

ADVIES 05-2016

Betreft:

**Heropkomen van runderbrucellose in België
tussen 2010 en 2013**

(SciCom N° 2011/10 - eigen initiatief)

Wetenschappelijk advies goedgekeurd door het wetenschappelijk Comité op 22 april 2016

Sleutelwoorden: Runderbrucellose – abortus – diagnose – bewaking -
wetgeving

Key terms: Bovine brucellosis – abortion – diagnosis – surveillance - legislation

Inhoud

Samenvatting	3
Summary	4
1. Referentietermen	5
1.1. Context van het eigen initiatief advies	5
1.2. Vragen.....	5
2. Inleiding	5
2.1. Runderbrucellose.....	6
2.2. Beschrijving van de Belgische uitbraken van runderbrucellose tussen 2010 en 2013 (bron : FAVV).....	6
2.3. Definities.....	6
3. Advies	6
3.1. Oorsprong van de nieuwe haarden van runderbrucellose in België tussen 2010 en 2013	7
3.1.1. Mogelijke oorzaken van heropkomen van runderbrucellose in een vrij gebied	7
3.1.2. Oorsprong van de nieuwe uitbraken met Brucella abortus biovar 3 in 2010, 2012 en 2013... ..	8
3.1.3. Oorsprong van de uitbraak met Brucella suis biovar 2.....	10
3.2. Evaluatie van de huidige preventie- en bestrijdingsmaatregelen en van het bewakingsprogramma voor runderbrucellose in België.....	11
3.2.1. Preventiemaatregelen	11
3.2.2. Bestrijdingsmaatregelen.....	11
3.2.3. Bewaking	12
3.3. Evaluatie van de diagnostische testen die momenteel gebruikt worden.....	13
3.3.1. Stand van zaken.....	13
3.3.2. Aanbevelingen.....	14
3.4. Evaluatie van de opvolging van verwerpingen in het kader van het abortusprotocol	15
3.4.1. Analyses in het kader van het « abortus protocol ».....	15
3.4.2. Percentage van aangiften van verwerpingen in België	16
3.4.3. Opsporing van de verwerpingen	17
3.5. Evaluatie van de nationale wetgeving alsook de mate van integratie ervan met de Europese wetgeving.....	17
4. Conclusie.....	18
Referenties	21
Leden van het Wetenschappelijk Comité	24
Belangenconflict.....	24
Dankbetuiging.....	24
Samenstelling van de werkgroep	24
Wettelijk kader.....	25
Disclaimer.....	25
Bijlage 1: Etiologische agentia, pathogenese en klinische tekenen van runderbrucellose.....	26
Bijlage 2: Verbanden tussen de verschillende haarden van Brucella abortus, alsook de enige haard van Brucella suis	29
Bijlage 3: Samenvatting van de uitbraken van brucellose in België tussen 2010 en 2013 (bron : FAVV)	30
Bijlage 4: Definities.....	32
Bijlage 5: Stand van zaken i.v.m. de bewaking van brucellose bij gedomesticeerde runderen en in het wild levende fauna tussen 2001 en 2013 in België.....	33
Bijlage 6: Percentage van aangiften van verwerpingen in België	36
Bijlage 7: Beschrijving van de drachtonderbrekingen.....	37

Samenvatting

Na een lange periode zonder haarden van runderbrucellose tijdens dewelke België officieel vrij verklaard werd van runderbrucellose (Beschikking 2003/467/EG), werden enkele nieuwe haarden vastgesteld tussen 2010 en 2013. Deze waren te wijten aan *Brucella abortus* biovar 3 en één aan *Brucella suis* biovar 2.

Het Wetenschappelijk Comité heeft de volgende aspecten betreffende runderbrucellose in België bestudeerd : de oorsprong van deze nieuwe haarden, de doeltreffendheid van het bewakingsprogramma, de diagnosemethoden, de preventie- en bestrijdingsmaatregelen, de melding van verwerpingen en de wetgeving.

De epidemiologische enquêtes die werden uitgevoerd naar aanleiding van deze haarden hebben toegelaten een aantal hypothesen te analyseren over de oorsprong van de uitbraken van *Brucella abortus* biovar 3. Het is evenwel niet mogelijk gebleken een definitieve oorzaak van deze haarden te identificeren. Er werd vastgesteld dat alle *Brucella abortus* uitbraken tussen 2010 en 2013 hetzelfde moleculair profiel van *Brucella abortus* biovar 3 vertoonden. Het gaat eveneens over hetzelfde moleculaire profiel als de stammen die in de jaren 1980-1990 in België circuleerden. De infectie van een rund door *Brucella suis* biovar 2 kon in verband gebracht worden met een contact met ingewanden van everzwijnen. De epidemiologische enquêtes hebben toegelaten een aantal aanbevelingen te formuleren.

Wat de preventie betreft, benadrukt het Wetenschappelijk Comité het belang van het toepassen van strikte quarantaine- en bioveiligheidsmaatregelen bij introductie van nieuwe runderen in een beslag, inclusief isolatie van de dieren in afwachting van de definitieve resultaten van de aankooponderzoeken.

Wat de bewaking en de diagnose van runderbrucellose betreft, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om door een modelstudie de toegevoegde waarde en de modaliteiten van het toepassen van ELISA tests op tankmelk te evalueren. Indien deze studie overtuigend is, beveelt het Comité aan om de ELISA op tankmelk te herintroduceren als vroegtijdig opsporingsmiddel van mogelijke nieuwe gevallen van brucellose.

De primaire haarden van runderbrucellose werden opgespoord dankzij de analyses die voorzien zijn in het abortusprotocol. Dit toont de doeltreffendheid en het belang ervan aan. Hoewel de percentages aangiftes van en analyses op verwerpingen de laatste jaren verbeterd zijn, kunnen ze nog verhoogd worden. Pistes om de aantrekkelijkheid van het abortusprotocol en het aangiftepercentage van verwerpingen te verhogen, worden geformuleerd. Er wordt tevens aangeraden om de bedrijven die geen verwerpingen aangeven actief te identificeren en op te volgen. Het Wetenschappelijk Comité vestigt de aandacht op het feit dat vruchtbaarheidsproblemen zoals bijvoorbeeld vroegtijdige terugkerende tochtigheid, laag drachtpercentage, lange tussenkalftijd, onvruchtbaarheid bij stieren, aanwijzingen van brucellose kunnen zijn.

Een herziening van de Belgische brucellose wetgeving is aangewezen teneinde de nieuwe elementen hierin op te nemen betreffende hoofdzakelijk diagnosemogelijkheden, andere gevoelige diersoorten, definitie van verwerping met inbegrip van levend geboren kalveren die 48 uur na de geboorte sterven, epidemiologisch onderzoek, bioveiligheid.

Summary

Advice 05-2016 of the Scientific Committee of the FASFC on the re-emergence of bovine brucellosis in Belgium

After a long period without outbreak of brucellosis, during which Belgium was declared officially free of bovine brucellosis (Decision 2003/467/EC), some new outbreaks of bovine brucellosis due to *Brucella abortus* biovar 3, and an outbreak due to *Brucella suis* biovar 2, were identified between 2010 and 2013.

The Scientific Committee has evaluated the following aspects related to bovine brucellosis in Belgium: the origin of these new outbreaks, the effectiveness of the surveillance program, the methods of diagnosis, the prevention and control measures, the declaration of abortions and the legislation.

The epidemiological surveys conducted following these outbreaks allowed to analyse some assumptions concerning the origin of the *Brucella abortus* biovar 3 outbreaks. Nevertheless, it was not possible to definitely identify the origin of these outbreaks. It was established that all the outbreaks of *Brucella abortus* between 2010 and 2013 had the same molecular profile of *Brucella abortus* biovar 3. This molecular profile was also the same as the profile of the strains circulating in Belgium in 1980-1990. Infection of cattle with *Brucella suis* biovar 2 could be linked to a contact with intestines of wild boar. Epidemiological investigations have issued several recommendations.

Regarding prevention, the Scientific Committee stresses the importance of the application of strict quarantine and biosecurity measures by the introduction of new cattle in a farm, including the isolation of animals until the reception of the final results of the tests at purchase.

Regarding the surveillance and the diagnosis of bovine brucellosis, the Scientific Committee recommends to evaluate the added value and the modalities of an ELISA test on tank milk by a modeling study. If this study successful, the Committee recommends to consider the possibility to reintroduce the ELISA on tank milk as early detection test of possible new cases of brucellosis.

The primary outbreaks of bovine brucellosis were detected thanks to the analyses foreseen in the abortion protocol. This demonstrates the effectiveness and added value of this abortion protocol. Although the number of reporting and analysis of abortions have improved the last years, there is still room for improvement. Ways to increase the attractiveness of the abortion protocol and the reporting of abortions are proposed. It is recommended to actively identify the farms that do not report abortions to sensitize and survey them. The Scientific Committee draws attention to the fact that fertility problems, such as heat returns, low gestation indices, elongated intervals between calvings, infertility of bulls, may be signs of brucellosis.

An updating of the Belgian legislation in regard to brucellosis is recommended to include new elements dealing essentially with: the diagnosis possibilities, the other susceptible species, a definition of abortion including calves born alive but succumbing within 48 hours after birth, the epidemiological investigations, the biosecurity.

1. Referentietermen

1.1. Context van het eigen initiatief advies

Runderbrucellose kwam jarenlang endemisch voor in België. Sinds 1995 is de prevalentie van runderbrucellose sterk gedaald. De laatste gevallen werden in 1999 (biovar 3) en in 2000 (biovar 1) vastgesteld. België is sinds 2003 officieel vrij van runderbrucellose (Beschikking 2003/467/EG). In 2010 werd een versoepeling van het bewakingsprogramma voor brucellose doorgevoerd (koninklijk besluit van 9 februari 2010¹), aangezien er geen enkel geval meer vastgesteld werd sedert meer dan 5 jaar.

Een nieuwe uitbraak van runderbrucellose met *Brucella abortus* biovar 3 werd in november 2010 bij een rund vastgesteld in het kader van het "abortusprotocol". Er werden daarna nieuwe haarden gedetecteerd: 6 haarden van *Brucella abortus* biovar 3 in 2012 en 2013 en een haard van *Brucella suis* biovar 2 in 2012.

Het FAVV heeft een externe deskundige gemandateerd om in samenwerking met experts van het FAVV een epidemiologisch onderzoek uit te voeren met het oog op de tracering van de oorsprong van deze nieuwe brucellose-uitbraken. De afwerking van dit eigen initiatief dossier van het Wetenschappelijk Comité werd tijdens de duur van het epidemiologisch onderzoek opgeschort om gegevens afkomstig van de resultaten van dit onderzoek in het advies te kunnen opnemen.

1.2. Vragen

De uitbraken van runderbrucellose hebben het Wetenschappelijk Comité aangezet om volgende punten te toetsen :

- (1) de oorsprong van de nieuwe haarden;
- (2) de huidige preventie- en bestrijdingsmaatregelen en het bewakingsprogramma van runderbrucellose;
- (3) de verschillende diagnosetesten;
- (4) de opvolging van de verwerpingen in het kader van het "abortusprotocol";
- (5) de nationale wetgeving en de mate van integratie ervan met de Europese wetgeving.

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergadering(en) van 19 april 2011, 17 juni 2011, 24 augustus 2011, 7 november 2014 en 18 december 2015 en de plenaire zitting(en) van het Wetenschappelijk Comité van 22 april 2016,

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgend advies:

2. Inleiding

¹ Koninklijk besluit van 9 februari 2010. Koninklijk besluit tot wijziging van het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van de runderbrucellose en het koninklijk besluit betreffende de bestrijding van de runderleucose.

2.1. Runderbrucellose

Brucella abortus, *Brucella melitensis* en *Brucella suis* zijn de belangrijkste soorten die nutsdieren kunnen besmetten en die overdraagbaar zijn op de mens met soms ernstige gevolgen. Over het algemeen is runderbrucellose te wijten aan *Brucella abortus*, minder vaak aan *Brucella melitensis* en zelden aan *Brucella suis*.

Een beschrijving van de etiologische agentia, de pathogeniciteit en de klinische tekenen van runderbrucellose wordt in [Bijlage 1](#) gegeven.

2.2. Beschrijving van de Belgische uitbraken van runderbrucellose tussen 2010 en 2013 (bron : FAVV)

In november 2010 werd in de provincie Luik een eerste uitbraak van brucellose door *Brucella abortus* biovar 3 bij een rund geïdentificeerd in het kader van het « abortusprotocol » (uitbraak van 2010, H(aard)1-2010). In maart 2012 werd een nieuw geval van brucellose met *Brucella abortus* biovar 3 bevestigd in de provincie Namen na een verwerping (1ste uitbraak van 2012, H1-2012). De opeenvolgende epidemiologische enquêtes hebben toegelaten de volgende haarden op te sporen ([Bijlage 2](#)):

- in maart 2012 in Oost-Vlaanderen : *Brucella abortus* biovar 3 bij een rund afkomstig van de haard H1-2012 (2de uitbraak van 2012, H2-2012) ;
- in april 2012 in de provincie Namen : *Brucella abortus* biovar 3 in twee andere contactbedrijven (aankopen, dierenartsen, handelaars, ...) van H1-2012 (derde en vierde uitbraak van 2012, H3-2012 en H4-2012) ;
- in mei 2012 in de provincie Namen : *Brucella suis* biovar 2 aangetoond bij een rund na de systematische screening op tankmelk uitgevoerd door het FAVV in 2012 (5de uitbraak van 2012, H5-2012). *Brucella suis* biovar 2 is aanwezig bij wilde dieren, hoofdzakelijk bij everzwijnen. Rundvee is een uitzonderlijke gastheer. Er is geen enkel epidemiologisch verband met de eerste 4 uitbraken van 2012;
- in mei 2012 in de provincie Namen : *Brucella abortus* biovar 3 in een contactbedrijf van H1-2012 (6de uitbraak van 2012, H6-2012) ;
- in januari 2013 in de provincie Namen : *Brucella abortus* biovar 3 in een beslag getest als contactbedrijf van H1-2012 (eerste uitbraak van 2013, H1-2013). H1-2013 is epidemiologisch verbonden aan H1-2012 ;
- een niet-drachtig vrouwelijke rund afkomstig van H1-2012 werd uitgevoerd naar Frankrijk, hetgeen leidde tot een secundaire uitbraak in Frankrijk.

