

ADVIES 07-2016

Betreft:

**Controle van lentivirus infecties  
op schapen- en geitenbeslagen**

(SciCom 2015/13)

Wetenschappelijk advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 22 april 2016

**Sleutelwoorden:**

lentivirus, schapen, geiten, kleine herkauwers, Maedi-Visna, caprine arthritis en encefalitis

**Key terms:**

lentivirus, sheep, goats, small ruminants, Maedi-Visna, Caprine Arthritis-Encephalitis

## Inhoud

Samenvatting.....	3
Executive summary .....	7
1. Referentietermen .....	10
1.1. Vraagstelling .....	10
1.2. Wettelijke bepalingen en beslissingsboom .....	11
1.3. Methodologie.....	11
2. Afkortingen .....	11
3. Inleiding en doelstelling.....	12
3.1. Context.....	12
3.2. Doelstelling .....	12
4. Risicobeoordeling .....	12
4.1. Huidige kennis met betrekking tot lentivirus infecties bij schapen en geiten.....	12
4.2. Antwoord op de verschillende vragen geformuleerd in de referentietermen.....	16
5. Conclusie.....	22
6. Aanbevelingen .....	22
Referenties .....	24
Leden van het Wetenschappelijk Comité.....	26
Belangenconflict .....	26
Dankbetuiging .....	26
Samenstelling van de werkgroep .....	27
Disclaimer .....	27

## Samenvatting

### Controle van lentivirus infecties op schapen- en geitenbeslagen

#### Achtergrond & referentietermen

Maedi-Visna (MV) en arthritis-encefalitis (CAE) zijn hardnekkige lentivirus infecties bij respectievelijk schapen en geiten, die samen worden gegroepeerd als de lentivirus infecties van kleine herkauwers (small ruminant lentiviruses, SRLVs). Deze lentivirussen bestaan uit diverse genotypes die frequent de species barrière overschrijden tussen schapen en geiten en die vaak een grote genetische variabiliteit vertonen. De meest schapen en geiten die geïnfecteerd zijn met lentivirussen, vertonen geen klinische ziekte maar blijven persistent geïnfecteerd en kunnen het virus overbrengen. Symptomen van de ziekte hebben een sluipend begin en een langzame progressie. Lentivirus infecties bij kleine herkauwers induceren een systemische infectie die verschillende doelorganen zoals longen, centraal zenuwstelsel, uier en gewrichten kunnen treffen. De ademhalings- en neurologische syndromen leiden tot cachexie en dood, hetzij door aantasting van de ademhalingsfunctie of van het zenuwstelsel. Door de lange incubatietijd kunnen lentivirussen op grote schaal worden verspreid in een bedrijf of in een regio voordat klinische gevallen worden vastgesteld.

De bestrijding van Maedi-Visna bij schapen en arthritis-encefalitis bij geiten is in België gebaseerd op een vrijwillig controleprogramma dat hoofdzakelijk bestaat uit certificering van SRLV negatieve bedrijven die serologisch geïdentificeerd worden. De seroprevalentie van lentivirus infectie bij schapen en geiten in België is niet gekend.

Met het oog op een wijziging en een vereenvoudiging van de bestaande wetgeving in verband met de controle van Maedi-Visna bij schapen en arthritis-encefalitis bij geiten worden de volgende vragen gesteld aan het Wetenschappelijk Comité:

1. Is het mogelijk om de algemene term 'de controle van lentivirus infecties bij schapen en geiten' te gebruiken in de nieuwe wetgeving in plaats van de afzonderlijke termen 'de controle van Maedi-Visna infectie bij schapen' en 'de controle van virale arthritis-encefalitis bij geiten' zoals in de huidige wetgeving?
2. Heeft het zin om een onderscheid te maken tussen schapen en geiten in de gezondheidscertificering voor lentivirus infecties? Hoe moet deze certificering worden toegepast op gemengde bedrijven?
3. Is het nodig om definities te voorzien in de nieuwe wetgeving voor Maedi-Visna en arthritis-encefalitis bij geiten?
4. De certificering van beslagen 'vrij van MV-CAE' is gebaseerd op serologische testen (eerste stap). Wordt de humorale reactie van schapen en geiten beïnvloed door de partusperiode (15 dagen vóór en na het lammeren)? Met andere woorden is er een verhoogde kans op valse resultaten bij toepassing van de ELISA tijdens deze periode?
5. Op dit ogenblik bedraagt de minimum leeftijd voor serologisch onderzoek 1 jaar. Op die leeftijd worden zelden positieve dieren gedetecteerd. Wat is het risico voor vals-negatieve serologische bedrijfstenen als de minimumleeftijd voor het testen wordt vastgelegd op 2 jaar?
6. Van zodra een beslag beantwoordt aan de voorwaarden voor een 'vrij van MV-CAE' status kan het certificaat twee maal worden verlengd met één jaar. Daaropvolgende serologische testen met

2 jaar interval zijn noodzakelijk. Wat is het risico voor het missen van seropositieve dieren als dit interval wordt verlengd?

7. De serologische testen voor verlenging van het certificaat 'vrij van MV-CAE' moet worden uitgevoerd op 50 % van de dieren in een bedrijf met een minimum van 50 dieren. Wat is het risico voor het missen van seropositieve dieren indien minder dan 50 % van de dieren wordt getest?

8. Wat is het risico van het missen van seropositieve dieren als er geen serologische test wordt uitgevoerd bij het opstarten van nieuwe beslagen met enkel dieren afkomstig uit één of meerdere beslagen met een vrije status?

9. Is de infectie overdraagbaar tussen schapen en geiten? Volstaat één gezondheidscertificaat (voor één diersoort) als de beide diersoorten zich samen op hetzelfde bedrijf bevinden?

10. Heeft het Wetenschappelijk Comité opmerkingen met betrekking tot de diagnostische beslissingsboom?

11. Is het mogelijk om bij een positieve ELISA het aantal controles te verminderen (ELISA + immunodiffusietest + PCR) om de infectie te bevestigen of te weerleggen?

## Methodologie

Dit advies is gebaseerd op gegevens uit de wetenschappelijke literatuur, expert opinie en op de resultaten van het Maedi-Visna controleprogramma in België, bekomen van het CODA.

## Antwoorden op de gestelde vragen

Studies hebben bevestigd dat CAEV en MV, die oorspronkelijk beschouwd werden als soortspecifieke ziekteverwekkers bij respectievelijk geiten en schapen vaak de soortbarrière doorbreken en de nieuwe gastheer infecteren, erin vermeerderen en de infectie verspreiden. Volgens het Wetenschappelijk Comité is er substantieel bewijs in de wetenschappelijke literatuur voorhanden om aan te nemen dat het Maedi-Visna virus bij schapen en het arthritis-encefalitis virus bij geiten tot dezelfde groep behoren van de lentivirussen van kleine herkauwers.

Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om de term 'lentivirus infecties van kleine herkauwers' in de nieuwe wetgeving te gebruiken, in plaats van een onderscheid te maken tussen Visna Maedi bij schapen en arthritis-encefalitis bij geiten.

Het Wetenschappelijk Comité pleit ervoor om geen onderscheid te maken tussen schapen en geiten in de nieuwe wetgeving en in de gezondheids certificering aangezien beide diersoorten kunnen worden geïnfecteerd door dezelfde lentivirussen. In het geval van gemengde bedrijven is het raadzaam om beide diersoorten te testen vooraleer het bedrijf 'lentivirus vrij' kan beschouwd worden daar de prevalentie, de historiek en de gevoeligheid voor infecties kunnen verschillen tussen beide diersoorten in hetzelfde beslag.

Serologische diagnostische methoden worden als het meest geschikt beschouwd om lentivirus infecties bij kleine herkauwers op te sporen. Echter, de natuurlijke immunrespons is traag en variabel, antilichaamconcentraties kunnen fluctueren in de tijd en sommige dieren ontwikkelen geen antilichaamrespons na infectie. Deze vaststellingen samen met de antigenen verschillen tussen circulerende stammen en de virale eiwitten die in de diagnostische testen worden gebruikt, vormen

een verklaring waarom serologische testen niet altijd even adequaat de besmettingsstatus van schapen en geiten bepalen. Het Wetenschappelijk Comité is daarentegen van mening dat er geen wetenschappelijk bewijs is in verband met lentivirusinfecties bij schapen en geiten dat aantoont dat het resultaat van het serologisch onderzoek zou worden beïnvloed tijdens de peri-partum periode.

De accurate diagnose van lentivirus infectie bij kleine herkauwers is van groot belang in het kader van de doeltreffendheid van een bestrijdingsprogramma. De meeste dieren raken op jonge leeftijd besmet, door het drinken van besmette colostrum of melk. Het virus kan zich ook verspreiden langs de luchtwegen bij nauw contact tussen de dieren. De incubatietijd van Maedi is meestal meer dan twee jaar; klinische symptomen ontwikkelen gewoonlijk wanneer dieren drie tot vier jaar oud zijn. De incubatietijd van Visna is iets korter en symptomen kunnen optreden in schapen jonger dan twee jaar. Seroconversie gebeurt daarentegen meestal enkele maanden na infectie.

