvensters wat de kans op fouten tijdens het gebruik zou kunnen vergroten.

#### 3.1.2 Sneltesten getest voor pluimvee in de literatuur

Een overzicht van sneltesten voor influenza ontworpen voor pluimvee of mensen, en beschreven in de wetenschappelijke literatuur (7-25) voor detectie van AI virus in pluimvee, staat op chronologische volgorde in Bijlage 3. Een belangrijke observatie in deze bijlage is dat één van de weinige testen die ontworpen is om H5 te subtyperen, een lagere gevoeligheid heeft dan de AI-brede sneltest van dezelfde fabrikant (Anigen) (16, 22).

De frequentie dat een sneltest ingezet wordt voor pluimvee geeft een indicatie voor de toepasbaarheid. In Bijlage 3 komen de sneltesten voor pluimvee uit de eerste selectie (Bijlage 1) van Synbiotics (Zoetis, nu geleverd door Novidia) en Megacor, respectievelijk vijf en twee keer voor, en de sneltest van Anigen, afgefallen in Bijlage 1, zelfs acht keer. De testen van Abbexa en Biopanda, die samen met de testen van Zoetis en Megacor aan de criteria voldoen dat ze voor pluimvee zijn én goed beschikbaar zijn (Bijlage 1), komen in de literatuur niet voor. Ter vergelijking: een Google Scholar search voor deze vijf sneltesten levert 258 hits op voor Anigen, 133 voor Synbiotics, vijf voor Megacor, en niets voor Abbexa of Biopanda. De 258 hits voor Anigen zijn niet uitgesplitst voor de verschillende sneltesten (AI-breed of subtype-specifiek) van deze producent. De Anigen sneltest voor AI virus is in Bijlage 1 afgefallen op basis van herkomst (niet uit Europa of de VS), maar wordt blijkbaar veel gebruikt, is daarom wellicht toch interessant én heeft een actieve distributeur in Europa.

Een deel van deze sneltesten is op het moment van literatuuronderzoek niet meer verkrijgbaar, van influenza A naar influenza A+B overgegaan, of samengevoegd met een sneltest voor COVID of RSV. Hierdoor is het moeilijk in te schatten of een aantal humane testen op dit moment nog van dezelfde samenstelling zijn als op het moment dat ze met pluimvee-monsters werden getest. Een tweede factor die het overzicht bemoeilijkt, is dat in de literatuur de sneltesten in wisselende combinaties naast elkaar getest zijn, voor verschillende (veld)toepassingen en met monsters uit verschillende soorten experimenten. Hierdoor is het lastig om de gegeven resultaten in absolute zin met elkaar te vergelijken. Deze gegevens zijn wel gebruikt om vergelijkingen in meer relatieve zin te maken voor het overzicht van eventueel te onderzoeken testen (zie 3.1.3.1 Voorselectie).

#### 3.1.3 Selectie van sneltesten

##### 3.1.3.1 Voorselectie

Op grond van de informatie weergegeven in Bijlage 1-3 is een voorselectie van sneltesten gemaakt. Uit Bijlage 1 is gekozen voor vier sneltesten voor pluimvee die op dit moment goed verkrijgbaar zijn in Nederland: Abbexa, Biopanda, Megacor en Zoetis. Op grond van gegevens genoemd in Bijlage 3 is dit viertal aangevuld met een vijfde sneltest, i.e. de veelgebruikte sneltest voor pluimvee van Anigen. Deze

---

set sneltesten is verder uitgebreid met drie humane sneltesten uit Bijlage 2 die nog steeds leverbaar zijn, en in de literatuur ook getest zijn voor pluimvee (Abbott, Remel, en Quidel). Een sneltest van Clungene is als negende test toegevoegd. Deze voldoet niet aan de vooraf gestelde criteria, maar is afgelopen periode in Nederland reeds gebruikt voor detectie van AI door Dierenambulance De Ronde Venen / Amstelland (zie 'Inleiding') en daarom toegevoegd.

De eigenschappen van de negen sneltesten in deze voorselectie staan beschreven in Bijlage 4 en deels in de tekst hieronder (Prijs, Gebruiksgemak, Prestatie volgens de literatuur). Op grond hiervan zijn een aantal testen (zie 3.1.3.5 Finale selectie van sneltesten) uitgekozen voor verder onderzoek.

### **3.1.3.2 Prijs**

Als er naar de prijs van sneltesten wordt gekeken vallen de humane sneltesten van Abbott en Remel als duurste testen af. Deze testen kosten beiden meer dan €20,- per stuk, terwijl de andere testen allemaal minder dan €10,- kosten.

### **3.1.3.3 Gebruiksgemak**

Bijlage 4 geeft een beknopte samenvatting van de handleidingen van de sneltesten uit de voorselectie. Op basis van (verwacht) gebruiksgemak vallen er nog twee testen af. De sneltesten van Megacor en Zoetis (Novidia) zijn dipsticks, i.e. de strips die bij gangbare sneltesten in een cassette zitten worden hier 'los' gebruikt. Voor de test van Megacor zijn er daardoor extra handelingen nodig die onhandig zijn. Voor de test van Zoetis wordt voor een batch van 20 testen alle assaybuffer in één volume meegeleverd. Dit is onpraktisch, omdat het niet gewenst is om de assaybuffer van stal naar stal mee te nemen.

### **3.1.3.4 Prestatie volgens de literatuur**

Voor de gevoeligheid en sensitiviteit in pluimvee zijn de beschrijvingen in de literatuur nogal divers (Bijlage 3 en 4). In een studie van Marché uit 2010 (16) is de gevoeligheid van de sneltesten van Megacor, Zoetis, en de humane sneltest van Remel ongeveer gelijk, en beter dan die van Anigen. In een studie uit 2008 van Loth (13) is de sensitiviteit bij de sneltest van Zoetis beter (71%) dan die van de Anigen sneltest (69%). In twee andere studies, van Soliman in 2010 en Slomka in 2011 (18, 19), zijn de sneltesten van Anigen en Quidel met elkaar vergeleken voor gebruik in kippen. Hier is de sensitiviteit van de Anigen sneltest hoger dan die van de humane Quidel sneltest. Dit is resp. 77.2% voor Anigen versus 75.4% voor Quidel (18) en 67.6% voor Anigen versus 54.1% voor Quidel (19). Daarnaast tonen de studies van Woolcock uit 2005 en van Chan uit 2007 aan dat de gevoeligheid van de Abbott sneltest gelijk of slechter is dan die van Quidel (8, 9). De genoemde resultaten zijn lastig te vergelijken, terwijl er over de sneltesten van Abbexa, Biopanda, en Clungene, niets in de literatuur is beschreven omtrent gebruik in pluimvee.

Het beeld wat ontstaat voor de gevoeligheden van de testen die wel beschreven zijn, is dat de sneltesten van Megacor en Zoetis vergelijkbaar zijn, en gevoeliger dan de sneltest van Anigen. De humane sneltest van Remel staat op het niveau van de gevoeligste pluimvee-sneltesten, maar de humane sneltesten van Quidel en Abbott zijn juist weer minder gevoelig dan alle pluimvee-sneltesten, waarbij de Quidel sneltest beter presteert dan die van Abbott. De uit de literatuur afgeleide gevoeligheden van de sneltesten in de voorselectie is als volgt: Abbott < Quidel < Anigen < Megacor & Zoetis & Remel.