Alle isolaten van *Brucella abortus* biovar 3 uit de uitbraken van 2010, 2012 en 2013 hebben hetzelfde moleculair profiel.

Een samenvatting van deze haarden en de genomen maatregelen in deze haarden zijn terug te vinden in [Bijlage 3](#). De nummers van de haarden verwijzen naar de volgorde van opsporing ervan.

2.3. Definities

De definities die in het kader van dit advies gebruikt worden, zijn in [Bijlage 4](#) terug te vinden.

3. Advies

3.1. Oorsprong van de nieuwe haarden van runderbrucellose in België tussen 2010 en 2013

3.1.1. Mogelijke oorzaken van heropkomen van runderbrucellose in een vrij gebied

Een aantal hypothesen (risicofactoren) kunnen geformuleerd worden om een heropkomen van *Brucella abortus* te verklaren in een gebied dat voorheen gedurende verschillende jaren officieel vrij was van runderbrucellose:

1. Gebruik van ingevroren besmet materiaal dat gedurende meerdere jaren opgeslagen werd	
Besmet sperma	Overdracht via kunstmatige inseminatie van (privaat) sperma dat ingevroren werd in de periode van endemisch voorkomen van runderbrucellose
Besmette colostrum/melk	Overdracht via (private) banken van colostrum/melk dat ingevroren of gelyofiliseerd werd in de periode van endemisch voorkomen van runderbrucellose
Besmette embryo's	Overdracht via embryo's ingevroren in de periode van endemisch voorkomen van runderbrucellose. Dit risico wordt evenwel zeer laag ingeschat omdat, volgens de International Embryo Transfert Society (IETS), de embryo's bij het inwinnen, de opslag en de overdracht op adequate manier behandeld moeten zijn.
2. Heropflakking	
Latente (chronische en asymptomatische) besmetting: pathogene agens dat aanwezig was of geïntroduceerd werd op het bedrijf meerdere jaren vóór de opsporing van de haard	Voorbeeld 1. Heractivering na een periode van latentie bij een dier dat nooit seropositief is geworden en dat afkomstig is van een veebeslag dat vroeger besmet was en niet volledig geruimd werd in de jaren 2000 (dier ouder dan 10 jaar) (Garin-Bastuji, 2011). Deghelt et al. (2014) hebben de mogelijkheid aangetoond dat <i>Brucella abortus</i> haar ontwikkelingscyclus volledig kan stopzetten en gedurende lange tijd inactief kan blijven. Voorbeeld 2. Aankoop van een congenitaal (in utero of net na de geboorte) besmette vaars, gevolgd door een lange periode van seronegativiteit (of niet geteste vaars) vóór de opflakking van de ziekte. De congenitaal besmette vaarsen kunnen een besmetting vertonen bij hun eerste dracht, maar soms enkel bij hun tweede of derde dracht, na een zeer lange periode van seronegativiteit (3,5% van de gevallen) (Saegerman et al., 2010; Neta et al., 2010 ; Abernethy et al., 2011).
Niet-aangegeven verwerpingen	Reeks niet-gedetectede of niet aangegeven/niet genotificeerde verwerpingen in een voorheen besmet bedrijf
Chronische en asymptomatische besmetting van gedomesticeerde dieren andere dan runderen in een bedrijf, gevolgd door heroverdracht op een rund	Er zijn dergelijke gevallen beschreven bij honden (EFSA, 2013 ; Cadmus et al., 2011), paarden, varkens, kleine herkauwers, mens. Er werd een heractivering beschreven van een latente besmetting na 60 jaar bij de mens (Meneses et al., 2010)
Overleven van <i>Brucella abortus</i> in de omgeving	<i>Brucella abortus</i> kan langdurig overleven in de omgeving : van enkele dagen in de bodem, tot enkele weken in het water of in de mest, tot meer dan 8 maanden in dierlijk afval (Corbel, 2006; Saegerman et al., 2010), alsook in de producten van verwerpingen. De kiem kan daarna naar gevoelige dieren worden overgedragen via inname.
3. Wilde reservoirs van <i>B. abortus</i> in de omgeving	
Wilde herkauwers (wapiti, buffel, enz. (Pappas, 2010), everzwijnen (EFSA, 2013), zie Bijlage 1	
4. Introductie van een besmet dier afkomstig uit een besmet gebied	
Invoer / handelsverkeer vanuit een niet officieel vrij derde	Er moet een onderzoek bij aankoop worden uitgevoerd bij introductie van dieren afkomstig van niet-officieel vrije Lidstaten of regio's, maar het resultaat kan vals-negatief zijn (wegens onvoldoende gevoeligheid van de test, besmet seronegatief dier wegens latentie, enz.)

land / Lidstaat of regio	
Frauduleuze invoer	Fraude kan zich op verschillende niveaus situeren : illegale invoer van dieren en dierlijke producten (Pappas, 2010), verkeerde identificatie, niet-naleven van het onderzoek van de dieren bij aankoop of van de periode van afzondering van de dieren tot men de resultaten van de test ontvangt, enz.

Verschillende risicofactoren voor het niet detecteren van brucellose kunnen gecombineerd voorkomen, wat de termijn van de opsporing nog kan verlengen en wat kan verklaren dat in een officieel vrij gebied brucellose heropflakert na een lange tijd (bijvoorbeeld, aankoop van besmet sperma dat gedurende verschillende jaren voor het gebruik werd bewaard → inseminatie → geboorte van een besmet vaarskalf dat tijdens meerdere jaren latent besmet en seronegatief blijft → niet gemelde verwerping, ...).

3.1.2. Oorsprong van de nieuwe uitbraken met *Brucella abortus* biovar 3 in 2010, 2012 en 2013

Het FAVV heeft een externe deskundige gemandateerd om samen met experts van het FAVV een epidemiologisch onderzoek uit te voeren om de oorsprong van H1-2010 en H1-2012 te bepalen (de andere haarden van 2012 en 2013 zijn alle epidemiologisch verbonden (contactbedrijven) aan H1-2012).

In de tabel hieronder wordt de mogelijke betrokkenheid van de verschillende hypothesen in het heropkomen van runderbrucellose in België in 2010 (H1-2010) en 2012 (H1-2012) besproken.

<p>1. Gebruik van besmet ingevroren materiaal dat gedurende meerdere jaren opgeslagen werd</p> <p>Het onderzoek heeft getoond dat spermarietjes, afkomstig van stieren geboren tijdens de periode van endemische brucellose in de jaren 1980 en sindsdien in een KI-centrum ingevroren waren, aan de oorspronkelijke rundveehouders werden teruggegeven. Een hypothese is dat deze mogelijks besmette rietjes nadien gebruikt werden bij de kunstmatige inseminatie van de vaarzen/koeien van deze rundveehouders. Dit zou de oorzaak van de H1-2012 uitbraak kunnen zijn. In deze haard werd inderdaad vastgesteld dat sperma afkomstig van privé stieren werd gebruikt. Er werden ook foutief geïdentificeerde rietjes (oude ingevroren teruggegeven rietjes) in de stikstof tank van dit bedrijf vastgesteld.</p> <p>De moleculaire typering van de isolaten van <i>Brucella abortus</i> biovar 3 van 2010 en 2012 heeft bevestigd dat deze isolaten hetzelfde moleculair profiel vertonen als de stammen van <i>Brucella abortus</i> biovar 3 geïsoleerd tijdens de endemische periode (jaren 80-90) van runderbrucellose in België. Normaliter vertonen circulerende stammen vlg variaties in hun genomisch profiel, in tegenstelling tot ingevroren bacteriën. De afwezigheid van moleculaire variaties bij de isolaten uit de haarden 2010-2013 versterkt de hypothese dat materiaal ingevroren gedurende meerdere jaren, de oorsprong van de haarden zou kunnen zijn geweest.</p>
<p>2. Heropflakking, d.w.z. heropflakking van de ziekte in een bedrijf waar de besmetting gedurende verschillende jaren "latent" en ongedetecteerd aanwezig was</p> <p>Het feit dat de isolaten uit 2010 en 2012 hetzelfde moleculair profiel vertonen als de isolaten geïsoleerd tijdens de jaren 1980-1990, pleit ook voor een latent en niet opgespoorde aanwezigheid van <i>Brucella</i> sinds 1980-1990 in een rund of in een bedrijf met risicofactoren voor non-detectie van brucellose. Epidemiologische verbanden werden getraceerd tussen de H1-2010 haard en een klein besmet bedrijf dat in de jaren 1990 enkel partieel opgeruimd werd en dat meerdere risicofactoren vertoonde van niet-detectie van een besmetting. Deze verbanden zijn echter moeilijk te bewijzen gezien deze periode reeds lang voorbij is en de dieren ondertussen werden afgeslacht.</p>
<p>3. Wilde reservoirs van <i>B. abortus</i> in de omgeving</p> <p>Naar aanleiding van de H1-2010 uitbraak, werd de hypothese geformuleerd dat de oorsprong bij wilde dieren zou liggen. Er werden onderzoeken uitgevoerd bij wilde dieren (bron : jaarverslag 2012 van het 'Réseau de surveillance sanitaire de la faune sauvage RSSFS http://www.faunesauvage.be/):</p> <ul style="list-style-type: none"> - In 2011 werden in het Nationaal Referentielaboratorium (NRL) analyses op <i>Brucella</i> (waarvan culturen) uitgevoerd bij hertachtigen afkomstig uit een gebied rond de <i>Brucella abortus</i> H1-2010 haard en

bemonsterd door het RSSFS tijdens het jachtseizoen van 2010. Er werden 9 hertachtigen getest (7 reeën en 2 herten). Er werd geen *Brucella spp.* geïsoleerd ;

- In 2012 werden in het NRL analyses op *Brucella* (waarvan culturen) uitgevoerd op 9 hertachtigen (reeën) en 32 everzwijnen die in het najaar 2011 bemonsterd waren rond drie uitbraken. Er werd geen *Brucella spp.* geïsoleerd bij de 9 hertachtigen. *Brucella suis* biovar 2 werd geïsoleerd bij 7 everzwijnen ;
- In 2013 werden analyses uitgevoerd door het OIE Referentie Laboratorium op 27 monsters van amandelen van everzwijnen bemonsterd in 2012 rond de uitbraak van *B. suis* biovar 2. Vijf amandelen waren positief in cultuur voor *Brucella suis* biovar 2 ;
- In het najaar van 2012 werden eveneens monsters genomen bij hertachtigen in België. In totaal werden 654 DNA monsters getest met behulp van real time PCR door het RSSFS voor de aanwezigheid van *Brucella spp.* In geen enkel monster van hertachtigen kon het doelfragment teruggevonden worden.

Het lijkt erop dat de hypothese van een reservoir van *Brucella abortus* bij wilde dieren in België kan verworpen worden.

4. Introductie van een besmet dier afkomstig uit een besmet gebied

Het in 2010 in België geïdentificeerde biotype blijkt ook het meest frequent voor te komen in Zuid-Europa waar runderbrucellose nog niet helemaal uitgeroeid is (meer bepaald in Spanje, Italië, Portugal). Daardoor kan de oorsprong van de uitbraak te wijten aan een aankoop uit een risicoland niet uitgesloten worden. Het was echter niet mogelijk om de isolaten van 2010 te linken aan een recent isolaat van *Brucella* afkomstig van een andere Lidstaat via moleculaire databanken. Het is belangrijk om te vermelden dat deze moleculaire databanken niet voldoende geactualiseerd zijn.

Gezien het resultaat van de genomische analyse en van de epidemiologische enquête uitgevoerd door het FAVV werd geconcludeerd dat het niet om een introductie ten gevolge van invoer ging.

Er komen twee belangrijke hypothesen naar voor uit de enquêtes:

- het gebruiken van besmet diepvriessperma afkomstig uit een periode van endemische brucellose;
- een heropflakking van brucellose na verschillende jaren van latente infectie in één (meerdere) rundveebeslag(en) in België.

Het is op basis van de beschikbare informatie over de haarden evenwel niet mogelijk gebleken om formeel de oorsprong van deze uitbraken te identificeren. De resultaten van de enquêtes blijven onder de vorm van hypothesen.

Alle isolaten van *Brucella abortus* biovar 3 uit de uitbraken van 2010, 2012 en 2013 hebben hetzelfde moleculair profiel. De uitbraken van *Brucella abortus* van 2012 en 2013 zouden epidemiologisch met elkaar verbonden zijn (aankoop/verkoop van besmette runderen, contact met besmette personen of materiaal). Er kon daarentegen geen direct epidemiologisch verband tussen de haarden van 2012 en H1-2010 aangetoond worden, hoewel het gaat om hetzelfde moleculaire profiel.

De biovars geïdentificeerd in de haarden van 2010-2013 zijn verwant aan bepaalde biovars die verantwoordelijk waren voor de Belgische uitbraken in de jaren 1980-1990 en die geanalyseerd konden worden. Al de stammen van de haarden van de jaren 1980-1990 werden evenwel niet bewaard. Het zou opportuun geweest zijn om het moleculaire profiel van alle stammen van de jaren 1980-1990 op te stellen om de hypothese te onderzoeken of er een epidemiologische verband bestaat tussen de uitbraken van de jaren 1980-1990 en die van 2010-2013. Om in de toekomst retrospectief onderzoek te kunnen verrichten, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om alle isolaten van alle uitbraken bij runderen, alle isolaten afkomstig van wilde dieren (met inbegrip van *Brucella suis* biovar 2) en alle isolaten van menselijke oorsprong te bewaren en te centraliseren. Er wordt ook aanbevolen een moleculaire analyse uit te voeren van alle stammen die geïsoleerd worden. De resultaten van deze moleculaire analyses zouden in een gecentraliseerde databank moeten bewaard worden en ter beschikking van het FAVV worden gesteld (zie hieronder).