Op dit ogenblik bedraagt de minimum leeftijd voor serologisch onderzoek 1 jaar. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan de testleeftijd niet uit te stellen tot de leeftijd van 2 jaar omdat dit het risico zal verhogen voor het missen van de verspreiding van lentivirussen in beslagen van schapen en geiten.

Uit het Belgische certificeringsprogramma blijkt dat tussen 2010 en 2014 6,4 % van de 'vrije' schapenhouderijen en 8,3 % van de 'vrije' geitenhouderijen hun status hebben verloren na serologische controle op 24 maanden. Dit suggereert dat binnen een periode van 24 maanden, de ziekte zich kan verspreiden naar andere dieren en mogelijks naar andere bedrijven. Volgens het Wetenschappelijk Comité zal de verlenging van het interval tussen testen de kans verhogen dat er meer dieren en andere bedrijven worden blootgesteld aan het virus via contact of via de aankoop van latent besmette dieren.

Op dit ogenblik moeten de serologische tests voor de verlenging van de 'vrij van MV-CAE' status van een bedrijf worden uitgevoerd op 50 % van de dieren met een minimum van 50 dieren. Het verminderen van het bemonsteringspercentage zal de kans op het opsporen van seropositieve dieren verminderen. Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om een risico gebaseerd bemonsteringsplan toe te passen op de beslagen gebaseerd op de huidige steekproefgrootte. Risicodieren zijn dieren die nieuw geïntroduceerd werden in het beslag, dieren die gevoederd werden met onbehandelde colostrum van onbekende oorsprong en dieren met klinische symptomen zoals lusteloosheid, afwezigheid van eetlust, manken of met chronische mastitis.

Ondanks het feit dat dieren worden aangekocht van een boerderij met een vrije status, bestaat het risico dat er SRLV besmette dieren aanwezig zijn vanaf de opstart van nieuwe beslagen. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat pas bevolkte beslagen in staat moeten zijn om een soortgelijke vrije status als van het beslag van oorsprong te verkrijgen, mits zij het volledige controleprogramma volgen vanaf de opstart. Dit controleprogramma is gebaseerd op de resultaten van opeenvolgende serologische controles zoals beschreven in het koninklijk besluit van 24 maart 1993 (schapen) en het koninklijk besluit van 27 november 1997 (geiten).

Het is aangetoond dat overdracht van lentivirussen tussen schapen en geiten voorkomt. Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat in de gemengde beslagen (schapen en geiten) de status van het beslag afhankelijk moet zijn van de status van beide beslagen, hetgeen betekent dat beide diersoorten moeten worden bemonsterd om een officieel vrije status te bekomen of te behouden.

De certificering van beslagen is gebaseerd op een logische sequentiële bemonstering en testplan beschreven in de diagnostische beslissingsboom. De toevoeging van PCR-analyse betekent een toegevoegde waarde voor het bepalen van de status van het dier. Daarom is het aan te raden dat de diagnostische beslissingsboom is gebaseerd op meerdere / sequentiële testen, inclusief PCR.

## Conclusie

Lentivirussen van kleine herkauwers maken deel uit van een zeer heterogene groep van lentivirussen die aanleiding kunnen geven tot verschillende traag evoluerende ziektebeelden afhankelijk van de diersoort, de virulentie van de virus stam en de productie omstandigheden. Om deze infecties onder controle te houden is het eerst nodig om geïnfecteerde beslagen en dieren correct te identificeren door middel van periodiek uitgevoerde betrouwbare testen. Het succes van een vrijwillig controleprogramma zal afhangen van de aanvankelijke seroprevalentie in het beslag en in de Belgische schapen en geitenpopulatie, van de strikte uitvoering van de bioveiligheidsmaatregelen in de individuele beslagen en van de kosten / batenverhouding van het controleprogramma voor individuele schapen- en geitenhouders.

## Executive summary

### Control of lentivirus infection in sheep and goat flocks

#### Background & Terms of reference

Maedi-Visna (MV) and Caprine Arthritis-Encephalitis (CAE) are persistent lentivirus infections of respectively sheep and goats which are grouped together as the small ruminant lentiviruses (SRLVs). These lentiviruses include diverse genotypes that frequently cross the species barrier between sheep and goats and that display a great genetic variability. Most lentivirus infected sheep and goats do not exhibit clinical disease but remain persistently infected and are able to transmit the virus. Symptoms of the disease have an insidious onset and a slow progression. Small ruminant lentiviruses induce a systemic infection in sheep and goats that may affect different target organs, such as lungs, central nervous system, mammary gland and joints. The respiratory and neurologic syndromes lead to a cachectic stage and death, either by impairment of the respiratory function or by a general alteration of the nervous system. Due to the long incubation time lentiviruses can be widely spread in a holding or region before clinical cases are observed.

The control of Maedi-Visna in sheep and Caprine Arthritis-Encephalitis in goats in Belgium is based on a voluntary program mainly consisting of certification of SRLV negative holdings identified by serological testing. The true seroprevalence of lentivirus infection in sheep and goat holdings in Belgium is actually unknown.

In order to prepare a modification and a simplification of the existing legislation in regard with the control of Maedi-Visna in sheep and Caprine Arthritis Encephalitis in goats the following questions are asked to the Scientific Committee:

1. Is it possible to use the general term 'control of lentivirus infections in sheep and goats' in the modified legislation instead of using separate terms for 'the control of Maedi-Visna infection in sheep' and 'the control of viral Caprine Arthritis-Encephalitis infection in goats' as is used in the actual legislation?
2. Does it make sense to distinguish between sheep and goats in the health certification for lentivirus infection? How to deal with mixed holdings?
3. Is it necessary to provide definitions for Maedi-Visna and Caprine Arthritis-Encephalitis in the new legislation?
4. The certification of flocks 'free from MV-CAE' is based on serological testing (first step). Is the humoral response of sheep and goats influenced by the parturition period (15 days before and after lambing)? In other words is there an increased chance of false results by applying an ELISA during that period?
5. Actually the minimum age for serological testing is 1 year. At that age positive animals are seldomly detected. What is the risk for false seronegative flock testing if the minimum age for testing is set at 2 years of age?
6. Once a flock has met the certification conditions for a 'free from MV-CAE' status the certificate can be prolonged twice with one year. Subsequent serological testing with 2 years interval is necessary. What is the risk for missing seropositive animals if this interval is prolonged?

7. The serological testing for prolongation of the flock's certificate 'free from MV-CAE' must be executed on 50 % of the animals in a holding with a minimum of 50 animals. What is the risk for missing seropositive animals if less than 50 % of the animals are tested?
8. What is the risk of missing seropositive animals if no serological testing is done at the start-up of new flocks with only animals from one or more flocks with a free status?
9. Is the infection transmissible between sheep and goats? Is one certificate (for one species) sufficient if both species are present on the same flock?
10. Has the Scientific Committee any remarks with regard to the diagnostic decision tree?
11. In case of a positive ELISA, is it possible to reduce the number of control tests (ELISA + immune-diffusion test + PCR) to confirm or refute the infection?

## Methodology

This opinion is based on evidence from scientific literature, expert opinion and on the results of the Maedi-Visna control program in Belgium, obtained from CODA-CERVA.

## Answers to the questions

Studies have confirmed that CAEV and VMV, originally established as specific pathogens in goats and sheep respectively, often cross the species barrier infecting the new host, persisting in it and spreading across the new host population. According to the Scientific Committee there is substantial evidence in scientific literature to consider that Maedi-Visna virus in sheep and Caprine Arthritis-Encephalitis virus of goats belong to the same group of small ruminant lentiviruses.

The Scientific Committee recommends using the term 'small ruminant lentivirus infections' as common name in the new legislation, instead of making a differentiation between Visna Maedi virus in sheep and Caprine Arthritis-Encephalitis virus in goats.

The Scientific Committee recommends not to make a distinction between sheep and goats in the new legislation and in the health certification as both species can be infected by the same lentiviruses. In case of mixed holdings it is recommended to test both species before declaring the holding 'lentivirus free' as prevalence, historical background and sensitivity to infection may be different between sheep and goat flocks.

Serological diagnostic methods are considered to be most convenient to detect small ruminant lentivirus infections. However, the natural immune response is slow and variable, antibody concentrations can fluctuate over time and some animals do not develop an antibody response after infection. This, together with antigenic differences between circulating strains and viral proteins used in the diagnostic tests, makes that serological tests do not always correctly determine the infection status of sheep and goats. Furthermore, the Scientific Committee is of the opinion that there is no scientific evidence related to lentivirus infection in sheep and goats showing that the result of serological testing is influenced during the peri-parturient period.