### **3.1.3.5 Finale selectie van sneltesten**

Op basis van de hierboven beschreven karakteristieken zijn uit de voorselectie vijf sneltesten gekozen voor onderzoek naar gevoeligheid en gebruiksgemak: Abbexa, Biopanda, Anigen, Quidel, en Clungene.

## **3.2 Evaluatie van sneltesten in het laboratorium**

### **3.2.1 Gebruiksgemak**

Het gebruiksgemak van de geselecteerde sneltesten staat beschreven in Tabel 2. Het aantal verschillende componenten per sneltestkit varieert tussen 3 of 4, behalve bij Quidel, wat een complexe kit is met 8 verschillende componenten. Dit is de enige kit die een positieve en negatieve controle meeleverd en disposables voor twee verschillende methodes bevat (swab/aspiraats). Bij de kits van Anigen en Quidel zijn meerdere pipetjes verpakt in één zak, en bij de kit van Anigen zijn de cassettes per 10 verpakt in één zak. Beide verpakkingen zijn minder praktisch voor gebruik in het veld, waar

individuele verpakkingen handiger zijn. Bij de sneltesten van Abbexa, Biopanda en Clungene is wel alles individueel verpakt. Wat betreft het uitvoeren van sneltesten zijn die van Abbexa, Biopanda, Anigen, en Clungene het meest praktisch, omdat het gangbare sneltesten zijn, waarbij de teststrip in een cassette zit en het monster direct op de teststrip gedruppeld wordt. De test van Clungene heeft daarbij als mogelijk nadeel dat het twee uitleesvensters heeft (COVID en influenza).

**Tabel 2.** Overzicht van de prijs en het gebruiksgemak van de onderzochte sneltesten. Karakteristieken die als voordeel worden gezien, zijn in groen weergegeven.

Test	Abbexa	Biopanda	Anigen	Quidel	Clungene
Prijs per sneltest (€)	8,60	6,30	8,44	7,20	2,40
Aantal verschillende componenten	3	3	4	8	3
Verpakkingswijze van componenten	individueel	individueel	10 cassettes/zak 10 pipetjes/zak	25 pipetjes/zak	individueel
Handelingen	als standaard sneltest*	als standaard sneltest*	als standaard sneltest*	eerst assaybuffer (poeder) oplossen, de test is een dipstick, die verticaal incuberen in buisje met monster, uitnemen en aflezen	als standaard sneltest* cassette met extra uitleesvenster (parallele ongebruikte COVID test)

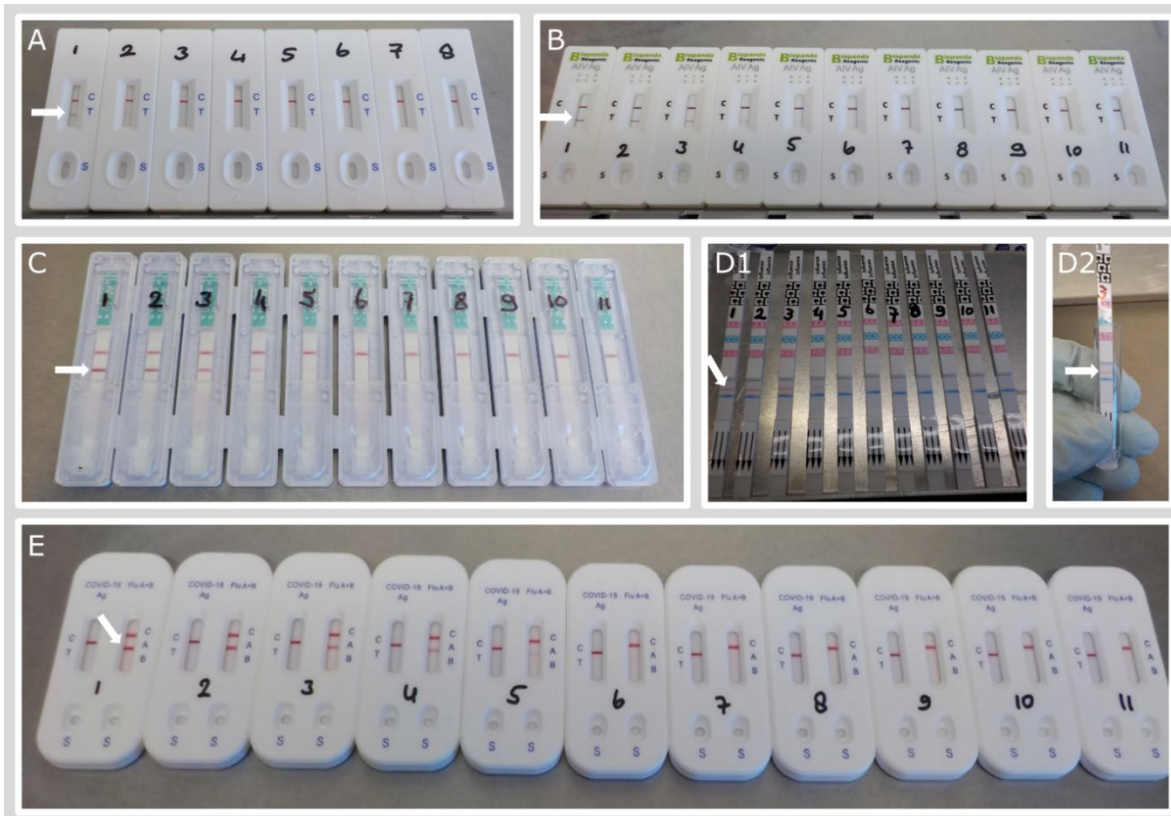
\* De teststrip zit in een cassette, een paar druppels assaybuffer met virus worden op de test aangebracht.

### 3.2.2 Gevoeligheid

In Tabel 3 zijn de resultaten weergegeven van de verdunningsreeksen, in viervoud getest met de vijf te onderzoeken sneltesten. Bij de eerste verdunningsreeks (1' in Tabel 3) zijn meer verdunningen getest dan in de andere drie reeksen (2-4 in Tabel 3). Dit om er zeker van te zijn dat het omslagpunt van positief naar negatief binnen de reeks valt. In Tabel 3 is te zien dat de sneltest van Abbexa het minst gevoelig is; detectie gaat niet verder dan de 10<sup>1,0</sup> verdunning. De sneltest van Quidel kan nog virus aantonen in de 10<sup>2,5</sup> verdunning, terwijl de sneltesten van Biopanda en Anigen bij de 10<sup>3,0</sup> verdunning nog positief zijn. De meest gevoelige sneltest is die van Clungene, die in 3 van de 4 gevallen positief is bij de 10<sup>3,5</sup> virus-verdunning.

