

ADVIES 04-2016

Onderwerp:

Controle van dourine bij paardachtigen

(SciCom 2015/14)

Wetenschappelijk advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 18 maart 2016

Sleutelwoorden:

Dourine, Paardachtigen, Paarden, Trypanosoma

Key terms:

Dourine, Equids, Horses, Trypanosoma

Inhoud

Samenvatting.....	3
Executive summary	5
Opinion 04-2016 of the Scientific Committee of the FASFC on the control of dourine in equids	5
1. Referentietermen.....	7
1.1. Vragen	7
1.2. Wettelijke bepalingen	7
1.3. Methodologie.....	7
2. Afkortingen.....	8
3. Inleiding	8
4. Risicobeoordeling.....	8
4.1. Huidige kennis met betrekking tot dourine bij paardachtigen	8
4.1.1. Gevarenidentificatie & gevarenkarakterisering	8
4.1.2. Schatting van het risico op insleep.....	10
4.1.3. Schatting van het blootstellingsrisico.....	11
4.1.4. Schatting van het risico van de gevolgen	11
4.1.5. Risico inschatting.....	11
4.2. Onzekerheden	11
4.3. Antwoord op de vragen geformuleerd in de referentietermen	11
4.3.1. Wat is een (bevestigd) geval van dourine?	11
4.3.2. Is dourine een zoönose?.....	12
4.3.3. Welke diagnostische procedure moet worden gebruikt om een geval van dourine te bevestigen?	12
4.3.4. Hoelang bedraagt, na blootstelling, de incubatietijd gedurende dewelke de diagnostische tests een vals negatief resultaat kunnen geven?	12
4.3.5. Wanneer kan worden aangenomen dat een paard verdacht of bevestigd besmet is met dourine?	12
4.3.6. Welke diagnostische procedure moet worden toegepast om de afwezigheid van de parasiet in sperma te bevestigen?	13
4.3.7. Kunnen andere weefsels dan sperma worden besmet?.....	13
4.3.8. Welke maatregelen worden aanbevolen om de verspreiding van de ziekte te beperken na de identificatie van een positief geval?.....	13
4.3.9. Moet euthanasie systematisch worden toegepast op besmette paarden?	13
4.3.10. Kan castratie worden beschouwd als een controlemaatregel?	14
4.3.11. Welke controlemaatregelen worden aanbevolen voor paarden die contact hebben gehad met een besmet dier of voor een verdacht besmet dier? Met welk soort contacten dient rekening te worden gehouden?	14
5. Conclusie	14
6. Aanbevelingen.....	15
Referenties	16
Leden van het Wetenschappelijk Comité.....	17
Belangenconflict.....	17
Dankbetuiging	17
Samenstelling van de werkgroep	18
Wettelijk kader	18
Disclaimer	18

Samenvatting

Achtergrond & Referentietermen

Dourine is een ernstige acute of chronische besmettelijke venerische parasitaire ziekte van paarden en andere paardachtigen. Het is een officieel aangifteplichtige ziekte waarvoor Europese wetgeving eisen stelt met betrekking tot het intracommunautaire handelsverkeer. De ziekte wordt geacht te zijn uitgeroeid in Europa, maar in 2011 en 2012 hebben zich een aantal uitbraken voorgedaan in Italië.

Dourine is een venerische ziekte van paardachtigen op de OIE-lijst, die wordt veroorzaakt door de 'zogenaamde' protozoaire weefselparasiet *Trypanosoma equiperdum*. In de wetenschappelijke literatuur bestaat controverse met betrekking tot de etiologie van dourine en de indeling van *T. equiperdum* vanwege de genetische overlapping die zich voordoet met *T. evansi* en *T. brucei brucei*. Het bestaan van *T. equiperdum* als afzonderlijke stam wordt in vraag gesteld aangezien de meeste geïsoleerde stammen moleculair lijken te clusteren met *T. evansi*. Moleculaire methoden zijn niet in staat om op consistente wijze een onderscheid te maken tussen *T. evansi* en *T. equiperdum* stammen.

Algemeen wordt aangenomen dat de overdracht van *T. equiperdum* optreedt tijdens de dek of door kunstmatige inseminatie met besmet sperma. *T. evansi* kan heel gemakkelijk worden overgedragen door haematofage insecten. Overdracht van infectie tussen dieren kan optreden langs venerische (*T. equiperdum*) of mechanische weg (*T. evansi*).

Om een nieuwe wetgeving met betrekking tot de controle van dourine bij paardachtigen voor te bereiden worden een aantal specifieke vragen gesteld aan het Wetenschappelijk Comité:

1. Wat is een (bevestigd) geval van dourine?
2. Is dourine een zoönose?
3. Welke diagnostische procedure moeten worden gebruikt om een geval van dourine te bevestigen?
4. Hoelang bedraagt, na blootstelling, de incubatietijd gedurende dewelke diagnostische tests een vals negatief resultaat kunnen geven?
5. Wanneer kan worden aangenomen dat een paard verdacht of bevestigd besmet is met dourine?
6. Welke diagnostische procedure moet worden toegepast om de afwezigheid van de parasiet in sperma te bevestigen?
7. Kunnen andere weefsels dan zaadcellen worden besmet?
8. Welke maatregelen worden aanbevolen om de verspreiding van de ziekte te beperken na de identificatie van een positief geval ?
9. Moet euthanasie systematisch worden toegepast op besmette paarden?
10. Kan castratie worden beschouwd als een controlemaatregel?
11. Welke controlemaatregelen worden aanbevolen voor paarden die contact hebben gehad met een besmet dier of voor een verdacht besmet dier? Met welke soort contacten dient rekening te worden gehouden?

