



Onderzoek naar insleeproutes voor hoogpathogene vogelgriep bij commerciële pluimveebedrijven

Luchtinlaatonderzoek



Editor: Francisca Velkers

Suggestie voor citeren:

Onderzoek naar insleeproutes voor hoogpathogene vogelgriep bij commerciële pluimveebedrijven.
Luchtinlaatonderzoek. Rapportage van een onderzoek dat is uitgevoerd in opdracht van het ministerie
van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, o.l.v. Universiteit Utrecht,
Universiteit Utrecht
Utrecht, 8-3-2023

Inhoud

Woord vooraf	3
Samenvatting	4
Aanleiding van het onderzoek	5
Aanpak van het onderzoek	5
Werkpakket 1: Analyse van luchtmonsters rond de luchtinlaat van pluimveebedrijven	6
<i>Publiekssamenvatting</i>	6
Werkpakket 2: Ondersteunend onderzoek (videocameramonitoring) en onderzoek naar grove deeltjes die de luchtinlaat binnen kunnen komen	9
<i>Publiekssamenvatting</i>	9
Uitkomsten bedrijfsinventarisaties in relatie tot WP1 en WP2 uitkomsten	11
<i>Publiekssamenvatting</i>	11
<i>Aanpak, discussiepunten, conclusies en aanbevelingen</i>	13
Dankwoord	17
Bijlage A. Literatuur over transmissie via luchtinlaten	18

Woord vooraf

Nederland heeft de afgelopen jaren regelmatig te kampen met uitbraken van hoogpathogene vogelgriep (HPAI) bij pluimveebedrijven. In de herfst, winter en het voorjaar van 2021-2022 zijn een groot aantal uitbraken, nog veel meer dan in de jaren ervoor, vastgesteld bij verschillende typen pluimveebedrijven.

Meer kennis over mogelijke insleeproutes van het virus kan leiden tot verdere verbeteringen van de bioveiligheid en het beperken van risico's op vogelgriepuitbraken. Hier wordt al geruime tijd hard aan gewerkt door verschillende onderzoekers in Nederland en wereldwijd. In Nederland werd in 2003, en structureel sinds 2014, uitgebreid onderzoek gedaan bij met HPAI besmette commerciële pluimveebedrijven, om risicofactoren voor insleep in kaart te brengen en te adviseren over risicobeperkende maatregelen. Hierbij wordt steeds zeer intensief samengewerkt tussen Universiteit Utrecht en NVWA, WBVR, GD en Sovon.

Deze kennis is tevens ingezet en uitgebreid binnen andere onderzoeken gericht op vogelgriep en bioveiligheid, waaronder diverse projecten gericht op het toepassen van bioveiligheidsplannen op pluimveebedrijven, het afgeronde PPS project 'Fight Flu' en het lopende PPS project 'Risico insleep vogelgriep'.

Voor de uitbraken vanaf de herfst 2021 hebben wij ook onderzoek uitgevoerd in opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV). Ook dit maal was het doel van het onderzoek naar 'Insleeproutes HPAI op commerciële pluimveebedrijven' om bestaande kennis te verdiepen en meer inzicht te krijgen in maatregelen die zorgen voor het beperken van risico's op insleep en verspreiding van vogelgriep.

Dit onderzoek bestond uit twee onderdelen: deel 1 was het luchtinlaatonderzoek, waarvan in dit rapport de bevindingen worden samenvat, en deel 2 was het 'Risicofactorenonderzoek insleep Vogelgriep'. De uitkomsten daarvan worden in een ander rapport beschreven.

In dit rapport wordt allereerst een samenvatting gegeven van het luchtinlaatonderzoek met de belangrijkste conclusies uit het onderzoek. Daarna volgt voor de verschillende werkpakketten een publiekssamenvatting waarin opzet, uitvoering en de belangrijkste uitkomsten van het onderzoek nader zijn uitgewerkt.

Namens de projectleiders van de werkpakketten,

Universiteit Utrecht (Population Health Sciences)(UU): dr. Francisca C. Velkers
Gezondheidszorg Landbouwhuisdieren (projectleider en editor van het rapport)

Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS) prof. dr. ir. Lidwien A.M. Smit

Wageningen Bioveterinary Research (WBVR), Lelystad: dr. ir. Armin R.W. Elbers

Samenvatting

Bioveiligheidsmaatregelen, zowel op sector- als individueel bedrijfsniveau, zijn een belangrijke voorwaarde voor het beperken van vogelgriepuitbraken. Het strikt naleven van bioveiligheidsmaatregelen kan de kans op besmettingen van andere bedrijven en vanuit wilde vogels verminderen.

Op basis van aanwijzingen dat vogelgriepvirus bij bedrijven met binnengehouden pluimvee mogelijk ook via ventilatieopeningen kan binnenkomen, werd al in eerdere seizoenen geadviseerd om zoveel mogelijk luchtinlaten af te schermen, openingen van buiten naar binnen in de stal af te dichten en lekkages en spetteren van hemelwater tegen te gaan.

Heel direct bewijs voor binnenkomst van het vogelgriepvirus via luchtinlaten is nog beperkt, want het is moeilijk te onderzoeken. Door een team van epidemiologen, pluimveedierenartsen en klimaatexperts is daarom vanuit verschillende invalshoeken en met verschillende (nieuwe) technieken praktijkonderzoek gedaan. Het onderzoek werd uitgevoerd bij een vleeskuikenbedrijf in Noord Holland, een vleeskuikenbedrijf in Friesland en een leghennenbedrijf in Groningen. Bij deze bedrijven werd in november 2021 een HPAI H5N1 uitbraak vastgesteld en deze bedrijven liggen in een watervogelrijk gebied.

Er is eerst een uitgebreide risico-inventarisatie gedaan (door experts van De Heus, Universiteit Utrecht en WBVR) waarbij extra aandacht werd besteed aan de eigenschappen en werkzaamheden op en in het omringende land en waterpartijen, de aanwezigheid van wilde vogels en alles betreffende luchtinlaten, ventilatie en afvoer van hemelwater. In de lege stallen werden alle mogelijke openingen van buiten naar binnen toe, luchtstromen en lekkages van lucht of vocht in kaart gebracht, waar nodig m.b.v. rookproeven en infraroodmetingen met een warmtecamera. Door het Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS, Utrecht) werden luchtmetingen gedaan om te testen op watervogel-DNA. Door WBVR (Lelystad) werden met fijn-muskietengaasnetten aan de stalzijde van de ventielen grove deeltjes opgevangen en werden videocamera-observaties naar wilde vogels rondom de stal uitgevoerd.

Het onderzoek wees uit dat bij pluimveebedrijven die een goed management voeren in nette stallen, en waar pluimvee binnen wordt gehouden, toch vogelgriepvirus kan binnenkomen. Er zijn risicofactoren in de omgeving vastgesteld die te maken zouden kunnen hebben met de aanwezigheid en binnenkomst van vogelgriepvirus via luchtinlaten. Er waren (aantrekkelijke omstandigheden voor) wilde vogels in de buurt en er waren risicovolle werkzaamheden, zoals oogsten en slootwerkzaamheden uitgevoerd. Ook spoorden de warmtecamera wat kleine openingen op in de stallen, hoewel over het algemeen de stallen goed onderhouden waren. In filters die de lucht die via de luchtinlaat was binnengekomen hadden opgevangen werden fijne deeltjes met wilde watervogel-DNA gevonden. Ook werden grove deeltjes (kleine stukjes plant- en/of gewasmateriaal, plastic, papier, wol, spinnenweb) en insecten in de fijnngaasnetten gevonden.

Aanbevolen wordt om, naast het weren van wilde vogels en beperken van (in)direct contact met wilde vogelpoep, wervelingen van wind rondom te stal te beperken en luchtinlaten af te schermen. Ook wordt geadviseerd risicovolle werkzaamheden op land en in/bij sloten tot een minimum te beperken en maatregelen te nemen (zoals tijdelijk afsluiten van luchtinlaten of uitstellen), vooral als er veel risicovogels zijn en bij ongunstig weer. Veehouders kunnen met hulp van klimaatexperts, plaagdierenexperts en dierenartsen openingen in de stal van buiten naar binnen en lekkages proberen op te sporen en proberen om alle openingen en luchtinlaten zo goed mogelijk af te schermen.

Hoewel deze maatregelen geen garantie geven, levert het, samen met het optimaliseren van de bioveiligheid, mogelijk wel een bijdrage aan het verminderen van de kans op een uitbraak.