**Tabel 3.** Overzicht van de resultaten van de vijf verschillende sneltesten met half-logaritmische verdunningsreeksen in viervoud (1 t/m 4). De bijbehorende EID<sub>50</sub>/ml titers van het gebruikte HPAI H5N1 virus (A/chicken/Netherlands/21038165-006010/2021) en de verdunningen in TFB, zijn gegeven. P (rood): positief; N (wit): negatief; lichtblauw: niet getest. NC, negatieve controle (alleen TFB).

Verdunning (10 <sup>^</sup> )	Titer EID <sub>50</sub> /ml (10 <sup>^</sup> )	Abbexa				Biopanda				Anigen				Quidel				Clungene			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Onverdund	9,94	P	P	P	P																
0,5	9,44	P	P	P	P	P				P				P				P			
1,0	8,94	P	P	P	N	P				P				P				P			
1,5	8,44	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
2,0	7,94	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
2,5	7,44	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
3,0	6,94	N				P	P	P	P	P	P	P	P	N	N	N	N	P	P	P	P
3,5	6,44					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	P	N	P
4,0	5,94					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4,5	5,44					N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5,0	4,94					N				N				N				N			
NC	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N



**Figuur 1.** Foto's van de resultaten van de eerste verdunningsreeksen ('1' in Tabel 3) van vijf sneltesten. **A:** Abbexa; **B:** Biopanda; **C:** Anigen; **D1, D2:** Quidel; **E:** Clungene. Van elke test bevat nummer 1 de hoogste concentratie virus en nummer 7 (A) en nummer 10 (B-E) de laagste. Nummer 8 (A) en 11 (B-E) zijn de negatieve controles. Een witte pijl geeft de positie van de testlijn aan waar een zichtbaar signaal ontstaat wanneer de sneltest virus in het monster detecteert. Andere lijnen zijn controlelijnen die altijd zichtbaar moeten zijn. De test van Quidel is een losse teststrip die verticaal in een buisje met monster geplaatst wordt (**D2**). De test van Clungene (**E**) heeft twee uitleesvensters (links: COVID; rechts: influenza A en B).

Het aflezen van de testen wordt moeilijker naarmate de verdunningsreeksen de ondergrens bereiken van wat ze kunnen aantonen. De sterkste verdunningen laten vaak vage signalen zien (rode testlijntjes), die in het laboratorium nog net zichtbaar zijn maar op de foto's niet meer. De resultaten uit Tabel 3 zijn zoals waargenomen in het laboratorium. In Figuur 1 staan de bijbehorende foto's van de eerste verdunningsreeksen ('1') uit Tabel 3.

### 3.3 Mogelijke betekenis voor gebruik in het veld

#### 3.3.1 Theoretische afkapwaarden (gevoeligheden) van de sneltesten

De direct in het laboratorium afgelezen waarnemingen zijn gebruikt voor het bepalen van de gevoeligheden van de sneltesten. De gevoeligheid varieert in verdunningen van  $10^{1,1}$  voor de sneltest van Abbexa tot  $10^{3,6}$  voor de sneltest van Clungene en komt overeen met gevoeligheden in EID<sub>50</sub>/ml van respectievelijk  $10^{8,8}$  en  $10^{6,3}$  van het gebruikte HPAI H5N1 virus (Tabel 4). Voor de berekende gevoeligheden zijn ook de bijbehorende Ct-waarden van de M PCR afgeleid. Deze kunnen als theoretische afkapwaarde voor veldmonsters worden gebruikt, om te extrapoleren wat het gebruik van sneltesten in het veld zou kunnen betekenen in vergelijking met diagnostiek door middel van PCR.

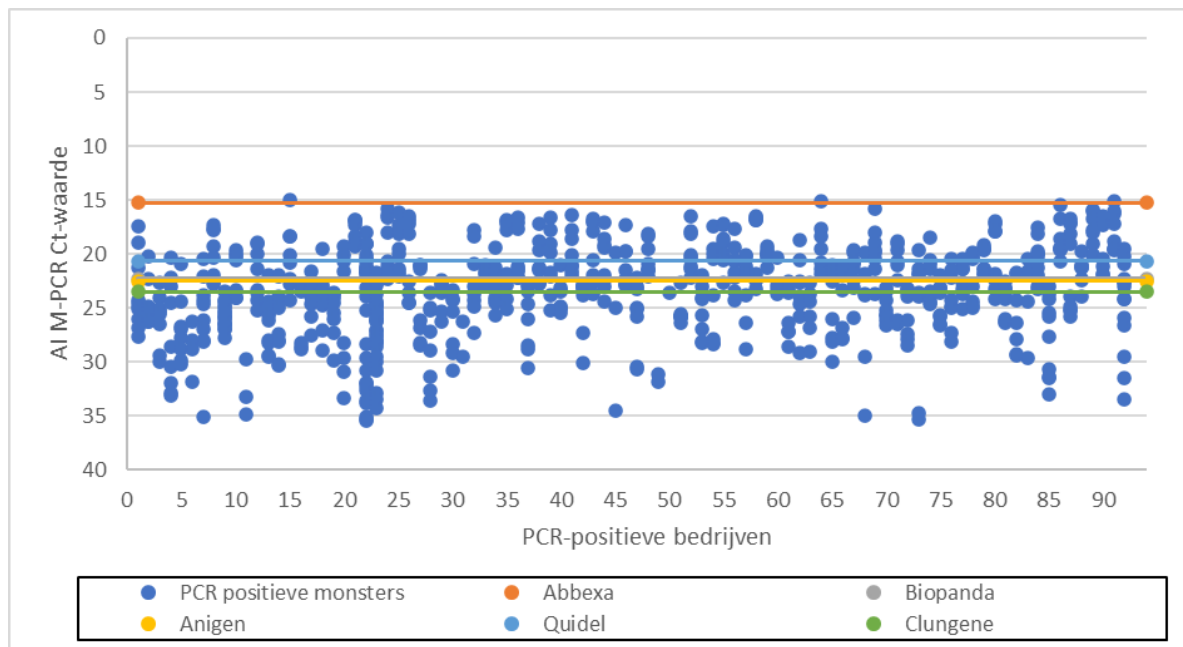
**Tabel 4.** Overzicht van de gevoeligheden van de vijf onderzochte sneltesten, uitgedrukt in verdunning, EID<sub>50</sub>/ml met de standaarddeviatie (SD), en de m.b.v. een ijklijn berekende AI M-PCR Ct-waarde.

Test	Abbexa	Biopanda	Anigen	Quidel	Clungene
Aantoonbaarheidsgrens verdunning (10 <sup>^</sup> )	1,1	3,3	3,3	2,8	3,6
Aantoonbaarheidsgrens EID <sub>50</sub> /ml (10 <sup>^</sup> )	8,8	6,7	6,7	7,2	6,3
Standaarddeviatie (SD)	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1
Berekende Ct-waarde	15,3	22,3	22,3	20,6	23,5

### 3.3.2 Extrapolatie naar veldmonsters

Figuur 2 laat de AI M-PCR Ct-waarden zien van alle positief geteste monsters (n=796), van 92 AI-positieve bedrijven in Nederland in de periode oktober 2021 - maart 2023. Monsters die het meest positief zijn hebben in de PCR een Ct van rond de 15. Monsters met nog meer virus (en een nog lagere Ct) worden niet aangetroffen. De laagst waarneembare hoeveelheid virus geeft met de gebruikte PCR een hoge Ct van maximaal 36 (tot deze waarde is de test positief). Voor elke sneltest is een theoretische gevoeligheid (als afgeleide Ct-waarde) weergegeven als een horizontale lijn (Fig. 2). Monsters met een Ct-waarde boven de theoretische gevoeligheid zouden in de desbetreffende sneltest positief zijn.