Accurate diagnosis of small ruminant lentivirus infection is of major importance in terms of the results of control programs. Most animals become infected early in life, after drinking infected colostrum or milk. The virus can also spread during close contact, probably by the respiratory route.



The incubation period for Maedi is usually more than two years; clinical signs typically develop when animals are three to four years old. The incubation period for Visna is somewhat shorter and symptoms can appear in sheep as young as two years. Seroconversion on the other hand generally occurs a few months after infection.

Actually the minimum age for serological testing is 1 year. The Scientific Committee recommends not to postpone the age of testing to 2 years because it will increase the probability of missing lentivirus spread in sheep and goat holdings.

Data from the Belgian certification program between 2010 and 2014 show that 6,4 % of the free sheep holdings and 8,3 % of the free goat holdings lose their free status after serological control at 24 months. This suggests that within a 24 month period, the disease can spread to other animals and potentially to other holdings. Prolonging the interval of testing will increase the probability that more animals and other holdings become exposed to the virus via contact or via purchase of latently infected carrier animals.

Actually the serological testing for the prolongation of the 'free from MV-CAE' holding certificate must be executed on 50 % of the animals in a holding with minimum of 50 animals. Applying decreasing sampling rates will diminish the probability of detecting seropositive animals. The Scientific Committee recommends to apply a risk-based sampling plan within the flock based on the actual sample sizes. Animals at risk are newly introduced animals, animals fed with untreated colostrum of unknown origin and animals with clinical symptoms such as unthriftiness, inappetence, lameness or chronic mastitis.

Despite the fact that animals are bought from a farm with a free status, the risk exists that SRLV infected animals are present from the start-up. The Scientific Committee is of the opinion that newly populated holdings should be able to get a similar free status of the herds of origin provided that they run the complete control program from the start. This control program is based on successive serological controls as described in the royal decree of 24<sup>th</sup> March 1993 (sheep) and in the royal decree of 27<sup>th</sup> November 1997 (goats).

Cross-species transmission of lentiviruses between sheep and goats has been shown to occur. The Scientific Committee is of the opinion that in mixed holdings (sheep and goats) the status of the holding should depend on the status of both flocks meaning that both species should be sampled to obtain or maintain an officially free status.

The certification of flocks is based on a logical sequential sampling and testing scheme described in the diagnostic decision tree. The addition of PCR analysis has an added value for determining the status of the animal. Hence it is recommended that the diagnostic decision tree is based on multiple/sequential testing including PCR.

## Conclusion

Small ruminant lentiviruses are part of a very heterogeneous group of lentiviruses which can give rise to various slow-evolving syndromes depending on the species, the virulence of the viral strain and the production conditions. In order to control these infections, it is first necessary to correctly identify infected animals and herds by means of periodically executed reliable tests. The success of a voluntary control program will depend on the initial seroprevalence in the herd and in the Belgian sheep and goat population, on the strict implementation of individual flock biosecurity measures and on the cost/benefit balance of the control program for individual holders.

## 1. Referentietermen

### 1.1. Vraagstelling

Ten einde een wijziging voor te bereiden van de bestaande wetgeving met betrekking tot de controle van Maedi-Visna (MV) bij schapen en virale arthritis-encefalitis bij geiten (CAE) en een vereenvoudiging na te streven van de procedure voor certificatie van beslagen 'vrij van Maedi-Visna / virale arthritis-encefalitis bij geiten' worden de volgende vragen gesteld namens de Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Voedselveiligheid en Leefmilieu:

1. Is het mogelijk om de algemene term 'de controle van lentivirus infecties bij schapen en geiten' te gebruiken in de nieuwe wetgeving in plaats van de afzonderlijke termen 'de controle van Maedi-Visna infectie bij schapen' en 'de controle van virale arthritis-encefalitis bij geiten' zoals in de huidige wetgeving?
2. Heeft het zin om een onderscheid te maken tussen schapen en geiten in de gezondheids Certificering voor lentivirus infecties? Hoe moet deze certificering worden toegepast op gemengde bedrijven?
3. Is het nodig om definities te voorzien in de nieuwe wetgeving voor Maedi-Visna en arthritis-encefalitis bij geiten?
4. De certificering van beslagen 'vrij van MV-CAE' is gebaseerd op serologische testen (eerste stap). Wordt de humorale reactie van schapen en geiten beïnvloed door de partusperiode (15 dagen vóór en na het lammeren)? Met andere woorden is er een verhoogde kans op valse resultaten bij toepassing van de ELISA tijdens deze periode?
5. Op dit ogenblik bedraagt de minimum leeftijd voor serologisch onderzoek 1 jaar. Op die leeftijd worden zelden positieve dieren gedetecteerd. Wat is het risico voor vals-negatieve serologische bedrijfstenen als de minimumleeftijd voor het testen wordt vastgelegd op 2 jaar?
6. Van zodra een beslag beantwoordt aan de voorwaarden voor een 'vrij van MV-CAE' status kan het certificaat twee maal worden verlengd met één jaar. Daaropvolgende serologische testen met 2 jaar interval zijn noodzakelijk. Wat is het risico voor het missen van seropositieve dieren als dit interval wordt verlengd?
7. De serologische testen voor verlenging van het certificaat 'vrij van MV-CAE' moet worden uitgevoerd op 50 % van de dieren in een bedrijf met een minimum van 50 dieren. Wat is het risico voor het missen van seropositieve dieren indien minder dan 50 % van de dieren wordt getest?
8. Wat is het risico van het missen van seropositieve dieren als er geen serologische test wordt uitgevoerd bij het opstarten van nieuwe beslagen met enkel dieren afkomstig uit één of meerdere bedrijven met een vrije status?
9. Is de infectie overdraagbare tussen schapen en geiten? Volstaat één gezondheids certificaat (voor één diersoort) als de beide diersoorten zich samen op hetzelfde bedrijf bevinden?
10. Heeft het Wetenschappelijk Comité opmerkingen met betrekking tot de diagnostische beslissingsboom?

11. Is het mogelijk om bij een positieve ELISA het aantal controles te verminderen (ELISA + immunodiffusietest + PCR) om de infectie te bevestigen of te weerleggen?

### 1.2. Wettelijke bepalingen en beslissingsboom

Op dit ogenblik is de controle van respectievelijk Maedi-Visna infectie bij schapen en caprine arthritis-encefalitis bij geiten gebaseerd op 2 afzonderlijke koninklijke en ministeriële besluiten en op 2 beslissingsbomen:

- Koninklijk besluit van 23 maart 1993 betreffende de inrichting van de zwoegerziektebestrijding bij het schaap.
- Koninklijk besluit van 27 november 1997 betreffende de inrichting van de bestrijding van virale caprine arthritis encefalitis.
- Ministerieel besluit van 11 mei 2005 houdende organisatie van de diagnose van zwoegerziekte bij schapen.
- Ministerieel besluit van 11 mei 2005 houdende organisatie van de diagnose van virale caprine arthritis encefalitis.
- Beslissingsbomen voor certificering van schapen- en geitenbeslagen 'Vrij van VM of CAE'.

### 1.3. Methodologie

Dit advies is gebaseerd op bewijzen uit de wetenschappelijke literatuur, op expert opinie en op de resultaten van het Maedi-Visna controle programma in België, bekomen van het CODA-CERVA.

## 2. Afkortingen

MV	Maedi-Visna
MVV	Maedi-Visna virus
CAE	Caprine Arthritis-Encefalitis
CAEV	Caprine Arthritis-Encefalitis virus
SRLV	Lentivirus van kleine herkauwers (Small Ruminant Lenti Virus)
CODA-CERVA	Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
FODVVL	Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Voedselveiligheid en Leefmilieu

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergaderingen van 19 oktober 2015 en gedurende de plenaire zittingen van het Wetenschappelijk Comité van 18 maart 2016 en 22 april 2016,

## **geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies:**

### **3. Inleiding en doelstelling**

#### **3.1. Context**

De controle van Maedi-Visna bij schapen en arthritis-encefalitis bij geiten in België is gebaseerd op een vrijwillig programma dat voornamelijk bestaat uit certificatie van SRLV (Small Ruminant Lenti Virus)-negatieve beslagen die worden geïdentificeerd door middel van serologische testen die gebruik maken van agar gel-immunodiffusie (AGID) en ELISA. Alle schapen- en geitenkwekers kunnen vrijwillig deelnemen aan het programma. In de praktijk nemen enkel stamboekfokkers effectief deel aan het controleprogramma. De certificatie van SRLV-negatieve bedrijven maakt een onderscheid tussen beslagen van schapen en geiten. Sinds 2013 worden nieuwe diagnostische beslissingsbomen gebruikt: één voor schapen en één voor geiten.

De sector van de kleine herkauwers pleit voor verdere vereenvoudiging van de procedure voor de gezondheidscertificatie van schapen- en geitenbedrijven en van de voorwaarden om de ziektevrrije status te behouden. De sector heeft een aantal praktische suggesties gedaan om de huidige procedures te vereenvoudigen. Deze suggesties werden door de Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de voedselketen en Leefmilieu geherformuleerd als vragen aan het Wetenschappelijk Comité om een wijziging van de bestaande wetgeving voor te bereiden.