Aanleiding van het onderzoek

Het toepassen van strikte bioveiligheidsmaatregelen om direct en indirect contact met wilde vogelmest, of met hoogpathogene vogelgriep (HPAI) besmet materiaal van commercieel gehouden pluimvee, te voorkomen is de belangrijkste manier om HPAI insleep tegen te gaan. Toch is gebleken dat insleep de afgelopen jaren plaatsvindt op bedrijven met binnengehouden pluimvee en ook bij bedrijven die op het oog de bioveiligheid op orde zouden hebben. Ondanks alle kennis die wij, en andere onderzoekers in Nederland maar ook wereldwijd, hebben opgedaan, zijn hier nog onvoldoende bevredigende en eenduidige verklaringen voor gevonden. Uit eerder epidemiologisch onderzoek door Universiteit Utrecht voor alle Nederlandse gevallen sinds 2014, maar ook bij studies van een veelvoud aan uitbraken met bijvoorbeeld H5N2 in USA in 2015, bleek dat voor een aantal bedrijven ook gedacht kon worden aan insleep via ventilatieopeningen. Ook bij de uitbraken van 2020-2022 zijn veel aanwijzingen dat luchtinlaten een mogelijke insleeproute zijn.

Daarom is er veel behoefte aan het onderzoeken van deze introductieroute. Een eerdere risicoanalyse (Elbers et al., WBVR, 2021) suggereerde een verwaarloosbaar risico op vogelgriepvirus-introductie via de luchtinlaat door transport via de lucht van wilde watervogelmest (in de vorm van stofdeeltjes) of aerosolen (mengsel van stofdeeltjes of vloeistofdruppels in een gas van 0,2-200 µm) uit de luchtwegen van besmette wilde vogels. Het is echter theoretisch mogelijk dat het HPAI virus op andere dragers dan mest via de luchtinlaat de stal binnenkomt, zoals bijvoorbeeld door middel van (kleine deeltjes van) grassprietten en veren. Om gerichte maatregelen in te kunnen zetten om virus buiten de stal te houden is het daarom nodig om de insleeproute via luchtinlaten nader te onderzoeken, en zoveel mogelijk nieuwe kennis en technieken in te zetten die kunnen helpen bij het onderzoek.

Aanpak van het onderzoek

De afdeling Gezondheidszorg Landbouwhuisdieren van het departement Population Health Sciences (PHS) van de faculteit Diergeneeskunde van Universiteit Utrecht (UU-LHD), heeft veel ervaring met het beoordelen en adviseren van pluimveebedrijven t.a.v. optimalisaties in bedrijfsmanagement, waaronder bioveiligheid en klimaatbeheersing, en het welzijns- en gezondheidsbeleid. Naast de eigen klimaatexperts van UU-LHD, is Henk Roodenboog, internationaal klimaatexpert van De Heus Animal Nutrition, een belangrijke adviseur hierbij. Het Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS), ook onderdeel van PHS van Universiteit Utrecht (UU-IRAS) heeft veel ervaring met het meten van ziekteverwekkers en andere biologische agentia in binnen- en buitenlucht. WBVR heeft binnen de 'PPS Risico insleep vogelgriep' een literatuurstudie gedaan naar enkele routes via de lucht vanuit besmettingen van wilde vogels en heeft veel ervaring opgedaan met het inzetten van camera-observaties om wilde vogels rondom bedrijven goed te kunnen volgen. De taakverdeling was als volgt:

- UU-IRAS voerde WP1 uit: 'Analyse van luchtmonsters rond de luchtinlaat van pluimveebedrijven';
- WBVR leidde WP2: 'Ondersteunend onderzoek (videocameramonitoring) en onderzoek naar grove deeltjes die de luchtinlaat binnen kunnen komen';
- UU-LHD voerde het projectmanagement uit, selecteerde de bedrijven, voerde nader onderzoek uit naar de ventilatie en luchtinlaten en gaf input voor de uitvoering van WP1 en WP2. Tevens was UU-LHD verantwoordelijk voor het samenvatten en communiceren van de uitkomsten naar veehouders, sectorvertegenwoordigers en de opdrachtgever. De werkwijze en belangrijkste bevindingen per onderdeel worden hieronder toegelicht.

Werkpakket 1: Analyse van luchtmonsters rond de luchtinlaat van pluimveebedrijven

Prof. dr. ir. Lidwien A.M. Smit, dr. Alex Bossers, dr. Myrna M.T. de Rooij

Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS), Universiteit Utrecht

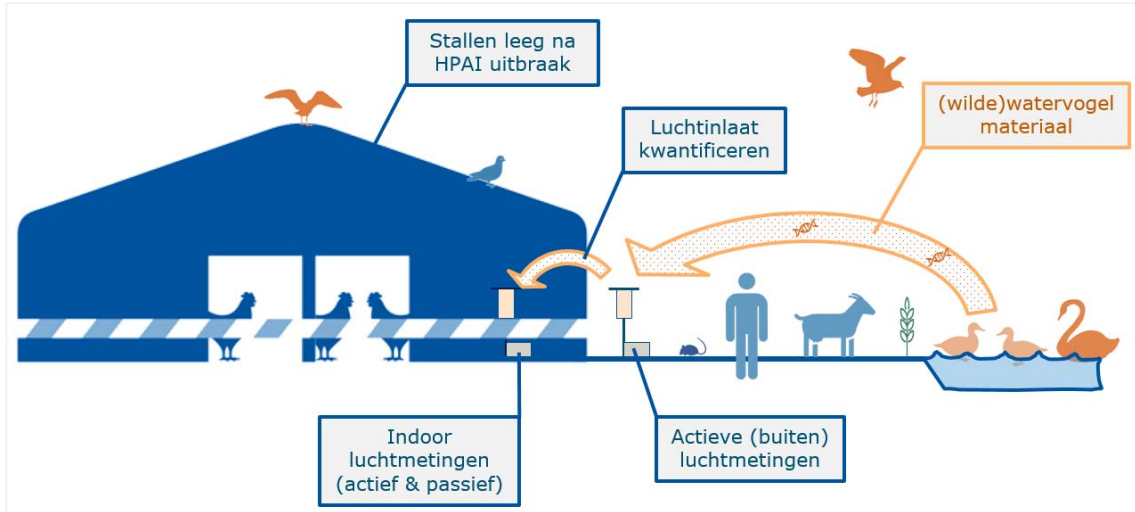
Publiekssamenvatting

Achtergrond: Van oktober 2021 tot en met oktober 2022 waren er 98 uitbraken van vogelgriep op Nederlandse pluimveehouderijen en hobbylocaties met meer dan 50 vogels. In totaal werden in deze periode bijna zes miljoen vogels geruimd, en was er hoge sterfte onder wilde vogels. De aanhoudende besmettingen en maatregelen hebben een grote impact op de pluimveesector. Om uiteindelijk gerichtere preventieve maatregelen toe te kunnen passen is er behoefte om beter te begrijpen op welke manier het hoog pathogene vogelgriep (HPAI) virus de stal binnen kan komen.

Ziekteverwekkers kunnen op verschillende manieren de pluimveestal binnenkomen. Bekende introductieroutes zijn direct contact met andere besmette dieren, of indirect via besmet materiaal dat via mensen, materialen, voertuigen of dierlijke vectoren, waaronder ratten, muizen of insecten, de stal binnenkomt. De mogelijkheid bestaat ook dat HPAI zich via fijne deeltjes met luchtstromen mee verplaatst en via de luchtinlaten binnenkomt, maar wetenschappelijk bewijs hiervoor is beperkt. Een van de manieren om meer inzicht te krijgen in het risico op insleep via luchtinlaten is het bemonsteren van lucht binnen en buiten de stal. De kans dat HPAI tijdens een luchtmeting wordt aangetroffen wordt echter zeer klein geacht. Luchtmonsters bevatten mogelijk wel genoeg biologisch materiaal van wilde vogels, bijvoorbeeld fijne mestdeeltjes, of mest aan microscopische delen van veertjes, planten, of andere deeltjes die als drager voor HPAI kunnen dienen. Het aantonen van bijvoorbeeld watervogelmateriaal in luchtmonsters zou de veronderstelling ondersteunen dat luchtinlaten een introductieroute kunnen zijn voor vogelgriep.