De sneltest van Abbexa zou slechts drie van de 796 PCR-positieve monsters als positief testen, wat overeen zou komen met correcte identificatie van rond de 3% van de 92 AI-positieve bedrijven. De sneltesten van Quidel (200 positieve monsters, 62% bedrijven) en de vergelijkbaar gevoelige testen van Biopanda en Anigen (beiden 332 positieve monsters, 77% bedrijven) presteren beter. De sneltest van Clungene zou de meeste PCR-positieve monsters aantonen (432), wat overeen zou komen met 92% van de besmette bedrijven. Hierbij is de definitie van een besmet bedrijf dat van de geteste pools minimaal één pool PCR-positief is.



**Figuur 2.** De AI M-PCR Ct-waarden van alle (n=92) AI-positieve bedrijven in de periode van oktober 2021 - maart 2023 in Nederland. De theoretische gevoeligheden (of afkapwaarden) van de vijf onderzochte sneltesten zijn als horizontale lijnen geprojecteerd over de Ct-waarden (blauwe punten). Op basis van de waargenomen Ct's zouden monsters met een Ct boven de theoretische afkapwaarden gedetecteerd worden door de desbetreffende sneltesten.

---

# 4 Discussie en aanbevelingen

## 4.1 Discussie

Op basis van een aantal criteria zijn vijf sneltesten voor influenza geselecteerd voor onderzoek met een recent HPAI virus in het laboratorium. Deze sneltesten zijn eenvoudig in gebruik, en op dit moment goed verkrijgbaar. De gevoeligste sneltest is de (humane) sneltest van Clungene, i.e. de test die tijdens de huidige uitbraak is gebruikt door Dierenambulance De Ronde Venen / Amstelland. Dit is tevens de goedkoopste test, maar heeft als mogelijk nadeel een tweede uitleesvenster (voor COVID; Fig. 1), wat eventueel vergissingen in de hand kan werken. Twee andere sneltesten (Biopanda en Anigen) zijn bedoeld voor gebruik met pluimvee en in de gebruikte opzet net iets minder gevoelig dan die van Clungene. Beiden testen hebben een enkel uitleesvenster en zijn eenvoudig uit te voeren, waarbij de test van Anigen als nadeel heeft dat niet alle accessoires individueel verpakt zijn. De (humane) sneltest van Quidel is minder gevoelig, is lastiger uit te voeren, en heeft ook als nadeel dat niet alle accessoires individueel verpakt zijn. De minst gevoelige sneltest is die van Abbexa. Op basis van gevoeligheid vallen de sneltesten van Abbexa en Quidel af. Onder de gebruikte laboratoriumcondities ontlopen de drie sneltesten die overblijven elkaar niet veel qua gevoeligheid (Clungene > Biopanda/Anigen; Tabel 3).

Door de resultaten uit deze studie over de gegevens van de huidige uitbraak te leggen is afgeleid wat de waargenomen gevoeligheid zou kunnen betekenen voor gebruik van de sneltesten in het veld (zie 3.3.2 Extrapolatie naar veldmonsters). De resultaten betreffen vnl. bedrijven met kippen; er is in de analyse geen opsplitsing gemaakt voor de verschillende typen pluimvee (kippen, eenden, kalkoenen). In theorie zou de gevoeligste test (Clungene) iets meer dan de helft van de PCR-positieve poolmonsters van afgelopen anderhalf jaar als AI-positief hebben getest, wat neer zou komen op 92% van de met AI-besmette bedrijven. Dit is hoopgevend, maar in de praktijk zal dit percentage lager zijn om een aantal redenen. Ten eerste de efficiëntie van de gebruikte swabs. De literatuur beschrijft dat volume-opname van verschillende swabs kan variëren van circa 50 tot 250 µl, terwijl afgifte daarna kan variëren van 2 tot 65 µl, allemaal met een zeer grote spreiding. De afgifte van het biologische materiaal zelf is ook getest in deze literatuur, waarbij zowel de opname als afgifte van bacteriën een enorme spreiding vertoonde (26, 27). Voor het doel van de AI-sneltesten, i.e. opname van een matrix met AI virus (swabs van trachea en cloaca), heeft deze informatie weinig voorspellende waarde. Hooguit kan geconcludeerd worden dat met de gebruikte 20 µl van virusverduunningen gemeten is aan de ondergrens van de volumes die mogelijk zijn qua opname en overdracht door swabs. Ten tweede het protocol van iedere sneltest, dat de gevoeligheid zal beïnvloeden door het voorgeschreven volume assaybuffer. De testen gebruiken niet allemaal de zelfde volumes assaybuffer, waardoor er verschillen zijn in de mate waarin monsters verdund worden. Ten derde het effect van de matrix waar het virus in zit: swabs van trachea en cloaca zouden door bepaalde componenten in de lichaamsvloeistoffen de test kunnen beïnvloeden. Het vierde aspect dat mee gaat spelen bij gebruik in het veld, is dat het aflezen van de sneltesten moeilijker wordt naarmate de virusconcentraties lager worden.

In deze studie is gewerkt met een virus uit de huidige uitbraak. Het is noodzakelijk om sneltesten ook te onderzoeken voor reactiviteit met ander subtypen. In bijsluiters en achtergronddocumentatie van de producenten is hier beperkt informatie over te vinden, maar de reactiviteit voor andere varianten zal getest moeten worden met voor Nederland relevante subtypen. Dit wordt belangrijk wanneer sneltesten ingezet worden in toekomstige uitbraken met eventueel nieuwe varianten.

Voordat screening van verdenkingen met sneltesten geïmplementeerd kan worden, is het nodig om nog een aantal zaken te onderzoeken. Ten eerste is het belangrijk om te zien hoe goed de testen presteren (in vergelijking met PCR) met monsters die worden afgenomen met swabs, bijv. in een dierproef met experimenteel besmette kippen. Ten tweede wordt het op termijn belangrijk om na te gaan of de sneltesten ook andere AI-subtypen aantonen, om vast te stellen of sneltesten ook in toekomstige uitbraken met andere AI-subtypen kunnen worden ingezet. Als laatste is het belangrijk om vast te

---

stellen hoe sneltesten in het veld toegepast kunnen worden, met aandacht voor gebruiksgemak en 'afleesbaarheid', en focus op steekproefgrootte (per stal).