Methodologie

Dit advies is gebaseerd op gegevens uit de wetenschappelijke literatuur en op expert opinie.

Antwoorden op de gestelde vragen

Het Wetenschappelijk Comité steunt de door de OIE aangenomen definitie van een (bevestigd) geval van dourine, maar is van mening dat het klinisch beeld dat overeenkomt met dourine zowel kan worden veroorzaakt door *T. equiperdum* als door *T. evansi*. Dit betekent dat de ziekte niet alleen een

venerisch overdraagbare ziekte is, maar dat het agens ook mechanisch kan worden overgedragen (door ongewervelde vectoren). De bevestiging van dourine moet worden gebaseerd op het klinisch beeld, het bestaan van epidemiologische risicofactoren en op een positieve laboratoriumtest zoals een serologische complementbindingsreactie (CFT-test), een indirecte fluorescentie test, een ELISA of een moleculaire test.

Een paard wordt verdacht van dourine als er epidemiologische risicofactoren van toepassing zijn, zoals 'afkomstig uit een endemisch besmet gebied' of indien pathognomonische symptomen voor dourine aanwezig zijn. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de opeenvolgende CFT tests moeten worden uitgevoerd met minimum 2 weken interval om een verdacht geval van dourine te bevestigen. Dourine is geen zoönose.

Volgens de OIE, is de incubatietijd van dourine zeer variabel en kan variëren van 1 week tot een paar maanden. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat tijdens de incubatietijd vals-negatieve resultaten van diagnostische tests kunnen voorkomen tot 4 weken na de infectie. Antilichamen zijn detecteerbaar binnen de 3 weken na infectie. De detectie van de parasiet en moleculaire testen kunnen veel langer negatief blijven. Dit is de reden waarom de antilichaamdetectie met de CFT-test of met gelijkaardige testen de voorkeur wegdragen voor screening doeleinden.

T. equiperdum is een weefselparasiet (sperma, eieren, foetus, melk, ...). Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om een moleculaire test te gebruiken om de aan- of afwezigheid van de parasiet in sperma na te gaan.

Conclusie

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat het risico van insleep van dourine in België zeer laag is, maar dat waakzaamheid zeker gerechtvaardigd is, gezien de globalisering van de handel in sperma en de intercontinentale verplaatsingen van paarden. Overdracht van infectie tussen dieren kan optreden langs venerische (*T. equiperdum*) en mechanische weg (*T. evansi*). De diagnose van dourine is een uitdaging en is gebaseerd op een combinatie van de aanwezigheid van klinische symptomen, de resultaten van serologische tests en de aanwezigheid van een epidemiologisch verband met de ziekte. Gezien België vrij is van dourine is het raadzaam om een bevestigd geval zo snel mogelijk te slachten of te euthanaseren om de verspreiding van de ziekte te beperken. Castratie is geen waardevolle alternatieve maatregel aangezien de infectie door steekvliegen kan worden overgedragen.

Executive summary

Opinion 04-2016 of the Scientific Committee of the FASFC on the control of dourine in equids

Background & Terms of reference

Dourine is a serious acute or chronic venereal infectious parasitic disease of horses and other equids. It is an officially notifiable disease for which European legislation establishes requirements with regard to intra-Community trade. The disease is considered to be eradicated in Europe, but in 2011 and 2012 several outbreaks occurred in Italy.

Dourine is an OIE listed venereal disease of equids caused by the 'so called' protozoan tissue parasite *Trypanosoma equiperdum*. In the scientific literature controversies exist regarding the etiology of dourine and the classification of *T. equiperdum* because of the overlap that occurs with *T. evansi* and *T. brucei brucei*. The existence of *T. equiperdum* as a separate strain is questioned as most of the isolated strains appear to cluster molecularly with *T. evansi*. Molecular methods do not enable consistent discrimination between *T. evansi* and *T. equiperdum* strains.

Generally it is believed that transmission of *T. equiperdum* occurs during mating or by artificial insemination with infected semen. *T. evansi* can be transmitted very easily by haematophagous insects. Transmission of infection between animals can occur via venereal (*T. equiperdum*) and mechanical way (*T. evansi*).

In order to prepare a new legislation in regard to the control of dourine in equids a number of specific questions are asked to the Scientific Committee:

1. What is a (confirmed) case of dourine?
2. Is dourine a zoonosis?
3. Which diagnostic procedure should be used to confirm a case of dourine?
4. After exposure, what is the incubation time during which diagnostic tests can give a false negative result?
5. When can be accepted that a horse is suspected or confirmed infected by dourine?
6. Which diagnostic procedure should be applied to confirm absence of the parasite in semen?
7. Can tissues other than sperm be infected?
8. Which measures are recommended to limit the spread of the disease after identification of a positive horse?
9. Should euthanasia be systematically applied to infected horses?
10. Should castration be considered as a control measure?
11. Which control measures are recommended for horses having had contact with an infected animal or an animal suspected to be infected? Which kind of contacts should be accounted for?

Methodology

This opinion is based on evidence from scientific literature and on expert opinion.