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat het belangrijk is te beschikken over de noodzakelijke informatie om de epidemiologische enquêtes uit te voeren. Het Comité beveelt aan om een

nationale cel voor epidemiologische enquêtes te creëren binnen het FAVV die de epidemiologische enquêtes zou uitvoeren/coördineren op een gestandaardiseerde en optimale wijze. Er wordt ook aanbevolen een elektronische gecentraliseerde databank op te richten, die beschikbaar zou zijn voor alle experten die aan de enquête deelnemen, waarin de verschillende dossiers van de verschillende uitbraken (en verdenkingen van dierenziekten) met elkaar in verband gebracht kunnen worden, en waarbij een verband met andere databanken zoals de LIMS, Sanitel, etc mogelijk is. Deze databank zou bijvoorbeeld de resultaten van de vorige epidemiologische enquêtes kunnen bevatten met het oog op het uitvoeren van verdere enquêtes, dit voor brucellose maar ook meer algemeen voor alle andere dierenziekten.

Tijdens een deel van het onderzoek kwamen problemen met de identificatie van de oorsprong van diepgevroren sperma (traceerbaarheid) aan het licht. Thans is het in België een rundveehouder toegestaan om sperma van een eigen stier te laten invriezen en te bewaren, maar hij mag het sperma enkel gebruiken voor de inseminatie van eigen dieren. De controle op eventuele frauduleuze handel in sperma tussen bedrijven is zeer moeilijk. Het Wetenschappelijk Comité beveelt een aanpassing van de wetgeving aan en een controle op de bewaring en de traceerbaarheid van stierensperma gebruikt voor private doeleinden (niet-commerciële doeleinden). Om brucellosegevallen te vermijden die te wijten zijn aan het gebruik van privaat sperma, wordt aanbevolen om sperma te gebruiken dat in België werd geproduceerd na 2003, d.w.z. nadat het statuut "officieel vrij van brucellose" werd verkregen. Idealiter dient het gebruikte sperma afkomstig te zijn van erkende KI-centra waarvan de traceerbaarheid gegarandeerd wordt.

3.1.3. Oorsprong van de uitbraak met *Brucella suis* biovar 2

Brucella suis biovar 2 wordt frequent gerapporteerd in Europa bij everzwijnen en hazen. De schijnbare² prevalentie bedraagt 8 tot 32% bij wilde everzwijnen in Europa (Lopes et al., 2010). *Brucella suis* biovar 2 is endemisch aanwezig bij everzwijnen in het Waals Gewest. *Brucella suis* kan occasioneel runderen besmetten maar gevallen bij runderen waarbij biovar 2 betrokken is, zijn zeer zelden beschreven. Gevallen van natuurlijke besmettingen door *Brucella suis* biovar 2 werden in Denemarken gerapporteerd bij een rund (Andersen et al., 1995), en meer recent in Polen en in Frankrijk (Szulowski et al., 2013 ; Rauturiau, 2014).

Het moleculaire profiel van het bovine isolaat afkomstig van haard H5-2012 is sterk gelijkend op het profiel van *B. suis* biovar 2 dat normaal bij wilde everzwijnen in België wordt aangetroffen. Het epidemiologisch onderzoek heeft aangetoond dat de besmetting van het rund door *Brucella suis* biovar 2 zich voorgedaan heeft naar aanleiding van een contact met ingewanden van everzwijnen die na een jachtcampagne en zonder bioveiligheidsmaatregelen werden achtergelaten in een weide waar runderen stonden (Fretin et al., 2013). De epidemiologische gevolgen van deze haard zijn beperkt aangezien runderen geen preferentiële gastheer zijn voor *Brucella suis* biovar 2 en aangezien het niet aangetoond kon worden dat *Brucella suis* biovar 2 onder rundvee kan worden overgedragen (Fretin et al., 2013).

De everzwijnenpopulatie groeit constant sinds twee decennia, met een risico op introductie van varkensbrucellose in varkensbedrijven, in het bijzonder de varkens buitenbeloop hebben (Wallonië) tot gevolg. Besmette ingewanden/karkassen afkomstig van geschoten dieren of producten van verwerping die op het veld worden achtergelaten vormen een mogelijke bron van verspreiding van *Brucella suis*, maar ook van *Mycobacterium spp.*, Afrikaanse varkenspest, enz. Het Wetenschappelijk

² De schijnbare prevalentie houdt rekening met echt positieve resultaten maar ook met vals positieve resultaten (geen correctie voor vals positieve resultaten) en houdt niet rekening met vals negatieve resultaten (geen correctie voor vals negatieve resultaten), rekening houdend met de karakteristieken (gevoeligheid en specificiteit) van de gebruikte test.

Comité beveelt aan om de bioveiligheidsmaatregelen met betrekking tot de jacht te optimaliseren, met name betreffende het ophalen van de ingewanden/karkassen van geschoten wilde dieren.

3.2. Evaluatie van de huidige preventie- en bestrijdingsmaatregelen en van het bewakingsprogramma voor runderbrucellose in België

3.2.1. Preventiemaatregelen

De volgende preventiemaatregelen tegen runderbrucellose zijn op dit ogenblik van toepassing:

- de aankoop van vrouwelijke runderen vanuit Lidstaten die niet officieel vrij zijn van brucellose vermijden en dieren afkomstig van beslagen officieel vrij van brucellose aankopen ;
- in geval van verdenking van brucellose, de nodige onderzoeken laten uitvoeren en de verdachte dieren afzonderen van de rest van het beslag;
- de hygiënemaatregelen toepassen door de personen die toegang hebben tot het bedrijf (gebruik van voetbaden, dragen van bedrijfseigen kledij en schoenen);
- abortussen aangeven en het "abortusprotocol" volgen (zie punt 3.4).

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat de preventie- maatregelen het risico op introductie van runderbrucellose kunnen beperken.

Het Wetenschappelijk Comité legt de nadruk op het belang van het instellen en het toepassen van bioveiligheidsprotocollen in rundveebedrijven om het risico op introductie en verspreiding van dierenziekten te verminderen.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de dieren verder te testen bij hun aankomst op hun bestemmingsbedrijf in het kader van een « aankoopprotocol », zoals nu al het geval is. Het wordt niet aanbevolen om de dieren in het bedrijf van oorsprong te onderzoeken in het kader van een « verkoopprotocol ». De laatste omvat inderdaad het epidemiologische risico dat het dier kan besmet worden tijdens de quarantaineperiode tussen de verkoop en de aankomst in het bestemmingsbedrijf (bijv. tijdens het vervoer of bij de mogelijke doorgang via meerdere operatoren).

Het aankoopprotocol zou dienen uitgevoerd te worden met in acht name van de volgende voorwaarden :

- de strikte naleving van een quarantaineperiode voor de nieuw aangekomen dieren. De quarantaine omvat een volledige afzondering van de dieren :
 - o in de tijd : tot het verkrijgen van de definitieve resultaten van de verschillende onderzoeken bij aankoop, met inbegrip van (1) een verplichte test bij aankomst en (2) idealiter een tweede test na 28 dagen op kosten van de veehouder. Dit wordt sterk aanbevolen als bioexclusie maatregel om de introductie van besmette dieren in het bedrijf te vermijden), en
 - o in de ruimte : in een gebouw afgezonderd van de gebouwen waarin de andere runderen van het bedrijf worden bewaard, en met een afzonderlijke ingang;
- het toepassen van bioveiligheidsmaatregelen.

Het Comité wijst op het belang van het « officieel vrij » statuut van het beslag van oorsprong vóór de verkoop als garantie dat het aangekochte dier niet besmet is door brucellose.

3.2.2. Bestrijdingsmaatregelen

Vanaf 1987 (piek van de periode van endemie) was er een intensief bestrijdings- en uitroeingsprogramma voor runderbrucellose van kracht. Dit plan was hoofdzakelijk gebaseerd op het verplichte aflachten van alle dieren of van een deel van de dieren van een besmet veebeslag.

Eind 1988 bedroeg de gemelde jaarlijkse bedrijfsprevalentie 1,13%. Deze is vervolgens geleidelijk afgenomen en is finaal lager gebleven dan 0,01%. Sinds 1992 is de vaccinatie tegen brucellose verboden in België. In maart 2000 werd het laatste geval van runderbrucellose vastgesteld. In 2001 en 2002 werd geen enkel verdacht veebeslag vastgesteld. In 2003 heeft de Commissie het statuut « officieel brucellosevrij » aan België toegekend (Beschikking 2003/467/EG). Sindsdien werd het bestrijdings- en uitroeiingsprogramma omgezet in een bewakingsprogramma met een verandering van de opsporingsmethodes en een verminderde frequentie van de analyses bij runderen (zie punt 3.2.3).

Tussen 2010 en 2013 waren in de haarden en de contactbeslagen de volgende bestrijdingsmaatregelen van kracht:

- blokkering van het beslag en afslachting van alle runderen van de haard ;
- uitvoeren van een epidemiologische enquête; stroomafwaarts tracering (om de dieren die de haard hebben verlaten en die mogelijks besmet zijn, te identificeren) en stroomopwaarts tracering (om de oorsprong van de haarden te identificeren) om alle dieren en beslagen te identificeren die rechtstreeks en onrechtstreeks contact hebben gehad met de haard;
- blokkering van het beslag, uitvoeren van serologisch onderzoek en serologische opvolging van alle contactbeslagen.

Het Wetenschappelijk Comité onderschrijft deze maatregelen.

3.2.3. Bewaking

Een stand van zaken van de bewaking van brucellose in België bij gedomesticeerde runderen en in het wild levende fauna is in [Bijlage 5](#) terug te vinden.

Eind 2009 werd, als gevolg van het behouden van het "officieel brucellosevrij" statuut gedurende 5 opeenvolgende jaren, het brucellose bewakingsprogramma versoepeld. Vanaf 2010 en 2011 werd het nieuwe sanitaire beleid toegepast en bepaalde analyses, zoals het systematisch testen van melkveebeslagen op tankmelk, werden op basis van een risicobeoordeling stopgezet.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de mogelijkheid van het invoeren van een indirecte ELISA op tankmelk opnieuw te overwegen, omwille van de volgende redenen :

- de zeer hoge sensitiviteit (98,6% volgens Godfroid et al., 2010 ; hoger dan de sensitiviteit van de melk ring test volgens Kerkhofs et al., 1990) en de zeer hoge specificiteit (99% volgens Godfroid et al., 2010) van de test en het gemak van de staalnames;
- de mogelijkheid tot toepassing van de test in het kader van het behoud van het « officieel vrij » statuut van België;
- de mogelijkheid tot het toepassen van de test bij de vroegtijdige opsporing van gevallen van brucellose in een context van een « officieel vrij » statuut van het land waarin de bewaking van brucellose enkel op de winterscreening en op de passieve bewaking van de verwerpingen (abortus protocol) steunt;
- de mogelijkheid tot opsporen van brucellose in melkveebedrijven waar de verwerpingen niet gemeld worden;
- de mogelijkheid tot het uitvoeren van een periodieke test (bijv. één keer per jaar) waardoor een historiek van de bedrijven kan opgesteld worden. Een historiek bijhouden, verhoogt de diagnostische gevoeligheid van de test, wat nuttig kan zijn in geval van verwerpingen in het bedrijf.

Vooraleer evenwel zou beslist worden tot her-introductie van een systematische onderzoek van tankmelk via een ELISA beveelt het Wetenschappelijk Comité aan een modellisatie en scenarioanalyse uit te voeren om (1) de toegevoegde waarde van deze strategie te evalueren in

vergelijking met de huidige teststrategie (zie punt 3.3.1.) voor het opsporen van gevallen en (2) de optimale modaliteiten van deze strategie te bepalen (met welke frequentie? volgens welke spatiale distributie? via een op risicogebaseerde steekproef? routinematig uitvoeren of enkel tijdens uitbraken? rotatie van alle beslagen over 3 jaren? enz.).

Brucella abortus en *Brucella suis* worden wereldwijd gerapporteerd bij wilde dieren en in Europa bij wilde hazen en everzwijnen. De bewaking van wilde dieren valt onder de bevoegdheid van de Gewesten. Onder normale omstandigheden wordt *Brucella suis* biovar 2 onderzocht bij suidae en leporidae. Biovar 2 van *Brucella suis* is endemisch aanwezig bij everzwijnen in Wallonië. Er is gewoonlijk geen bewaking op *Brucella abortus* bij hertachtigen. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de typering van de stammen van *Brucella suis* die in het land circuleren uit te voeren om de mogelijke aanwezigheid van de biovar 1 op te sporen die pathogeen voor de mens is. Het is ook aanbevolen *Brucella abortus* bij hertachtigen te bewaken om de aanwezigheid ervan op te sporen. *Brucella abortus* in het wilde fauna kan inderdaad gedomesticeerde runderen besmetten indien de bioveiligheidsmaatregelen niet correct toegepast worden.

