



Onderzoek naar besmettingsroutes van SARS-CoV-2 op nertsbedrijven

Eindrapport van het onderzoek door een consortium van
Universiteit Utrecht, Royal GD, Erasmus MC, WBVR en
NVWA

12 april 2021



Foto: NFE



Universiteit Utrecht



Erasmus MC
Universitair Medisch Centrum Rotterdam



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



Nederlandse Voedsel- en
Warenautoriteit
Ministerie van Landbouw,
Natuur en Voedselkwaliteit



Suggestie voor citeren:

Onderzoek naar besmettingsroutes van SARS-CoV-2 op nertsbedrijven. Eindrapport van het 'Onderzoek consortium SARS-CoV-2 bij nertsen', o.l.v. Universiteit Utrecht, 12-4-2021

Inhoud

Woord vooraf	3
Samenvatting	4
<i>De bevindingen uit het onderzoek</i>	4
<i>Conclusies en aanbevelingen</i>	6
Toelichting van de aanpak en uitkomsten	7
<i>Inleiding</i>	7
1. <i>Tracerings- en risicofactorenonderzoek</i>	8
2. <i>Klinisch- en diagnostisch onderzoek op nertsenbedrijven</i>	14
3. <i>Vergelijken van de genetische code van nertsen en mensen</i>	17
4. <i>Risicobeoordeling van de mogelijke rol van vrij-levende diersoorten in de verspreiding van SARS-CoV-2 tussen nertsenbedrijven</i>	19
<i>Afsluitende woorden, geleerde lessen en aanbevelingen</i>	21
Bronnen	24
<i>Wetenschappelijke publicaties van het consortium</i>	24
<i>Verwezen literatuur in het rapport</i>	24
Dankwoord	26

Woord vooraf

Volgend op een op 31 juli 2020 afgerond onderzoek bij de eerste vijf nertsbedrijven waar SARS-CoV-2 infecties zijn vastgesteld, heeft het ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, samen met het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport, de opdracht gegeven om introductie- en besmettingsroutes van SARS-CoV-2 bij de overige besmette nertsbedrijven in kaart te brengen. Dit onderzoek werd gecoördineerd door de faculteit Diergeneeskunde van Universiteit Utrecht en is uitgevoerd samen met Royal GD, Erasmus MC en Wageningen Bioveterinary Research. De opdracht was om het bron- en contactonderzoek door NVWA en GGD te verdiepen en uit te breiden en hierbij o.a. analyses van virussequenties van mensen en nertsen, contacten tussen bedrijven en andere mogelijke introductie- en verspreidingsroutes te betrekken. Het doel was om verder inzicht te verkrijgen in de verspreiding en evolutie van SARS-CoV-2 uitbraken op nertsenuhouders en in de mogelijke routes voor verspreiding tussen bedrijven.

Voor dit onderzoek werd nauw samengewerkt met onder andere de NVWA, nertsenuhouders, sectorvertegenwoordigers en GGD-en. De mogelijke rol van vrij-levende diersoorten werd onderzocht in samenwerking met onderzoekers uit het onderzoeksconsortium "Zoonoses in the Night" (gecoördineerd door Erasmus MC), de Zoogdiervereniging en Sovon.

In dit rapport wordt allereerst een samenvatting gegeven met de belangrijkste conclusies uit het onderzoek. Daarna volgt een uitgebreidere toelichting van de opzet, uitvoering en de belangrijkste uitkomsten van het onderzoek binnen de verschillende werkpakketten tot en met eind januari 2021.

Met het opleveren van dit rapport is het onderzoek voor de ministeries van LNV en VWS afgesloten. Het consortium zal zelf nog een deel van het onderzoek voortzetten. Er wordt nog gewerkt aan analyses van gegevens met complexe wiskundige modellen en de betekenis van de verschillende mutaties die zijn gevonden in de nertsenvirussen zullen nog nader worden onderzocht. De uitkomsten van het werk van het consortium zullen in de loop van 2021 verwerkt worden in wetenschappelijke publicaties.