Answers to the questions

The Scientific Committee supports the definition adopted by OIE of a (confirmed) case of dourine but is of the opinion that the clinical picture corresponding to dourine can be caused by *T. equiperdum* as well as by *T. evansi*. This means that the disease is not only a venereal transmittable disease but that the agent can also be transmitted mechanically (by invertebrate vectors). The confirmation of dourine should be based on the clinical picture, the existence of epidemiological risk factors and a

positive laboratory test such as a serological complement fixation test (CFT), an indirect immunofluorescence test, an Elisa or a molecular test.

A horse is suspected to be infected by dourine if epidemiological risk factors apply such as 'originating from an endemically infected region' or if clinical symptoms, pathognomonic for dourine, are present. The Scientific Committee is of the opinion that consecutive complement fixation tests should be performed at minimum 2 weeks interval in order to confirm a suspicious case of dourine. Dourine is not a zoonosis.

According to OIE, the incubation period of dourine is very variable and may vary from 1 week to a few months. The Scientific Committee is of the opinion that during incubation time false negative diagnostic tests can occur up to 4 weeks after infection. Antibodies are expected to be detectable within 3 weeks after infection. Parasite detection and molecular tests may stay negative much longer. This is the reason why the antibody detection with CFT or similar is the test of choice for screening.

T. equiperdum is a widely distributed parasite in the infected organism (semen, eggs, foetus, milk, ...). The Scientific Committee recommends the use of a molecular test to investigate semen for presence or absence of the parasite.

Conclusion

The Scientific Committee is of the opinion that the risk of introduction of dourine in Belgium is very low but that vigilance is certainly warranted given the globalization of trade in semen and intercontinental travelling of horses. Transmission of infection between animals can occur via venereal (*T. equiperdum*) and mechanical way (*T. evansi*). The diagnosis of dourine is a challenge and is based on a combination of presence of clinical symptoms, results of serological tests and presence of an epidemiological link with the disease. Given the fact that Belgium is free from dourine it is recommended to slaughter or euthanize a confirmed case as soon as possible to limit the spread of the disease. Castration is not a valuable alternative measure as infection can be transmitted by horseflies.

1. Referentietermen

1.1. Vragen

Om een nieuwe wetgeving met betrekking tot de controle van dourine bij paardachtigen voor te bereiden worden een aantal specifieke vragen gesteld aan het Wetenschappelijk Comité. Met het oog op de duidelijkheid en de bevattelijkheid van dit advies werd de originele vragenlijst met het akkoord van de vraagsteller uitgebreid tot de volgende set vragen :

1. Wat is een (bevestigd) geval van dourine?
2. Is dourine een zoönose?
3. Welke diagnostische procedure moet worden gebruikt om een geval van dourine te bevestigen?
4. Hoelang bedraagt, na blootstelling, de incubatietijd gedurende dewelke diagnostische tests een vals negatief resultaat kunnen geven?
5. Wanneer kan worden aangenomen dat een paard verdacht of bevestigd besmet is met dourine?
6. Welke diagnostische procedure moet worden toegepast om de afwezigheid van de parasiet in sperma te bevestigen?
7. Kunnen andere weefsels dan sperma worden besmet?
8. Welke maatregelen worden aanbevolen om de verspreiding van de ziekte te beperken na de identificatie van een positief geval ?
9. Moet euthanasie systematisch worden toegepast op besmette paarden?
10. Kan castratie worden beschouwd als een controlemaatregel?
11. Welke controlemaatregelen worden aanbevolen voor paarden die contact hebben gehad met een besmet dier of voor een verdacht besmet dier? Met welke soort contacten dient rekening te worden gehouden?

1.2. Wettelijke bepalingen

Dourine is een aangifteplichtige ziekte bij paarden zoals bepaald wordt in:

- het koninklijk besluit van 3 februari 2014 tot aanwijzing van de dierenziekten die vallen onder de toepassing van hoofdstuk III van de diergezondheidswet van 24 maart 1987 en tot regeling van de aangifteplicht,
- Richtlijn 82/894/EEG van de Raad van 21 december 1982 inzake de melding van dierziekten in de Gemeenschap
- Richtlijn 90/426/EEG van de Raad van 26 juni 1990 tot vaststelling van veterinairerechtelijke voorschriften voor het verkeer van paardachtigen en de invoer van paardachtigen uit derde landen.

Het koninklijk besluit van 31 december 1921 houdende, wat betreft dourine, maatregelen betreffende de diergeneeskundige politie werd ingetrokken door het koninklijk besluit van 3 februari 2014 tot aanwijzing van de dierenziekten die vallen onder de toepassing van hoofdstuk III van de diergezondheidswet van 24 maart 1987 en tot regeling van de aangifteplicht.

1.3. Methodologie

Dit advies is gebaseerd op bewijskracht uit de wetenschappelijke literatuur en op expert opinie.

2. Afkortingen

- CATT: 'card agglutination test' voor Trypanosomiase
- CFSPH: 'Center for Food Security & Public Health (Iowa State University)'
- CFT: complement fixatie test
- DEFRA: 'Department for Environment, Food & Rural Affairs of the United Kingdom'
- ELISA: 'enzyme-linked immunosorbent assay'
- IFAT : 'indirect fluorescent antibody test'
- OIE: 'Office International des Epizooties' (Werelddierengezondheidsorganisatie)
- PCR: polymerase kettingreactie

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen van 22 oktober 2015 en gedurende de plenaire zitting van het Wetenschappelijk Comité van 18 maart 2016,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies:

3. Inleiding

Dourine is een aangifteplichtige ziekte voor dewelke de Europese wetgeving eisen vastlegt met betrekking tot de intra-communautaire handel. Dourine is een ziekte die ook wordt gereguleerd door de OIE. De ziekte is verondersteld te zijn uitgeroeid in Europa, maar in 2011 en 2012 waren er verschillende uitbraken in Italië (Pascucci et al, 2013).