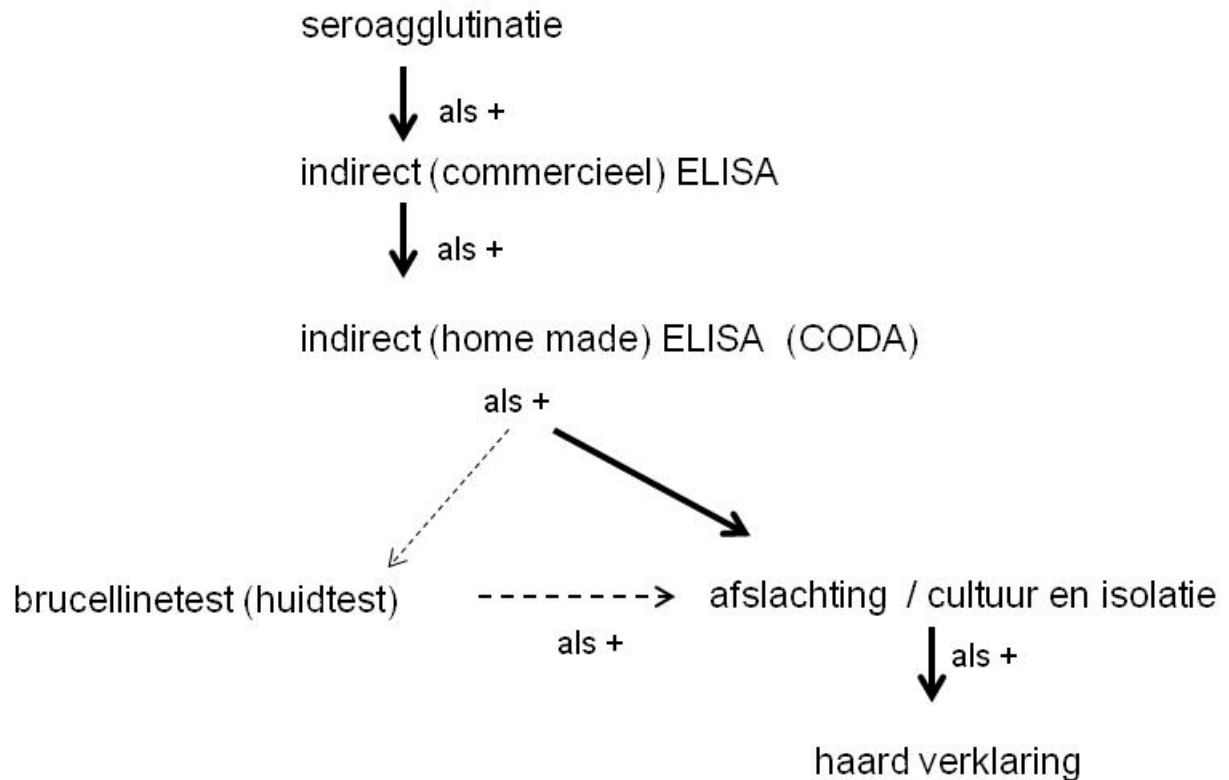
3.3. Evaluatie van de diagnostische testen die momenteel gebruikt worden

3.3.1. Stand van zaken

De routinediagnose van brucellose verloopt in twee fasen:

- eerst via onrechtstreekse serologische opsporing (of screening) gericht op de detectie van antilichamen tegen *Brucella*. De test kan toegepast worden op bloed, individuele melkstalen of tankmelk. Twee types testen worden op dit ogenblik gebruikt: de sero-agglutinatie van Wright (SAW) en een indirecte ELISA. Buiten de periodes van haarden worden deze twee tests in serie uitgevoerd (zie punt 3.3.2., 1.). Tijdens periodes van uitbraken worden deze twee testen parallel uitgevoerd (zie punt 3.3.2., 2.). Indien deze tests positief zijn, wordt een bevestiging uitgevoerd door middel van een indirecte "home-made" ELISA in het NRL. Een brucelline test (huidtest) kan worden voorgesteld, maar deze wordt niet routinematig toegepast op het terrein (jaarlijks worden ongeveer 10 huidtesten uitgevoerd om positieve resultaten met de home made ELISA te bevestigen of te ontkennen);
- in geval van positieve screening wordt een rechtstreekse bevestigingstest uitgevoerd in het NRL. Indien deze test positief is, wordt het bedrijf tot hard (Trends and Sources Belgium 2010-2011) verklaard. Er bestaan meerdere rechtstreekse bevestigingstesten. De "gouden standaard" is de isolatie (cultuur) en de identificatie van *Brucella* op monsters van verwerpen (placenta en onvoldragen vrucht), van de nageboorte, etc. De detectie van DNA van *Brucella* kan ook via PCR uitgevoerd worden. Dit zijn de enige methodes die leiden tot een bevestiging van brucellose.

Hierna wordt de cascade van tests weergegeven die tot een hardverklaring leiden.



Er bestaan ook moleculaire typeringstechnieken die de moleculaire karakterisatie van de stammen mogelijk maken. Via MLVA (multiple locus variable analysis) kunnen isolaten binnen één zelfde biovar moleculair gedifferentieerd worden. Dit is belangrijk om de oorsprong van een besmetting terug te vinden of epidemiologische verbanden tussen haarden vast te stellen.

De verschillende tests voor de diagnose van brucellose worden in detail besproken in Godfroid et al. (2010) en Saegerman et al. (2010).

3.3.2. Aanbevelingen

Testen in serie versus parallel testen bij routinematig onderzoek

1. Buiten de periode van uitbraken

Sinds België een officieel brucellosevrij statuut heeft, worden routinematig onrechtstreekse serologische opsporingstesten in serie gebruikt, d.w.z. een seroagglutinatatie gevolgd, in geval van positief resultaat, door een indirecte ELISA. Er werd vastgesteld dat deze strategie de problemen van vals positieve serologische reactoren verlaagde. Het dier wordt pas als verdacht aangetast beschouwd wanneer beide routine testen positief zijn. Nadat de bevestigings-ELISA, uitgevoerd in het NRL positief is, wordt het dier als besmet beschouwd.

Deze teststrategie heeft in het verleden haar nut bewezen en dient behouden te worden volgens het Wetenschappelijk Comité. Met als doelstelling de test strategieën nog te optimaliseren beveelt het Wetenschappelijk Comité het uitvoeren van modelstudies aan om de globale gevoeligheid en specificiteit van verschillende testscenario's te evalueren.

2. Tijdens periodes van uitbraken

Naar aanleiding van het geval van brucellose in België in 2010 werden de twee indirecte opsporingstesten in parallel uitgevoerd om de opsporingsgevoeligheid te verhogen. Dit betekent dat de tweede test systematisch uitgevoerd wordt zelfs wanneer het resultaat van de eerste test negatief is. Indien één van de twee testen een positief resultaat geeft, wordt het dier als verdacht aangetast beschouwd. Indien vervolgens de bevestigings-ELISA die bij het NRL wordt uitgevoerd positief is, wordt het dier als besmet beschouwd.

Het Wetenschappelijk Comité onderschrijft het toepassen van deze parallelle teststrategie, aangezien de opsporingsgevoeligheid van deze strategie groter is dan wanneer de testen serieel gebruikt worden.

3.4. Evaluatie van de opvolging van verwerpingen in het kader van het abortusprotocol

Om de aangifte van abortussen te stimuleren heeft het FAVV in 2009 beslist om de kosten van de ophaling van de abortussen en van de analyses voor de differentiaal diagnose van de oorzaken van abortussen (waaronder brucellose) bij rundvee te vergoeden in het kader van een "abortusprotocol". Volgens Richtlijn 98/46/EG moet iedere verwerping of vroegtijdige geboorte bij een rund verplicht worden aangegeven bij het FAVV. ARSIA en DGZ halen de monsters op en voeren de analyses uit. Een luik "raadgevingen" werd toegevoegd om de veehouders te helpen aangepaste preventiemaatregelen te nemen. In geval van afwezigheid van de in het basis analysepanel inbegrepen ethiologische agentia, kunnen andere mogelijke pathogenen onderzocht worden maar dan zonder vergoeding van het FAVV.

Het Wetenschappelijk Comité onderschrijft het "abortusprotocol" zoals het sinds 2009 uitgevoerd wordt in België bij runderen en ook bij kleine herkauwers. Het gaat om een belangrijk instrument om de gevallen van ziekten, met inbegrip van opkomende dierenziekten (en niet enkel brucellose) op te sporen en om het "officieel brucellosevrij" statuut in ons land te behouden. Het opsporen van de brucellose haarden H1-2010 en H1-2012 in het kader van het abortusprotocol toont het belang aan van dit systeem van passieve bewaking. Het abortusprotocol wordt op het terrein goed ontvangen door praktijkdierenartsen en veehouders. Het laat hen toe een duidelijker beeld te hebben van de sanitaire situatie van de beslagen. De begeleiding door de dierenarts die verantwoordelijk is voor het project geeft dierenartsen en veehouders de mogelijkheid om individuele begeleiding te krijgen in geval van verwerpingen.

3.4.1. Analyses in het kader van het « abortus protocol »

Talrijke pathogene agentia worden onderzocht in het kader van de differentiële diagnose. De voorziene analyses kunnen aangepast worden aan de evolutie van de sanitaire situatie en de epidemiologische vaststellingen. Zo werd bijvoorbeeld vanaf maart 2012, de analyse van het Schmallenbergvirus toegevoegd en sommige minder relevante ziektes werden om budgettaire redenen geschrapt uit het analysepanel. Tussen 2010 en 2014 werden zo de volgende ziektes onderzocht met de nodige aanpassingen volgens de evolutie van de gezondheidstoestand: Q-koorts (*Coxiella burnetii*), boviene virale diarree (BVDV), infectieuze boviene rhinotracheïtis (IBR, BoHV-1), leptospirose (*Leptospira hardjo*), neosporose (*Neospora caninum*), blauwtong (BTV-8), gisten en schimmels (*Aspergillus fumigatus*), *Arcanobacter pyogenes*, *E. coli*, *Salmonella* spp., listeriose (*Listeria monocytogenes*), brucellose (*Brucella abortus*), *Trueperella pyogenes*, Schmallenberg virus (AFSCA 2010, AFSCA 2011, AFSCA 2014, ARSIA 2010, ARSIA 2011, ARSIA 2012, ARSIA 2013 en DGZ).

Om budgettaire redenen werd vanaf 2015 het spectrum aan pathogene agentia dat onderzocht wordt in het kader van de differentiële diagnose van abortussen verminderd. Volgens de wet moeten brucellose (koninklijk besluit van 6 december 1978) en BVD (artikel 4 van koninklijk besluit van 18 juni 2014) verplicht worden onderzocht in geval van een verwerping. Het risico bestaat dat veehouders door deze beperking van de scope van het abortusprotocol hun interesse verliezen. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om een zo volledig mogelijk analysepanel te behouden omdat

dit een nuttig instrument is voor de opsporing van dierenziekten met inbegrip van opkomende dierenziekten en brucellose (England et al., 2004).

3.4.2. Percentage van aangiften van verwerpingen in België

In [bijlage 6](#) wordt de evolutie van het percentage van aangiften van verwerpingen in België tussen 2008 en 2014 voorgesteld.

Twee types ramingen werden uitgevoerd.

In de eerste raming wordt het percentage aangiftes van verwerpingen berekend door het aantal verwerpingen dat wordt aangegeven bij ARSIA/DGZ (abortussen Labo) te delen door het totaal aantal verwerpingen. Het totaal aantal verwerpingen is de som van het aantal verwerpingen dat wordt aangegeven bij ARSIA/DGZ (abortussen Labo) en van het aantal niet-aangegeven verworpen dieren die via het destructiebedrijf worden opgehaald (abortussen Rendac). Deze raming bevat fouten omdat:

- een deel van de abortussen < 50kg zijn kalveren die gestorven zijn na 2 dagen en niet meer beschouwd kunnen worden als verworpen kalveren
- er wordt geen rekening gehouden met abortussen die door het destructiebedrijf niet worden opgehaald of abortussen die niet gemeld noch geanalyseerd zijn of verworpen vruchten die niet worden teruggevonden.

$\text{Percentage van aangifte} = \frac{\text{Abortussen Labo}}{\text{Abortussen Labo} + \text{Abortussen Rendac}}$

In de tweede raming werd het percentage aangiftes berekend door het aantal verwerpingen dat wordt aangegeven en geanalyseerd bij ARSIA/DGZ (abortussen Labo) te delen door het aantal vrouwelijke runderen die vatbaar kunnen zijn voor verwerping (vrouwelijke runderen ouder dan 24 maanden). Deze schatting bevat ook fouten omdat niet alle vrouwelijke runderen ouder dan 24 maanden noodzakelijk drachtig zijn.

$\text{Percentage van aangifte} = \frac{\text{Abortussen Labo}}{\text{vrouwelijke runderen} > 24 \text{ maanden}}$
--

Hoewel het percentage van aangiftes nog aanzienlijk kan verhoogd worden, stelt het Wetenschappelijk Comité een verbetering vast sinds 2010 en dit wellicht omwille van de volgende redenen:

- vanaf 2010 :
 - dankzij het instellen van de vergoeding van de analyses en de ophaling van de abortussen in het kader van het abortusprotocol door het FAVV ;
 - dankzij het sturen van een persoonlijke brief naar de veehouders die sinds 3 jaar geen verwerpingen hebben aangegeven. Het geval van brucellose van 2010 werd opgespoord in een bedrijf die een verwerping gemeld had als gevolg van het sturen van deze brief ;
 - als gevolg van de Blauwtong epidemie.
- in 2012, als gevolg van het opkomen van het Schmallenberg virus in 2011 (met gevolgen in 2012).

Om dit percentage van aangifte nog te verhogen, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om de aantrekkelijkheid van het abortusprotocol alsook de stimulering van de aangiftes van verwerping te behouden via een continue sensibilisatie bv. door:

- het blijven sturen van infomails naar praktijkdierenartsen;
- het blijven schrijven van artikels in de landbouwpers;
- het blijven uitvoeren van een serologische bewaking op brucellose tijdens de wintercampagne op de bedrijven met meer dan 100 kalvingen die tijdens een periode van 3 jaar geen verwerping hebben aangegeven;

- het blijven sturen van sensibiliseringsbrieven aan veehouders die sinds 3 jaar geen enkele verwerping gemeld hebben, alsook aan hun bedrijfsdierenarts. De bedrijven die geen verwerpingen aangeven kunnen ook opgespoord worden door analyse van de voortplantingsgegevens van de runderen (zoals vruchtbaarheidscijfers of tussenkalftijd), beschikbaar in Sanitel. Langere tussenkalftijden kunnen een indicatie zijn van het voorkomen van verwerpingen op een beslag.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan dat de mortaliteitsgegevens van het destructiebedrijf met een hogere frequentie dan tot nu toe het geval was overgemaakt worden aan het FAVV, b.v. minstens één keer per maand, en dat deze gegevens routinematig worden geanalyseerd. Het mortaliteitspercentage (abortussen inbegrepen) is een indicator van opkomen van dierenziekten, met inbegrip van brucellose.