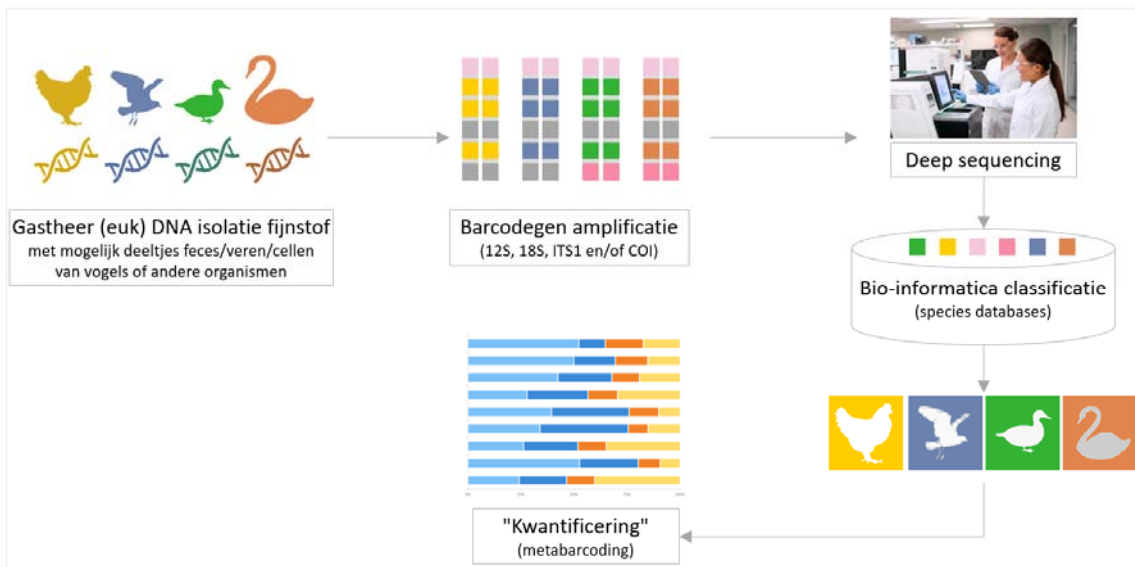
Doel van het onderzoek: Dit onderzoek heeft als doel om het mogelijke risico van HPAI insleep via luchtinlaten aan te tonen door - in plaats van HPAI virus zelf - genetisch materiaal (DNA) van wilde watervogels, de HPAI gastheren, te meten in de lucht die door de luchtinlaat stroomt.

Methoden: De onderzoekers hebben tussen december 2021 en maart 2022 binnen- en buitenluchtmetingen uitgevoerd op een leghennenbedrijf en twee vleeskuikenbedrijven die tijdelijk leegstonden en gedesinfecteerd waren vanwege ruiming na vaststelling van een HPAI uitbraak. Vergelijkbare luchtmetingen zijn uitgevoerd bij een vogelopvang waar ten tijde van monsternamen diverse wilde vogelsoorten aanwezig waren. De metingen bij de vogelopvang dienden als 'positieve controle' voor deze nieuwe methode om DNA van vogels in luchtmonsters te meten. Luchtmonstering werd met beproefde methoden uitgevoerd door het invangen van kleine deeltjes (fijnstof) aanwezig in de lucht op een filter. Iedere luchtmeting duurde 4 tot 5 dagen, waarbij circa 65 m³ lucht werd bemonsterd (zie figuur 1). In totaal werden 77 luchtmonsters verzameld met binnenmetingen en 130 luchtmonsters met buitenmetingen op de drie bedrijven, en 12 binnen- en 8 buitenmetingen bij de vogelopvang. De ventilatie en de ventielen werden dusdanig ingesteld dat de binnenkomende luchtstroom werd nagebootst zoals die aanwezig was ten tijde van de HPAI uitbraak tijdens normale bedrijfsvoering.



Figuur 1. Schematische weergave van de onderzoeksopzet

Na isolatie van DNA uit een selectie van luchtmonsters ($n=100$ van pluimveebedrijven en $n=20$ van de vogelopvang) en negatieve controlemonsters (blanco's) werd onderzocht welke eukaryote soorten teruggevonden konden worden (d.w.z. schimmels, protisten, planten en dieren, met specifieke aandacht voor dieren uit de taxonomische Klasse 'Vogels'). Door middel van *environmental DNA* (eDNA) metabarcoding (sequencing van grote hoeveelheden bepaalde eukaryote genen van veel soorten tegelijk) kunnen veel eukaryote soorten worden geïdentificeerd. Het 18S ribosomale barcode-gen gaf op dit moment de meeste opbrengst met de gewenste resolutie om op zoek te gaan naar specifiek watervogel DNA (zie figuur 2).



Figuur 2. Schematische weergave van de DNA sequencing en bio-informatica workflow

Resultaten: Bij een globale vergelijking van de samenstelling van de totale samenstelling van het eDNA was te zien dat de luchtmonsters van dezelfde bedrijven meer op elkaar lijken dan op monsters die bij andere bedrijven zijn genomen.

Alle drie de pluimveebedrijven zijn qua samenstelling van het eDNA weer sterk verschillend van de vogelopvang controlelocatie. De luchtmonsters die binnen of buiten hetzelfde bedrijf zijn genomen lijken veel op elkaar met uitzondering van de vogelopvang, waarbij duidelijk een groot contrast aanwezig was tussen de binnen- en buitenlucht. De vogelopvang was de enige locatie met binnen aanwezige vogels, terwijl buiten de vogelopvang andere typen vogels aanwezig waren. Dit laat zien dat de samenstelling van eDNA in de binnenlucht kan worden beïnvloed door de aanwezige vogels, wat in algemene zin het vertrouwen sterkt in de eDNA metingen.

Binnen de gemeten eDNA sequenties is als *proof of principle* gezocht of dit ook detecteerbaar (water)vogel DNA bevat. Naast de gemeten schimmels en planten(zaden) blijkt ook DNA van zoogdieren en vogels aanwezig te zijn in de luchtmonsters. Een globale vergelijking van de samenstelling van uitsluitend de vogel-sequenties in het eDNA laat opnieuw zien dat de binnen- en buitenluchtmonsters van dezelfde bedrijven meer op elkaar lijken dan op monsters die bij andere bedrijven zijn genomen. Zowel binnen als buiten de stal is het DNA van verschillende vogelsoorten gedetecteerd waaronder kippen, mussen, mezen maar ook eenden. DNA van watervogels werd gevonden in 7 van de 100 luchtmonsters bij de pluimveebedrijven, en in alle 20 luchtmonsters van de vogelopvang.

Conclusies: Dit onderzoek toont een mogelijk risico van HPAI insleep via luchtinlaten aan. In de lucht die door de luchtinlaat stroomt kunnen fijne deeltjes met DNA van wilde watervogels worden gemeten. Hoewel de aanwezigheid van HPAI zelf in de lucht niet is gemeten, kan materiaal dat potentieel drager is van HPAI zich samen via fijne deeltjes met luchtstromen verplaatsen en daarmee via de luchtinlaten binnenkomen. Hoewel de deeltjesverplaatsing nog nauwkeuriger gekwantificeerd moet worden, ligt het nut van het toepassen van interventies ten aanzien van de binnenkomende lucht in stallen voor de hand om HPAI insleep te voorkomen. De innovatieve eDNA metabarcoding meetmethode biedt verder veel mogelijkheden voor toekomstig onderzoek naar bioveiligheid en introductie- en transmissieroutes van vogelgriep en andere infectieziekten waarbij interacties tussen dier, mens en omgeving een rol spelen.

Referenties

- Biesbroek G., Sanders E.A., Roeselers G. et al. 2012. Deep sequencing analyses of low density microbial communities: Working at the boundary of accurate microbiota detection. PLoS One 7(3):e32942.
- Callahan B.J., McMurdie, P.J., Rosen M.J., Han A.W., Johnson A.J.A., Holmes S.P. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat Methods 13, 581–583.
- Cambra-López M., Torres A.G., Aarnink A.J.A., Ogink N.W. 2011. Source analysis of fine and coarse particulate matter from livestock houses. Atmos Environ 45(3):694-707.
- Clare E.L., Economou C.K., Bennett F.J. et al. 2022. Measuring biodiversity from DNA in the air. Curr Biol 32(3):693-700.e5.
- de Rooij M.M.T., Hakze-Van der Honing R.W., Hulst M.M. et al. 2021. Occupational and environmental exposure to SARS-CoV-2 in and around infected mink farms. Occup Environ Med 78(12):893-899.
- De Rooij M.M.T., Hoek G., Schmitt H. et al. 2019. Insights into livestock-related microbial concentrations in air at residential level in a livestock dense area. Environ Sci Technol 53(13):7746-7758.
- Lynggaard C., Bertelsen M.F., Jensen C.V. et al. 2022. Airborne environmental DNA for terrestrial vertebrate community monitoring. Curr Biol 32(3):701-707.e5.