De Belgische autoriteiten willen zich voorbereiden op mogelijke uitbraken van dourine en wensen de wetgeving die nodig is om deze uitbraken te bestrijden aan te passen. De vragen gericht aan het Wetenschappelijk Comité zijn erop gericht de risicomanager essentiële informatie te verschaffen om een nieuwe wetgeving voor te bereiden.

4. Risicobeoordeling

4.1. Huidige kennis met betrekking tot dourine bij paardachtigen

4.1.1. Gevarenidentificatie & gevarenkarakterisering

De ziekte

Trypanosomiase bij paarden kan worden veroorzaakt door verschillende soorten van *Trypanosoma*: *Trypanosoma equiperdum* (dourine), *Trypanosoma evansi* (surra), *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma brucei* en *Trypanosoma vivax* (nagana). De klinische symptomen die worden geassocieerd met deze parasieten zijn gelijkaardig.

Volgens het "Center for Food Security and Public Health" (Iowa State University, 2015) en de "Terrestrial Manual" (2013) van de OIE is dourine een ernstige acute of chronisch besmettelijke

venerische ziekte van paarden en andere paardachtigen. Dourine is een venerische ziekte van paardachtigen op de lijst van de OIE, die wordt veroorzaakt door de 'zogenaamde' protozoaire weefselparasiet *Trypanosoma equiperdum* (Doflein, 1901). In de wetenschappelijke literatuur bestaat controverse met betrekking tot de karakterisering van de Trypanosomastam die historisch gezien wordt geassocieerd met dourine.

De ziekte wordt gekenmerkt door een pathognomisch klinisch beeld dat bestaat uit genitaal oedeem met mucopurulente afscheidingen, huidverdikkingen, neurologische tekenen en progressieve verergering. Het verloop van de ziekte kan variëren met de stam. Bij sommige paarden is een relatief milde vorm van de ziekte jaren aanwezig met periodieke opflakkingen; bij andere paarden blijft een acute vorm slechts 1 tot 2 maanden aanwezig.

Voorkomen van de ziekte

Volgens de OIE (2015) komt dourine voor in het grootste deel van Azië, Noord-Afrika en Zuid-Afrika, delen van het Midden-Oosten, Zuid-Amerika, en Zuidoost-Europa. In 2011 en 2012 deden zich verschillende uitbraken voor in Italië (OIE). De uitbraak van dourine in Italië werd waarschijnlijk veroorzaakt door de illegale invoer van paarden voor de slacht waarvan sommige paarden uiteindelijk niet werden geslacht of de gelegenheid hadden om te dekken voor ze werden geslacht.

Sindsdien werd enkel een uitbraak in Botswana (2015-2016) gemeld door de OIE-WAHIS (geverifieerd op 16 februari 2016). België is officieel vrij van dourine volgens de regels van de OIE.

De parasiet

Trypanosomen zijn ééncellige parasieten die ziektes veroorzaken bij mensen en dieren. Trypanosomen omvatten een grote groep parasieten van gewervelde dieren die gewoonlijk worden overgedragen door haematofage geleedpotigen. *T. congolense*, *T. vivax*, *T. equiperdum*, *T. brucei* en *T. evansi* kunnen ziektes veroorzaken bij vee en behoren tot de groep van Salivaria. De laatste drie soorten behoren tot hetzelfde subgeslacht van Trypanosomen.

In de wetenschappelijke literatuur (Claes et al., 2005; Li et al., 2006, Shaw 2006, Claes et al., 2006) bestaat er controverse met betrekking tot de etiologie van dourine en de indeling van *T. equiperdum* vanwege de overlapping die zich voordoet met *T. evansi* en *T. brucei brucei*. Er wordt aangenomen dat *T. equiperdum*, *T. b. brucei* en *T. evansi* tot het subgeslacht *Trypanozoon* behoren, maar Claes et al. (2005) vestigden de aandacht op de moeilijkheden om het klinisch ziektebeeld van dourine te associëren met *T. equiperdum* die wordt verondersteld de ziekte te veroorzaken. Volgens Claes et al. (2005) is dourine een ziekte die wordt veroorzaakt door een specifieke immunorespons van de gastheer op infectie met *T. equiperdum* of *T. evansi*.

Moleculaire methoden zijn niet in staat om op consistente wijze een onderscheid te maken tussen stammen van *T. evansi* en *T. equiperdum* (Claes et al., 2005). Het mitochondriaal DNA van *T. equiperdum* bevat maxicirkels. Dit is niet het geval bij *T. evansi* (Li et al., 2007).

Het bestaan van *T. equiperdum* als afzonderlijke stam wordt in vraag gesteld, aangezien er officieel geen stam meer werd geïsoleerd sinds 1981 en de meeste van de voordien geïsoleerde stammen moleculair lijken te clusteren met *T. evansi* (Hagos et al., 2010). Weliswaar zijn er sinds 2010 nieuwe isolaties van *T. equiperdum*, zoals ze zijn bepaald a.d.h.v. moleculaire differentiatietechnieken, uitgevoerd in Ethiopië en Venezuela. De definitieve classificatie van dourine is in beraad (OIE, 2015).