#### **3.2. Doelstelling**

De doelstelling van dit advies bestaat eruit een stand van zaken op te maken van de controle van lentivirus infecties bij schapen en geiten en een wetenschappelijk gebaseerd antwoord te formuleren op de verschillende vragen.

### **4. Risicobeoordeling**

#### **4.1. Huidige kennis met betrekking tot lentivirus infecties bij schapen en geiten**

##### **4.1.1. Gevarenidentificatie & gevarenkarakterisering**

###### **Het virus**

Volgens de OIE (2008) zijn Maedi-Visna (MV) en caprine arthritis-encephalitis (CAE) persistente lentivirusinfecties bij respectievelijk schapen en geiten die vaak samen worden gegroepeerd als lentivirussen van kleine herkauwers (SRLV's). Het Maedi-Visnavirus werd voor het eerst ontdekt in 1960 bij schapen met een chronische ziekte gekenmerkt door zwoegende ademhaling ('Maedi') en uitputting ('Visna'). CAE werd later, in 1974, beschreven. Naar MVV en CAEV wordt momenteel verwezen als lentivirussen van kleine herkauwers omwille van de fylogenetische verwantschap en de

natuurlijke interspecies overdracht tussen schapen en geiten (Ramirez et al., 2013; Pisoni et al., 2005).

Lentivirussen bij schapen en geiten behoren tot de *Retroviridae* familie die is onderverdeeld in 7 genussen: Alpharetrovirus, Betaretrovirus, Deltaretrovirus, Gammaretrovirus, Epsilonretrovirus, Spumaretrovirus en Lentivirus (Leroux et al., 2010). The SRLV-groep bevat MVV (Maedi-Visna Virus) dat initieel werd geïsoleerd uit schapen en CAEV (caprine arthritis-encephalitis virus) dat initieel werd geïsoleerd uit geiten.

MVV en CAEV werden vroeger beschouwd als twee verschillende virale entiteiten, al naargelang de diersoort (schapen versus geiten) waaruit ze werden geïsoleerd. De voorbije 15 jaar hebben sequentieanalyses en fylogenetische reconstructies gebaseerd op volledige en gedeeltelijke sequenties van SRLV duidelijk aangetoond dat ze in feite deel uitmaken van een viraal continuüm met bewijs van soortoverschrijdende overdracht. Zoals andere RNA-virussen hebben SRLV snel evoluerende genomen (Leroux et al., 2010).

Volgens Mungujon et al. (2015) omvatten lentivirussen bij kleine herkauwers virussen met diverse genotypes die frequent de speciesbarrière tussen schapen en geiten doorbreken en die een grote genetische variabiliteit tentoonspreiden. Virale genotypes van SRLV's zijn geclassificeerd in 5 groepen (A,B,C,D,E) waarvan groep A, B en E zijn onderverdeeld in verscheidene subtypes (Ramirez et al. 2013). Schapen kunnen een bron vormen van SRLV-overdracht op geiten en vice versa.

## De ziekte

Maedi-Visna is een chronische virale ziekte bij schapen die wordt veroorzaakt door lentivirussen en klinisch wordt gekenmerkt door chronische progressieve pneumonie met kortademigheid en uitputting. CAE is een chronische virale ziekte bij geiten die wordt veroorzaakt door lentivirussen en klinisch wordt gekenmerkt door polysynovitis-arthritis, encefalomyelitis, chronische interstitiële pneumonie, chronische mastitis en gewichtsverlies.

De meeste schapen en geiten die besmet zijn met lentivirussen vertonen geen klinisch ziektebeeld, maar zijn persistent geïnfecteerd en kunnen het virus overdragen. Symptomen van de ziekte kennen een sluipend begin en een trage vooruitgang. De incubatieperiode voor Maedi is gewoonlijk langer dan twee jaar; klinische tekenen komen meestal tot ontwikkeling wanneer de dieren drie tot vier jaar oud zijn. De incubatieperiode voor Visna is ietwat korter en symptomen kunnen verschijnen bij schapen vanaf de leeftijd van twee jaar. MV kan wijd verspreid voorkomen in een beslag voordat er klinische gevallen worden vastgesteld. CAEV-encefalitis doet zich vooral voor bij jonge dieren tussen 2 en 6 maanden (OIE, 2008). De lange incubatieperiode is een bemoeilijkende risicofactor voor de virale verspreiding tijdens de bewakings-, diagnose- en controle-inspanningen

Volgens Minguijon et al. (2015) induceren lentivirussen van kleine herkauwers een systemische infectie bij schapen en geiten die verschillende doelorganen kan treffen, zoals de longen, het centraal zenuwstelsel, de uier en de gewrichten. De klinische aandoening lijkt af te hangen van het tropisme van de virusstam, de getroffen soort en de genetische achtergrond van ieder ras of ieder dier. Over het algemeen is één van de doelorganen het meest aangetast, maar het is niet zeldzaam dat verschillende organen in hetzelfde dier getroffen zijn met een gevarieerde ernst. Zowel bij geiten als schapen leiden alleen de ademhalings- en neurologische syndromen tot cachexie en de dood, hetzij door aantasting van de ademhalingsfunctie of door een algemene aantasting van het zenuwstelsel. Het locomotorisch en het mammair syndroom alleen leidt over het algemeen niet tot cachexie of de dood, hoewel deze syndromen verschillende graden van problemen kunnen veroorzaken (vooral aan het bewegingsstelsel bij geiten) of een verminderde melkproductie die leidt tot ondervoede schapen-

of geitenlammeren. Dieren met aantasting van het bewegingsstelsel of van de uier worden vroegtijdig geruimd omwille van suboptimale productie.

Klinische en subklinische MV en CAE worden geassocieerd met progressieve, inflammatoire mononucleaire letsels in de longen, de gewrichten, de uier en het centrale zenuwstelsel (OIE). Chronische mastitis komt veel voor bij beide soorten. Een moeizame ademhaling geassocieerd met uitmergeling die wordt veroorzaakt door progressieve longontsteking zijn de voornaamste kenmerken bij klinisch besmette schapen, terwijl polyarthritis het voornaamste symptoom is bij geiten. De schapen en geiten die besmet zijn met lentivirussen vertonen echter grotendeels geen symptomen, maar blijven persistente dragers van het virus en kunnen de infectie doorgeven via colostrum of melk of ademhalingssecreties : het bestaan van gezonde dragers maakt het toezicht, de diagnosestelling en de controle nog moeilijker.

## Diagnose

Door de lange incubatietijd kunnen lentivirussen op grote schaal worden verspreid in een bedrijf of in een regio voordat klinische gevallen worden vastgesteld. Gewoonlijk kennen de symptomen van de ziekte een sluipend begin en een trage progressie. Aangezien de voornaamste doelorganen van lentivirussen bij kleine herkauwers de gewrichten, de longen, het centrale zenuwstelsel en de uier zijn, dienen deze voorkeursplaatsen zorgvuldig te worden gecontroleerd tijdens het klinisch onderzoek om zo mogelijk letsels te detecteren.

Serologische diagnostische testen die specifieke antilichamen detecteren in besmette dieren worden beschouwd als de meest geschikte methodes om infecties met lentivirussen bij kleine herkauwers op te sporen (de Andrés et al., 2005). Lentivirussen van kleine herkauwers produceren gewoonlijk persistente infecties die tot na de eerste twee weken van besmetting een opspoorbare immuunrespons kunnen uitlokken (Simard and Briscoe, 1990). Echter, de natuurlijke immuunrespons is traag en variabel, antilichaamconcentraties kunnen fluctueren in de tijd en sommige dieren ontwikkelen geen antilichaamrespons na infectie. Al deze redenen, samen met antigenen verschillen tussen circulerende stammen en virale eiwitten gebruikt in diagnostische testen zorgen ervoor dat serologische testen niet altijd correct de infectiestatus van schapen en geiten bepalen (Ramirez et al., 2013).

Vals-positieve resultaten kunnen ook worden verkregen tijdens de levensduur van het dier (Brinkhof en van Maanen, 2007) en er kan ook diagnostische interferentie opduiken omwille van antilichamen die bij lammeren passief worden verworven via het colostrum (Cutlip et al., 1988). Recent heeft de vaccinatie tegen blauwtong met zwak gezuiverde geïnactiveerde vaccins in verschillende Europese landen vals-positieve resultaten gegeven bij ELISA. (Valas et al., 2011).