## 4.2 Aanbevelingen

De aanbeveling is om op korte termijn na te gaan hoe goed sneltesten presteren met monsters genomen met een swab van besmet pluimvee, met de meest gevoelige sneltest (Clungene). Dit kan bijvoorbeeld in een aanstaand dierexperiment, met de beperking van één sneltest wegens het geringe aantal beschikbare dieren. Het is heel praktisch om tijdens zo'n onderzoek ook te kijken of andere relevante subtypen onder laboratoriumomstandigheden herkend worden, wat met geringe inspanning uitgebreid kan worden met de twee iets minder gevoelige sneltesten (Anigen en Biopanda). Op basis van de resultaten kan een besluit worden genomen over de andere te onderzoeken aspecten en een veldstudie.

---

# Literatuur/bronnen

1. <https://www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/bioveterinary-research/show-bvr/vogelgriep-bij-pluimvee-in-20212022.htm>
2. <https://www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/bioveterinary-research/show-bvr/vogelgriep-bij-pluimvee-in-20222023.htm>
3. <https://www.nvwa.nl/onderwerpen/vogelgriep-preventie-en-bestrijding/maatregelen-nvwa-bij-vogelgriep/maatregelen>
4. <https://www.rivm.nl/coronavirus-covid-19/testen>
5. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/overview-testing-methods.htm>
6. <https://open.overheid.nl/documenten/ronl-8d94b1037a7b2ca68976c9596fcbcecf35ee9e2e/pdf>
7. Cattoli G, Drago A, Maniero S, Toffan A, Bertoli E, Fassina S, Terregino C, Robbi C, Vicenzoni G, Capua I (2004) Comparison of three rapid detection systems for type A influenza virus on tracheal swabs of experimentally and naturally infected birds. *Avian Pathol* 33:432-437
8. Woolcock P R, Cardona C J (2005) Commercial immunoassay kits for the detection of influenza virus type A: evaluation of their use with poultry. *Avian Dis* 49:477-481
9. Chan K H, Lam S Y, Puthavathana P, Nguyen T D, Long H T, Pang C M, Chan K M, Cheung C Y, Seto W H, Peiris J S (2007) Comparative analytical sensitivities of six rapid influenza A antigen detection test kits for detection of influenza A subtypes H1N1, H3N2 and H5N1. *J Clin Virol* 38:169-171
10. Chua T H, Ellis T M, Wong C W, Guan Y, Ge S X, Peng G, Lamichhane C, Maliadis C, Tan S W, Selleck P, Parkinson J (2007) Performance evaluation of five detection tests for avian influenza antigen with various avian samples. *Avian Dis* 51:96-105
11. Chen Y, Xu F, Fan X, Luo H, Ge S, Zheng Q, Xia N, Chen H, Guan Y, Zhang J (2008) Evaluation of a rapid test for detection of H5N1 avian influenza virus. *J Virol Methods* 154:213-215
12. Das A, Spackman E, Thomas C, Swayne D E, Suarez D L (2008) Detection of H5N1 high-pathogenicity avian influenza virus in meat and tracheal samples from experimentally infected chickens. *Avian Dis* 52:40-48
13. Loth L, Prijono W B, Wibawa H, Usman T B (2008) Evaluation of two avian influenza type A rapid antigen tests under Indonesian field conditions. *J Vet Diagn Invest* 20:642-644
14. Chen Y, Xu F, Gui X, Yang K, Wu X, Zheng Q, Ge S, Yuan Q, Yeo A E, Zhang J, Guan Y, Chen H, Xia N (2010) A rapid test for the detection of influenza A virus including pandemic influenza A/H1N1 2009. *J Virol Methods* 167:100-102
15. Lu H, Ismail M, Khan O A, Al Hammad Y, Abdel Rhman S, Al-Blowi M H (2010) Epidemic outbreaks, diagnostics, and control measures of the H5N1 highly pathogenic avian influenza in the Kingdom of Saudi Arabia, 2007-08. *Avian Dis* 54:350-356
16. Marché S, van den Berg T (2010) Evaluation of rapid antigen detection kits for the diagnosis of highly pathogenic avian influenza H5N1 infection. *Avian Dis* 54:650-654
17. Meseko C A, Oladokun A T, Ekong P S, Fasina F O, Shittu I A, Sulaiman L K, Egbuji A N, Solomon P, Ularanu H G, Joannis T M (2010) Rapid antigen detection in the diagnosis of highly pathogenic avian influenza (H5N1) virus in Nigeria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 68:163-165
18. Soliman M, Selim A, Coward V J, Hassan M K, Aly M, Banks J, Slomka M J (2010) Evaluation of two commercial lateral flow devices (LFDs) used for flockside testing of H5N1 highly-pathogenic avian influenza infections in backyard gallinaceous poultry in Egypt. *J Mol Genet Med* 4:247-251
19. Slomka M J, To T L, Tong H, Coward V J, Mawhinney I C, Banks J, Brown I H (2011) Evaluation of lateral flow devices for identification of infected poultry by testing swab and feather specimens during H5N1 highly pathogenic avian influenza outbreaks in Vietnam. *Influenza Other Respir Viruses* 6:318-327
20. Robyn M, Priyono W B, Kim L M, Brum E (2012) Diagnostic sensitivity and specificity of a participatory disease surveillance method for highly pathogenic avian influenza in household chicken flocks in Indonesia. *Avian Dis* 56:377-380
21. Loth L, Long P, Tung N, Dang N, Newman S (2015) Test Characteristics of the Anigen® Rapid AIV Ag Test (Avian Influenza Type A Rapid Antigen Test) in Ducks in Vietnam. *Virol Mycol* 4:2161-0517.1000140
22. Amen O, Vemula S V, Zhao J, Ibrahim R, Hussein A, Hewlett I K, Moussa S, Mittal S K (2015) Identification and characterization of a highly pathogenic H5N1 avian influenza A virus during an outbreak in vaccinated chickens in Egypt. *Virus Res* 210:337-343



- 
23. Ssematimba A, Malladi S, Bonney P J, Flores-Figueroa C, Muñoz-Aguayo J, Halvorson D A, Cardona C J (2018) Quantifying the effect of swab pool size on the detection of influenza A viruses in broiler chickens and its implications for surveillance. *BMC Vet Res* 14:265
  24. Moriguchi S, Hosoda R, Ushine N, Kato T, Hayama S I (2021) Surveillance system for avian influenza in wild birds and implications of its improvement with insights into the highly pathogenic avian influenza outbreaks in Japan. *Prev Vet Med* 187:105234
  25. Denzin N, Bölling M, Pohlmann A, King J, Globig A, Conraths F J (2022) Investigation into a Superspreading Event of the German 2020-2021 Avian Influenza Epidemic. *Pathogens* 11:309
  26. Warnke P, Warning L, Podbielski A (2014) Some are more equal - a comparative study on swab uptake and release of bacterial suspensions. *PLoS One* 9(7):e102215
  27. Zasada AA, Zacharczuk K, Woźnica K et al (2020) The influence of a swab type on the results of point-of-care tests. *AMB Expr* 10:46

## Bijlage 1 Sneltesten voor gebruik in pluimvee

Er is gezocht naar sneltesten voor detectie van AI virus (AIV). Er zijn 38 sneltesten gevonden voor gebruik in pluimvee, afkomstig van 22 verschillende fabrikanten. Vier voldoen aan de criteria dat ze uit Europa of de VS komen, voor gebruik met monsters van pluimvee zijn, en daadwerkelijk beschikbaar zijn in Nederland zoals per email bevestigd door de producenten (begin 2023). De testen zijn in drie groepen verdeeld. Sneltesten die geschikt lijken voor deze studie zijn in groen weergegeven (eerste groep). Eigenschappen op grond waarvan testen afvallen, zijn in rood weergegeven (tweede en derde groep).