Overdracht van de ziekte

Volgens de OIE (2013) is dourine (*T. equiperdum*) het enige type trypanosoma dat niet wordt overgedragen door een ongewervelde vector. Experimentele infecties geven echter aan dat mechanische overdracht door haematofage geleedpotigen niet kan worden uitgesloten als een mogelijke infectieweg (Van Den Bossche et al., 2004). Over het algemeen vindt de overdracht van *T. equiperdum* plaats tijdens het dekken (Stephen, 1986) of door kunstmatige inseminatie met geïnfecteerd sperma.

Volgens DEFRA (2011) komt overdracht van hengsten op merries meer voor, maar merries kunnen ook de ziekte overdragen op hengsten. *T. equiperdum* kan worden aangetroffen in de vaginale secreties van geïnfecteerde merries en in het zaadvocht, het mucus exsudaat uit de penis en in de schacht van hengsten. De parasiet lijkt periodiek te verdwijnen uit de geslachtsorganen en het dier is dan niet besmettelijk gedurende weken tot maanden. Overdracht vindt hoogstwaarschijnlijk vroeg tijdens het ziekteproces plaats. Ezelhengsten kunnen symptoomloze dragers zijn en niet-geslachtsrijpe dieren die geïnfecteerd worden, kunnen de ziekte doorgeven wanneer ze volwassen worden. Besmette merries geven de infectie zelden door aan hun veulens, mogelijk voor de geboorte of via het colostrum en de melk. Infecties kunnen ook plaatsvinden via de slijmvliezen, zoals de conjunctiva. Veulens kunnen de ziekte overdragen wanneer ze geslachtsrijp zijn.

T. evansi kan zeer gemakkelijk worden overgedragen door haematofage insecten.

Diagnose

Dourine wordt gewoonlijk diagnosticeerd door klinisch onderzoek en serologie. Een definitieve diagnose hangt af van de identificatie van de parasiet hetgeen niet altijd mogelijk is. De voorgeschreven test voor internationale handel is de complementbindingsreactie (CFT-test). Deze test maakt geen duidelijk onderscheid tussen *T. equiperdum* en andere Trypanosoma zoals *T. brucei brucei* en *T. evansi* (Robinson, 1926), aangezien er zich kruisreacties kunnen voordoen (OIE, 2013). Niet-geïnfecteerde paardachtigen geven vaak inconsistente of niet-specifieke reacties (OIE, 2013). In het geval van anticomplementaire sera kan de indirecte fluorescente antilichaamtest worden gebruikt (OIE, 2013). Andere tests werden gebruikt zoals de enzymgekoppelde immuunadsorbent-tests (ELISA's), agargel-immunodiffusietest (AGID), radio-immunoassay, en de tegenstroom immunoelectroforesetest. Cauchard et al. (2014) organiseerden ringtesten om de serologische methoden voor de diagnose van dourine te beoordelen. Hun studie bevestigde de betrouwbaarheid van de complementbindingsreactie (CFT) en benadrukte de reproduceerbaarheid tussen laboratoria voor gekende positieve en negatieve sera van *T. equiperdum*. De reproduceerbaarheid was echter minder goed voor sera die positief waren voor *T. evansi* of een onbekende status hadden.

4.1.2. Schatting van het risico op insleep

Paarden en paardensperma ingevoerd vanuit gebieden die endemisch besmet zijn met dourine, zouden geïnfecteerd kunnen zijn met pathogene agentia die verantwoordelijk zijn voor dourine.

De invoer van sperma, vooral van hengsten die afkomstig zijn van gebieden die endemisch besmet zijn met dourine, vormt een risico op insleep van dourine.

Paarden die tijdelijk worden ingevoerd voor competitie en niet voor de fokkerij vormen een minimaal risico op insleep van dourine zo lang mechanische overdracht kan worden voorkomen.

4.1.3. Schatting van het blootstellingsrisico

Dourine wordt vooral verspreid door venerisch contact, hoewel mechanische overdracht niet kan worden uitgesloten. *T. equiperdum* wordt overgedragen langs venerische weg. *Trypanosoma evansi* wordt mechanisch overgedragen door steekvliegen. Er zijn ook gevallen bekend van overdracht van *T. equiperdum* op veulens tijdens de geboorte en via de moedermelk (Brun et al., 1998). Paarden die zijn ingevoerd voor de fokkerij vormen een risico. In België worden echter weinig paarden gefokt via natuurlijke dekking. Bij de meeste (sport)paarden gebeurt de voortplanting door middel van kunstmatige inseminatie.

4.1.4. Schatting van het risico van de gevolgen

De insleep van dourine kan ernstige gevolgen hebben, vooral voor dieren die contact gehad hebben met het indexgeval of er een epidemiologische link mee hebben. Aangezien er geen effectieve behandeling is voor geïnfecteerde paarden zijn quarantaine van verdachte dieren en de vroege opruiming maatregelen die gewoonlijk worden toegepast door de autoriteiten. Aangezien dourine enkel paarden treft, zijn de gevolgen beperkt tot de paardensector.