Namens de consortiumpartners,

Universiteit Utrecht (Population Health Sciences)(UU):	Paola Meijer, Arjan Stegeman en Francisca Velkers (projectleider) Myrna de Rooij en Lidwien Smit
Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA):	Arco van der Spek en Marcel Spierenburg
Royal GD (GD), Deventer:	Marieke Augustijn, Robert Jan Molenaar en Jan de Rond
Erasmus MC, Rotterdam:	Marion Koopmans, Bas Oude Munnink en Reina Sikkema Vrij-levende dieren: Lineke Begeman en Thijs Kuiken
Wageningen Bioveterinary Research (WBVR), Lelystad:	Renate Hakze, Marcel Hulst en Wim van der Poel
En voor het onderdeel over vrij-levende diersoorten: Zoogdiervereniging:	René Janssen, Maurice La Haye en Herman Limpens
Sovon:	Jacintha van Dijk, Bas Hissel en Roy Slaterus
DWHC:	Judith van den Brand
Met hulp van GGD-en:	GGD Hart voor Brabant GGD Brabant-Zuidoost GGD Limburg-Noord GGD Gelderland-Zuid
En stichting PAMM en Sanquin	

Samenvatting

Een eerder onderzoek bij de eerste vijf nertsenbedrijven waar SARS-CoV-2 infecties zijn vastgesteld is eind juli 2020 afgerond. Vanaf juli 2020 is gestart met een vervolgonderzoek naar mogelijke introductie- en besmettingsroutes van SARS-CoV-2 op nertsenbedrijven die hierna werden getroffen. Het onderzoek bestond uit verschillende werkpakketten. Er is een uitgebreid tracerings- en risicofactorenonderzoek gedaan aan de hand van informatie verzameld volgens het protocol van de NVWA, uitgebreid met interviews en enquêtes bij nertsenhouders. Daarnaast zijn gegevens uit klinisch- en diagnostisch onderzoek bij de nertsen verzameld en geanalyseerd en zijn sequenties (genetische codes) van SARS-CoV-2 uit nertsen en mensen verkregen en vergeleken. In samenwerking met de Zoogdierverseniging en Sovon Vogelonderzoek Nederland is een risicobeoordeling uitgevoerd van de rol van vrij-levende diersoorten voor de verspreiding van SARS-CoV-2 tussen nertsenbedrijven. Tevens zijn de resultaten uit het eerdere onderzoek, waarbij o.a. naar besmettingen bij katten is gekeken en naar de aanwezigheid van het virus in omgevingsmonsters, meegenomen bij dit onderzoek.

De bevindingen uit het onderzoek

1. Bevestigde besmettingen van nertsenbedrijven zijn uitsluitend in Zuidoost Nederland geconstateerd in de regio waar de eerste bedrijven besmet raakten. Er zijn in deze groep bedrijven vijf aparte virusintroducties geweest tussen halverwege maart en eind april 2020 vanuit mensen naar nertsen. Drie van de vijf introducties hebben geleid tot doorgaande verspreiding ('transmissie') tussen nertsenbedrijven (van de virusvarianten die cluster A, C en D zijn genoemd). Een verdenking bij een nertsenbedrijf in Putten op basis van ingezonden dode nertsen in het kader van Early Warning (EW) onderzoek is niet bevestigd in officiële monsters.
2. Bij 42 van de 69 besmette bedrijven zijn bij mensen die verbonden waren aan nertsenbedrijven, zoals werknemers, SARS-CoV-2 infecties vastgesteld. Bij 28 bedrijven zijn ook de genetische codes van de virussen vergeleken. Hieruit bleek dat de mensen op deze bedrijven besmet waren met dezelfde virusvariant als de nertsen.
3. Daarnaast zijn deze virusvarianten aangetroffen in drie mensen buiten de nertsenbedrijven. Hiervoor is gekeken naar beschikbare sequenties (genetische codes) in heel Nederland. Bij deze drie personen die besmet waren met de nertsenvariant in juli en oktober werd bij bron- en contactonderzoek geen direct contact met de nertsenhouderij vastgesteld. Twee van deze personen woonden niet in de risicoregio. Het is niet duidelijk hoe deze mensen besmet zijn geraakt. Vanaf november zijn geen gevallen meer vastgesteld. Daarom wordt aangenomen dat verspreiding naar mensen met de nertsenvariant buiten de nertsenhouderij beperkt is gebleven en wordt niet verwacht dat deze virusvarianten nog zullen worden aangetroffen in de Nederlandse bevolking.
4. Genetisch onderzoek van de virussen uit nertsen van de eerste besmette bedrijven toonde meerdere mutaties aan bij de eerste afgenomen materialen, hetgeen aangeeft dat de infecties al enkele weken aanwezig waren. Bij de latere gevallen, vanaf juni 2020, werden minder mutaties gevonden in de virussen per bedrijf op het moment van diagnose, wat duidt op een snellere opsporing van de infecties bij de nertsenbedrijven. Vanaf september was alleen cluster A nog aanwezig.
5. Er werden steeds vaker en meer verschillende typen symptomen van het ademhalingsapparaat gezien in het verloop van de epidemie. Ook werden vaker en meer klinische verschijnselen gezien in nertsen besmet met viruscluster A en C dan met virussen uit de andere virusclusters.
6. In het verloop van de epidemie werd het percentage nertsen met een positieve RT-PCR van keelwabs groter. Dit zou kunnen wijzen op een vroegere detectie. Een tweede mogelijkheid is dat mutaties in de virussen zijn opgetreden die invloed hebben gehad op de mate van verspreiding tussen de nertsen, maar dit kon niet worden aangetoond. De hoge besmettingsgraad ging niet altijd gepaard met duidelijke symptomen. Ongeveer de helft van de bedrijven is opgespoord vanuit de EW of serologische monitoring, waarbij klinische verschijnselen pas gezien werden bij de officiële monsternamen.