In Frankrijk is de wettelijke definitie van verwerping als volgt: « de uitdrijving van een foetus of van een doodgeboren kalf of van een levend geboren kalf maar dat binnen de 48 uur na de geboorte sterft » (Décret van 24 december 1965³, [Bijlage 4](#)). Deze definitie omvat dus het overlijden van een levend geboren kalf dat binnen de 48 uur na de geboorte sterft. Sinds 2012 wordt deze categorie gestorven kalveren ook beschouwd en geanalyseerd binnen het Belgische abortusprotocol. Echter, in de Belgische wetgeving (Koninklijk besluit van 6 december 1978⁴) is de definitie van verwerping minder precies : « ieder verantwoordelijke, die een verwerping of de symptomen die een verwerping voorafgaan of volgen vaststelt bij één van zijn runderen is verplicht het af te zonderen en het te doen onderzoeken...». Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan de definitie van « verwerping » beter te omschrijven in het koninklijk besluit van 6 december 1978 door het insluiten van de doodgeboren of de levend geboren kalveren die binnen de 48 uur na de geboorte sterven (zie punt 3.5). Dit zou het aangiftepercentage kunnen verhogen.

3.4.3. Opsporing van de verwerpingen

Een aanzienlijk aantal verwerpingen wordt niet opgemerkt door de veehouder ([Bijlage 7](#)) of wordt niet teruggevonden (b.v. verwerping in de weide waarbij de vrucht wordt verwijderd/opgegeten door wilde dieren). Het feit dat subklinische verwerpingen niet worden opgemerkt en dus ook niet worden geanalyseerd, verhoogt de kans op het niet tijdig detecteren van brucellose (en meer algemeen andere opkomende dierenziekten). Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan dat de dierenartsen en de veehouders worden geïnformeerd dat voortplantingsproblemen zoals bijvoorbeeld vroegtijdige terugkerende tochtigheid, lage vruchtbaarheidscijfers, lange tussenkalftijden, onvruchtbaarheid bij stieren, enz. aanwijzingen van brucellose kunnen zijn. Wanneer monsters naar het laboratorium worden verstuurd om dergelijke problemen te onderzoeken, zou brucellose verplicht moeten worden opgenomen in de differentiaal diagnose.

3.5. Evaluatie van de nationale wetgeving alsook de mate van integratie ervan met de Europese wetgeving

In België is brucellose een aangifteplichtige ziekte. De ziekte moet ook worden gerapporteerd aan de Commissie en aan het OIE en via het ADNS-systeem van de EU in geval van uitbraken. Brucellose wordt ook jaarlijks aan EFSA gerapporteerd als zoönose (Richtlijn 2003/99/EG). Brucellose behoort

³ Décret n° 65-1166 du 24 décembre 1965 portant règlement d'administration publique ajoutant à la nomenclature des maladies réputées contagieuses la brucellose dans l'espèce bovine, lorsqu'elle se manifeste par l'avortement, et prescrivant les mesures sanitaires applicables à cette maladie.

⁴ koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van de runderbrucellose

tot de koopvernietigende gebreken in geval van aankoop van dieren met een ongunstig onderzoeksresultaat.

Op Europees niveau is de wetgeving inzake brucellose opgenomen in de Richtlijn 64/432/EEG⁵, gewijzigd door de Richtlijn 98/46/EG⁶. De voorwaarden waarbij beslagen, regio's of lidstaten als officieel vrij van brucellose worden erkend worden erin opgesomd, alsook de voorwaarden voor het behoud van dit statuut. Deze wetgeving stelt ook de voorwaarden vast om voldoende sanitaire garanties te bieden voor het intra-communautaire handelsverkeer van runderen. De modaliteiten betreffende de bestrijdings- en uitroeiingsprogramma's worden volgens het subsidiariteitsprincipe aan de lidstaten overgelaten. Bovendien zijn er op Europees niveau uitroeiingsprogramma's met cofinanciering van de Europese Commissie voor de niet-officiële vrije Lidstaten of regio's.

In België is de officiële bestrijding van runderbrucellose voorzien in het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van de runderbrucellose. Dit basisbesluit werd regelmatig gewijzigd, namelijk door het koninklijk besluit van 21 december 2006 en door het koninklijk besluit van 9 februari 2010.

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan deze wetgeving verder te actualiseren, waarbij rekening wordt gehouden met de eerder in dit advies gemaakte vaststellingen:

- het uitbreiden van de scope naar andere diersoorten dan runderen die gevoelig zijn aan brucellose, zoals schapen en geiten, varkens, exotische dieren, wilde dieren, ... ;
- het toevoegen van nieuwe diagnostische mogelijkheden zoals de moleculaire technieken, het in de definities expliciet vermelden van de mogelijkheid tot het uitvoeren van brucelline testen, het in overweging nemen van nieuwe teststrategieën ;
- het verduidelijken van de definitie van verwerpingen, rekening houdend met neonatale sterfte (levend geboren kalveren die binnen de 48 uur na de geboorte sterven) zoals in de Franse wetgeving voorzien (zie de definities van [bijlage 4](#) en het punt 3.4.2) ;
- het toevoegen van elementen die de concrete uitvoering van epidemiologisch onderzoek toelaten in geval van uitbraak van brucellose, met name het onderzoek naar risicofactoren zoals de aanwezigheid van andere gevoelige diersoorten (honden, paarden, kleine herkauwers, wilde dieren), de productiesystemen (bijv. varkens in open lucht), de bewaring van producten van dierlijke oorsprong (colostrum, melk, spermarietjes, embryo's) in diepvriezers ;
- het toepassen van bioveiligheidsmaatregelen in rundveebedrijven, bij aankoop van dieren, bij deelname aan verzamelingen, bij gemeenschappelijk gebruik van materiaal, bij bedrijfsbezoeken, bij verwerpingen.

4. Conclusie

Na een lange periode zonder gevallen van runderbrucellose en tijdens dewelke België officieel vrij verklaard werd van runderbrucellose (Beschikking 2003/467/EG), werden enkele nieuwe haarden van runderbrucellose vastgesteld tussen 2010 en 2013. Deze waren te wijten aan *Brucella abortus* biovar 3 en één aan *Brucella suis* biovar 2.

Ten gevolge van deze haarden heeft het Wetenschappelijk Comité de volgende aspecten betreffende runderbrucellose in België op eigen initiatief bestudeerd : de oorsprong van deze nieuwe haarden, de

⁵ Richtlijn 64/432/EEG van de Raad van 26 juni 1964 inzake veterinairerechtelijke vraagstukken op het gebied van het intracommunautaire handelsverkeer in runderen en varkens

⁶ Richtlijn 98/46/EG van de Raad van 24 juni 1988 houdende wijziging van bijlagen A, D (hoofdstuk I) en F van richtlijn 64/432/EEG inzake veterinairerechtelijke vraagstukken op het gebied van het intracommunautaire handelsverkeer in runderen en varkens

doeltreffendheid van het bewakingsprogramma, de diagnosemethoden, de preventie- en bestrijdingsmaatregelen, de melding van verwerpingen en de wetgeving.

De epidemiologische enquêtes hebben toegelaten een aantal hypothesen te analyseren betreffende de oorsprong van deze uitbraken van *Brucella abortus* biovar 3, evenwel zonder finaal een precieze oorzaak van het heropkomen te hebben kunnen identificeren. Er komen echter twee hypothesen naar voor uit de enquêtes: het gebruiken van besmet diepvriessperma afkomstig uit een periode van endemische brucellose en een heropflakking van brucellose na verschillende jaren van latente infectie in één (meerdere) rundveebeslag(en) in België.

De infectie van een rund door *Brucella suis* biovar 2 is gebeurd naar aanleiding van contact met ingewanden van everzwijnen na een jachtpartij.

Deze incidenten wijzen op het belang van een passieve en actieve bewaking op het terrein, en in het bijzonder op het belang van de melding van abortussen en onderzoeken in het kader van het abortusprotocol.

Deze uitgebreide analyse leidde tot een reeks aanbevelingen:

Onderwerp	Aanbevelingen
Epidemiologische enquêtes	<ul style="list-style-type: none"> - alle isolaten van alle uitbraken bij runderen, alle isolaten afkomstig van wilde dieren (met inbegrip van <i>Brucella suis</i> biovar 2) en alle isolaten van menselijke oorsprong bewaren en centraliseren; - een moleculaire analyse uitvoeren van alle stammen die geïsoleerd worden; - de resultaten van deze moleculaire analyses in een gecentraliseerde databank bewaren ter beschikking van het FAVV; - een nationale cel voor epidemiologische enquêtes creëren binnen het FAVV die de epidemiologische enquêtes zou uitvoeren/coördineren op een gestandaardiseerde en optimale wijze; - een elektronische gecentraliseerde databank oprichten, die beschikbaar zou zijn voor alle experts die aan de enquête deelnemen, waarin de verschillende dossiers van de verschillende uitbraken (en verdenkingen van dierenziekten) met elkaar in verband gebracht kunnen worden, en waarbij een verband met andere databanken zoals de LIMS, Sanitel, etc mogelijk is.
Traceerbaarheid en gebruik van sperma voor private doeleinden	<ul style="list-style-type: none"> - de bewaring en de traceerbaarheid van stiersperma gebruikt voor private doeleinden controleren; - in geval van gebruik van privaat sperma, enkel sperma gebruiken dat in België werd geproduceerd na 2003, d.w.z. nadat het statuut "officieel vrij van brucellose" werd verkregen.
Bioveiligheid	<ul style="list-style-type: none"> - de bioveiligheidsmaatregelen met betrekking tot de jacht optimaliseren, met name betreffende het ophalen van de ingewanden/karkassen van geschoten wilde dieren; - bioveiligheidsprotocollen in rundveebedrijven instellen en toepassen
Bewaking en diagnose	<ul style="list-style-type: none"> - door een modelstudie de toegevoegde waarde en de modaliteiten van de ELISA test op tankmelk evalueren; - indien deze studie overtuigend is, de ELISA op tankmelk herintroduceren als vroegtijdig opsporingsmiddel van mogelijke nieuwe gevallen van brucellose.
Abortussen	<ul style="list-style-type: none"> - bedrijven die geen verwerpingen aangeven actief identificeren, sensibiliseren en opvolgen; - een zo volledig mogelijk analysepanel behouden in het kader van het abortusprotocol omdat dit een nuttig instrument is voor de opsporing van

	<p>dierenziekten met inbegrip van opkomende dierenziekten en brucellose;</p> <ul style="list-style-type: none"> - de aantrekkelijkheid van het abortusprotocol alsook de stimulering van de aangiftes van verwerping aanhouden, via infomails, artikels in de landbouwpers, serologische bewaking op de bedrijven die geen verwerping aangeven, sensibiliseringsbrieven aan veehouders die geen enkele verwerping melden, etc.; - de definitie van « verwerping » in het koninklijk besluit van 6 december 1978 beter omschrijven door het insluiten van de doodgeboren of de levend geboren kalveren die binnen de 48 uur na de geboorte sterven; - de dierenartsen en de veehouders informeren dat voortplantingsproblemen zoals bijvoorbeeld vroegtijdige terugkerende tochtigheid, lage vruchtbaarheidscijfers, lange tussenkalftijden, onvruchtbaarheid bij stieren, enz. aanwijzingen van brucellose kunnen zijn.
Wilde dieren	<ul style="list-style-type: none"> - de typering van de stammen van <i>Brucella suis</i> die in het land circuleren uitvoeren om de mogelijke aanwezigheid van de biovar 1 op te sporen die pathogeen voor de mens is; - <i>Brucella abortus</i> bij hertachtigen te bewaken om de aanwezigheid ervan op te sporen.
Wetgeving	<ul style="list-style-type: none"> - de wetgeving actualiseren, waarbij rekening wordt gehouden met de eerder in dit advies gemaakte vaststellingen.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get.)
Brussel, 02/05/2016

Referenties

Abernethy D.A., Moscard-Costello J., Dickson E., Harwood R., Burns K., McKillop E., McDowell S. and Pfeiffer D.U. Epidemiology and management of a bovine brucellosis cluster in Northern Ireland. *Prev. Vet. Med.*, **2011**, 98:223-9.

AFSCA, Rapport d'activités **2010**. URL :
http://www.favv-afsc.fgov.be/rapportsannuels/ documents/2011-07_RA2010_FR_S.pdf

AFSCA, Rapport d'activités **2011**. URL :
http://www.favv-afsc.fgov.be/rapportsannuels/ documents/2012-06-26_RA2011Fr_S.pdf

AFSCA, Rapport d'activités **2014**. URL :
<http://www.favv-afsc.fgov.be/rapportactivites/2014/default.asp>

ARSIA. Rapport annuel d'activité **2010**. URL :
<http://www.arsia.be/wp-content/uploads/2012/10/Arsia-RA-10-light.pdf>

ARSIA. Rapport annuel d'activité **2011**. URL :
<http://www.arsia.be/wp-content/uploads/2012/06/Arsia-RA-11-light.pdf>

ARSIA. Rapport annuel d'activité **2012**. URL :
<http://www.arsia.be/wp-content/uploads/2013/06/Arsia-RA-2012light.pdf>

ARSIA. Rapport annuel d'activité **2013**. URL :
<http://www.arsia.be/wp-content/uploads/2014/07/Arsia-RA-2013-light.pdf>

Andersen F.M. and Pedersen K.B. Brucellosis. A case of natural infection of a cow with *Brucella suis* biotype 2. *Dan. Vet.*, **1995**, 78, 408.

Buzgan T., Karahocagil M.K., Irmak H., Baran A.I., Karsen H., Evirgen O., Akdeniz H. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int. J. Infect. Dis.*, **2010**, 14:e469-78. doi: 10.1016/j.ijid.2009.06.031. Epub 2009 Nov 11. Review.