Werkpakket 2: Ondersteunend onderzoek (videocameramonitoring) en onderzoek naar grove deeltjes die de luchtinlaat binnen kunnen komen

Armin R.W. Elbers¹, José L. Gonzales¹, Miriam G.J. Koene¹, Evelien A. Germeraad¹, Renate W. Hakze-van der Honing¹, Marleen van der Most¹, Henk Rodenboog², Francisca C. Velkers³

¹ Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad.

² De Heus Voeders B.V., Ede.

³ Faculteit Diergeneeskunde (Population Health Sciences), Universiteit Utrecht.

Publiekssamenvatting¹

Grove deeltjes en insecten - die mogelijk besmet kunnen zijn met vogelgriep of andere ziekteverwekkers – kunnen de luchtinlaten van pluimveebedrijven binnendringen met de lucht. Dat blijkt uit onderzoek van Wageningen Bioveterinary Research (WBVR), onderdeel van Wageningen University & Research, en de Universiteit Utrecht naar het transport van mogelijke dragers van het vogelgriepvirus door een luchtinlaat. “Hoewel we in ons onderzoek geen vogelgriepvirus aangetroffen, adviseren we pluimveehouders wel om aanvullende maatregelen te nemen om de potentiële risico’s van deze introductieroute via de luchtinlaat zoveel mogelijk te beperken”, aldus WBVR-onderzoeker Armin Elbers. Meer onderzoek is nodig om te de effectiviteit van verschillende maatregelen in kaart te brengen.

Introductieroutes: Pluimvee kan besmet raken met vogelgriepvirus als er direct of indirect contact is met uitwerpselen of andere secretieproducten van besmette wilde vogels of ander besmet pluimvee. De geldende ophokplicht voorkomt direct contact tussen gehouden pluimvee en besmette wilde vogels of een besmette omgeving. Hoe het pluimvee ondanks bioveiligheidsmaatregelen van de pluimveehouder en de ophokplicht toch in enkele gevallen besmet raakt, is onduidelijk. Er zijn verschillende introductieroutes denkbaar; een daarvan is via de lucht door de luchtinlaat van pluimveestallen. In opdracht van het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselveiligheid onderzocht Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) in Lelystad in samenwerking met de Universiteit Utrecht (Faculteit Diergeneeskunde en Institute for Risk Assessment Science/IRAS) het transport van mogelijke dragers van het virus door de luchtinlaat van een pluimveebedrijf.

Waarnemingen: Op een recent besmet vleeskuikenbedrijf en legpluimveebedrijf is, na ruiming en verschillende schoonmaak- en ontsmettingsrondes, bij 18 luchtinlaten per stal door WBVR een ventilatiekap over het inlaatventiel geplaatst. Daaraan is ook een fijngaasnet bevestigd. De ventilatie werd in werking gesteld alsof er pluimvee aanwezig was. Daarnaast is een videocamera-monitoringsysteem geïnstalleerd door WBVR. Hiermee werd bezoek van wilde vogels aan de omgeving van de stal vastgelegd.

Bevindingen: De inhoud van de fijngaasnetten werd op beide pluimveebedrijven in de periode januari – maart 2022 gedurende in totaal 25 dagen om de 5 dagen geogst. De fijngaasnetten werden ook gewabd met een stofdoekje.

¹ Overgenomen van: <https://www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/biovetinary-research/show-bvr/vogelgriepvirus-via-de-luchtinlaat-potentiele-introductieroute.htm>

Binnengekomen materiaal, stofdoekje en gevangen insecten werden getest op influenzavirus, *Campylobacter* en *Salmonella*. De insecten werden ook getest op Schmallenberg-, West Nile- en Usutu-virus.

De onderzoekers vonden kleine hoeveelheden materiaal in de netten. Dit varieerde van kleine stukjes plant- en/of gewasmateriaal, stukjes plastic en papier, tot wol en spinnenweb. Er werden geen veertjes of uitwerpselen van wilde vogels waargenomen. Spinrag en plantaardig materiaal werden het meest waargenomen: gemiddeld ongeveer 1 tot 2 spinnenwebben of plantaardig materiaal per luchtinlaat per 5 dagen opvangperiode. De variatie in de hoeveelheid materiaal die door de verschillende luchtinlaten binnenkwam, was echter groot. Tijdens een incidentele storm met harde wind kunnen grote hoeveelheden materiaal via de luchtinlaten aan de windgerichte zijde in de stal terechtkomen.

Geen virus aangetroffen: Alle geteste materiaalmonsters waren negatief in de PCR-test voor influenzavirus en *Salmonella*. De insecten zijn negatief getest op Schmallenberg-, West Nile- en Usutu-virus. Er zijn aanwijzingen gevonden voor insleep van *Campylobacter* via de luchtinlaat. Het gebied op korte afstand (tot 10 m) van pluimveestallen werd regelmatig bezocht door wilde vogels: Merel, Zwarte Kraai, Mantelmeeuw, Scholekster en Wilde Eenden.

Vervolg: Het onderzoek geeft aan dat grove deeltjes en insecten - die mogelijk besmet kunnen zijn met HPAI virus of andere ziekteverwekkers - de luchtinlaten van pluimvee kunnen binnendringen met de lucht. "Daarom is het verstandig om deze potentiële introductieroute te beperken", aldus WBVR-onderzoeker Armin Elbers. Meer onderzoek is echter nodig om te begrijpen hoe dit op een juiste manier kan worden uitgevoerd. "Het gebruik van windbreekgaas kan mogelijk een bijdrage leveren aan het beperken van deze introductieroute", verwacht Elbers. Hij kent een bedrijf dat enkele jaren geleden al windbreekgaas installeerde na een besmetting met vogelgriep. "Dat bedrijf is ook nu toch weer besmet geraakt, waarbij het aannemelijk is dat dit is gebeurd via aangevoerde lucht via de luchtinlaat. Windbreekgaas is dus niet zaligmakend." Een goed alternatief is volgens Elbers het gebruik van een geautomatiseerde laser. "Met de laser maak je de omgeving rondom de pluimveestal onaantrekkelijk voor bezoekende wilde vogels."

Publicatie: De resultaten van het onderzoek zijn recent gepubliceerd in het wetenschappelijk tijdschrift Pathogens (zie Elbers et al., 2022 bij de referenties).

Referenties

Elbers, A. R. W., Gonzales, J. L., Koene, M. G. J., Germeraad, E. A., Hakze-van der Honing, R. W., van der Most, M., Rodenboog, H., & Velkers, F. C. (2022). Monitoring Wind-Borne Particle Matter Entering Poultry Farms via the Air-Inlet: Highly Pathogenic Avian Influenza Virus and Other Pathogens Risk. *Pathogens*, 11(12), 1534. <https://doi.org/10.3390/pathogens11121534>

Uitkomsten bedrijfsinventarisaties in relatie tot WP1 en WP2 uitkomsten

dr. Francisca C. Velkers¹, prof. dr. J. Arjan Stegeman¹, drs. Thijs T.M. Manders¹, Ing. Jan W.M. van Schip¹, Maurits A.W. Schippers, BSc¹, Ing. Henk Roodenboog², dr. Armin R.W. Elbers³

¹ *Departement Population Health Sciences (PHS), afdeling Gezondheidszorg Landbouwhuisdieren, faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht*

² *De Heus Animal Nutrition, Ede.*

³ *Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad.*

Publiekssamenvatting

Achtergrond en doel van het onderzoek: Om de rol van luchtinlaten als insleeproute voor vogelgriepvirus te onderzoeken is bij drie bedrijven, waar een rol van de luchtinlaten bij het HPAI uitbraak werd vermoed, nader onderzoek gedaan door een team van epidemiologen, pluimveedierenartsen en klimaatexperts.

Methoden: Een vleeskuikenbedrijf in Noord Holland, een vleeskuikenbedrijf in Friesland en een leghennenbedrijf in Groningen, waar in november 2021 een HPAI H5N1 uitbraak was vastgesteld, zijn onderzocht. Er is een uitgebreide risico-inventarisatie gedaan door het multidisciplinaire team samen met de veehouders. Hierbij werd extra aandacht besteed aan de werd besteed aan de eigenschappen en werkzaamheden op en in het omringende land en waterpartijen, de aanwezigheid van wilde vogels, en alles betreffende luchtinlaten, ventilatie en afvoer van hemelwater. Er werden metingen gedaan in de lege stal waarbij is gekeken naar alle mogelijke openingen van de stal van buiten naar binnen toe, mogelijke luchtstromen en lekkages van lucht of vocht, waar nodig m.b.v. rookproeven en infraroodmetingen met een warmtecamera. Tevens werd een inventarisatie van het bedrijf en de stalventilatie gedaan om metingen voor WP1 en WP2 voor te bereiden.

