

Eerste resultaten onderzoek naar EHD-Virus bij reeën

Reeën komen in meer dan 80% van de wildbeheereenheden in Nederland voor. Het aantal reeën is de afgelopen decennia sterk toegenomen (>60.000 in 2006) en lijkt nog steeds te stijgen. Zowel voor de reeënpopulatie zelf, als vanwege het gevaar van besmetting van landbouwhuisdieren of van de mens, is het belangrijk om meer te weten te komen over eventuele ziekteverwekkers bij reeën. Meer informatie kan verkregen worden door bij abnormale ziekte en/of sterfte de dode reeën te onderzoeken (zie DNJ 2009, no. 17, p.8-10), maar ook door (bloed)monsters van geschoten reeën te testen.

Bloedonderzoek kan inzicht geven in de mate van het vóórkomen van bepaalde infectieziekten bij reeën. Een algemeen landelijk beeld wordt echter alleen verkregen mits er voldoende en representatief verdeeld over Nederland wordt bemonsterd. Om te bekijken of het mogelijk is om in Nederland een voldoende groot en landelijk dekkend netwerk op te zetten, hebben het Dutch Wildlife Health Centre (DWHC) en het Centraal Veterinair Instituut van Wageningen-UR (CVI) eind 2009 de WBE's via de faunabeheereenheden gevraagd om medewerking aan een pilotproject.

Potentieel opkomende ziekte

Voor deze pilot is gekozen om te kijken of Epizootic Hemorrhagic Disease Virus (EHDV) voorkomt onder reeën in Nederland. EHDV-infectie wordt beschouwd als een potentieel opkomende ziekte bij hertensoorten en andere herkauwers, waarvoor Nederland diagnostische testen paraat wil hebben. EHDV is nauw verwant aan het blauwtongvirus (BTV). In 2006 werd de eerste BTV-uitbraak gerapporteerd onder (voornamelijk gehouden) herkauwers in Nederland.

Er is nog geen aanwijzing dat een EHDV-infectie, die veroorzaakt kan worden door acht serotypen (lees: varianten), in Nederland voorkomt. Door onderzoek van de bloedmonsters kan de situatie voor wat betreft EHDV bij reeën in kaart worden gebracht.

Ingezonden bloedmonsters van 2010 worden bewaard om op een later tijdstip inzicht te krijgen in het voorkomen van andere ziekten onder reeën.

Meer over EHDV

EHDV komt voor in Noord-Amerika, Azië, Oceanië, Afrika, Europa (West-Turkije, 2007) en waarschijnlijk ook in Zuid-Amerika. Het virus infecteert voornamelijk herkauwers, en wordt - net als BTV - voornamelijk via stekende knutten (een mugachtige) overgedragen. Witstaartherten (*Odocoileus virginianus*) zijn erg gevoelig en uitbraken bij deze soort gaan gepaard met veel sterfte. Ook andere herkauwersoorten, zoals het muilddierhert (*Odocoileus hemionus*), de gaffelbok (*Antilocapra americana*) en het rund zijn gevoelig. Bij het ree is alleen experimentele infectie bekend. Er zijn

geen aanwijzingen dat EHDV gevaarlijk is voor mensen.

Het EHDV gaat in cellen van bloedvaten van gevoelige diersoorten zitten en maakt deze kapot. Hierdoor ontstaan bloedingen, vochtuitreding (oedeem), trombose en sterft weefsel af. Met het oog zijn onder andere roodkleuring, zwelling en ontsteking van neus- mond- en oogslimvlies (zie foto) en van uier en tepels waarneembaar, evenals korstvorming op de neusspiegel en de huid, zweren in de mond, kreupelheid en kroonrandontsteking, en soms bloederige diarree. Enkele dagen na infectie ontwikkelen de dieren al