Cadmus S.I., Adesokan H.K., Ajala O.O., Odetokun W.O., Perrett L.L. and Stack J.A. Seroprevalence of *brucella abortus* and *B. canis* in household dogs in southwestern Nigeria: a preliminary report. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, **2011**, 82, 56-7.

Corbel M.J. Brucellosis in humans and animals. Produced by the World Health Organization in collaboration with the Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Organisation for Animal Health, **2006**. ISBN 92 4 154713 8, ISBN 978 92 4 154713 0. URL:
<http://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>

Deghelt M., Mullier C., Sternon J.F., Francis N., Laloux G., Dotreppe D., Van der Henst C., Jacobs-Wagner C., Letesson J.J. and De Bolle X. G1-arrested newborn cells are the predominant infectious form of the pathogen *Brucella abortus*. *Nat. Commun.*, **2014**, 5, 4366. doi: 10.1038/ncomms5366.

EFSA. Scientific Opinion on Performances of Brucellosis Methods for Bovines, Sheep, and Goats. EFSA-Q-2005-00. *EFSA J.*, **2006**, 432, 1-44.

EFSA. The European Union Scientific Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne outbreaks in 2011. EFSA-Q-2012-00428. EFSA J., **2013**, 11: 3129 (250 pp.). doi : 10.2903/j.efsa.2013.3129.

England T., Kelly L., Jones R.D., MacMillan A., Wooldridge M. A simulation model of brucellosis spread in British cattle under several testing regimes. *Prev. Vet. Med.*, **2004**, 30, 63-73.

Fretin D., Mori M., Czaplicki G., Quinet C., Maquet B., Godfroid J., and Saegerman C. Unexpected *Brucella suis* biovar 2 Infection in a dairy cow, Belgium. *Emerg. Infect. Dis.*, **2013**, 19, 2053-4. doi: 10.3201/eid1912.130506.

Garin-Bastuji B. et Fediaevsky A. Brève. Un foyer de brucellose bovine en Belgique ou l'importance de la surveillance en territoire officiellement indemne. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n°42*, **2011**, 10. URL : http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/BE_42.pdf

Godfroid J., Michel P., Uytterhaegen L., De Smedt C., Rasseneur F., Boelaert F., Saegerman C., Patigny X. Brucellose enzootique à *Brucella suis* biotype 2 chez le sanglier (*sus scrofa*) en Belgique. *Ann. Med. Vet.* **1994**, 138:263–268.

Godfroid J., Nielsen K. and Saegerman C. Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. *Croatian Medical Journal*, **2010**, 51, 296-305.

Godfroid J., Scholz H.C., Barbier T., Nicolas C., Wattiau P., Whatmore A.M., Cloeckart A., Blasco J.M., Moriyon I., Saegerman C., Muma J.B., Al Dahouki S., Neubauer H. and Letesson J.-J. Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century. *Prev Vet Med.*, **2011**, 102, 118-31.

Grégoire F., Mousset B., Hanrez D., Michaux C., Walravens K. and Linden A. A serological and bacteriological survey of brucellosis in wild boar (*Sus scrofa*) in Belgium. *BMC. Vet. Res.* **2012**, 8:80. doi: 10.1186/1746-6148-8-80.

Jauniaux T.P., Brenz C., Fretin D., Godfroid J., Haelters J., Jacques T., Kerckhof F., Mast J., Sarlet M., and Coignoul F.L.. *Brucella ceti* infection in Harbor Porpoise (*Phocoena phocoena*). *Emerg. Infect. Dis.*, **2010**, 16, 1966 – 68; doi: 10.3201/eid1612.101008.

Kerkhofs P., Botton Y., Thiange P., Dekeyser P., and Limet J.N. Diagnosis of bovine brucellosis by enzyme immunoassay of milk. *Vet Microbiol.*, **1990**, 24, 73-80.

Lopes L.B., Nicolino R. and Haddad J.P.A. Brucellosis – risk factors and prevalence: a review. *The Open Veterinary Science Journal*, **2010**, 4, 72-84.

Meneses A., Epaulard O., Maurin M., Gressin R., Pavese P., Brion J.-P., Garin-Bastuji B. and Stahl J.-P. Réactivation bactériémique d'une brucellose 70 ans après la primo-infection. *Médecine et maladies infectieuses*, **2010**, 40, 238-40.

Neta C.A.V., Mol J.P., Xavier M.N., Paixão T.A., Lage A.P., Santos R.L. pathogenesis of bovine brucellosis. *Vet. J.*, **2010**, 184, 146-55. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.04.010. Epub 2009 Sep 3.

Pappas G. The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2010**, 36 Suppl 1:S8-11.

Rauturiau S., **2014**. Plateforme ESA: http://www.plateforme-esa.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=362:brucella-suis-biovar-2-mis-en-evidence-chez-un-bovin&catid=140:actualites-brucellose&Itemid=291

Saegerman C., Berkvens D., Godfroid J. and Walravens K. **2010**. Bovine brucellosis. Chapter 77. In: Infectious and Parasitic Disease of Lifestock. Lavoisier et Commonwealth Agricultural Bureau. Int., France, 991-1011.

Salman M.D. and Meyer M.E. Epidemiology of bovine brucellosis in the Mexicali Valley, Mexico: literature review of disease-associated factors. Am. J. Vet. Res., **1984**, 45:1557-60.

Seleem M.N., Boyle S.M. and Sriranganathan N. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. Vet. Microbiol., **2010**, 140:392-8.

Szulowski K, Iwaniak W, Weiner M, Złotnicka J. Brucella suis biovar 2 isolations from cattle in Poland. Ann Agric Environ Med., **2013**, 20(4), 672-675.

Trends and sources **2010-2011** report on zoonotic agents in Belgium. Vanholme L., Imberechts H., Ducoffre G. et Dierick K. URL: http://www.favv-afsc.fgov.be/publicationsthematiques/documents/2012-12-06_TS_2010_2011_S.pdf

Whatmore A.M. Current understanding of the genetic diversity of Brucella, an expanding genus of zoonotic pathogens. Infect. Genet. Evol., **2009**, 9, 1168-1184.

Whatmore AM, Davison N, Cloeckert A, Al Dahouk S, Zygmunt MS, Brew SD, Perrett LL, Koylass MS, Vergnaud G, Quance C, Scholz HC, Dick EJ Jr, Hubbard G, Schlabritz-Loutsevitch NE. Brucella papionis sp. nov., isolated from baboons (Papio spp.). Int J Syst Evol Microbiol. **2014**;64(Pt 12):4120-4128.

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

Er werden geen belangenconflicten gemeld.

Dankbetuiging

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

Het Wetenschappelijk Comité wenst eveneens Katelijne Dierick (ISP-WIV) te bedanken voor de 'peer review' van het advies.

Samenstelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

Leden van het Wetenschappelijk Comité: C. Saegerman (verslaggever), D. Berkvens, J.

Externe experts: Dewulf, H. Imberechts
D. Fretin (CODA), G. Czaplicki (ARSIA)
Dossierbeheerder: S. Cardoen, X. Van Huffel

De activiteiten van de werkgroep werden opgevolgd door volgende leden van de administratie (als waarnemers): L. Vanholme (FAVV), J. Evers (FAVV) en G. Boseret (FAVV).

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.

Bijlage 1: Etiologische agentia, pathogenese en klinische tekenen van runderbrucellose

Brucellose is een besmettelijke zoönotische bacteriële ziekte die voornamelijk rundvee treft en veroorzaakt wordt door *Brucella spp.*, een facultatief intracellulaire gram negatieve bacterie (Neta et al., 2010).

Momenteel zijn er 11 *Brucella spp.* soorten beschreven (Tabel 1).

Brucella abortus, *Brucella melitensis* en *Brucella suis* zijn de belangrijkste soorten die nutsdieren kunnen besmetten en die overdraagbaar zijn op de mens met soms ernstige gevolgen. Over het algemeen is brucellose bij runderen te wijten aan *Brucella abortus*, minder vaak aan *Brucella melitensis* en zelden aan *Brucella suis*. Runderen kunnen besmet worden door *Brucella suis* en *Brucella melitensis* via besmette varkens, geiten of schapen (Seleem et al., 2010). Deze drie soorten kunnen verder worden onderverdeeld in tal van biovars (Tabel 1).

Brucella abortus en *Brucella suis* worden wereldwijd vastgesteld bij wilde diersoorten en in Europa, onder andere bij hazen en everzwijnen. *Brucella ovis* en *Brucella canis* komen minder frequent voor en zijn laag pathogeen voor de mens. *Brucella neotomae* is enkel beschreven bij knaagdieren in de VS. Onlangs werden vier nieuwe soorten beschreven : *Brucella ceti* en *Brucella pinnipedialis* in de mariene fauna, *Brucella microti* bij veldmuizen en vossen, en *Brucella inopinata*. Deze laatste werd enkel bij de mens aangetroffen in een biologisch monster. Meer recent werd *Brucella papionis sp.* geïsoleerd bij bavianen.

In België is *Brucella suis* biovar 2 endemisch aanwezig bij everzwijnen (Grégoire et al., 2012). *Brucella ceti* en *pinnipedialis* werden bij zeezoogdieren teruggevonden die op de Belgische kust gestrand zijn (Jauniaux et al., 2010).

Tabel 1. Soorten *Brucella*, biovars, gastheersoorten en pathogeniciteit voor de mens (volgens Whatmore et al., 2009 et 2014 ; Saegerman et al., 2010 ; Godfroid et al., 2011; Pappas, 2010)

<i>Brucella</i> -soorten	Biovars	Gastheersoorten	Pathogeniciteit voor de mens
<i>B. abortus</i>	1,2,3,4,5,6,9	Runderen, wapitis, buffels	Hoog
<i>B. melitensis</i>	1,2,3	Geiten, schapen	Hoog
<i>B. suis</i>	1,3	Varkens	Hoog
	2	Everzwijnen, gewone haas	Geen
	4	Rendieren	Hoog
	5	Knaagdieren	Geen
<i>B. ovis</i>		Geiten, schapen	Geen
<i>B. canis</i>		Honden	Gemiddeld
<i>B. neotomae</i>		Knaagdieren	Geen
<i>B. ceti</i>		Walvisachtigen	Niet gekend
<i>B. pinnipedialis</i>		Zeehonden	Niet gekend
<i>B. microti</i>		Veldmuizen/vossen	Niet gekend
<i>B. inopinata</i>		Niet gekend	Hoog
<i>B. papionis sp. nov.</i>		Baviaan	Niet gekend

Runderbrucellose is zeer besmettelijk bij rundvee en kan overgedragen worden op de mens tijdens aanraking of contact met besmet materiaal (bij het kalven, via de mest, enz.). De bacterie is niet aanwezig in vlees van besmette dieren. De bacteriën worden uitgescheiden in rauwe melk. Een voldoende hittebehandeling (bv. een commercieel gangbare pasteurisatie) van de melk doodt de bacterie af.

De introductie van de kiem bij dieren gebeurt via orale besmetting, de huid, de ogen en het ademhalingsstelsel. Kalveren kunnen *in utero* besmet zijn of vanaf de geboorte besmet worden door opname van colostrum of melk van een besmette koe (Neta et al., 2010).

De incubatieperiode kan enkele dagen tot verschillende maanden in beslag nemen, en zelfs meerdere jaren duren als het gaat om een *in utero* infectie. Klinisch gezien manifesteert de ziekte zich bij koeien door één of meerdere van de volgende symptomen : verwerping het vaakst tussen de 5de en 9de maand van de dracht, ophouden van de nageboorte, metritis of baarmoederontsteking, infertiliteit, mastitis of uierontsteking en, meer zeldzaam, arthritis en hygroma⁷ van de voorknieën. *Brucella* komt voor in de secreties van de uterus en in de melk. De ziekte is over het algemeen asymptomatisch bij niet-drachtige vrouwelijke dieren. Bij stieren zijn de klinische symptomen orchitis, epididymitis en onvruchtbaarheid. Bij kalveren komen verschillende situaties voor : intra-uteriene sterfte (verworpen kalveren), doodgeboren voldragen kalveren, levende en vanaf de geboorte zieke kalveren, kalveren die schijnbaar gezond geboren worden maar levenslang drager zijn en kiemen kunnen verspreiden vanaf hun geslachtsrijpheid.

Bij drachtige vrouwelijke dieren nestelen de *Brucella* kiemen zich in de placenta, de vruchtvliezen en de foetus, wat leidt tot verwerpingen, doodgeboren kalveren of levende kalveren die dragers kunnen zijn van de kiem. Een besmette koe zal bij een verwerping of normale kalving een groot aantal kiemen in de omgeving verspreiden onder andere via de foetus of het doodgeboren of levensvatbaar kalf, via de vruchtvliezen, het vruchtwater, de vaginale uitscheiding, het materiaal gebruikt voor de verlossing, de urine en de melk. De volgende drachten worden over het algemeen uitgedragen, maar de infectie van de baarmoeder en van de uier blijft bestaan waarbij een verlaagde hoeveelheid *Brucella* kiemen uitgescheiden worden via de genitale excreties en de melk. In de niet-drachtige baarmoeder kunnen de kiemen gedurende maanden, zelfs jaren aanwezig blijven met mogelijke reactivatie tijdens de bronst. De melkklieren zijn ook geïnfecteerd, wat de contaminatie van de melk verklaart. De bijhorende regionale lymfeklieren kunnen eveneens besmet zijn.

De klinische tekenen ontwikkelen zich soms zeer traag aangezien de kiemen, na inoculatie, hun ontwikkelingscyclus kunnen onderbreken (Deghelt et al., 2014) en in de lymfeklieren gedurende maanden, zelfs jaren latent aanwezig kunnen blijven voordat ze zich achteraf in het dier verder verspreiden en klinische symptomen veroorzaken. Gedurende deze periode kan een bloed- of melkonderzoek negatief zijn. Men spreekt van een latente infectie. De latentie kan dus lang aanhouden om later met wisselende tussenperiodes terug te keren, die vaak met de dracht samenvallen.