Er werden verschillende technieken gebruikt om antilichamen tegen lentivirussen bij kleine herkauwers op te sporen, maar geen enkele techniek kan worden beschouwd als de 'gouden standaard' (de Andrés et al., 2005). Agar gel-immunodiffusie (AGID) en ELISA zijn de testen die worden voorgeschreven voor internationale handel, terwijl western blotting (WB), radio-immunoassays (RIA) en radio-immunoprecipitatieassays (RIPA) complexer zijn en alleen werden gebruikt als bevestigingstesten (de Andrés et al., 2005; Herrmann-Hoesing, 2010). AGID wordt beschouwd als zeer specifiek, maar minder gevoelig dan ELISA (Synge and Ritchie, 2010) en daarom wordt AGID tegenwoordig bijna uitsluitend gebruikt om ELISA-resultaten te bevestigen. Indirecte ELISA-testen worden grotendeels gebruikt voor de diagnose van lentivirussen bij kleine herkauwers.

Breed-reagerende ELISA's zijn interessant om toe te passen in controleprogramma's van lentivirussen bij kleine herkauwers. Over het algemeen werden ELISA's als meer gevoelig bevonden dan PCR-technieken, behalve bij jonge dieren (Alvarez et al., 2006; Muz et al., 2012) en bij recente

infecties in het algemeen. In deze gevallen kan een combinatie van beide technieken, hoewel de diagnose daardoor duurder worden, worden gebruikt om alle gevallen te ontdekken (met inbegrip van vroege infecties) en het risico te vermijden dat geïnfecteerde individuele dieren achterblijven in het bedrijf.

Maedi-Visna kan worden gediagnosticeerd door middel van nucleïnezuurdetectietechnieken zoals PCR-testen (polymerase chain reaction), Southern blotting en *in situ* hybridisatie. PCR-testen worden in sommige laboratoria gebruikt voor snelle diagnose. De Regge en Cay (2013) ontwikkelden een q (RT)-PCR-test die het mogelijk maakt om SRLV-stammen op te sporen die behoren tot genotype A-stammen van verschillende landen. PCR-testen bieden het voordeel dat ze het mogelijk maken om geïnfecteerde dieren onmiddellijk na infectie en hun hele leven lang daarna op te sporen. De gevoeligheid van deze testen kan echter worden gehinderd door de lage virale lading bij latente infecties en door de hoge genetische variabiliteit van SRLV-stammen. Daarom is het onmogelijk om alle circulerende stammen met één enkele test op te sporen.

Seroconversie vindt over het algemeen maanden na de infectie plaats. Over het algemeen is de serologie van groter belang bij het screenen van bedrijven dan bij het stellen van een diagnose bij individuele dieren. Bij volwassen schapen en geiten geeft een positief resultaat aan dat het dier persistent geïnfecteerd is met MVV maar, omdat de meeste geïnfecteerde dieren geen symptomen vertonen, bevestigt de serologie niet dat de symptomen worden veroorzaakt door dit virus.

Bij seropositieve, symptomatische dieren kan histologisch onderzoek van biopsieën of autopsiemonsters de diagnose bevestigen. Virusisolatie kan ook nuttig zijn; virale titers zijn echter variabel en kunnen schommelen in de tijd. Deze technieken vergen meer werk en zijn minder geschikt voor grootschalige routinediagnose.

#### 4.1.2. [Schatting van het risico op insleep](#)

Er is een groeiende consensus in de literatuur dat de **overdracht** van lentivirussen **tussen kleine herkauwers** vooral optreedt via (in)directe horizontale wegen (bijvoorbeeld via inademen van ademhalings- of feco-orale secreties) en dat verticale lactogene overdracht (via colostrum of melk), wat ooit werd beschouwd als de hoofdweg van overdracht, een complementaire route zou kunnen zijn die waarschijnlijk enkel van belang is als secundair mechanisme wanneer de horizontale route vertraagd is door omgevings- of managementfactoren. Dit impliceert dat er bij de controlestrategieën zowel rekening moet worden gehouden met verticale als (voornamelijk) horizontale overdracht. Horizontale overdracht is namelijk waarschijnlijk de oorzaak van de vergevorderde situaties waarbij infecties een klinisch probleem worden (Minguijon et al.; 2015, OIE, 2008; CFSPH, 2015).

De overdracht (insleep) **tussen beslagen** gebeurt vaak horizontaal tijdens het transport van levende dieren of door het binnenbrengen van nieuwe dieren in een beslag. Contact tussen niet-geïnfecteerde beslagen en niet-geteste of seropositieve beslagen vormt een risico. Schapen en geiten samenzetten of melk of colostrum van de ene soort aan de andere soort voederen kan leiden tot de overdracht van virussen tussen soorten (CFSPH, 2015).

#### 4.1.3. [Schatting van het blootstellingsrisico](#)

Nauw contact tussen dieren in overvolle schuren kan de overdracht bevorderen. Genetische factoren, met inbegrip van het schapenras, beïnvloeden de uitkomst van de infectie. Er wordt gesuggereerd dat vatbaarheid voor Maedi-Visna bij schapen rasgerelateerd is (Brinkhof, 2009).

Managementpraktijken kunnen de prevalentie van de infectie en dus ook de frequentie van de ziekte beïnvloeden (CFSPH, 2015).

#### 4.1.4. Schatting van het risico van de gevolgen

Nauw contact tussen schapen en geiten in overvolle schuren is een risicofactor voor overdracht van SRLV's tussen diersoorten. De meeste infecties zijn asymptomatisch, maar zodra klinische tekenen verschijnen is de ziekte progressief en gewoonlijk fataal. Chronische mastitis met verminderde productie (melkproductieterugval) van melk die overigens normaal lijkt, doet zich voor bij beide syndromen. Een verminderde gewichtstoename bij lammeren is mogelijk. Dieren zullen tekenen vertonen van longontsteking, mastitis, encefalitis en polyarthritis. Deze ziektes veroorzaken lijden, trage vermagening en uiteindelijk de dood (OIE, 2008; CFSPH, 2015).

Wanneer Maedi-Visna wordt geïntroduceerd in een nieuw gebied kan het sterftecijfer 20-30% bereiken. Het sterftecijfer is laag in gebieden waar Maedi-Visna endemisch is; jaarlijkse verliezen zijn zelden hoger dan 5% in een beslag zelfs wanneer bijna 100% van het beslag besmet is. Ondersteunende therapie kan nuttig zijn bij individuele dieren, maar kan de progressie van de ziekte niet stopzetten.

#### 4.1.5. Risico inschatting

De risico inschatting wordt uitgewerkt in de antwoorden op de verschillende vragen.

#### 4.1.6. Onzekerheden

De voornaamste onzekerheden hebben te maken met het gebrek aan data over de werkelijke prevalentie van lentivirussen in beslagen van schapen en geiten, met het gebrek aan kennis over het genotype van de circulerende lentivirussen en over overdrachtparameters (infectieratio,  $R_0$ ) en duur van seroconversie/incubatie en met het effect van immunosuppressie op de overdracht.

### 4.2. *Antwoord op de verschillende vragen geformuleerd in de referentietermen*

#### 4.2.1. Is het mogelijk om de algemene term 'de controle van lentivirus infecties bij schapen en geiten' te gebruiken in de nieuwe wetgeving in plaats van de afzonderlijke termen 'de controle van Maedi-Visna infectie bij schapen' en 'de controle van virale arthritis-encefalitis bij geiten' zoals in de huidige wetgeving?

Gebaseerd op een beperkt aantal volledige sequenties werden SRLV's initieel beschreven als twee verschillende genetische groepen die onafhankelijk evolueren bij schapen en geiten, waarbij de schapenstammen nauw verwant zijn aan elkaar en verschillen van de geitenstammen.

Volgens Leroux et al. (2010) hebben echter de beschrijving van de vele gedeeltelijke of volledige sequenties van veldisolaten van geiten en schapen van verschillende geografische regio's en hun fylogenetische studies tijdens de voorbije 2 decennia duidelijk het bestaan aangetoond van een genetisch continuüm van virussen die geen eenvoudige clusters vormden volgens de diersoort waaruit zij werden geïsoleerd. De genetische relaties zijn complexer dan initieel werd voorgesteld, waarbij virussen van geiten en schapen tot dezelfde genetische groep behoren.



Fylogenetische analyses die nucleotidesequenties van het Maedi-Visnavirus en het CAE-virus vergelijken, hebben aangetoond dat dit nauw verwante lentivirussen zijn (OIE, 2007). Fylogenetische analyses die nucleotidesequenties van het VM-virus en het CAE-virus vergelijken, geven duidelijke indicaties van het bestaan en het epidemiologische belang van cross-species overdracht tussen schapen en geiten zonder duidelijk aan te tonen dat één virus ontstaan is uit het andere (Leroux et al., 1997). De resultaten tonen het bestaan aan van mogelijk frequente cross-speciesoverdracht van SRLV bij gedomesticeerde en wilde kleine herkauwers (Leroux et al., 2010).

Studies hebben bevestigd dat CAEV en MVV, die oorspronkelijk zijn vastgesteld als specifieke pathogenen in respectievelijk geiten en schapen, vaak de diersoortenbarrière doorbreken, de nieuwe gastheer besmetten, persistent zijn in die gastheer en zich verspreiden bij de nieuwe gastheerpopulatie (Ramirez et al., 2013).