Bij zeven bedrijven, waarbij uitgebreid willekeurig over het bedrijf nertsen werden bemonsterd, vertoonde minder dan 10% van de nertsen symptomen, terwijl alle keelswabs positief waren. Dit beeld zou kunnen passen bij het opsporen van infecties in de acute fase van de uitbraak, maar we kunnen ook niet uitsluiten dat een infectie bij een beperkt aantal dieren, ondanks de intensieve monitoring en de klinische meldplicht, enige tijd onopgemerkt is gebleven.

7. Bij enkele virusvarianten zijn veranderingen gevonden in de eiwitten waarmee het virus aan de gastheercel hecht (spike eiwit). Dergelijke veranderingen worden wereldwijd gemonitord aangezien ze zouden kunnen leiden tot verminderde bescherming door antistoffen van vaccinatie of een eerder doorgemaakte infectie bij mensen. De mutaties bij nertsenvirussen lijken te wijzen op aanpassing van het virus aan nertsen, aangezien de kenmerkende mutaties vrijwel uitsluitend bij SARS-CoV-2 in nertsen of mensen gerelateerd aan nertsen zijn gevonden.
8. De verspreiding tussen nertsenbedrijven met de virusvarianten van cluster A, C en D bleef doorgaan. Het is waarschijnlijk dat een deel van de transmissie via mensen is gegaan, met name in de beginperiode van de epidemie toen er veel werkzaamheden met de nertsen werden verricht door veel verschillende mensen. Vanuit de traceringsactiviteiten en risicofactorenanalyses zijn echter geen eenduidige contacten, of een gemeenschappelijke bron zoals voer, als verklaring voor de besmettingen gevonden.
9. Veel van de besmette nertsenbedrijven lagen binnen enkele kilometers afstand van elkaar. Naastgelegen bedrijven hadden soms een ander viruscluster, maar vanaf augustus werd in toenemende mate geografische clustering gezien. Met name voor het grootste viruscluster (cluster A) lijkt er een grotere kans op infectie te zijn geweest wanneer een ander besmet bedrijf in de buurt lag. Er is geen verklaring gevonden voor dit mogelijke verband.
10. Bij het onderzoek van de eerste bedrijven is gekeken of genetisch materiaal van SARS-CoV-2 (virus RNA) kon worden aangetroffen in lucht- en omgevingsmonsters. Hierbij is virus RNA aangetoond in de inhaleerbare stoffractie in de stal, zowel bij metingen door stationaire meetopstellingen als in persoonlijke monsters (waarbij een meetpompje werd meegedragen door personen). Dit wijst op blootstelling van personen in de stal aan virus. Bij de metingen op de twee eerste bedrijven werd geen virus aangetoond buiten de stal. Bij metingen op het vierde besmette bedrijf werd virus RNA buiten de stal op het erf aangetroffen in verschillende stoffracties, maar niet buiten het erf. Bij één bedrijf is twee weken na de ruiming virus RNA in strooisel gevonden maar infectieus virus kon in het laboratorium bij celkweken niet aangetoond worden. Bij laboratoriumtesten waarbij SARS-CoV-2 was toegevoegd aan droge mest en giertankinhoud was het virus RNA na meerdere weken nog aan te tonen, hoewel de celkweek al snel negatief was. Op grond van dit onderzoek kan niet worden vastgesteld hoe lang het virus in de mest infectieus blijft.