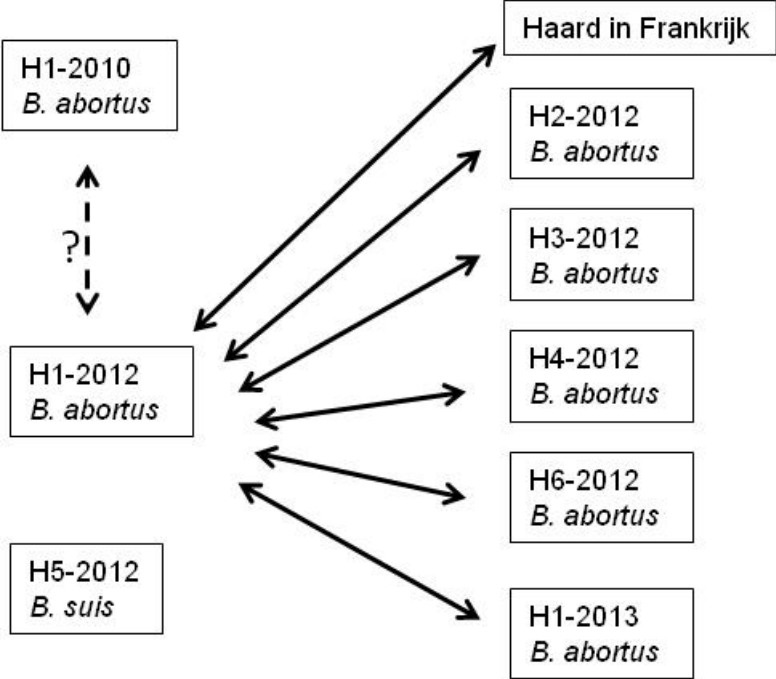
Kalveren kunnen de besmetting via verticale overdracht krijgen of via de inname van besmette melk en kunnen seronegatief en asymptomatisch blijven. Drachtige vaarzen met een latente asymptomatische besmetting kunnen verwerpen of besmette kalveren werpen, die de ziekte binnen het veebeslag onderhouden (Neta et al., 2010).

De latente infectie kan ontstaan als gevolg van een *in utero* infectie of wanneer kalveren op jonge leeftijd blootgesteld zijn (Abernethy et al., 2011). In dit geval kan seroconversie slechts gebeuren na één of meerdere normale kalvingen (Salman and Meyer, 1984).

⁷ Hygroma is meer frequent in tropische landen in het wild levende fauna

Brucellose kan gemakkelijk naar de mens overgedragen worden (Buzgan et al., 2010) en acute koorts veroorzaken die naar een chronische vorm kan evolueren en eveneens tot ernstige articulaire, cardiovasculaire of neurologische complicaties kan leiden. De infectie kan het gevolg zijn van een professionele blootstelling en wordt meer in het bijzonder overgedragen via orale, conjunctivale of respiratoire weg. Het risico is hoog voor dierenartsen en veehouders die besmette dieren, verworpen dieren of placenta's manipuleren, alsook voor slachthuispersoneel bij het slachten van besmette dieren. Voor de bevolking vormt de inname van rauwe melk het belangrijkste risico. Brucellose kan ook in het labo opgelopen worden. Er moeten strikte bioveiligheidsregels in acht worden genomen voor het hanteren van culturen en monsters die sterk geïnfecteerd zijn, zoals producten van verwerpingen.

Bijlage 2: Verbanden tussen de verschillende haarden van *Brucella abortus*, alsook de enige haard van *Brucella suis*



Bijlage 3: Samenvatting van de uitbraken van brucellose in België tussen 2010 en 2013 (bron : FAVV)

- Uitbraak van 2010 (H1-2010)

Op 30 november 2010 werd *Brucella* geïdentificeerd bij een rund afkomstig van een bedrijf in de provincie Luik na het verplichte brucellose onderzoek dat wordt uitgevoerd na een verwerping (uitbraak van 2010, H1-2010 genaamd). Via klassieke typering werd bevestigd dat het isolaat *Brucella abortus* biovar 3 betrof. Het bedrijf werd geblokkeerd, een beschermingsgebied werd afgebakend. Een serologische opsporing bij de runderen van de haard wees op 9 positieve dieren op 68 geteste runderen. Alle dieren van het beslag (104) werden afgeslacht. De bacteriologische cultuur van de lymfeklieren bleek positief te zijn voor 22 geslachte runderen van dit bedrijf.

Een serologische opvolging van 146 veebeslagen die in contact zijn geweest met de haard (contactbedrijven) werd uitgevoerd om de bron en eventuele verspreiding van de besmetting te achterhalen. De analyse van 12.917 monsters door seroagglutinaties, gevolgd door 9.285 ELISA analyses, resulteerde in 13 positieve runderen. Na verplichte slachting van deze runderen waren de bacteriologische culturen echter allemaal negatief.

Analyses van tankmelk van melkbedrijven werden op nationaal vlak uitgevoerd met gebruik van de ELISA (9.460 bedrijven) in 2011. 13 bedrijven hadden een positief resultaat op de tankmelk. Een grondige serologische opvolging van deze 13 bedrijven identificeerde één positief bevestigd dier, maar de bacteriologische cultuur van de lymfeklieren na het slachten was negatief. In 2011 was er geen enkele detectie van een nieuwe uitbraak.

- Uitbraken van 2012 (H1-2012 tot H6-2012)

Begin maart 2012 werd een nieuw geval van brucellose met *Brucella abortus* biovar 3 bevestigd in de provincie Namen in een beslag met zoogkoeien naar aanleiding van een verwerping (dood kalf) (1ste uitbraak van 2012, H1-2012 genaamd). Een serologisch onderzoek van het moederdier gaf een positief resultaat en bij de bacteriologische cultuur van het kalf werd de *Brucella* kiem geïsoleerd. Alle runderen van het bedrijf werden verplicht afgeslacht. 200 contactbedrijven werden onder toezicht geplaatst.

Het onder toezicht plaatsen van contactbedrijven betekent dat de runderen van deze bedrijven en hun gezondheidsstatus worden geblokkeerd, dat weidegang verboden is en dat twee serologische bilans moeten worden uitgevoerd met een interval van 6-8 weken. De maatregelen worden opgeheven in geval van gunstige resultaten na beide bilans.

Op 21 maart 2012 werd een tweede rund positief bevestigd voor *Brucella abortus* biovar 3 in een bedrijf in Oost-Vlaanderen dat onder toezicht was geplaatst als contactbedrijf van de eerste uitbraak van 2012 (2de uitbraak van 2012, H2-2012 genaamd). Het positief rund was afkomstig van de uitbraak H1-2012 van Namen. De runderen van dit beslag werden verplicht afgeslacht. De contactbedrijven van deze 2^e haard werden geïdentificeerd en onder bewaking geplaatst.

In april 2012 werd *Brucella abortus* biovar 3 aangetroffen in twee andere vleesbedrijven in de provincie Namen, die contactbedrijven waren van H1-2012 (derde en vierde uitbraak van 2012, genaamd H3-2012 en H4-2012). Alle runderen van deze bedrijven werden verplicht afgeslacht. De contactbedrijven van beide haarden werden geïdentificeerd en onder bewaking geplaatst.

In 2012 heeft het FAVV meerdere systematische screenings via tankmelk laten uitvoeren op alle melkveebedrijven. Er werden 9000 monsters op tankmelk geanalyseerd. Deze screening bracht één haard van brucellose aan het licht in de provincie Namen op 3 mei 2012. Alle runderen werden geslacht. In dit bedrijf werd *Brucella suis* biovar 2 geïdentificeerd bij een koe van 4 jaar zonder

klinische symptomen (5de haard van 2012, H5-2012 genaamd). Deze biovar wordt teruggevonden bij wilde dieren, hoofdzakelijk bij everzwijnen. Runderen zijn uitzonderlijk gastheer. Er is geen enkel epidemiologisch verband met de eerste 4 uitbraken van 2012.

Op 18 mei 2012 werd een 6de haard van *Brucella abortus* biovar 3 geïdentificeerd in de provincie Namen in een contactbedrijf van de eerste haard van 2012 (6de haard van 2012, F6-2012 genaamd) tijdens de tweede bilan die systematisch werd uitgevoerd in alle contactbedrijven. Alle runderen werden verplicht afgeslacht.

Een niet drachtig besmet vrouwelijk rund afkomstig van H1-2012 werd ook uitgevoerd naar Frankrijk, hetgeen leidde tot een haard in Frankrijk en de afslachting van 1200 runderen.

In juni 2012 heeft het FAVV tijdelijk (tot eind 2012) het verplicht aankooponderzoek voor brucellose opnieuw ingesteld voor alle aankopen van runderen ouder dan 18 maanden en voor runderen ouder dan 18 maanden die zullen deelnemen aan een wedstrijd of een tentoonstelling. Er werd ook beslist regelmatig analyses op de tankmelk van alle melkveebedrijven uit te voeren.

Er werden in totaal 6 haarden in 2012 gedetecteerd. Alle runderen van deze 6 uitbraken (1271 dieren) werden verplicht afgeslacht. 538 contactbedrijven van deze uitbraken werden geïdentificeerd en onder bewaking geplaatst. Alle bloedbilans van deze contactbedrijven waren gunstig. Ingevolge deze gunstige analyseresultaten werden de beschermende maatregelen die in de contactbedrijven van de uitbraken door *Brucella abortus* en door *Brucella suis* getroffen werden, in augustus 2012 opgeheven. België heeft zijn statuut "vrij van brucellose" behouden.

- Haard van 2013 (H1-2013)

Een nieuw geval van brucellose door *Brucella abortus* biovar 3 werd vastgesteld in een bedrijf met zoogkoeien in de provincie Namen op 18 januari 2013 (eerste uitbraak van 2013, genaamd H1-2013). Dit bedrijf was opgenomen in de winterscreening 2012-2013 en werd onderzocht als contactbedrijf van H1-2012. Tijdens het epidemiologisch onderzoek werd vastgesteld dat beide bedrijven (H1-2013 en H1-2012) met elkaar verbonden waren mogelijks door eenzelfde dierenarts die een keizersnede zou uitgevoerd hebben op een rund van H1-2013 gedurende de periode dat de bacterie in het bedrijf H1-2012 circuleerde (hypothese). De besmetting van het rund van H1-2013 zou hebben plaatsgevonden gedurende deze ingreep en de klinische symptomen zouden zich pas gemanifesteerd hebben in 2013. Deze uitbraak zou dus gelinkt zijn aan de vorige en het zou niet gaan om een nieuw geval. Dezelfde maatregelen als voordien werden toegepast in dit bedrijf (slachten van alle dieren, identificatie en onder toezicht plaatsen van de contactbedrijven). Deze haard, die een contactbedrijf van H1-2012 was, had ondanks alles twee negatieve serologische bilans in maart en in april 2012 ondergaan. Deze negatieve resultaten kunnen worden verklaard door het feit dat brucellose een ziekte is die na infectie lang latent aanwezig kan blijven bij een besmet dier met een negatieve serologie en het verduidelijkt waarom alle contactbedrijven gedurende minimum twee jaar⁸ moeten opgevolgd worden tijdens de winterscreenings.

⁸ Deze periode stemt overeen met twee reproductiecycli van de dieren

Bijlage 4: Definities

Contactbedrijf : bedrijf dat een contact gehad heeft met een haard. Het gaat om beslagen in de buurt van de haard of van zijn weiden, om veebeslagen die runderen uit de haard hebben aangekocht (tracing on), om veebeslagen van oorsprong van runderen van de haard (tracing back) en om veebeslagen die indirect contact hadden met de haard via de bruikleen van de veewagen, veehandelaars, prijskampen of dierenartsen, enz.

Door brucellose besmet rund: het rund waarbij laboratoriumonderzoeken de aanwezigheid van *Brucella* hebben aangetoond, of waarbij een positieve ELISA test werd bekomen door het Nationaal NRL. In het geval van een haard of in besmette of verdacht besmette bedrijven, het rund dat klinische symptomen van brucellose vertoont (koninklijk besluit van 6 december 1978).

Interpretatie van de serologie in het geval van Belgische haarden :

1. Een rund wordt "verdacht positief" verklaard op basis van een eerste analyse door DGZ/ARSIA via parallel uitgevoerde seroagglutinatie en commerciële ELISA (indien één van beide tests positief is wordt het rund "verdacht positief " verklaard)
2. Een rund wordt "bevestigd positief" verklaard op basis van een tweede analyse door het NRL via een "home made" bevestigings ELISA, waarvan het resultaat positief is
3. Een bedrijf wordt als "haard" verklaard op basis van een positieve bacteriologische cultuur uitgevoerd in het NRL.

Heropflakking: opflakking van de ziekte in een bedrijf waar de besmetting gedurende verschillende jaren "latent" en ongedetecteerd aanwezig was.

Van brucellose verdachte verwerping : elke verwerping of voortijdige kalving (kalving na de 260ste dag van de dracht maar vóór de einddatum met als resultaat een niet-levensvatbaar kalf) is verdacht van brucellose tot het tegendeel bewezen is. Bepaalde omstandigheden kunnen ertoe leiden dat de ene verwerping meer verdacht is voor brucellose dan de andere, namelijk: meerdere verwerpingen in hetzelfde bedrijf en in een korte tijdspanne ; ophouden van de nageboorte, ontsteking van de placenta; verwerping vanaf de 6de maand van de dracht, aanwezigheid van een stier met orchitis; aanwezigheid van risicofactoren.

Van brucellose verdacht rund : een rund dat, volgens het koninklijk besluit van 6 december 1978, ofwel :

- o verworpen heeft of symptomen vertoont die een verwerping voorafgaan of hierop volgen;
- o bij een ringtest op de melk een positieve reactie vertoont,
- o behoort tot een veebeslag waarvan de ringtest op een mengmelkmonster een positieve reactie vertoont;
- o bij serologisch onderzoek een agglutinatietiter gelijk aan of hoger dan 30 I.E. per milliliter heeft.