Producent of distributeur	Land van herkomst	Target	Opmerkingen	Vorm (dipstick, cassette)	Gastheer	Matrix (trachea, cloaca, anders)
Abbexa	VK / VS	AIV	productie in / verkoop via VK	c	avian	t, c
Biopanda	VK	AIV	ook: A/B, zie tabel humane testen	c	avian	t, c
Megacor	Oostenrijk	AIV	verkoop via Megacor	d	avian	t, c
Novidia (Zoetis)	VS / Frankrijk	AIV	oorspr. Synbiotics, nu Zoetis, VS productie	d	avian	t, c
Arbor Vita	VS	A/H7N9 A/H5N1	distributie? target is NS1	c	humans	?
Certest	Spanje	Influenza A	ook: A/B, zie tabel human test	c	humans	neus/keel, aspiraats
CTK Biotech	VS	Influenza A/B	zie tabel humane testen	d	humans	neus/keel, aspiraats
Nano Diagnostics	VS	AIV	product niet (meer) op website	c	avian	c, eye
Selinion	Frankrijk	AIV?	product niet (meer) op website	-	-	-
Woodley	VK	AIV	VK distributeur van Synbiotics, zie Novidia	d	avian	t, c
Anigen / Bionote	Zuid-Korea	AIV H5	distributie via Gentaaur, BE	c	avian	t, c
Elabscience	China	AIV H5 H7 H9	distributie Europa?	c	avian	t, c
Hangzhou Evegen	China	AIV	minimaal 300 tests, online verkoop	c	avian	secretions eye, t, c
Krishgen	India	AIV H5 H7	site verwijst naar ELISA, distributie?	?	avian	?
Lilif / iNTRON Bio	Zuid-Korea	AIV H5 H9	distributeurs in Europa	c	avian	t, c
PetX	India	AIV	10.000 tests/box, Indiamart=distributeur	?	avian	?
PetX	India	AIV	VK distributeur	?	avian	secretions, serum, spleen
Quicking Biotech	China	AIV H5 H7	distributie?	c	avian	secretions or serum
Ringbio	China	AIV H5 H7	online verkoop	c	avian	throat
Shenzhen	China	AIV H5 H7 H9	discibutie via Gentaaur (België)	c	avian	t, c
Skyer Diagnostics	Zuid-Korea	AIV	distributie Europa?	c	avian	feces
Vet Diagnostix	China	AIV	zelfde test (verpakking), min. 800	c	avian	secretions t, c or feces

## Bijlage 2 Sneltesten voor humane monsters

Er is gezocht naar influenza-sneltesten voor humaan gebruik, waarbij resultaten voor dubbeltesten (met bv. SARS-CoV-2, RSV) niet zijn meegenomen. De 25 gevonden testen zijn in drie groepen verdeeld. Van alle testen waarvoor in de literatuur beschrijvingen zijn gevonden m.b.t. gebruik voor detectie van influenza in pluimvee, is de verkrijgbaarheid aangegeven (\*verkrijgbaar, #obsoleet) (eerste en tweede groep). Over de derde groep sneltesten (\$) is niets gevonden in de literatuur m.b.t. gebruik voor influenza-diagnostiek bij pluimvee. Eigenschappen op grond waarvan testen afvallen, zijn in rood weergegeven (tweede en derde groep). Afkortingen: j, ja; n, nee.

Producent	Land van herkomst	Test	Actuele website, opmerkingen
Abbott	VS	*BinaxNOW Influenza A&B	j, waterbestendig karton
Quidel	VS	*Quickvue Influenza A+B Test	j, distributie via Quidel
Thermo Scientific	VS	*Remel Xpect Flu A & B Test	j, distributie via Thermofisher
Becton Dickinson	VS?	#BD Directigen EZ Flu A+B	n not available?
Coris Bioconcept	België	#Influ-A	n, niet meer beschikbaar
Fujirebio	Japan	#Espline Influenza A&B-N	n, onvindbaar
Genzyme Diagnostic (Sekisui)	Japan	#Rapid Test Flu II	n, onvindbaar
Sysmex Corporation	Japan	#Pocxnet S Influenza	n, onvindbaar
Accubiotech	China	Accu-Tell Influenza A+B Cassette	j \$
Acon	China	Flowflex Influenza a-b Rapid Test	j \$
Attogene	VS	Influenza A+B Antigen Rapid Test Kit	j \$
Babio	China	Influenza A/B Antigen Detection Kit	j \$
Becton Dickinson	VS	Veritor Plus System for Flu A + B	j \$, device?
Biopanda	VK	Influenza A+B Rapid Test	j \$
Biozek	Nederland	Influenza Rapid Test, zowel A+B als A	j \$, dipstick én cassette
CerTest	Spanje	CerTest Influenza A+B one step card test	j \$
ClearTest	VS of Duitsland	ClearTest influenza A+B	j \$
Clonatest / Linear Chemicals	Spanje	Influenza A+B Cassette	j \$
Coris Bioconcept	België	Influ A+B K-SeT	j \$
CTK Biotech.com	VS	Influenza A/B Rapid Test	j \$
Dialab	Oostenrijk	Diaquick Rapid Test Influenza Ag Dipstick	j \$
Intec	China	Rapid Flu Test	j \$, A, B, of A/B
JusChek	Maleisië	Flu A+B	j \$
Medical disposable	VS	Influenza A+B Test Kit	j \$
Novacyt	VK	PathFlow Influenza A&B	j \$

## Bijlage 3 Gebruik van sneltesten voor pluimvee

Een chronologisch overzicht van studies waarin diverse sneltesten gebruikt zijn voor detectie van AI virus in pluimvee, zowel in veldstudies als voor experimentele infecties.