4.1.5. Risico inschatting

Het binnenbrengen van geïnfecteerde paarden of sperma vanuit endemische gebieden zou kunnen leiden tot de insleep en de verspreiding van dourine.

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de waarschijnlijkheid van de insleep en de verspreiding van dourine in België zeer klein is omwille van:

- de verplichte serologische testen (CFT) van paarden voor de invoer in België vanuit endemisch besmette landen,
- het gebrek aan contact tussen competitiepaarden die een risico op dourine lopen,
- het feit dat de meeste (sport)paarden worden gefokt d.m.v. kunstmatige inseminatie.

4.2. **Onzekerheden**

De voornaamste onzekerheden in dit dossier hebben te maken met de controverse in de wetenschappelijke literatuur betreffende de identificatie/karakterisering van de ziekteverwekker van dourine (*T. equiperdum* versus *T. evansi*) en de geringe specificiteit van serologische testen (kruisreacties met andere *Trypanosoma*).

4.3. **Antwoord op de vragen geformuleerd in de referentietermen**

4.3.1. Wat is een (bevestigd) geval van dourine?

Volgens de OIE (2013) wordt een bevestigd geval van dourine gedefinieerd als een dier dat een positief resultaat heeft op CFT, IFAT of PCR **en** (i) klinische tekenen vertoont die compatibel zijn met dourine **of** (ii) een toename in de serologische CFT-titer vertoont in twee opéénvolgende testen **of** (iii) epidemiologisch gelinkt is met een bevestigd geval van dourine.

Het Wetenschappelijk Comité ondersteunt de definitie die wordt aangenomen door de OIE van een (bevestigd) geval van dourine, maar is van mening dat het klinisch beeld dat overeenstemt met dourine kan worden veroorzaakt door zowel *T. equiperdum* als door *T. evansi*. Dit betekent dat de ziekte niet enkel een venerisch overdraagbare ziekte is, maar dat het agens ook mechanisch kan worden overgedragen (door ongewervelde vectoren).

4.3.2. Is dourine een zoönose?

Er zijn geen gevallen bij mensen bekend (OIE, 2013). Er is geen bewijs dat *T. equiperdum* mensen kan besmetten (CFSPH, 2015). Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat dourine geen zoönose is.

4.3.3. Welke diagnostische procedure moet worden gebruikt om een geval van dourine te bevestigen?

De bevestiging van dourine zou gebaseerd moeten worden op het klinisch beeld, het bestaan van epidemiologische risicofactoren en een positieve laboratoriumtest zoals:

- een serologische complementbindingstest (CFT),
- een serologische indirecte immunofluorescentietest (IFAT),
- een serologische ELISA-test,
- een moleculaire test.

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat opeenvolgende CFT-testen zouden moeten worden uitgevoerd met een interval van minstens 2 weken om een verdacht geval van dourine te bevestigen. Het is bekend dat een negatieve PCR-test geen uitsluitsels geeft aangezien de PCR-test niet 100% gevoelig is.

Er wordt voorgesteld om in de wetgeving de term 'moleculaire test' te gebruiken in plaats van 'PCR-test'.

4.3.4. Hoelang bedraagt, na blootstelling, de incubatietijd gedurende dewelke de diagnostische tests een vals negatief resultaat kunnen geven?

Volgens de OIE is de incubatieperiode van dourine zeer variabel en kan die variëren van 1 week tot een paar maanden. In de "Terrestrial Animal Health Code" van de OIE is de incubatieperiode voor dourine op 6 maanden vastgelegd.

Bij experimentele infecties van paarden werden antilichamen tegen *T. evansi* na 32 dagen opgespoord door middel van CATT. CATT werd ontwikkeld voor *T. evansi*, maar er kunnen zich zwakke kruisreacties voordoen met *T. equiperdum* (Hagos et al., 2010).

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat tijdens de incubatieperiode diagnostische testen tot 4 weken na de infectie vals-negatieve resultaten kunnen geven. Antilichamen zijn binnen de 3 weken na infectie detecteerbaar (zie ook sectie 4.3.8.). De detectie van de parasiet en moleculaire testen kunnen veel langer negatief blijven. Dit is de reden waarom antilichaamdetectie met de CFT-test of met gelijkaardige testen de voorkeur wegdragen voor screeningdoeleinden.

4.3.5. Wanneer kan worden aangenomen dat een paard verdacht of bevestigd besmet is met dourine?

Volgens het Wetenschappelijk Comité is een paard verdacht besmet met dourine als er epidemiologische risicofactoren van toepassing zijn, zoals 'afkomstig uit een endemisch geïnfecteerd gebied' of als klinische pathognomische symptomen van dourine aanwezig zijn.

Een paard is bevestigd besmet met dourine indien er is voldaan aan de diagnostische voorwaarden van de OIE (cfr. 4.3.1.).

4.3.6. Welke diagnostische procedure moet worden toegepast om de afwezigheid van de parasiet in sperma te bevestigen?

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om een moleculaire test te gebruiken om sperma te onderzoeken op de aan-of afwezigheid van de parasiet. In geval van een negatieve moleculaire test op sperma en een negatieve serologische CFT-test kan worden besloten dat de parasiet afwezig is in sperma.

In geval de hengst overleden is, kan enkel een moleculaire test worden uitgevoerd op ingevroren sperma. In geval van een negatief resultaat kan niet worden gegarandeerd dat het sperma vrij van parasieten is. In geval van een positief resultaat beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om de stock van ingevroren sperma te vernietigen.