Resultaten: Bij alle bedrijven zaten de kippen in stallen zonder (overdekte) uitloop en begon de sterfte lokaal in de stal. Bij het leghennenbedrijf was dit exact op dezelfde plek als in een vorig seizoen. Er is geen opvallende ligging t.o.v. de heersende windrichting vastgesteld en er waren geen opvallende extreme weersomstandigheden ten tijde van het vermoedelijke moment van besmetting, behalve bij één vleeskuikenbedrijf waar het enkele dagen mistig was geweest. Wel was het drassig in de onverharde delen rondom de stallen door het regenachtige weer in oktober en november. Alle bedrijven lagen in een zeer water(vogel)rijk gebied en er werd mest (o.a. van grasetende wilde vogels, zoals ganzen of eenden) op het erf gezien. Uit camerabeelden bleek dat diverse vogels dichtbij de stal kwamen, waaronder wilde eenden, en meeuwen rustten vaak op de kappen van luchtuitlaten. Er is geen gelijkenis met virussen van buurtbedrijven of van HPAI positief geteste wilde vogels uit de buurt aangetoond. Bijzondere omstandigheden in de periode rondom het moment van vermoedelijke virusintroductie waren voor één bedrijf het oogsten van rode bieten, waarbij met trekkers dicht langs de stal en luchtinlaten was gereden en veel ganzen op de oogstresten waren afgekomen. Bij alle bedrijven waren recentelijk slootwerkzaamheden dichtbij de stallen uitgevoerd. In twee gevallen was dit waarschijnlijk enige tijd voor het vermoedelijke moment van virusintroductie is geweest, en in één geval erna.

Over het algemeen was de bioveiligheid goed op orde en waren de stallen goed onderhouden. Wel werden hier en daar plekken opgespoord die beter afgedicht konden worden en waar hemelwater beter kon worden afgevoerd. Bij de vleeskuikenbedrijven was het vermoedelijke moment van virusintroductie kort na de tweede levensweek, wanneer niet langer alle binnenkomende lucht via de warmtewisselaar naar binnen wordt gezogen.

Conclusies: Met dit onderzoek kunnen we voor een individueel bedrijf niet zeggen wat de oorzaak voor de binnenkomst van het vogelgriepvirus is geweest. Er kunnen namelijk geen observaties en metingen gedaan worden die precies op het moment van insleep plaatsvinden. Bovendien is de 'boosdoener' vaak onzichtbaar en onmeetbaar. Waarschijnlijk spelen toevalsprocessen, die bepalen of er net wel, of net niet voldoende virus binnenkomt, ook een grote rol. Ook kunnen we niet aangeven welke risicofactoren in de omgeving, bedrijfskenmerken of stalsystemen een relatie hebben met de kans op besmetting. Hiervoor zijn veel uitgebreidere studies nodig, waarbij ook wordt vergeleken met niet-besmette bedrijven. Wel kunnen we concluderen dat bij pluimveebedrijven die een goed management voeren in nette stallen, en waar pluimvee binnen wordt gehouden, toch vogelgriepvirus kan binnenkomen. Hoewel de individuele veehouder weinig kan doen aan de aantrekkelijkheid voor besmette wilde vogels van het omringende landschap, of weersomstandigheden, kunnen veehouders proberen risicobeperkende maatregelen te nemen die mogelijk bijdragen aan een kleinere kans op een uitbraak.

Aanbevelingen: Maak de **directe omgeving van de stallen zo onaantrekkelijk mogelijk** voor wilde vogels en plaagdieren (zoals knaagdieren en insecten), **verjaag** evt. **wilde vogels** rondom de stal, bv. met een laser, en verwijder **wilde vogelpoep** van het erf, maar zonder dat dit stof- of aerosolvorming geeft. Probeer **harde wind en wervelingen van wind** rondom de stal te **bepersen**, bv. door strategisch geplaatste bomenrijen of schotten of schermen. Aanbevolen wordt om **luchtinlaten af te schermen**, om materiaal van buiten de stal zoveel mogelijk tegen te houden. Een open nok is af te raden en vogelgaas moet bij alle luchtinlaten en ventilatoren aanwezig zijn. Scherm nokventilatoren, liefst zowel erboven (kappen) als eronder af (smoor/vlinderkleppen en opvangschotels) en zorg voor **windbreekschotten/kappen** bij de zij-inlaten. **Windbreekgaas** bij zij-inlaten of overdekte uitlopen kan het grovere dragermateriaal (stof, plantendelen, mest, veertjes en insecten of grotere druppels) tegenhouden. Ook hebben proeven laten zien dat bepaalde typen windbreekgaas de kans op besmetting en/of het aantal virusdeeltjes via aerosolen kan verminderen. In overleg met eigenaren van omringende percelen of waterwegen zouden **risicovolle werkzaamheden op land en in/bij sloten** het beste gedaan kunnen worden als er minder risicovogels in de buurt zijn of bij gunstige weersomstandigheden. Ook kunnen luchtinlaten misschien tijdelijk worden afgeschermd of afgesloten. Na oogsten, baggeren of maaien/klepelen van sloten en slootkanten moeten resten z.s.m. afgevoerd worden. Hierbij moet stof- of aerosolvorming en verkeer van trekkers en voertuigen langs de stal, worden beperkt. **Beperk (indirect) contact met omringend weiland en sloten** door huisdieren, voertuigen en voetgangers die daar komen van het erf te weren. Controleer stallen op **openingen van buiten naar binnen** en mogelijkheden voor naar binnen vallen of lekken van vogelpoep, of met vogelpoep besmet hemelwater, vanaf dak (binnendruppelen, spetteren, condens) of door inregenen. Maak evt. gebruik van stoffen die versleep zichtbaar kunnen maken, zoals (fluorescerende) kleurstoffen. Het is raadzaam om **advies in te winnen bij klimaat- en plaagdierenexperts en de bedrijfsdierenarts**, om samen naar zwakke plekken en naar mogelijke oplossingen te kijken.

Aanpak, discussiepunten, conclusies en aanbevelingen

Inleiding

Om insleeprisico's te beperken zijn strikte protocollen nodig. Naast het niet binnenbrengen van besmette dieren en beperken van direct contact met (poep van) besmette wilde vogels in een vrije uitloop, moeten strikte bioveiligheidsmaatregelen consequent worden uitgevoerd. Dit beperkt het indirecte contact met besmet materiaal via voertuigen, materialen en mensen. Besmet materiaal kan ook via de lucht de stal inkomen. Deze 'aerogene' transmissie is voor besmettingen tussen bedrijven al eerder vastgesteld. Tussenbedrijf verspreiding via de lucht is aangetoond bij de grote HPAI H7N7 epidemie in 2003 in Nederland, en ook bij de meer recente HPAI-epidemieën in pluimveerijke gebieden in o.a. USA en Frankrijk. Dit bleek uit luchtmetingen, epidemiologisch risicofactorenonderzoek en wiskundige modellen waarbij ook naar de windrichting is gekeken (zie bijlage A voor referenties).

Sinds 2014 hebben we vooral te maken met primaire introducties van HPAI H5 clade 2.3.4.4 virussen vanuit wilde vogels. Transmissie via de lucht van besmet materiaal van wilde vogels naar pluimvee in de stal werd langdurig minder waarschijnlijk geacht op basis van literatuurstudies (Elbers et al., 2021). Toch werden door de UU al sinds 2014 in de rapportages van de onderzoeken op de besmette bedrijven vermoedens geuit dat de luchtinlaten mogelijk een rol speelden. In Nederland, maar ook bij andere grootschalig onderzochte uitbraken wereldwijd, bleek namelijk dat veel besmette bedrijven ondanks zeer strikte bioveiligheidsmaatregelen toch besmet raakten. En bij sommige van deze bedrijven werd virusintroductie via luchtinlaten erg aannemelijk, onder meer door de plek in de stal waar de eerste ziekteverschijnselen of sterfte werd waargenomen, het minder waarschijnlijk blijken van andere insleeproutes en soms tevens een relatie met werkzaamheden op het omringende land of bij sloten, zoals baggeren. Het rapport van Velkers et al. (2018) ging hier extra diep op in, zie enkele aanbevelingen uit dit rapport in de tekstbox, die nog steeds van toepassing zijn. En inmiddels is er veel bereidheid bij veehouders, NVWA en ministerie van LNV om de luchtinlaten nader te onderzoeken.