Auteur	Jaar	Test	Opmerkingen	Type test	Type monsters / testopzet	Resultaat
Cattoli (7)	2004	Becton Dickinson, Directigen	A of A/B?	humaan	exp. infect. kalkoenen, in pools van 10 kalkoenen getest, tracheale swabs veldmonsters: kalkoen koppels, vergelijking sneltest met virusisolatie	inf EID <sub>50</sub> 10 <sup>4</sup> of 10 <sup>5</sup> : pos op d7,10 resp. d5,7 (RT-PCR beide pos op d3 5 7 10 12) sensitiviteit 88.9% (CI <sub>95</sub> =85.2-92.6), specificiteit 95.7% (CI <sub>95</sub> =93.7-97.7)
Woolcock (8)	2005	QuickVue Influenza test kit (Quidel) NOW FLU A Test (Binax) Zstat Flu (ZymeTx, inc.) FLU OIA (ThermoBiotar) Directigen Flu A (Becton Dickinson)	Quidel, QuickVue Influenza A+B? nu: Abbott BinaxNOW Influenza A&B enzymatisch onvindbaar / Thermofisher VS? obsoleet	humaan	LOD in allantoic fluid log ELD <sub>50</sub> ; oropharyngeale swabs, en cloaca van exp. inf. kippen, en 14 klinische kippen (alleen shown voor de beste test)	5.7-6.7; 0/39, 0/5 5.7-6.7; 1/39, 0/5 5.7-6.7; 0/39, 0/5 5.7-6.7; 2/39, 0/5 4.7; 2/39, 0/5, 4/7 cloaca, 0/7 trachea
Chan (9)	2007	Quidel, QuickVue Influenza A+B Emergo, BinaxNow Influenza A&B Becton Dickinson, DirectigenFlu A+B Becton Dickinson, Directigen EZ Flu A+B Sismex, Poctem Influenza A/B Genzyme Diagnostic, Rapid Test FluII	nu: Abbott BinaxNOW Influenza A&B obsoleet obsoleet obsoleet obsoleet	humaan	verduunningsreeksen van virusisolaten	3.3 = gemiddelde limit of detection (LOD log 10 TCID <sub>50</sub> ); 2.5 = LOD voor avian H5N1 4.1, 3.0 (gem., H5N1) 3.7, 3.0 (gem., H5N1) 3.6, 2.7 (gem., H5N1) 4.3, 3.3 (gem., H5N1) 4.9, 4.0 (gem., H5N1)
Chua (10)	2007	Synbiotics, Flu Detect Influenza A immunoassay (plus een aantal andere unieke testen <sup>1</sup> )	nu: Novidia (Zoetis); materiaal en methode niet helemaal duidelijk, meer data in publicatie beschreven	aviair	avian influenza H5N1-positieve swabs, vergelijking sneltest met virusisolatie	gem. sensitiviteit voor veldmonsters: sneltest 44.2% (CI <sub>96</sub> 38.6–49.9), genetische detectie 89%
Chen (11)	2008	Quidel, QuickVue Influenza A+B		humaan	verduunningsreeksen van H5N1 isolaten (voor onderzoek naar een ELISA)	5.4 (gem. LOD log 10 TCID <sub>50</sub> )
Das (12)	2008	Synbiotics, Flu Detect Influenza A immunoassay	nu: Novidia (Zoetis)	aviair	avian influenza H5N1-positieve tracheale swabs, vergelijking sneltest met RT-PCR	Excerpt: in experimentel infectie van 10 kippen, tijdreks: 6, 18, 30h voor sneltest (RT-PCR): 0/10 (2/10), 1/10 (5/10), 8/10 (10/10)
Loth (13)	2008	The AnigenR Rapid AIV Ag test Synbiotics, Flu DetectAntigen Capture test	Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit? Synbiotics, Flu Detect Influenza A immunoassay?	aviair	veldmonsters, 174 kippen, tracheale en cloaca swabs, vergelijking sneltesten met RT-PCR	sensitiviteit 0.69 (CI <sub>95</sub> =0.56–0.80), specificiteit 0.98 (CI <sub>95</sub> =0.93–0.99) sensitiviteit 0.71 (CI <sub>95</sub> =0.58–0.82), specificiteit 0.98 (CI <sub>95</sub> =0.93–0.99)
Chen (14)	2010	Quidel, QuickVue Influenza A+B		humaan	verduunningsreeksen van isolaten (voor onderzoek naar een ELISA) gebruikt voor AI-diagnostiek i.c.m. andere technieken	5.3 (gem. LOD log 10 TCID <sub>50</sub> )
Lu (15)	2010	Inverness, BinaxNOW Influenza A&B	nu: Abbott BinaxNOW Influenza A&B nu: Novidia (Zoetis); Synbiotics, Flu Detect Influenza A immunoassay?	humaan	andere technieken	Geen info over prestatie van de test
Marché (16)	2010	Synbiotics Flu Detect Anigen AIV ag Anigen H5 AIV ag Remel X/pect Flu A&B Coris Bioconcept Inlu-A Megacor AIV ag	Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit? als enige tegen H5 nu: Thermo Scientific obsoleet	aviair aviair humaan humaan aviair	verduunningsreeksen van een H5N1, slechts 3x getest; hier: alleen uitslagen 3/3 (log EID <sub>50</sub> ) gegeven (6, x, 7) Table5: inf. exp. kippen met H5N1, 1 kip/test, cloaca/oral (+ en -)	6, +/- 7, +/- x, -/ 6, +/- (not in cloaca swabs, human test) 7, +/- (not in cloaca swabs, human test) 6, +/-
Meseko (17)	2010	Anigen Rapid AIV Ag	Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit?	aviair	382 (210 negatief) aviaire karkassen (en/of levende vogels?) tijdens uitbraak: cloaca swabs, vgl. met virusisolatie	sensitiviteit 84.3% (95% CI, 78.1–88.9%), specificiteit 97.7% (95% CI, 94.2–99.1%),
Soliman (18)	2010	Quidel, QuickVue Influenza Anigen AIV ag	Quidel, QuickVue Influenza A+B? Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit?	humaan aviair	65 kippen (waarvan 10 negatief), voor elk een cloaca- en een trachea-swab, vgl. met RT-PCR (M); kip is pos. is als één vd swabs positief is - is niet uitgesplitst	sensitiviteit 75.4% (95% CI: 62.2-85.9%), specificiteit 90.0% (95% CI: 55.5-99.8%) sensitiviteit 77.2% (95% CI: 64.2-87.3%), specificiteit 90.0% (95% CI: 55.5-99.8%) (zelfde als Quick Vue)
Slomka (19)	2011	Quidel, QuickVue Influenza Anigen AIV ag	Quidel, QuickVue Influenza A+B? Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit?	humaan aviair	59 kip 34 eend sneltest vs virusisolatie, cloaca trachea en veren	kip sens 54.1 spec 100 eend sens 33.3 spec 100 kip sens 67.6 spec 100 eend sens 53.3 spec 100
Robyn (20)	2012	Anigen AIV Ag Test	Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit?	aviair	128 kippen: 37 pos, 91 neg (PCR)	86% sensitivity (CI <sub>95</sub> : 71%–95%) and 99% specificity (CI <sub>95</sub> : 94%–100%)
Loth (21)	2015	Anigen Rapid AIV Ag Test	Anigen (Bionote), Rapid AIV Ag Test Kit?	aviair	175 eenden v.e. markt ook: inf. exp met 40 eenden/relatie rtPCR	relative diagnostic sensitivity of 0.61 (CI <sub>95</sub> : 0.45–0.75) relative diagnostic specificity of 0.98 geen concrete info over relatie sneltest
Amen (22)	2015	specific rapid antigen testkits; ook AIV breed		aviair	8 koppels, 30/koppel, eerder gevaccineerd, nu H5N1 infectie	AIV, H5, H7, H9 (PCR): 18-26, 15-23, 0, 0 (27-30); dit is een range van pos/ per loppel, voor alle koppels
Ssematimba (23)	2018	Synbiotics Flu Detect	nu: Novidia (Zoetis); Synbiotics, Flu Detect Influenza A immunoassay?	aviair	133 kippen exp inf. H5 of H7, vgl met PCR	% sneltest positief (gem. titer log EID <sub>50</sub> .ml): H5 37% (2.98) H7 58% (2.65)
Moriguchi (24)	2021	Poctem S Influenza, Sismex Corporation	obsoleet / obsoleet	humaan	gebruikt voor AI-diagnostiek i.c.m. andere technieken	Geen info over prestatie van de test
Denzin (25)	2022	Megacor FASTest® AIV Ag		aviair	detectie HPAI H5N8 uitbraak	Geen info over prestatie van de test