Volgens het Wetenschappelijk Comité is er substantieel bewijs in de wetenschappelijke literatuur om het Maedi-Visnavirus bij schapen en het caprine arthritis-encephalitis virus bij geiten allebei als nauw verwante lentivirussen te beschouwen die kunnen gegroepeerd worden onder de noemer van lentivirussen van kleine herkauwers.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om de term 'lentivirusinfectie van kleine herkauwers' te gebruiken als gezamenlijke naam in de nieuwe wetgeving, in plaats van te differentiëren tussen het Maedi-Visnavirus bij schapen en het caprine arthritis-encephalitis virus bij geiten

#### 4.2.2. Heeft het zin om een onderscheid te maken tussen schapen en geiten in de gezondheids certificering voor lentivirus infecties? Hoe moet deze certificering worden toegepast op gemengde bedrijven?

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om in de nieuwe wetgeving en in het gezondheidscertificaat geen onderscheid te maken tussen schapen en geiten, aangezien beide soorten geïnfecteerd kunnen zijn met dezelfde lentivirussen.

In het geval van gemengde bedrijven wordt aanbevolen om het diagnostisch protocol toe te passen op beide soorten alvorens het bedrijf 'vrij van lentivirussen' te verklaren, aangezien de prevalentie, de incubatieperiode, de epidemiologische achtergrond en de gevoeligheid voor de infectie verschillend kan zijn tussen schapen- en geitenbeslagen.

#### 4.2.3. Is het nodig om definities te voorzien in de nieuwe wetgeving voor Maedi-Visna en arthritis-encefalitis bij geiten?

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om geen definities van Maedi-Visna en caprine arthritis-encefalitis in de nieuwe wetgeving op te nemen, gezien de nieuwe inzichten in de classificatie en de interspeciesoverdracht van lentivirussen bij kleine herkauwers.

Het kan nuttig zijn om een definitie van 'vrij van ziekte veroorzaakt door een lentivirusinfectie' te geven zowel bij schapen als bij geiten door te verwijzen naar het diagnostische protocol.

#### 4.2.4. De certificering van beslagen 'vrij van MV-CAE' is gebaseerd op serologische testen (eerste stap). Wordt de humorale reactie van schapen en geiten beïnvloed door de partusperiode (15 dagen vóór en na het lammeren)? Met andere woorden is er een verhoogde kans op valse resultaten bij toepassing van de ELISA tijdens deze periode ?

Theodorou et al. (2007) toonden aan dat milde algemene immunosuppressie kon worden vastgesteld bij 2 op 3 Griekse schapenrassen tijdens de peri-partumperiode. De immunosuppressie werd gevonden bij de 2 rassen met de grootste melkproductie. Het is onbekend of immunosuppressie rond de partusperiode een effect heeft op de infectie met lentivirussen en de serologische status van schapen en geiten. Het is onbekend of er een toegenomen kans op valse ELISA resultaten is tijdens de peri-partumperiode.

Er werd geen wetenschappelijk bewijs met betrekking tot lentivirusinfectie bij schapen en geiten gevonden dat een effect toont van de peri-partumperiode op de resultaten van serologische testen.

In het Franse model zijn 15 dagen vóór en 15 dagen na het lammeren geen bemonsteringen voorzien (Cahier des charges technique du système national d'appellation de cheptel en matière de Maedi-Visna – 2004). Er werd geen wetenschappelijke basis voor deze praktijk gerapporteerd.

#### 4.2.5. Op dit ogenblik bedraagt de minimum leeftijd voor serologisch onderzoek 1 jaar. Op die leeftijd worden zelden positieve dieren gedetecteerd. Wat is het risico voor vals-negatieve serologische bedrijfstesten als de minimumleeftijd voor het testen wordt vastgelegd op 2 jaar?

Een accurate diagnose van lentivirusinfectie bij kleine herkauwers is van groot belang met betrekking tot de resultaten van de controleprogramma's. De meeste dieren raken vroeg tijdens hun leven besmet, door het drinken van besmette melk of besmet colostrum. Het virus kan zich ook verspreiden tijdens nauw contact, waarschijnlijk via de ademhaling. De incubatieperiode voor Maedi is waarschijnlijk meer dan twee jaar; klinische tekenen komen typisch tot ontwikkeling wanneer de dieren drie tot vier jaar oud zijn. De incubatieperiode van Visna is iets korter en symptomen kunnen optreden bij schapen die niet ouder zijn dan twee jaar. Seroconversie treedt over het algemeen enkele maanden na de infectie op (en niet jaren erna).

Volgens Alvarez et al. (2005) ontwikkelen de meeste dieren 2-8 weken na de besmetting decteerbare antilichamen tegen MV, hoewel de immuunrespons er niet in slaagt om het virus te elimineren en de virale replicatie in doelorganen volledig te stoppen. De auteurs toonden aan dat schapen jonger dan 1 jaar ook seroconverteren na een horizontale overdracht van het lentivirus. Reina et al. (2011) toonden aan dat geitenlammeren (<1 jaar) seroconverteren na experimentele infectie met SRLV genotype E.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan de testleeftijd niet uit te stellen tot de leeftijd van 2 jaar omdat dit het risico zal verhogen voor het missen van de verspreiding van lentivirussen in beslagen van schapen en geiten. Door het testen uit te stellen tot de leeftijd van 2 jaar, zal de serologische status van een volledige generatie jonge dieren onopgemerkt blijven. De wetenschappelijke literatuur toont aan dat dieren jonger dan 1 jaar seroconverteren wanneer ze geïnfecteerd zijn. De hoogste kans voor seroconversie vindt plaats tijdens het eerste levensjaar of tijdens het eerste jaar nadat het dier wordt binnengebracht in een positieve beslag.

#### 4.2.6. Van zodra een beslag beantwoordt aan de voorwaarden voor een 'vrij van MV-CAE' status kan het certificaat twee maal worden verlengd met één jaar. Daaropvolgende serologische testen met 2 jaar interval zijn noodzakelijk. Wat is het risico voor het missen van seropositieve dieren als dit interval wordt verlengd?

Data van CODA-CERVA (S. Roelandt, persoonlijke mededeling) over Belgische certificatie resultaten tussen 2010 en 2014 tonen aan dat 6,4 % van de ziektevrrije schapenbedrijven en 8,3 % van de ziektevrrije geitenbedrijven hun ziektevrrije status verliezen na serologische controle op 24 maanden. Dit toont aan dat de ziekte zich binnen een periode van 24 maanden kan verspreiden naar andere dieren en mogelijk naar andere bedrijven via ongedetecteerde geïnficeerde dieren of dat bedrijven de ziekte kunnen importeren door contact met of door het aankopen van latent geïnficeerde dieren die seronegatief waren toen ze werden binnengebracht. Het testinterval verlengen zal de kans doen toenemen dat meer dieren en andere bedrijven worden blootgesteld aan het virus via contact met of via de aankoop van latent geïnficeerde dragers.

#### 4.2.7. De serologische testen voor verlenging van het certificaat 'vrij van MV-CAE "moet worden uitgevoerd op 50 % van de dieren in een bedrijf met een minimum van 50 dieren. Wat is het risico voor het missen van seropositieve dieren indien minder dan 50 % van de dieren wordt getest?

Het huidige bemonsteringsplan is historisch gebaseerd op Richtlijn 91/68/EEC van de Raad van 28 januari 1991 inzake veterinaire rechtelijke voorschriften voor het intracommunautaire handelsverkeer in schapen en geiten. Deze Richtlijn bepaalt de garanties met betrekking tot diergezondheid die vereist zijn voor de handel tussen de Lidstaten. Naast minimale veterinaire rechtelijke voorschriften stelt de Richtlijn bijkomende controles vast voor bepaalde ziektes, met inbegrip van Maedi Visna, Caprine virale arthritis-encefalitis, besmettelijke agalactia of paratuberculose. In bijlage A, hoofdstuk 1, titel 1 van Richtlijn 91/68/EEG van de Raad worden de voorwaarden vastgesteld voor het verlenen en het behoud van de officiële Brucellosevrrije status (*Brucella melitensis*). In België worden de serologische monsters die worden genomen voor het vrijwillige MV-CAE-controleprogramma ook gebruikt voor de controle van *Brucella melitensis* (behoud van officiële ziektevrrije status).

Het huidige bemonsteringsprotocol komt overeen met de monstergroottes die worden voorgesteld door de FAO (1988) voor het testen op de aanwezigheid van de ziekte in kleine populaties met 95% betrouwbaarheid voor detectie van een seropositief dier.

Volgens het Franse 'Cahier des charges technique du système national d'appellation de cheptel en matière de Maedi-Visna – 2004' zou het bemonsteringsplan van beslagen (met een onbekende status) gericht moeten zijn op het identificeren van een seropositief dier met een kans van minstens 95% indien de seroprevalentie van de beslag hoger is dan 5%.