Er kan niet worden gegarandeerd dat sperma van een CFT-positieve hengst niet besmet is.

4.3.7. Kunnen andere weefsels dan sperma worden besmet?

T. equiperdum is een weefselparasiet. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat alle weefsels van dieren besmettelijk kunnen zijn (eieren, foetus, melk, ...).

4.3.8. Welke maatregelen worden aanbevolen om de verspreiding van de ziekte te beperken na de identificatie van een positief geval?

T. equiperdum wordt overgedragen via venerische weg. *T. evansi* wordt mechanisch overgedragen door steekvliegen. Volgens het Wetenschappelijk Comité blijkt uit grondige studie van de beschikbare wetenschappelijke literatuur en expert opinie dat zowel *T. equiperdum* als *T. evansi* dourine kunnen veroorzaken.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om een bevestigd geval van dourine zo snel als mogelijk te euthanaseren. Latent besmette dieren (zonder klinische symptomen) mogen ook worden geslacht, op voorwaarde dat garanties worden gegeven dat de slacht snel na de diagnose wordt uitgevoerd en dat het risico op overdracht van de besmetting via geledpotigen tijdens de tussenperiode en het vervoer naar het slachthuis volledig onder controle is.

Dieren die in contact zijn gekomen met een bevestigd geval van dourine worden beschouwd als verdachte gevallen van dourine omwille van het bestaan van een epidemiologische link. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de volgende maatregelen te nemen met betrekking tot verdachte gevallen:

- het dier twee keer serologisch testen met een interval van 25 dagen (CFT-test),
- het dier in quarantaine plaatsen totdat het resultaat van de 2^{de} CFT-test gekend is (een interval van minimum 25 dagen) en er geen nieuwe gevallen van dourine opduiken in het beslag.

4.3.9. Moet euthanasie systematisch worden toegepast op besmette paarden?

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om systematisch euthanasie of slachting toe te passen onder de voorwaarden die worden aangehaald in hoofdstuk 4.3.8.

4.3.10. Kan castratie worden beschouwd als een controlemaatregel?

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat castratie geen waardevolle alternatieve maatregel is aangezien de besmetting kan worden overgedragen door steekvliegen in het geval van *T. evansi*.

4.3.11. Welke controlemaatregelen worden aanbevolen voor paarden die contact hebben gehad met een besmet dier of voor een verdacht besmet dier? Met welk soort contacten dient rekening te worden gehouden?

Overdracht van infectie tussen dieren kan gebeuren via venerische (*T. equiperdum*) en mechanische weg (*T. evansi*).

In geval een dier in contact komt met een bevestigd geval van dourine beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om de volgende maatregelen toe te passen:

- twee reeksen serologische CFT-testen uit te voeren met 25 dagen interval,
- het dier in quarantaine te plaatsen gedurende minstens 25 dagen of totdat het resultaat van de 2de CFT-test gekend is en er geen andere klinische gevallen van dourine opduiken in het beslag.

In het geval dieren verdacht besmet zijn omwille van een epidemiologische link met een bevestigd geval verwijst het Wetenschappelijk Comité naar de maatregelen beschreven onder punt 4.3.3.

In geval een dier in contact komt met een verdacht geval van dourine, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om het dier in quarantaine te plaatsen terwijl de resultaten worden afgewacht van twee gepaarde serologische CFT-testen met 25 dagen interval.

Indien een dier een verdacht geval van dourine is, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om de resultaten van de tweede test af te wachten.

In de literatuur (Hagos et al., 2010) wordt dexamethasone gebruikt om immunosuppressie te induceren bij experimenteel geïnfecteerde paarden die een chronische (niet-parasitaire) vorm van dourine hebben ontwikkeld. Parasitemie werd binnen de 7 dagen geïnduceerd na 5 dagen behandeling wat het potentieel aantoont om de slagingspercentages van parasietenisolatie van *T. equiperdum* uit chronische dourinegevallen te doen toenemen of om de aanwezigheid van parasieten in seropositieve, maar schijnbaar niet-parasitaire gevallen van dourine te bevestigen.

5. Conclusie

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat het risico op insleep van dourine in België zeer laag is, maar dat waakzaamheid zeker gerechtvaardigd is, gezien de globalisering van de handel in paardensperma en het intercontinentale verkeer van paarden. De diagnose van dourine is een uitdaging en is gebaseerd op een combinatie van de aanwezigheid van klinische symptomen, resultaten van serologische testen en de aanwezigheid van een epidemiologische link met de ziekte. Aangezien België vrij is van dourine wordt aanbevolen om een bevestigd geval zo snel mogelijk te slachten of te euthanaseren om de verspreiding van de ziekte te beperken. Castratie is geen waardevol alternatief, aangezien infectie kan worden overgedragen door steekvliegen.

6. Aanbevelingen

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om een geschikte wetgeving op te stellen om over de noodzakelijke tools te beschikken in geval van insleep van dourine op het grondgebied.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get.)
Brussel, 17/06/2016

Referenties

AHT / BEVA / DEFRA Equine Quarterly Disease Surveillance Report 2011, Volume 6, Volume 7, 2. Dourine – An emerging venereal threat to European horses.

Brun R., Hermann H., Zhao-Rong L., 1998. *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). *Vet. Parasitol.* 79, 95-107.