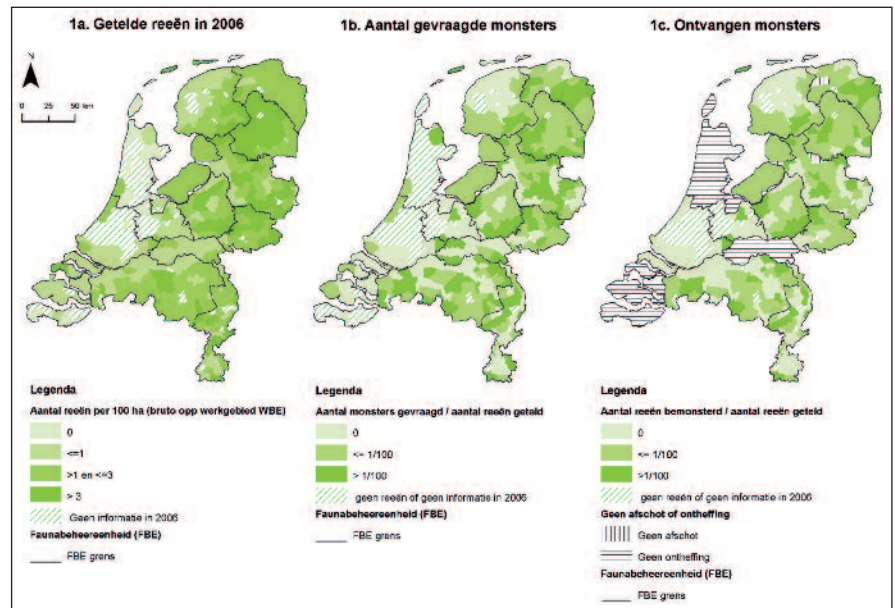


Een witstaarthert in Noord Amerika met EHDV-infectie (Bron: Dr. Kevin Keel, SE Cooperative Wildlife Disease Study, College of Veterinary Medicine, The University of Georgia, Athens, Georgia, USA).

afweerstoffen. Dieren die een EHDV-infectie overleven zijn langdurig beschermd tegen een nieuwe infectie met hetzelfde serotype. Moederdieren kunnen hun afweerstoffen overdragen op het kalf. Kalveren van witstaartherten kunnen daarom de eerste vier tot vijf maanden van hun leven beschermd zijn tegen infectie met de serotypes waar hun moeder afweerstoffen tegen heeft. EHDV-infectie is alleen via laboratoriumtesten goed te onderscheiden van andere ziekten zoals blauwtong.

Opzet steekproef

Op basis van een steekproef uit een lijst van getelde reeën (WBE databank) in 2006 werd voor iedere WBE bepaald hoeveel reeën bemonsterd moesten worden. In totaal zouden 500 geiten/kalveren en 200 bokken tijdens het afschotseizoen moeten worden bemonsterd. Deze aantallen zijn nodig voor een landelijk en representatief beeld. Omdat het aantal te bemonsteren reeën per WBE berust op een steekproef, kwam het zowel voor dat een WBE gevraagd werd relatief veel monsters in te leveren,



Figuur 1. Bemonstering van reegeiten/kalveren, winter 2009-2010 (kaart: KNJV & DWHC)

kalveren, 41% smalreeën en geiten, en 26% jaarlingen en bokken. De verhoudingen tussen getelde reeën, gevraagde en ingeleverde monsters zijn in tabel 1 per FBE weergegeven. Figuur 1 geeft deze verdeling per WBE weer voor het geitenafschotseizoen.

voor serum en twee voor EDTA-bloed. De monsters waren voornamelijk uit de borstholte genomen en gemiddeld drie dagen onderweg. Bij binnenkomst op het laboratorium werd één EDTA-bloedmonster direct verwerkt. De andere twee monovettes werden in een centrifuge afgedraaid. Normaliter scheidt het bloed zich dan in een bovenliggende doorzichtige lichtgelige vloeistof (serum/plasma) met eronder de donkerrode zwaardere delen (de bloedcellen). Bij de meeste ingezonden monsters bleek echter dat de bovenliggende vloeistof licht tot zwaar donker rood kleurde. Dit gebeurt als de