De seroprevalentie van lentivirusinfectie in schapen- en geitenbedrijven in België is momenteel onbekend. Dit maakt het onderwerp uit van een lopend onderzoeksproject van CODA-CERVA (SRLV-BEL).

In het geval van het uitvoeren van testen voor een verlenging van de MV-CAE-vrije status, beveelt het Wetenschappelijk Comité aan om een risico-gebaseerd bemonsteringsplan toe te passen binnen het beslag. Risicodieren zijn nieuw binnengebrachte dieren, dieren die gevoederd zijn met onbehandeld colostrum van onbekende oorsprong en dieren met klinische symptomen zoals lusteloosheid, gebrek aan eetlust, manken en/of andere symptomen die worden geassocieerd met lentivirusinfecties (chronische mastitis). Shuaib et al. (2010) rapporteerden dat grote beslagen en aanwezigheid van mankende dieren positief en significant worden geassocieerd met een positieve MVV-status van een beslag. De aankoop van meer dan 50 nieuwe schapen in de laatste 5 jaar en lusteloosheid waren positief geassocieerd met een MVV-beslagstatus, maar dit verband was statistisch niet-significant.

Monstergroottes voor het opsporen van seropositieve dieren in een beslag onder Belgische omstandigheden werden berekend door S. Roelandt (CODA-CERVA, 2016) gebaseerd op de volgende veronderstellingen:

- meest waarschijnlijke binnen-beslag prevalentie: 15 % (0-20%)
- meest voorkomende schapen-en geitenbeslag grootte in België:  $N < 10$  tot  $\leq 150$  (Sanitel, 2015)
- betrouwbaarheid van de imperfecte testgevoeligheid: 99%
- perfecte testspecificiteit: 100%.

In deze studie concludeert Roelandt dat het huidige testprotocol op schapen-en geitenbeslagen (minimum 50 dieren per beslag en minimum 50% van de dieren per beslag) het best behouden zou blijven zolang de werkelijke prevalentie van het lentivirus in het beslag en de accuraatheid van de test niet gekend zijn.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan om het huidige bemonsteringsplan te behouden, maar stelt voor om de monstergrootte, die nodig is om de lentivirusinfectievrije status te testen, te herzien van zodra nieuwe data uit het SRLV-BEL CODA-CERVA onderzoeksproject beschikbaar zijn. Nu al bemonsteringspercentages kleiner dan 50% toepassen in een beslag zal de kans op detectie van seropositieve dieren doen afnemen.

#### 4.2.8. Wat is het risico van het missen van seropositieve dieren als er geen serologische test wordt uitgevoerd bij het opstarten van nieuwe beslagen met enkel dieren afkomstig uit één of meerdere beslagen met een vrije status?

Ondanks het feit dat dieren aangekocht worden in een beslag met een ziektevrije status bestaat het risico dat SRLV besmette dieren aanwezig zijn van bij de opstart van nieuwe beslagen.

Gegevens van het CODA-CERVA (S. Roelandt – persoonlijke mededeling) tonen aan dat in België tussen 2010 en 2014, 6,4 % van de schapenbeslagen die vrij zijn van VM en 8,3 % van de CAE "vrije" geitenbeslagen hun vrije status na 24 maanden verloren zijn. Bovendien verloren 3/21 (14,3 %) van de nieuwe schapenbeslagen die bestaan uit "gecertificeerde vrije dieren" hun vrije status bij de eerste test. Dit toont aan dat het virus kan circuleren in "VM en CAE vrije" bedrijven doordat er besmette maar seronegatieve dieren aanwezig zijn, door het toegepaste bemonsteringschema, doordat de eigenschappen van de test niet perfect zijn, door de introductie van SRLV besmette dieren of door de lange incubatietijd van de ziekte.

Dezelfde argumentatie geldt voor de introductie van dieren afkomstig van gecertificeerde bedrijven uit het buitenland, te meer daar de kwaliteit van de buitenlandse VM/CAE controleprogramma's niet gekend is.

Bovendien circuleren lentivirussen in Belgische schapen- en geitenbedrijven, aangezien er geen officieel verplicht uitroeiingsprogramma voor lentivirussen bestaat.

Tijdens het vervoer is het mogelijk dat dieren van vrije beslagen besmet raken door nauw contact met dieren uit niet-vrije beslagen.

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat nieuw bevolkte beslagen een gelijkaardige vrije status zouden moeten kunnen krijgen als de beslagen van oorsprong op voorwaarde dat de nieuwe beslagen het volledige controleprogramma vanaf het begin doorvoeren. Dit controleprogramma is gebaseerd op opeenvolgende serologische onderzoeken zoals bepaald in het koninklijk besluit van 24 maart 1993 (schapen) en in het koninklijk besluit van 27 november 1997 (geiten). Met andere woorden, het is niet aan te bevelen dat nieuwe beslagen historische gegevens gebruiken over de

status van beslagen van oorsprong om hun eigen controleprogramma te verlichten (handhaving van status). In dit opzicht verwijst het Wetenschappelijk Comité eveneens naar artikel 16 §3 van het koninklijk besluit van 24 maart 1993 betreffende de inrichting van de zwoegerziektebestrijding bij het schaap, waarin bepaald is : "... indien het schaap nog nooit werd gecontroleerd, moet dit binnen de zes maanden...".

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat het niet uitvoeren van serologisch onderzoek op dieren in nieuwe beslagen, die uitsluitend bevolkt worden door dieren uit beslagen met een gecertificeerde vrije VM/CAE status, dit een verhoogd risico betekent op de introductie van SRLV besmette dieren in de beslagen.

#### 4.2.9. Is de infectie overdraagbaar tussen schapen en geiten? Volstaat één gezondheidscertificaat (voor één diersoort) als de beide diersoorten zich samen op hetzelfde bedrijf bevinden?

Er werd reeds aangetoond dat cross-speciestransmissie van lentivirussen tussen schapen en geiten voorkomt (Mungujon et al., 2015).

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat in gemengde bedrijven (schapen en geiten) het statuut van het bedrijf afhankelijk zou moeten zijn van de status van beide beslagen. Dit wil zeggen dat beide soorten moeten bemonsterd worden om de officieel vrije status te verkrijgen of te behouden.

#### 4.2.10. Heeft het Wetenschappelijk Comité opmerkingen met betrekking tot de diagnostische beslissingsboom?

Het Wetenschappelijk Comité is van mening dat certificering gebaseerd is op een logische sequentie van tests beschreven in de diagnostische beslissingsboom.

In 2011 vond het CODA-CERVA (N. De Regge – persoonlijke mededeling) verschillende beslagen die ELISA positief, immunodiffusie negatief maar PCR positief waren. Dit betekent dat PCR-analyse bij een tweede bemonstering een toegevoegde waarde heeft. In 2015 werden 3/33 dieren PCR positief bevonden bij een tweede bemonstering. Sommige dieren werden positief bevonden in de immunodiffusietest na de eerste bemonstering waardoor de verkregen ELISA resultaten werden bevestigd.

Deze vaststellingen wijzen erop dat alle stappen en tests in de huidige sequentiële bemonsterings- en testschema's een toegevoegde waarde hebben voor het bepalen van de correcte infectiestatus van een dier.

#### 4.2.11. Is het mogelijk om bij een positieve ELISA het aantal controles te verminderen (ELISA + immunodiffusietest + PCR) om de infectie te bevestigen of te weerleggen?

De huidige diagnostische testprocedure is de volgende :

- 1ste bemonstering : een ELISA-test wordt uitgevoerd in DGZ/ARSIA. Indien positief wordt een immunodiffusietest (ID) door het CODA-CERVA uitgevoerd. Bij een positieve ID test verliest het beslag zijn vrije status. Bij een negatieve ID-test bestaat de mogelijkheid om een 2de bemonstering uit te voeren.

- 2de bemonstering : een ELISA-test (door DGZ/ARSIA) wordt gevolgd door een PCR-test door het CODA-CERVA. De beslissing over de status van het beslag wordt genomen volgens de diagnostische beslissingsboom.

De ELISA-test is een hoogsensitieve test en wordt daarom als eerste test gebruikt. In geval van een positieve ELISA kan de bevestiging uitgevoerd worden door een immunodiffusietest of door PCR's die verschillende genotypes van het virus opsporen. Een negatieve PCR moet zorgvuldig geïnterpreteerd worden. Deze kan veroorzaakt worden door een virus 'load' die onder de detectielimiet van de PCR ligt, ofwel doordat het dier besmet is met een stam die niet herkend wordt door de aangewende PCR. Indien echter een PCR gebruikt wordt die aangepast is aan de lokaal circulerende stammen, dan is het een zeer gevoelige test (N. De Regge – persoonlijke mededeling).

Volgens Ramirez et al. (2013) zou een combinatie van serologie en PCR een optimale techniek zijn om de status van besmetting van een dier vast te stellen.