Enkele aanbevelingen uit het rapport van H5N6 uitbraken in 2017-2018

- Ga in gesprek met waterschappen en akkerbouwers om te onderzoeken of bepaalde activiteiten in bepaalde perioden misschien achterwege gelaten zouden kunnen worden, of dat andere maatregelen genomen kunnen worden.
- Ventilatieopeningen zijn mogelijk een zwak punt, bv. omdat druppels regenwater vanuit goten, lekwater en opwervelend materiaal vanuit buiten hierdoor naar binnen zou kunnen komen. Raadpleeg technische experts om te kijken naar het beter filteren van de binnenkomende lucht, of het nog beter afsluiten van de ventilatieopeningen. Een dubbele laag windbreekgaas voor de ventilatieschachten kan wellicht stofdeeltjes of waterdruppels tegenhouden, maar het zou goed zijn als nader onderzocht wordt of dit voldoende is om het vogelgriepvirus buiten de deur te houden.
- Schenk aandacht aan een goede afvoer van regenwater de grond in (en niet het erf op), voorkomen van wervelingen van water/ontstaan van waterdruppels bij regengoten vlakbij de ventilatieopeningen en voorkomen van binnenkomst van lekwater of condens vanaf het dak via ventilatoren of ventilatieopeningen.

Doel van het onderzoek

Inzicht krijgen in de rol van luchtinlaten bij HPAI-introductie door samen met veehouders en klimaatexperts een risico-inventarisatie (met daarbij extra aandacht voor de luchtinlaten) en metingen ter plaatse te doen, samen met UU en WBVR.

Discussie

Het onderzoek heeft laten zien dat het heel waardevol is om bij pluimveebedrijven die besmet zijn geraakt samen met de veehouders en diverse experts, vanuit verschillende disciplines te kijken naar allerlei mogelijke manieren waarop het vogelgriepvirus de stal binnen kan komen, en daarbij ook goed te kijken naar risicofactoren vanuit de omgeving. Een belangrijke beperking van het onderzoek is echter dat de observaties en metingen niet gedaan kunnen worden op het moment dat het virus daadwerkelijk binnenkomt. Bovendien is de daadwerkelijke 'drager' waarmee het virus binnenkomt vaak onzichtbaar en onmeetbaar. Er is immers maar een hele kleine hoeveelheid besmet materiaal nodig om één kip te besmetten, waarna deze het virus gaat uitscheiden en andere dieren in de stal kan besmetten. Het is dus een speld in een hooiberg om deze te kunnen vinden.

Een andere beperking is dat we alleen besmette bedrijven onderzoeken en niet kunnen vergelijken met bedrijven die niet besmet zijn geraakt. Mogelijk zou een vergelijking van besmette en niet-besmette bedrijven die vergelijkbaar zijn ten aanzien van blootstelling aan besmet materiaal in de omgeving, nader inzicht kunnen geven in welke bedrijfskenmerken of stalsystemen geassocieerd lijken te zijn met een kleinere kans om besmet te raken. Momenteel zijn we dan ook bezig met het opzetten van een dergelijk onderzoek. Maar het is ook goed mogelijk dat de besmettingen vooral het gevolg zijn van toevalsprocessen die ervoor zorgen dat er net wel, of net niet, voldoende virus binnenkomt bij een bedrijf om een infectie op gang te brengen. Kortom, we zullen nooit met zekerheid voor een individueel bedrijf kunnen vaststellen wat de boosdoener is geweest, wat niet wegneemt dat er toch lessen zijn te trekken uit de bevindingen van dit onderzoek en vergelijkbare onderzoeken.

Conclusies en aanbevelingen

Bij pluimveebedrijven die een goed management voeren in nette stallen en waar pluimvee binnen wordt gehouden kan toch vogelgriepvirus binnenkomen. Een bedrijf kan alleen besmet raken wanneer er blootstelling is aan een voldoende hoeveelheid virus van wilde vogels of ander besmet pluimvee om een koppelinfectie te bewerkstelligen.

Hoewel de individuele veehouder weinig kan doen aan risicofactoren die te maken hebben met de **aantrekkelijkheid van het omringende landschap** voor besmette wilde vogels, of weersomstandigheden, kan deze wel proberen om de directe omgeving van de stallen zo onaantrekkelijk mogelijk te maken voor wilde vogels en plaagdieren (zoals knaagdieren en insecten). Onaantrekkelijk is verharding (beton, grint etc.), in plaats van gras en begroeiing, een goede ondergrondse afwatering van hemelwater om regenplassen rondom te stalen tegen te gaan en geen (slecht afgedekte) mest- of strooiselopslag of voerresten bij de silo's.

Ook kan gedacht worden aan het **actief verjagen van wilde vogels** vlakbij de stallen. Er zijn bedrijven die bv. gebruik maken van een laser. Onderzoek van Elbers in 2021 (zie referenties) heeft laten zien dat dit effectief kan zijn om watervogels te weren uit een uitloop. Ook kan getracht worden zoveel mogelijk **wildevogelpoep** van het erf te **verwijderen**, maar dit moet wel op een manier gebeuren dat dit geen stof- of aerosolvorming geeft.

Daarnaast is het raadzaam om **harde wind en wervelingen van wind** rondom de stal te **beperken**. Aan de lokalisatie van gebouwen en silo's is meestal niet veel te doen, maar overwogen kan worden om de wind met strategisch geplaatste bomenrijen of schotten of schermen toch enigszins af te remmen.

Daarnaast is het verstandig om de **luchtinlaten af te schermen**, om materiaal van buiten de stal zoveel mogelijk tegen te houden. Niet alle virusdeeltjes zullen voor 100% tegen kunnen worden gehouden; hiervoor zou alle lucht via HEPA-filters moeten binnenkomen, wat niet haalbaar is voor een bedrijf. Maar het aanbrengen van een barrière bij de luchtinlaten kan in ieder geval de kans en/of de hoeveelheid virus dat de stal binnenkomt verlagen. Hoe kleiner de hoeveelheid virus die binnenkomt, hoe kleiner de kans dat het pluimvee in aanraking komt met voldoende infectieuze virusdeeltjes voor een besmetting. Wat er mogelijk is zal per bedrijf verschillen. Een goede klimaatexpert kan hierover adviseren. In ieder geval is een open nok af te raden en het is raadzaam om minimaal vogelgaas bij alle luchtinlaten en ventilatoren aan te brengen. Daarnaast worden kappen bovenop en smoor/vlinderkleppen en opvangschotels onder de nokventilatoren aanbevolen. Voor de zij-inlaten helpt het om windbreekschotten of windbreekkappen te hebben. Overwogen kan worden om windbreekgaas (ook wel doek of kleed genoemd), en eventueel een extra filtering bij warmtewisselaars of andere ventilatie-systemen, aan te laten brengen. Met windbreekgaas/doek kan in ieder geval het grovere dragermateriaal (stof, plantendelen, mest, veertjes en insecten of grotere druppels) worden tegengehouden. En afhankelijk van de maasgrootte en of het enkel of dubbellaags is aangebracht kan het ook de kans op besmetting en/of de dosis virusdeeltjes in aerosolen die de stal binnen kan komen verlagen (de Wit et al., 2018, 2022 & 2023 en nieuwsberichten¹). Inmiddels zijn enkele bedrijven al uitgerust met windbreekgaas, waardoor steeds meer ervaringen tussen veehouders kunnen worden uitgewisseld. Ook wordt door het klimaatplatform binnenkort een advies gegeven over het aanbrengen en schoonhouden van windbreekgaas.

Risicovolle werkzaamheden op eigen land en sloten kunnen vermeden worden of uitgevoerd worden op momenten dat dit minder grote risico's met zich mee brengt. Denk hierbij aan periodes waarin minder risicovogels in de buurt zijn of wanneer er weinig wind staat. Ook kunnen de luchtinlaten tijdelijk worden afgeschermd of afgesloten. Vermijd ook verkeer van trekkers en andere voertuigen vlakbij de stal, omdat dit mogelijk opspatten kan geven van besmet materiaal vanaf de wielen. Na het oogsten of baggeren of maaien van sloten en slootkanten is het raadzaam de resten zo snel mogelijk, zonder dat hierbij stof of aerosolen bij ontstaan, op te ruimen aangezien dit vogels en plaagdieren kan aantrekken. Voor de overige percelen en waterwegen rondom het bedrijf is het verstandig tijdig het gesprek aan te gaan met de betreffende eigenaren of gemeente/waterschappen die deze in beheer hebben. Wellicht lukt het om afspraken te maken over (het moment van) baggeren en landwerkzaamheden zodat tijdig maatregelen genomen kunnen worden. Probeer zelf ook al het **(indirecte) contact met omringend weiland en sloten te vermijden** door huisdieren, voertuigen en voetgangers die daar komen van het erf te weren.