Verwerping : uitdrijving van een foetus of doodgeboren kalf of een kalf dat binnen de 48 uur na de geboorte sterft (wettelijke definitie in Frankrijk volgens het decreet van 24 december 1965⁹).

⁹ Decreet nr. 65-1166 van 24 december 1965 "portant règlement d'administration publique ajoutant à la nomenclature des maladies réputées contagieuses la brucellose dans l'espèce bovine, lorsqu'elle se manifeste par l'avortement, et prescrivant les mesures sanitaires applicables à cette maladie".

Bijlage 5: Stand van zaken i.v.m. de bewaking van brucellose bij gedomesticeerde runderen en in het wild levende fauna tussen 2001 en 2013 in België

Gedomesticeerde runderen

In 2001 en 2002 werd de bewaking als volgt uitgevoerd :

- alle vleesrunderen ouder dan 2 jaar werden één keer per jaar serologisch getest,
- de melkkoeien werden één keer per maand getest met een tankmelk onderzoek (melk ring test),
- alle dieren ouder dan één jaar werden serologisch getest bij aankoop en
- iedere aangegeven verwerping (of vroegtijdige geboorte) werd onderzocht op brucellose.

Voor de serologische opsporing werd een microagglutinatie uitgevoerd die, in het geval van een positief resultaat, gevolgd werd door verschillende testen: complementbindingtest, Rose Bengal test, ELISA of serologische herbemonsteringen voor verdere controle. In het geval van (terugkerende) positieve serologie werd een bacteriologisch bevestigingsonderzoek uitgevoerd na het slachten van het dier. Een huidtest kon uitgevoerd worden indien er bij de serologie verdenking was van vals positieve serologische resultaten.

In 2003 heeft België het "officieel brucellosevrij" statuut verkregen, wat het mogelijk heeft gemaakt om de frequentie van de testen te verminderen en het type test te veranderen.

Van 2003 tot 2009 werd de bewaking als volgt uitgevoerd :

- vleesrunderen ouder dan 2 jaar werden om de 3 jaar serologisch getest,
- melkkoeien werden minstens 4 keer per jaar getest op tankmelk (melk ring test),
- in 2003 en 2004 werden alle runderen ouder dan 1 jaar getest bij aankoop
- van 2005 tot 2009, werden alle vrouwelijke dieren ouder dan 1 jaar en alle dekstieren getest bij aankoop
- iedere aangegeven verwerping werd onderzocht op brucellose.

De serologische test bestond uit een microagglutinatietest die, in het geval van positief resultaat, gevolgd werd door een indirecte ELISA ter bevestiging. In geval van positieve serologie werd een bacteriologisch onderzoek uitgevoerd. Tot in 2003 kon een huidtest uitgevoerd worden indien er bij de serologie verdenking was van een vals positief resultaat.

Vanaf november 2009 heeft het FAVV het "abortusprotocol" gefinancierd. Dit voorziet dat iedere verwerping of vroegtijdige geboorte moet aangegeven worden en dat monsters voor verdere analyse moeten worden verzonden naar ARSIA/DGZ die de differentiële diagnose naar de oorzaken van verwerping uitvoert.

Eind 2009 werd, als gevolg van het behouden van het "officieel brucellosevrij" statuut gedurende 5 opeenvolgende jaren, het bewakingsprogramma versoepeld, hetgeen resulteerde in een gerichte bewaking van categorieën runderen met een verhoogd risico en een reductie van het totaal aantal uit te voeren onderzoeken (overgang van 450.000 individuele serologische testen in 2009 naar 43.000 testen in 2010). Dit "nieuw sanitair beleid" diende het mogelijk te maken om het brucellosevrije karakter van België te blijven aantonen en tegelijkertijd nieuwe haarden snel te detecteren (Richtlijn 64/432/EEG).

Vanaf 2010 en 2011 werd het nieuwe sanitaire beleid toegepast. Deze versoepeling van het brucellose bewakingsprogramma bestond eruit een beperkt aantal bloedmonsters te nemen bij bepaalde risicocategorieën van runderen en daarop een uitgebreid aantal testen uit te voeren voor verschillende dierenziekten waaronder een verplicht onderzoek voor brucellose:

- testen bij aankoop van alle dieren ouder dan 1 jaar die werden verhandeld vanuit niet officieel brucellosevrije Lidstaten of bij invoer uit derde landen;
- gedurende 3 opeenvolgende jaren opvolgingstesten uitvoeren naar aanleiding van de wintercampagne van alle dieren ouder dan 2 jaar die werden verhandeld vanuit niet officieel brucellosevrije Lidstaten of die werden ingevoerd vanuit derde landen;
- willekeurige selectie van 1100 veebeslagen voor serologisch onderzoek van meerdere ziekten (in 2010 uitzonderlijk geen brucellose- en leucosetesten omwille van het groot aantal testen dat eind 2009 nog werd uitgevoerd);
- willekeurige selectie van runderen voor testen bij aankoop in het kader van de nationale handel;
- willekeurige selectie van runderen voor testen bij aankoop in het kader van de handel met de officieel brucellosevrije Lidstaten.

Dit nieuwe sanitair beleid hield ook de toepassing van het "abortusprotocol" in.

Vanaf 2010 werden, om de aangifte en de analyses van verwerpingen te stimuleren, 750 veebeslagen (afwisselende aantal volgens de jaren) met een groot aantal geboortes en waarvoor sinds 3 jaar geen verwerpingen werden aangegeven at random geselecteerd en getest tijdens de winterscreenings.

Dit versoepeld bewakingsprogramma voorzag 43.000 onderzoeken:

- 5000 tot 8000 verwerpingen (abortusprotocol)
- 1000 runderen ingevoerd uit niet officieel brucellosevrije landen
- 2000 runderen uit de bovenvermelde categorie die gedurende 2 jaar werden opgevolgd in het kader van de winterscreening
- 8500 runderen ingevoerd uit officieel brucellosevrije landen
- 8500 testen bij aankoop in het kader van de nationale handel
- at random selectie van 750 veebeslagen waarvoor geen verwerping werd aangegeven, monster van 20 vrouwelijke runderen van meer dan 24 maanden (15.000 analyses)

De volgende analyses werden stopgezet vanaf 2010:

- systematisch testen van melkveebeslagen op tankmelk door middel van de milk ring test
- serologische monitoring om de 3 jaar van vleesrunderen ouder dan 2 jaar
- serologische testen bij aankoop van vrouwelijke dieren ouder dan 1 jaar en dekstieren. De test bij aankoop kan evenwel uitgevoerd worden op vrijwillige basis.

In 2010 werd een haard van brucellose (H1-2010) geïdentificeerd in de provincie Luik in het kader van het abortusprotocol. Voor de epidemiologische enquête werd een serologische opvolging van 146 contactbedrijven uitgevoerd. De analyse van 12.917 monsters door seroagglutinaties, gevolgd door 9.285 ELISA onderzoeken hebben 13 positieve runderen opgespoord. Na verplicht afslachten van deze runderen, zijn alle bacteriologische culturen echter negatief gebleken (verslag Trends and Sources report on zoonotic agents in Belgium 2010-2011). Naast de opvolging in de contactbeslagen werden in 2011 op nationaal niveau ELISA onderzoeken uitgevoerd op tankmelk van alle melkveebedrijven (9.460 bedrijven). 13 bedrijven hebben een positief ELISA resultaat op tankmelk aangetoond. Een grondige serologische opvolging van die 13 bedrijven heeft één dier dat als seropositief bevestigd werd aan het licht gebracht. De bacteriologische analyses van de lymfeklieren na slachting waren evenwel negatief (verslag Trends and Sources report on zoonotic agents in Belgium 2010-2011).

In 2012 werd beslist om de bewaking op brucellose op basis van tankmelkonderzoek opnieuw te intensifiëren. Een test op tankmelk werd in alle Belgische bedrijven in april 2012, in juni 2012 en in november 2012 uitgevoerd in het kader van een nationale "screening". Er werd ook beslist om de testen bij aankoop tijdelijk opnieuw in te voeren voor runderen ouder dan 18 maanden, alsook om runderen ouder dan 18 maanden te testen alvorens deel te nemen aan een prijskamp of aan een

tentoonstelling (tussen juli 2012 en eind 2012). Dit betekent min of meer 100.000 supplementaire onderzoeken. Geen enkel bijkomend geval van brucellose werd vastgesteld door middel van deze actieve bewaking.

In 2013 zijn de testen bij aankoop die in 2012 verplicht werden gesteld, na evaluatie niet meer uitgevoerd. In 2013 werden nog twee reeks analyses op tankmelk uitgevoerd.

Details over de brucellose bewaking in België kan teruggevonden worden in de « Trends and sources report on zoonotic agents in Belgium » rapporten die beschikbaar zijn op het internet van het FAVV (URL: <http://www.favv-afsca.fgov.be/thematischepublicaties/Report-zoonotic-agents-Belgium.asp>).

Wilde dieren

De bewaking van wilde dieren valt onder de bevoegdheid van de Gewesten. Bij wilde dieren is er ook een brucellose bewaking, maar deze gebeurt minder systematisch dan bij gedomesticeerde dieren, en meestal in het kader van het wetenschappelijk onderzoek. De beschikbaarheid van monsters is, in sommige programma's, afhankelijk van de jacht. Onder normale omstandigheden worden in Wallonië suidae en leporidae op brucellose bewaakt door het Réseau de surveillance sanitaire de la faune sauvage (RSSFS), waarbij *brucella suis* biovar 2 wordt onderzocht. In Vlaanderen wordt brucellose bij wilde dieren bewaakt door het Agentschap voor Natuur en Bos en worden de analyses uitgevoerd bij het NRL.

Tussen 2003 en 2007 werd in een studie, uitgevoerd op 1168 everzwijnen, aangetoond dat brucellose endemisch aanwezig is bij populaties van everzwijnen in het Waalse Gewest, met een schijnbare seroprevalentie van 55% en een prevalentie van isolatie van *B. suis* biovar 2 van 9% (Grégoire et al., 2012). Vroeger, in 1993, werden 141 everzwijnen bemonsterd in eenzelfde regio. De seroprevalentie van *Brucella suis* biovar 2 werd berekend op 39% en de prevalentie van isolatie van *B. suis* biovar 2 tot 9% (Godfroid et al., 1994). Dit serotype lijkt endemisch voor te komen bij everzwijnen en klinisch asymptomatisch te verlopen. Er is geen routinebewaking op brucellose bij hertachtigen.

Bijlage 6: Percentage van aangiften van verwerpingen in België

Schatting 1. Kolom B toont de evolutie van het aantal verwerpingen die aangegeven worden in België en die door ARSIA/DGZ onderzocht worden in het kader van het abortusprotocol (Abortussen labo) (bronnen : Trends and Sources 2010-2011 ; ARSIA, 2010-2014). Kolom C toont het aantal abortussen en kalveren (<50kg) die in de bedrijven door het destructiebedrijf opgehaald worden (Rendac gegevens). Kolom D toont het percentage van aangiften van verwerpingen in België.

A. Jaar	B. Abortussen labo DGZ+ARSIA	C. Abortussen Rendac (totaal kalveren < 50 kg)	D. Percentage aangifte
2008	4.184	156.278	2,6%
2009	3.504	150.768	2,2%
2010	6.645	152.832	4,1%
2011	8.164	149.674	5,1%
2012	11.324	144.883	7,2%
2013	9.506	137.536	6,4%
2014	10.577	121.999	7,9%

Schatting 2. In deze schatting werd het percentage van aangifte berekend door het aantal verwerpingen dat wordt aangegeven en onderzocht bij ARSIA/DGZ in het kader van het abortusprotocol (kolom B) te delen door het aantal runderen die vatbaar zijn voor verwerpen (vrouwelijke runderen ouder dan 24 maanden) (kolom C) (bron : barometer van het FAVV : <http://www.afsca.be/comitescientifique/barometre/santeanimale/mesure.asp>.)

A. Jaar	B. Abortussen labo DGZ + ARSIA	C. aantal runderen > 24 maanden	D. Percentage aangifte
2008	4.184	1.437.991	0,29%
2009	3.504	1.437.834	0,24%
2010	6.645	1.442.392	0,46%
2011	8.164	1.423.991	0,57%
2012	11.324	1.392.108	0,81%
2013	9.506	1.369.648	0,69%
2014	10.577	1.380.815	0,76%

Bijlage 7: Beschrijving van de drachtonderbrekingen

Drachtonderbrekingen kunnen het gevolg zijn van embryonale sterfte of van verwerping.

Embryonale sterfte kan gebeuren tijdens de embryonale fase (0 tot 45 dagen). In deze periode verloopt embryonale sterfte bijna altijd subklinisch, al dan niet samen met de uitdrijving van een *conceptus*.

De term "verwerping" is voorbehouden voor het uitdrijven van een foetus (*conceptus* ouder dan 45 dagen) vóór het moment waarop deze zelfstandig buiten de baarmoeder kan leven, dwz vóór de 260ste dag van de dracht. Wanneer de uitdrijving van de foetus effectief wordt vastgesteld, wordt de verwerping als « klinisch » beschouwd. Enkel klinische verwerpingen, vastgesteld door de veehouder of door de dierenarts (op basis ofwel van de uitdrijving van een foetus, ofwel van de observatie van een verlies van hemorragische vaginale uitvloeit of van een vroegtijdige terugkerende tochtigheid), kunnen in het kader van het abortusprotocol geanalyseerd worden. Ze vormen echter slechts een fractie van het werkelijk aantal verwerpingen. Immers, het is weinig waarschijnlijk dat foetussen jonger dan 150 dagen worden opgemerkt. Als men de totaalduur van de « risicoperiode » van de verwerping beschouwt (van de 45ste dag tot de 260ste dag van de dracht) ofwel 215 dagen, bedraagt de periode gedurende dewelke een klinische verwerping kan worden vastgesteld (110 dagen) slechts ongeveer de helft (zie schema hieronder). Dat betekent statistisch gezien dat iedere opgespoorde klinische verwerping overeenstemt met 1 subklinische verwerping.