Cauchard J., Soldan A., Madeline A., Johnson P., Büscher P., Petry S. 2014. Inter-laboratory ring trials to evaluate serological methods for dourine diagnosis. *Veterinary Parasitology* 205, 70-76.

Center for Food Security & Public Health (CFSPH) – Iowa State University, 2015. Dourine

Claes F., Büscher P., Touratier L., Goddeeris B., 2005. *Trypanosoma equiperdum*: master of disguise or historical mistake? *Trends in Parasitology*, 21, 7, 316-320.

Claes F., Dujardin J.C., Touratier L., Büscher P., Goddeeris B., 2006. Response to Li et al. and Shaw: return of the ring – opportunities to challenge a hypothesis. *Trends in Parasitology*, 22, 2, 58-59.

Hagos A., Goddeeris B., Yilkal K., Alemu T., Fikru R., Yacob H., Feseha G., Claes F., 2010. Efficacy of Cymelarsan and Diminisan against *Trypanosoma equiperdum* infections in mice and horses. *Veterinary Pathology* 171, 200-206.

Li F., Lai D., Lukes J., Chen X, Lun Z., 2006. Doubts about *Trypanosoma equiperdum* strains classed as *Trypanosoma brucei* or *Trypanosoma evansi*. *Trends in Parasitology*, 22, 2, 55-56.

OIE, 2013. Terrestrial Manual. Chapter 2.5.3. Dourine.

OIE, 20/07/2015. Terrestrial Animal Health Code. Chapter 12.3. Dourine.

Pascucci I., Di Provido A., Camma C., Di Francesco G., Calistri P., Tittarelli M., Ferri N., Scacchia M., Caporale V., 2013. Diagnosis of dourine outbreaks in Italy. *Vet Parasitol*, 193, 124-133.

Voorstelling van het Wetenschappelijk Comité van het FAVV

Het Wetenschappelijk Comité is een adviesorgaan van het Belgisch Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) dat **onafhankelijk wetenschappelijk advies** verschaft met betrekking tot risicobeoordeling en risicobeheer in de voedselketen en dit op vraag van de gedelegeerd bestuurder van het FAVV, de Minister die bevoegd is voor de voedselveiligheid of op eigen initiatief. Het Wetenschappelijk Comité wordt administratief en wetenschappelijk ondersteund door de Stafdirectie voor Risicobeoordeling van het Agentschap.

Het Wetenschappelijk Comité bestaat uit 22 leden die benoemd zijn bij koninklijk besluit op basis van hun wetenschappelijke expertise in domeinen die te maken hebben met de veiligheid van de voedselketen. Het Wetenschappelijk Comité kan bij de voorbereiding van een advies beroep doen op externe deskundigen die geen lid zijn van het Wetenschappelijk Comité. Net als de leden van het Wetenschappelijk Comité dienen zij in staat te zijn om onafhankelijk en onpartijdig te kunnen werken. Om de onafhankelijkheid van de adviezen te waarborgen worden potentiële belangenconflicten transparant beheerd.

De adviezen zijn gebaseerd op een wetenschappelijke beoordeling van de vraagstelling. Zij vertolken het standpunt van het Wetenschappelijk Comité dat in consensus is genomen op basis van risicobeoordeling en de bestaande kennis over het onderwerp.

De adviezen van het Wetenschappelijk Comité kunnen **aanbevelingen** bevatten voor het controlebeleid van de voedselketen of voor de belanghebbende partijen. De opvolging van de aanbevelingen voor het beleid behoort tot de verantwoordelijkheid van de risicomangers.

Vragen over een advies kunnen gericht worden aan het secretariaat van het Wetenschappelijk Comité: Secretariaat.SciCom@favv.be.

Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

D. Berkvens, A. Clinquart, G. Daube, P. Delahaut, B. De Meulenaer, S. De Saeger, L. De Zutter, J. Dewulf, P. Gustin, L. Herman, P. Hoet, H. Imberechts, A. Legrève, C. Matthys, C. Saegerman, M.-L. Scippo, M. Sindic, N. Speybroeck, W. Steurbaut, E. Thiry, M. Uyttendaele, T. van den Berg

Belangenconflict

Wegens een mogelijk belangenconflict namen T. van den Berg (CODA-CERVA), P. Büscher (ITG) en D. Fretin (CODA-CERVA), die betrokken zijn bij de activiteiten van het dourine referentielabo, deel als 'gehoorde experts' aan de werkgroep.

T. van den Berg, lid van het SciCom, nam niet deel aan de beraadslagingen over het advies gedurende de plenaire zitting van het Wetenschappelijk Comité.

Dankbetuiging

Het Wetenschappelijk Comité dankt de Stafdirectie voor Risicobeoordeling en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerpadvies.

Samenstelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

Leden van het Wetenschappelijk Comité:	D. Berkvens (verslaggever)
Externe experts:	B. Goddeeris (KU Leuven en UGent), J. Govaere (UGent), F. Claes (FAO)
Gehoorde experts:	T. van den Berg (CODA-CERVA), P. Büscher (ITG), D. Fretin (CODA-CERVA)
Dossierbeheerder:	X. Van Huffel (FAVV)

De activiteiten van de werkgroep werden opgevolgd door volgende leden van de administratie (als waarnemers): C. Rettigner (FAVV) en D. Tamignaux (FOD VGVVL).

Wettelijk kader

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 9 juni 2011.

Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.