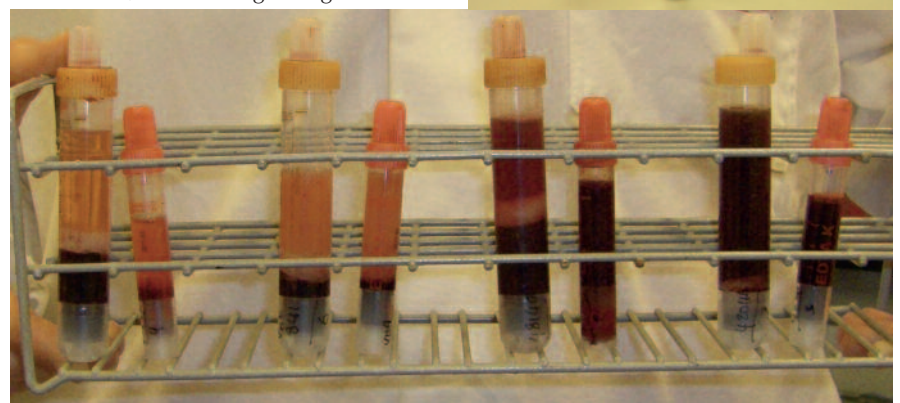
Tabel 1. Aantal getelde reeën, aantallen gevraagde en verkregen monsters, en deelnamepercentage van de WBE's per afschotseizoen

Faunabeheereenheid	Aantal getelde reeën (2006, WBE databank)	Aantal verwerkte monsters / aantal in steekproef toegewezen monsters (%)		Aantal deelnemende WBEs / aantal gevraagde WBEs (%)	
		Geitenafschotseizoen	Bokkenafschotseizoen	Geiten/kalveren afschotseizoen	Bokken afschotseizoen
Noord Brabant	9633	67/86 (78%)	22/31 (71%)	29/36 (81%)	16/20 (80%)
Drenthe	9314	66/83 (79%)	25/31 (81%)	20/22 (91%)	13/15 (87%)
Overijssel	8521	53/82 (65%)	14/26 (54%)	21/24 (88%)	10/15 (67%)
Gelderland-Veluwe	5466	45/60 (75%)	5/22 (23%)	10/12 (83%)	5/10 (50%)
Gelderland-Achterhoek	5101	31/42 (74%)	11/13 (85%)	14/16 (88%)	9/10 (90%)
Friesland	5139	29/40 (73%)	15/22 (68%)	13/14 (93%)	9/12 (75%)
Groningen	4259	26/32 (81%)	9/14 (64%)	13/14 (93%)	7/10 (70%)
Limburg	4002	21/30 (70%)	10/15 (67%)	14/17 (82%)	10/15 (67%)
Fluvoland	2360	20/23 (87%)	4/6 (67%)	1/1 (100%)	1/1 (100%)
Gelderland-Rivierenland	966	0/7 (0%, geen ontheffing)	2/7 (29%)	0/4 (0%)	2/6 (33%, 5)
Noord Holland	495	0/4 (0%, geen ontheffing)	nvt/4 (geen ontheffing)	0/2 (0%)	nvt/2 (geen ontheffing)
Zuid Holland	840	2/4 (50%)	1/4 (25%)	1/2 (50%)	1/2 (50%)
Utrecht	299	3/3 (100%)	0/0 (nvt)	1/1 (100%)	0/0 (nvt)
Zeeland	869	0/3 (0%, geen ontheffing)	nvt/5 (geen ontheffing)	0/2 (0%)	nvt/4 (geen ontheffing)
Totaal	57264	363/600 (73%)	118/200 (59%)	167/137 (82%)	83/122 (68%)

dan wel helemaal geen monsters. 167 WBE's werd gevraagd in het geitenafschotseizoen monsters te nemen. Daarnaast zijn voor het bemonsteren in het bokkenafschotseizoen 122 WBE's benaderd, waarvan 101 WBE's reeds in het geitenafschotseizoen hadden bemonsterd. Voor de representativiteit van het onderzoek is het zeer wenselijk dat het gevraagde aantal monsters ook daadwerkelijk opgestuurd wordt. In het geitenafschotseizoen heeft 82% van de WBE's in totaal 73% van de gevraagde monsters ingestuurd. In het bokkenafschotseizoen betrof dit respectievelijk 68% en 59%. De geslacht- en leeftijdsverdeling van de binnengekomen monsters was 33%

Kwaliteit van de monsters

Per ree werden drie buisjes (zogenaamde monovettes) met bloed gevraagd. Eén



Mate van hemolyse in de monsters. Het linker serum (bruine dop) is nauwelijks hemolytisch, het rechter serum sterk hemolytisch. De meeste monsters waren hemolytisch.