11. De constructie van de nertsenbedrijven is dusdanig dat allerlei vrij-levende dieren, die algemeen aanwezig zijn in de regio, de nertsenstallen zowel kunnen binnenkomen als uitgaan. Hiertoe behoren verschillende soorten roofdieren (huiskatten, vossen, nertsen en andere marterachtigen), vleermuizen en vogels. Bij de virologische en immunologische analyses van vrij-levende dieren rondom besmette nertsenbedrijven werd SARS-CoV-2 infectie vastgesteld bij enkele verwilderde katten en twee ontsnapte nertsen. Gelet op hun gemiddelde foerageerafstanden en leefgebied zouden geïnfecteerde individuen van deze twee soorten in principe in staat zijn om SARS-CoV-2 over te brengen naar naburige nertsenbedrijven. Bij de screening van honderden fecesmonsters en tientallen karkassen van overige vrij-levende roofdieren en van vleermuizen zijn geen aanwijzingen voor infectie gevonden. Bij twee dood gevonden huismussen op twee besmette bedrijven is virus RNA gevonden aan de pootjes, waarschijnlijk door contaminatie uit de omgeving; drie andere vogels waren negatief. Huismussen hebben een foerageerafstand van enkele honderden meters, waardoor de kans klein is dat ze verschillende bedrijven bezoeken. Daarentegen kunnen andere veelvoorkomende vogelsoorten wel de afstanden tussen nabijgelegen bedrijven overbruggen. Behalve een mogelijke kleine rol voor ontsnapte nertsen en verwilderde katten, is het bij elkaar genomen onwaarschijnlijk dat vrij-levende diersoorten van de onderzochte soorten een relevante rol hebben gespeeld in het overbrengen van SARS-CoV-2 tussen nertsenbedrijven.

Conclusies en aanbevelingen

Het verscherpte bestrijdingsprogramma met een combinatie van het melden van klinische symptomen en intensieve monitoring van bedrijven heeft geleid tot opsporing van een groot aantal positieve bedrijven. Ondanks het snelle ruimen, gecombineerd met verplichte hygiëneprotocollen, beperkingen aan vervoer van o.a. dieren en mest en beperkingen aan uitwisselen van personeel tussen bedrijven, kon doorgaande verspreiding tussen bedrijven niet worden gestopt binnen de getroffen regio. Na juni zijn geen nieuwe introducties meer geweest van virussen uit mensen in de nertsenshouderij maar vond wel doorgaande transmissie van virussen van bedrijf naar bedrijf plaats. Het is nog onduidelijk hoe de verspreiding tussen de bedrijven vanaf de zomer heeft plaatsgevonden. De genomen maatregelen hebben er waarschijnlijk wel aan bijgedragen dat de vijf virusvarianten van nertsens in Zuidoost Nederland niet naar nertsensbedrijven in andere delen van Nederland zijn verspreid. Transmissie naar mensen buiten de nertsenshouderij lijkt beperkt te zijn gebleven.

Er is een continue dreiging van ziekteverwekkers die tussen mens, dier en de omgeving kunnen verspreiden en enorme gevolgen kunnen hebben voor de volksgezondheid, de gezondheid van gehouden en vrij-levende dieren en de economie. De bestrijding van dergelijke infectieziekten vraagt om een nauwe samenwerking tussen humane en veterinaire instanties onderling, en met andere relevante instanties, bijvoorbeeld op gebieden van milieu en ecologie. Om snel in te kunnen grijpen is een gestroomlijnde en goed gecoördineerde preventie, surveillance en bestrijding nodig.