## Bijlage 4 Voorselectie van goed verkrijgbare sneltesten

De tabel geeft informatie over een voorselectie van negen sneltesten, in drie categorieën verdeeld (blauw, veterinair; oranje, humaan; geel, humaan en gebruikt in Nederland voor wilde vogels). Eigenschappen waarop testen alsnog afvallen, zijn in rood aangegeven. De sneltest van Clungene is niet geselecteerd op basis van vooraf gestelde criteria, maar wel toegevoegd omdat de test in Nederland in 2022 al is ingezet.

	Abbexa	Biopanda	Megacor	Novidia (Zoetis)	Anigen	Abbott	ThermoFisher (Remel)	Quidel	Clungene
prijs per stuk (prijs per set)	€8.60 (344/40)	€6.30 (63/10)	€5.77 (115.35/20)	€5.67 (113.30/20; 341.60/40 + BTW/tr.	€8.44 (253.30/30)	€20.40 (448.81/22)	€26.30 (527.85/20)	€7.20 (180/25)	€2.40 (59.90/25)
doelorganisme	pluimvee	vogels zoals kippen en eenden	pluimvee, dierentuin- en wilde vogels	kippen, kalkoenen	kippen, eenden	humaan			
matrix	trachea of cloaca swab	trachea of cloaca swab	trachea of cloaca swab	trachea of cloaca swab	trachea of cloaca swab	neus/keel			
vorm	cassette	cassette	dipstick	dipstick	cassette	'casseteachtig'	cassette met 2 lanen	dipstick	cassette met 2 lanen
voorschrift	standaard, (per test: vial assay buffer), 2-3 druppels op test	standaard, (per test: vial assay buffer), 3 druppels	swab, assay buffer (vial per test), mix, 10 druppels in nieuwe buis, daar dipstick in steken	swab in 8 druppels assay buffer (één voorraad buffer), mix, daar dipstick in steken	standaard, (per test: vial assay buffer), 4-5 druppels	swab, per test: vial assay buffer, 100 ul bovenaan kaart, plak/vouw test	swab, (één voorraad buffer) 25 druppels (0.6 ml) buffer, mix 100 ul per laan	swab, per test: vial assay buffer, mix, in zelfde volume dipstick in steken	standaard, (per test: vial assay buffer), 3 druppels
aflezen (minuten)	10-15, <30	15, <20	20, <30	15, <20	20, <30	15	15	10	15, <20
diagn.sensitiviteit	>98%	90.00%	100%	100%	100%	70%	88.90%	94%	89%
diagn.specificiteit	>98%	98.13%	100%	100%	100%	90%	100%	90%	99.80%
analytische sensitiviteit	n.b.	$3.0 \times 10^4$ TCID50 / Test (inactivated H5N1)	$2^{12}-2^{15}$ HAU of H1-H13 (hemagg. titer $2^8-2^{10}$ )	$10^3-10^5$ EID50/mL in chicken samples	LOD EID50/ml $10 \exp 4.5-3.5$	$10^2 - 10^6$ CEID50/mL	$1.63 \times 10^3 - 2.0 \times 10^5$ TCID50/ml	H1-H3 pfu/mL: $6.6 \times 10^{-1} - 1.6 \times 10^7$ ; H7N9: $7.9 \times 10^6$ EID50/mL	$1.0 \times 10^3 - 1.0 \times 10^4$ TCID50/mL
reactiviteit	onbekend	getest: H5N1, H9N2, H7N9, H7N8, H10N4, H1N1, H3N2	'subtypes H1-H15'	'all 16 subtypes of AIV Type A'	'all AIV type A'			ook: bird and mammal isolates: H1-H15 (various H5)	
license/validation (evt. reports niet beschikbaar)			FLI registration (2006)	USDA-licensed (2006)	Validated by VLA, FLI, CSIRO Austr. An. Health				
			FLI rapport, meerdere testen, anoniem (Megacor, Novidia, Anigen, ook humaan: Quidel QuickVue A+B, BD Directigen FLU A, Coris BioConcept A&B) op basis van Marché 2010: LOD Megacor=Novidia(=Remel)<Anigen (lager is beter)						
literatuur				Loth 2008 sens Novidia 0.71 Anigen 0.69		Woolcock 2005: Abbott=Quidel / Chan 2007: LOD Quidel<Abbott			
			Denzin 2022: detectie HPAI H5N8 uitbraak		Soliman 2010 sens Anigen 0.77 Quidel 0.75 / Slomka 2011 sens Anigen 0.68 Quidel 0.54				
Nadelen	gebruik is niet gepubliceerd	gebruik is niet gepubliceerd	onpraktisch: twee sequentiele buizen	onpraktisch: assaybuffer in één voorraad	voldoet niet aan criteria (= niet-EU/VS)	duur	duur	voldoet niet aan 1e set criteria (= humaan)	twee 'laantjes'
	onvolledige specificaties	grotere bestellingen 4w van te voren melden	weinig in de literatuur		door distributeur maandelijks te bestellen in Zuid-Korea	'casseteachtig' kost extra handelingen, humaan	humaan; onpraktisch: assaybuffer in één voorraad	humaan	humaan
Voordelen	voldoet aan 1e set criteria (EU/VS,	voldoet aan 1e set criteria (EU/VS,	voldoet aan 1e set criteria (EU/VS,	voldoet aan 1e set criteria (EU/VS,			lit.: zo gevoelig als de gevoeligste vet. testen		goedkoop
			"gebruikt in 42 landen"	prestatie goed gedocumenteerd	veterinair het meest gebruikt (literatuur)				gebruikt voor wilde vogels (maar geen data)
				veel gebruikt (literatuur)					

---

Wageningen Bioveterinary Research  
P.O. Box 65  
8200 AB Lelystad  
The Netherlands  
T +31 (0)320 23 82 38  
info.bvr@wur.nl  
[www.wur.eu/bioveterinary-research](http://www.wur.eu/bioveterinary-research)

Wageningen Bioveterinary Research  
Report 2314469

---

The mission of Wageningen University & Research is "To explore the potential of nature to improve the quality of life". Under the banner Wageningen University & Research, Wageningen University and the specialised research institutes of the Wageningen Research Foundation have joined forces in contributing to finding solutions to important questions in the domain of healthy food and living environment. With its roughly 30 branches, 5,000 employees and 12,000 students, Wageningen University & Research is one of the leading organisations in its domain. The unique Wageningen approach lies in its integrated approach to issues and the collaboration between different disciplines.