In het lopende onderzoeksproject SRLV-BEL van het CODA-CERVA wordt onderzocht of de toepassing van een tweede ELISA (gebaseerd op een ander antigeen) nuttig kan zijn om de juiste status van besmetting op een eenvoudigere manier te bepalen dan met een immunodiffusietest of PCR als bevestigingstest.

Gezien het ontbreken van gegevens kan het Wetenschappelijk Comité momenteel geen adequaat antwoord geven op de vraag. Het is echter te verwachten dat geen enkele VM/CAE test voldoende gevoelig zal zijn om alle VM/CAE gevallen op te sporen en gelijktijdig voldoende specifiek zal zijn om alle vals positieve resultaten uit te sluiten. Derhalve wordt aanbevolen om de diagnostische beslissingsboom te baseren op 'multiple/sequential testing' met inbegrip van PCR.

## 5. Conclusie

Lentivirussen van kleine herkauwers maken deel uit van een zeer heterogene groep van lentivirussen die aanleiding kunnen geven tot verschillende traag evoluerende ziektebeelden afhankelijk van de diersoort, de virulentie van de stam en de productie omstandigheden. Om deze infecties onder controle te houden is het eerst nodig om geïnfecteerde beslagen en dieren correct te identificeren door middel van periodiek uitgevoerde betrouwbare testen. Het succes van een vrijwillig controleprogramma zal afhangen van de aanvankelijke seroprevalentie in het beslag en in de Belgische schapen en geitenpopulatie, van de strikte uitvoering van de bioveiligheidsmaatregelen in de individuele beslagen en van de kosten / batenverhouding van het controleprogramma voor individuele schapen- en geitenhouders.

## 6. Aanbevelingen

Opdat een controleprogramma voor lentivirussen succesvol zou zijn, benadrukt het Wetenschappelijk Comité het feit dat, naast certificatie van SRLV-seronegatieve beslagen, het tegelijkertijd cruciaal is om de correcte bioveiligheidsmaatregelen toe te passen in alle schapen- en geitenbedrijven, in de handel en tijdens het vervoer of bij alle activiteiten waar direct of indirect contact met andere dieren mogelijk is.

Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan dat de sector en de overheid de communicatie activeren aan schapen- en geitenfokkers/-bedrijven om de adequate bioveiligheidsmaatregelen consequent toe te passen. Deze bioveiligheidsmaatregelen zouden de volgende maatregelen moeten omvatten : vermijden dat dieren uit onbekende beslagen of uit beslagen met een positieve status voor

lentivirussen binnengebracht worden, vermijden colostrum te gebruiken van eender welke andere beslag/interspecies , toepassen van de correcte hygiënemaatregelen binnen het bedrijf (desinfectie en quarantaine + testen), de herintroductie in de beslag vermijden van dieren die hebben deelgenomen aan markten/transporten en het opruimen van bevestigd seropositieve en besmette dieren.

Voor het Wetenschappelijk Comité,  
De Voorzitter,

Prof. Dr. E. Thiry (Get.)

Brussel, 20/05/2016

## Referenties

ACERSA 2004 - Cahier des charges technique du système national d'appellation de cheptel en matière de Maedi-Visna

ALVAREZ V., ARRANZ J., DALTABUIT-TEST M., LEGINAGOIKOA I., JUSTE R., AMORENA B., DE ANDRES D., LUJAN L. BADIOLA J., BERRIATUA E., 2005, Relative contribution of colostrum from Maedi-Visna virus (MVV) infected ewes to MVV-seroprevalence in lambs. *Res Vet Sc*, 78, 237-243.

BRINKHOF J. 2009. Detection and control of lentivirus infections in sheep and goats. PhD thesis, Utrecht University, The Netherlands

BRINKHOF, J.M., VAN MAANEN, C., WIGGER, R., PETERSON, K., HOUWERS, D.J., 2008. Specific detection of small ruminant lentiviral nucleic acid sequences located in the proviral long terminal repeat and leader-gag regions using real-time polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods* 147, 338–344.

CFSPH, 2015. Small ruminant Lentivirus: Maedi-Visna & Caprine Arthritis and Encephalitis. Technical Fact Sheet. The Center for Food Security and Public Health, Iowa State University, p 8. [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/maedi\\_visna\\_and\\_caprine\\_arthritis\\_encephalitis.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/maedi_visna_and_caprine_arthritis_encephalitis.pdf)

CLEMENTS J. and ZINK M. 1996. Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections. *Clinical Microbiology Reviews* 9, 100-117.

Council Directive 91/68/EEC of 28 January 1991 on animal health conditions governing intra-Community trade in ovine and caprine animals.

CUTLIP, R.C., LEHMKUHL, H.D., SCHMERR, M.J.F., BROGDEN, K.A., 1988. Ovine progressive pneumonia (maedi/visna) in sheep. *Vet. Microbiol.* 17, 237–250.

DEANDRES D., KLEIN D., WATT N.J., BERRIATUA E., TORSTEINSDOTTIR S., BLACKLAWS B.A. & HARKISS G.D. 2005. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.*, 107, 49–62.

FAO 1988. Veterinary epidemiology and economics in Africa. A manual for use in the design and appraisal of livestock health policy. Chapter 4: The epidemiological approach to investigating disease problems. <http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5436e/x5436e06.htm>

HERMANN-HOESING, L.M., 2010. Diagnostic assays used to control small ruminant lentiviruses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 843–855.

LEROUX C., CHASTANG J., GREENLAND T. & MORNEX J.F. 1997. Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses: existence of heterogeneous populations in sheep and of the same lentiviral genotypes in sheep and goats. *Arch. Virol.*, 142, 1125–1137.

LEROUX C., CRUZ J. C. M., MORNEX J.-F. 2010. SRLVs: a genetic continuum of Lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Current HIV Research*, 8, 94-100.

MUZ, D., OGUZOGLU, T.C., ROSATI, S., REINA, R., BERTOLOTTI, L., BURGU, I., 2012. First molecular characterization of visna/maedi viruses from naturally infected sheep in Turkey. *Arch. Virol.* 158, 559–570.

OIE (2008). Chapter 2.7.3/4. Caprine Arthritis-Encephalitis & Maedi-Visna. In : OIE Terrestrial Manual. pp.9. [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.07.03-04\\_CAIE\\_MV.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.03-04_CAIE_MV.pdf)

PISONI G., QUASSO A., MORONI P. 2005. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: Evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology*, 339, 2, 147-152.



RAMIREZ H., REINA R., AMORENA B., de ANDRES D., MARTINEZ H. 2013. Small ruminant lentiviruses: genetic variability, tropism and diagnosis. *Viruses*, 5, 1175-1207.

ROELANDTS S . 2016. Sample size berekening Visna-Maedi en CAE. ERASURV. CODA. (Unpublished).

SHUAIB M., GREEN C., MAMOON R., DUIZER G., WHITING T. 2010. Herd risk factors associated with seroprevalence of Maedi-Visna in the Manitoba sheep population. *Can. Vet. J.*, 51, 385-390.

SIMARD C.L. & BRISCOE M.R. (1990). An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to maedi-visna virus in sheep. A simple technique for production of antigen using sodium dodecyl sulfate treatment. *Can. J. Vet. Res.*, **54**, 446–450.

SYNGE, B.A., RITCHIE, C.M., 2010. Elimination of small ruminant lentivirus infection from sheep flocks and goat herds aided by health schemes in Great Britain. *Vet. Rec.* 167, 739–743.

THEODORU G., FRAGOU S., CHRONOPOULOU R., KOMINAKIS A., ROGDAKIS E., POLITIS I. 2007. Study of immune parameters in three Greek dairy sheep breeds during the periparturient period. *J. Dairy. Sci.*, 90, 5567-5571.

VALAS, S., LE VEN, A., CROISE, B., MAQUIQNEAU, M., PERRIN, C., 2011. Interference of bluetongue serotypes 1/8 vaccination with serological diagnosis of small ruminant lentivirus infection. *Clin. Vaccine Immunol.* 18, 513–517.

## 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](mailto:Secretariaat.SciCom@favv.be).

## Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden:

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

## Belangenconflict

Wegens een belangenconflict namen T. van den Berg (CODA-CERVA) en N. De Regge (CODA-CERVA) deel aan de activiteiten van de werkgroep als 'uitgenodigde gehoorde deskundigen'.

## Dankbetuiging

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

## Samenstelling van de werkgroep

De werkgroep was samengesteld uit:

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

Externe experts: P. Deprez (UGent), S. Roelandt (CODA-CERVA)

Uitgenodigde gehoorde experts: T. van den Berg (CODA-CERVA), N. De Regge (CODA-CERVA)

Dossierbeheerder: X. Van Huffel (FAVV)

De activiteiten van de werkgroep werden opgevolgd door volgende leden van de administratie (als waarnemers): L. Derolez (FODVVL) en L. Vanholme (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.