Controleer de hele stal op alle **openingen van buiten naar binnen** en op mogelijkheden voor het naar binnen vallen of lekken van vogelpoep, of met vogelpoep besmet hemelwater, vanaf het dak (binnendruppelen, spetteren, condens) of door inregenen. Maak eventueel gebruik van stofjes die 'onzichtbare insleeproutes' zichtbaar kunnen maken, zoals (fluorescerende) kleurstoffen. **Vraag advies aan klimaat- en plaagdierenexperts en de bedrijfsdierenarts**. Samen met elkaar is het makkelijker om zwakke plekken op te sporen en oplossingen te vinden die passen bij het betreffende bedrijf.

¹<https://www.avined.nl/nieuws/windbreekgaas-veelbelovende-maatregel-om-het-risico-op-vogelgriepbesmettingen-via-de-lucht-te-verkleinen>

Referenties

- de Wit, J.J., de Rond, J. (2018). Aviaire Influenza en windbreekgaas. Royal GD, Deventer. Rapport voor het ministerie van LNV. Projectnummer 5080068, Royal GD, Deventer. December 2018.
- de Wit, J.J., Velkers F.C., Jorna, I. (2022). Het effect van windbreekgaas op de overdracht van aviaire influenzavirus in aerosolvorm naar kippen - Praktijkonderzoek 2021. Rapport voor Avined. Projectnummer 5080134. Royal GD, Deventer, 18-10-2022.
- de Wit, J.J., de Rond, J. (2023). Effectiviteit van vier verschillende interventies met windbreekgaas op de transmissie van aviaire influenzavirus in aerosolvorm door de luchtinlaat - Praktijkonderzoek 2022. Rapport voor Avined. Projectnummer 5080154. Royal GD, Deventer, 03-01-2023.
- Elbers, A.R.W., Germeraad, E.A., Gonzales, J.L., Hagenaars, T.J., de Vos, C.J. (2021). Omgevingstransmissie van aviaire influenza virus door de lucht via wilde watervogels naar commercieel gehouden pluimvee : met een focus op transmissie vanuit HPAIV-gecontamineerde uitwerpselen van wilde watervogels via de lucht of vanuit een aerosol geproduceerd door uitademen of proesten van HPAIV-besmette wilde watervogels. Wageningen Bioveterinary Research - Rapport 2128494. doi:10.18174/556247. <https://edepot.wur.nl/556247>
- Elbers A.R.W., Gonzales J.L. Efficacy of an automated laser for reducing wild bird visits to the free range area of a poultry farm (2021). Scientific Reports 11(1):12779. DOI: 10.1038/s41598-021-92267-z. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-92267-z>
- Elbers A.R.W. et al. (2021): <https://www.wur.nl/nl/onderzoek-resultaten/onderzoeksinstituten/bioveterinary-research/show-bvr/laser-weert-wilde-watervogels-uit-stalomgeving-van-pluimveebedrijf-in-strijd-tegen-vogelgriep.htm>
- Hobbelen, P.H.F., Elbers, A.R.W., Werkman, M., Koch, G., Velkers, F.C., Stegeman, J.A., & Hagenaars, T.J. (2020). Estimating the introduction time of highly pathogenic avian influenza into poultry flocks. Scientific reports 10(1), 12388. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68623-w>
- Velkers, F.C., Elbers, A.R.W., Bouwstra, R.J., Stegeman, J.A. 2015. H5N8 in Nederland in 2014: een nadere blik op de uitbraken. Rapport voor Ministerie van EZ (Utrecht, Universiteit Utrecht). Samenvatting verschenen via website Avined (weblink niet meer beschikbaar).
- Velkers, F.C., Manders, T.T.M., Elbers, A.R.W., Beerens, N., Stegeman, J.A. 2017. Vogelgriep in Nederland: Analyse H5N8 uitbraken in 2016. Rapport voor Ministerie van EZ (Utrecht, Universiteit Utrecht). Samenvatting bij het verslag van de deskundigengroep dierziekten van 31 oktober 2017: <https://deskundigengroepdierziekten.nl/files/view/36c626fc-4c2f-47f6-9553-82454c8824ec/1512631021samenvatting%20onderzoek%20universiteit%20utrecht%20besmette%20vogelgriep%20bedrijven.pdf>
- Velkers, F.C., Manders, T.T.M., Beerens, N., Elbers, A.R.W., Bouwstra, R.J., Stegeman, J.A. Analyse vogelgriepuitbraken met HPAI H5N6 in Nederland in 2017-2018 Rapport voor Ministerie van LNV (Utrecht, Universiteit Utrecht), november 2018. Vermelding uitkomsten in het verslag van de deskundigengroep dierziekten van 22 maart 2018: <https://deskundigengroepdierziekten.nl/files/view/c9c7b1e3-8573-4d03-aae7-e8d1ff7b54e6/1522153696definitief%20verslag%20deskundigengroep%20vogelgriep%2022%20maart%202018.pdf>
- Velkers, F.C. et al. samenvattingen en adviezen n.a.v. besmettingen 2020-2021: <https://www.avined.nl/nieuws/uitkomsten-onderzoek-naar-insleeprotes-getroffen-hpai-bedrijven-2020-2021> en <https://www.avined.nl/nieuws/kans-op-insleep-van-vogelgriep-verkleinen-tips-van-deskundigen>

Dankwoord

Veel dank gaat uit naar de pluimveehouders die hebben meegewerkt aan het onderzoek. Ook zijn wij erg dankbaar voor de hulp van diverse studenten en student-assistenten, waaronder Wendy Wolters en Thomas Spliethof en mensen in de verschillende laboratoria. Ten slotte danken wij de NVWA en het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit voor het mogelijk maken van dit onderzoek.

Bijlage A. Literatuur over transmissie via luchtinlaten

In deze bijlage zijn enkele rapporten en publicaties opgenomen waarin wordt gesproken over de mogelijke rol bij vogelgriepuitbraken van luchtinlaten of luchttransmissie. Dit is een selectie en geen compleet overzicht.

Rapporten

- Velkers, F.C., Elbers, A.R.W., Bouwstra, R.J., Stegeman, J.A. 2015. H5N8 in Nederland in 2014: een nadere blik op de uitbraken. Rapport voor Ministerie van EZ (Utrecht, Utrecht University). Samenvatting:
https://www.avined.nl/sites/www.avined.nl/files/imce/Bestanden/Contact/samenvattingairapp_20150426_velkers_akkoordez20150922.pdf
- Velkers, F.C., Manders, T.T.M., Elbers, A.R.W., Beerens, N., Stegeman, J.A. 2017. Vogelgriep in Nederland: Analyse H5N8 uitbraken in 2016. Rapport voor Ministerie van EZ (Utrecht, Utrecht University). Samenvatting:
<http://www.deskundigengroepdierziekten.nl/file/view/54976772/samenvatting-onderzoek-universiteit-utrecht-besmette-vogelgriep-bedrijvenpdf>
- Velkers, F.C., Manders, T.T.M., Beerens, N., Elbers, A.R.W., Bouwstra, R.J., Stegeman, J.A. Analyse vogelgriepuitbraken met HPAI H5N6 in Nederland in 2017-2018 Rapport voor Ministerie van LNV (Utrecht, Utrecht University), november 2018.
Informatie over de insleep via baggerslib uit dit rapport wordt tevens genoemd in: 'Verslag van de deskundigengroep dierziekten van 22 maart 2018'. Verslag te downloaden via
<https://www.tweedekamer.nl/downloads/document?id=0fba7154-0687-42f5-9fcb-8a8fd6eb9fb4&title=Verslag%20deskundigengroep%20dierziekten%2022%20maart%202018.pdf> of <http://www.deskundigengroepdierziekten.nl/> of
- Bokma, M., Bergevoet, R., Elbers, A., van der Goot, J., Neijenhuis, F., van Niekerk, T., Leenstra, F. (2016). Handelingsperspectief voor pluimveehouders in de preventie van laag- en hoogpathogene vogelgriep (AI). Wageningen Livestock Research, Rapport 998.
<https://doi.org/10.18174/401482>
- Elbers, A.R.W., Germeraad, E.A., Gonzales, J.L., Hagenaars, T.J., de Vos, C.J. (2021). Omgevingstransmissie van aviaire influenza virus door de lucht via wilde watervogels naar commercieel gehouden pluimvee : met een focus op transmissie vanuit HPAIV-gecontamineerde uitwerpselen van wilde watervogels via de lucht of vanuit een aerosol geproduceerd door uitademen of proesten van HPAIV-besmette wilde watervogels. Wageningen Bioveterinary Research - Rapport 2128494. doi: 10.18174/556247. <https://edepot.wur.nl/556247>
- USDA (United States Department of Agriculture), Animal and Plant Health Inspection Service– Veterinary Services (APHIS VS), 2015. Epidemiologic and Other Analyses of HPAI-Affected Poultry Flocks: July 15, 2015 report (Fort Collins, CO, USA). Te downloaden via:
https://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_dis_spec/poultry/downloads/Epidemiologic-Analysis-July-15-2015.pdf