Foto: Jan Paulides

rode bloedcellen kapot zijn gegaan, dit proces heet hemolyse. Het bleek dat hemolytische monsters vaker uit de borstholte waren genomen dan de niet-hemolytische, en dat sterk hemolytische sera gemiddeld langer onderweg (3,4 dagen) waren dan niet tot matig hemolytische sera (2,5 dagen).

En, de uitkomst van de EHDV-test?

Dieren die in de zomer of najaar (knuttenseizoen) geïnfecteerd zijn met EHDV, hebben daarna nog enige tijd het virus (of nauwkeuriger: het genetisch materiaal van EHDV) in hun bloed. Door EDTA-bloed van reeën in de winter 2009-2010 te testen, verkrijgt men inzicht in dat deel van de reeën dat in 2009 een infectie heeft ondergaan. Het CVI heeft de geiten/kalveren EDTA-bloedmonsters met een zogenaamde PCR-test getest. Er werd geen enkel bloedmonster positief gevonden voor EHDV. De bokken worden momenteel nog getest.

Evaluatie en conclusie

Allereerst veel dank aan allen die hebben meegewerkt. Bemonsteren vraagt aandacht, en extra inspanning en tijd onder soms moeilijke omstandigheden (kou, donker). Uit deze pilot blijkt dat de opzet iets bijgewerkt zal moeten worden. Ten

eerste was de deelname niet optimaal en is er -voor een acceptabele representativiteit- ruimte voor verbetering. Voor gebieden waar geen afschot plaatsvindt, zouden monsters van valwild (verkeerslachtoffers) uitkomst kunnen bieden. Ten tweede genereren niet alle diagnostische testen betrouwbare testresultaten met hemolytische en verontreinigde bloedmonsters. In de evaluatie hebben inzenders aangegeven, dat het opzuigen door de kleine openingen van de twee kleine roze dop monovettes moeizaam ging, en beter vervangen zou kunnen worden door één enkele grote roze dopbuis. Een goed alternatief, mits de buis helemaal gevuld wordt. Verder heeft een deel van de inzenders aangegeven dat zonder naald alleen bloedmonsters uit de borstholte genomen kunnen worden. Voor het nemen van bloedmonsters uit hart of grote aderen zou echt een buisje met naald nodig zijn. Bij de hier gebruikte steekproefbenadering is niet gekozen voor bemonstering met naalden vanwege het risico van prikincidenten. Over hoe de uitvoering van de monsternamen kan worden verbeterd, wordt nog nagedacht.

De laboratoriumtest die in deze studie is gebruikt, werkt voldoende betrouwbaar met hemolytische en verontreinigde monsters, maar zal zeker niet optimaal zijn. De resultaten geven aan dat er geen

aanwijzing is voor actieve EHDV-circulatie in reeën in 2009. Dit is geheel in overeenstemming met de afwezigheid van klinische verschijnselen in de reeën. Ook in gedomesticeerde herkauwers in Nederland is geen aanwijzing voor de aanwezigheid van EHDV.

De EDTA-bloedmonsters zijn dus gebruikt om de aanwezigheid van het EHD-virus te bekijken. De andere monsters, de serumbloedmonsters of sera, zullen getest worden op afweerstoffen tegen EHDV zodra deze test beschikbaar komt. Daarnaast worden de sera momenteel onderzocht op afweerstoffen tegen blauwtong en Q-koorts. Hierover leest u binnenkort meer!

Een aanzienlijk deel van de deelnemende inzenders heeft aangegeven in de toekomst opnieuw te willen meewerken. Deze grote mate van bereidheid wordt zeer op prijs gesteld. De gezondheid van de wildstand is natuurlijk zeer belangrijk voor het wild zelf. Tevens kunnen sommige ziekten in wild een bedreiging vormen voor landbouwhuisdieren en de volksgezondheid. Door deze ziekten tijdig aan te tonen kan er in het beleid rekening mee worden gehouden. De al zeer behoorlijke respons toont aan dat de deelnemende jagers deze verantwoordelijkheid hebben onderkend. Hopelijk zullen meer jagers het belang van dit onderzoek in gaan zien. ■