Vliegen en veren

- Mul, M.F., Smallegange, R.C., Brooks, M. (2015). Preventieve maatregelen tegen huisvliegen in vleeskuikenstallen; voorkomen van introductie van *Campylobacter* door vliegen op vleeskuikenbedrijven. Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Livestock Research Rapport 836.
- Sawabe, K., Hoshino, K., Isawa, H., Sasaki, T., Hayashi, T., Tsuda, Y., Kurahashi, H., Tanabayashi, K., Hotta, A., Saito, T., Yamada, A., & Kobayashi, M. (2006). Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75(2), 327–332
- Sawabe K, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Kim KS, Hayashi T, Tsuda Y, Kurahashi H, Kobayashi M. Blow Flies Were One of the Possible Candidates for Transmission of Highly Pathogenic H5N1 Avian Influenza Virus during the 2004 Outbreaks in Japan. *Influenza Res Treat*. 2011;2011:652652. doi: 10.1155/2011/652652.
- Sawabe K, Tanabayashi K, Hotta A, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Yamada A, Kurahashi H, Shudo C, Kobayashi M. Survival of avian H5N1 influenza A viruses in *Calliphora nigribarbis* (Diptera: Calliphoridae). *J Med Entomol*. 2009 Jul;46(4):852-5. doi: 10.1603/033.046.0416.

- Scott AB, Toribio JLML, Singh M, Groves P, Barnes B, Glass K, Moloney B, Black A, Hernandez-Jover M. Low- and High-Pathogenic Avian Influenza H5 and H7 Spread Risk Assessment Within and Between Australian Commercial Chicken Farms. *Front Vet Sci.* 2018 Apr 9;5:63. doi: 10.3389/fvets.2018.00063.
- Tiwari A., Patnayak D.P., Chander Y, Parsad M., Goyal S.M. (2006). Survival of two avian respiratory viruses on porous and nonporous surfaces. *Avian Diseases* 50(2), 284-287.
- Wanaratana, S., Amonsin, A., Chaisingh, A., Panyim, S., Sasipreeyajan, J., & Pakpinyo, S. (2013). Experimental assessment of houseflies as vectors in avian influenza subtype H5N1 transmission in chickens. *Avian diseases*, 57(2), 266–272.
- Wanaratana S, Panyim S, Pakpinyo S. The potential of house flies to act as a vector of avian influenza subtype H5N1 under experimental conditions. *Med Vet Entomol.* 2011 Mar;25(1):58-63. doi: 10.1111/j.1365-2915.2010.00928.x. Epub 2010 Dec 1.
- Yamamoto, Y., Nakamura, K., Yamada, M., & Mase, M. (2010). Persistence of avian influenza virus (H5N1) in feathers detached from bodies of infected domestic ducks. *Applied and environmental microbiology*, 76(16), 5496–5499.

Insleep via ventilatie door middel van mest van het dak

- EFSA AHAW Panel (2017) (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), More et al. Avian influenza. *EFSA Journal* 15, e04991. doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4991

Studies naar rol van aerogene transmissie/ relaties met ventilatie

- Chaudhry, M. et al. (2015) 'A case-control study to identify risk factors associated with avian influenza subtype H9N2 on commercial poultry farms in Pakistan', *PLoS One*, 10(3).
- Filaire, F., Lebre, L., Foret-Lucas, C., Vergne, T., Daniel, P., Lelièvre, A., de Barros, A., Jbenyeni, A., Bolon, P., Paul, M., Croville, G., & Guérin, J.-L. (2022). Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N8) Clade 2.3.4.4b Virus in Dust Samples from Poultry Farms, France, 2021. *Emerging Infectious Diseases*, 28(7), 1446–1450. <https://doi.org/10.3201/eid2807.212247>
- Garber, L., Bjork, K., Patyk, K., Rawdon, T., Antognoli, M., Delgado, A., Ahola, S., & McCluskey, B. (2016). Factors Associated with Highly Pathogenic Avian Influenza H5N2 Infection on Table-Egg Layer Farms in the Midwestern United States, 2015. *Avian diseases*, 60(2), 460–466.
- Jonges, M., van Leuken, J., Wouters, I., Koch, G., Meijer, A., & Koopmans, M. (2015). Wind-mediated spread of low-pathogenic avian influenza virus into the environment during outbreaks at commercial poultry farms. *PLoS ONE*, 10(5). doi: 10.1371/journal.pone.0125401
- Leibler, J. H., Dalton, K., Pekosz, A., Gray, G. C., & Silbergeld, E. K. (2017). Epizootics in Industrial Livestock Production: Preventable Gaps in Biosecurity and Biocontainment. *Zoonoses and public health*, 64(2), 137–145.
- McQuiston, J. H. et al. (2005) 'Evaluation of risk factors for the spread of low pathogenicity H7N2 avian influenza virus among commercial poultry farms', *Journal of the American Veterinary Medical Association*. *Am Vet Med Assoc*, 226(5), pp. 767–772.
- Richard M, Fouchier RA. Influenza A virus transmission via respiratory aerosols or droplets as it relates to pandemic potential. *FEMS Microbiol Rev.* (2016) Jan;40(1):68-85.
- Scoizec, A., Niqueux, E., Thomas, R., Daniel, P., Schmitz, A., & Le Bouquin, S. (2018). Airborne Detection of H5N8 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Genome in Poultry Farms, France. *Frontiers in veterinary science*, 5, 15.
- Singh, M., Toribio, J. A., Scott, A. B., Groves, P., Barnes, B., Glass, K., Moloney, B., Black, A., & Hernandez-Jover, M. (2018). Assessing the probability of introduction and spread of avian influenza (AI) virus in commercial Australian poultry operations using an expert opinion elicitation. *PLoS one*, 13(3), e0193730.
- Spekreijse, D., Bouma, A., Koch, G., & Stegeman, A. (2013). Quantification of dust-borne transmission of highly pathogenic avian influenza virus between chickens. *Influenza and other respiratory viruses*, 7(2), 132–138.
- Ssematimba, A., Hagenaars, T. J., & de Jong, M. C. (2012). Modelling the wind-borne spread of highly pathogenic avian influenza virus between farms. *PLoS one*, 7(2), e31114.
- Tellier R. (2006). Review of aerosol transmission of influenza A virus. *Emerging infectious diseases*, 12(11), 1657–1662.
- Torremorell, M., Alonso, C., Davies, P. R., Raynor, P. C., Patnayak, D., Torchetti, M., & McCluskey, B. (2016). Investigation into the Airborne Dissemination of H5N2 Highly Pathogenic Avian

- Influenza Virus During the 2015 Spring Outbreaks in the Midwestern United States. *Avian diseases*, 60(3), 637–643.
- Wells, S. J., Kromm, M. M., VanBeusekom, E. T., Sorley, E. J., Sundaram, M. E., VanderWaal, K., Bowers, J., Papinaho, P. A., Osterholm, M. T., & Bender, J. (2017). Epidemiologic Investigation of Highly Pathogenic H5N2 Avian Influenza Among Upper Midwest U.S. Turkey Farms, 2015. *Avian diseases*, 61(2), 198–204.
- Ypma, R. J. F. et al. (2012) 'Genetic Data Provide Evidence for Wind-Mediated Transmission of Highly Pathogenic Avian Influenza', *The Journal of Infectious Diseases*, 207(5), 730–735. doi: 10.1093/infdis/jis757.
- Zhao, Y., Aarnink, A., De Jong, M., & Groot Koerkamp, P. (2014). Airborne Microorganisms From Livestock Production Systems and Their Relation to Dust. *Critical reviews in environmental science and technology*, 44(10), 1071–1128.
- Zhao, Y., Chai, L., Richardson, B., & Xin, H. (2018). Field evaluation of an electrostatic air filtration system for reducing incoming particulate matter of a hen house. *Transactions of the ASABE*, 61(1), 295-304.
- Zhao, Y., Richardson, B., Takle, E., Chai, L., Schmitt, D., & Xin, H. (2019). Airborne transmission may have played a role in the spread of 2015 highly pathogenic avian influenza outbreaks in the United States. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.