Eén van de uitdagingen bij de integratie van informatie is de informatie-uitwisseling tussen alle verschillende instanties, wat o.a. bemoeilijkt kan worden door de privacywetgeving. Bovendien werd het vervolgonderzoek bemoeilijkt door de beperkingen ten gevolge van de pandemie, en de hoge werkdruk bij o.a. de GGD-en en laboratoria.

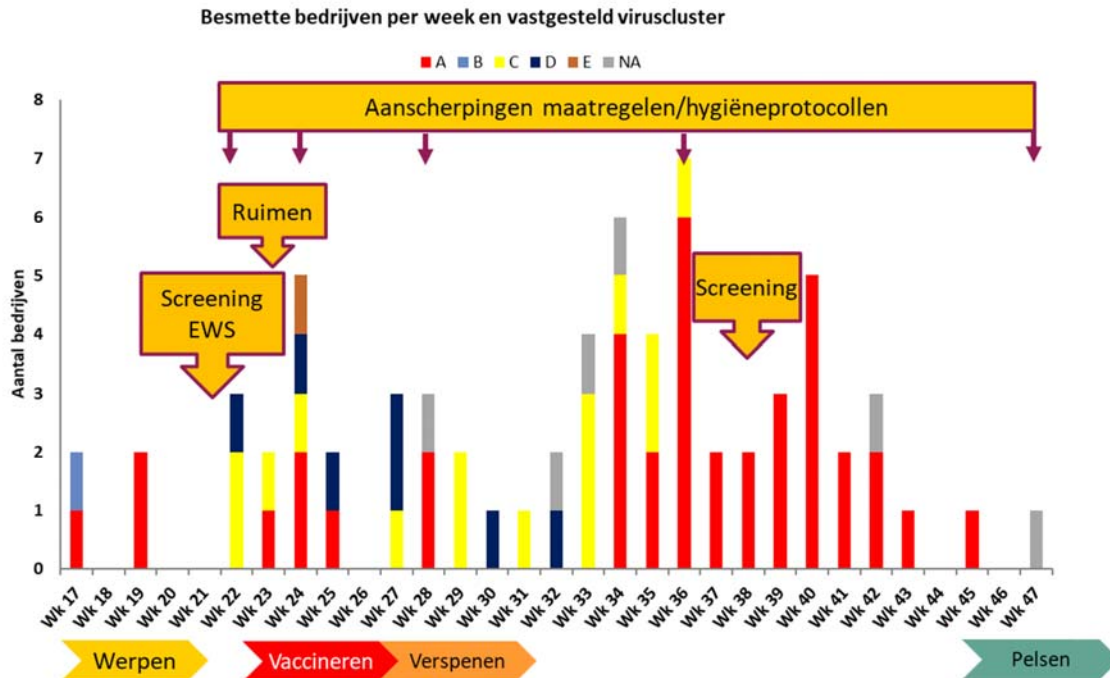
Een andere uitdaging is om de rol van de verspreiding via de omgeving in kaart te brengen en aan te kunnen pakken. Er is bijvoorbeeld nog relatief weinig bekend over het belang van deposities van bepaalde ziekteverwekkers in het milieu, verspreiding via de lucht en de rol van vrij-levende dieren en hoe dit het beste gemeten kan worden.

Het evalueren van de aanpak van de bestrijding van SARS-CoV-2 bij de nertsens, en die van andere infectieziekten, biedt kansen om draaiboeken te optimaliseren voor de bestrijding en het onderzoeken van toekomstige vergelijkbare uitbraken die om een 'One Health' benadering vragen.

Toelichting van de aanpak en uitkomsten

Inleiding

Er zijn sinds 24 april 2020 in totaal 69 nertsensbedrijven SARS-CoV-2 besmet verklaard en 70 bedrijven geruimd. Bij de overige bedrijven heeft eind 2020 het pelzen van alle nertsens plaatsgevonden en is sinds 8 januari 2021 het verbod op de pelsdierhouderij van kracht geworden. Bij de nertsens zijn vijf virusclusters, aangeduid met A, B, C, D en E gevonden, waarvan A, C en D het meest voorkwamen. Sinds begin september is alleen viruscluster A nog gevonden (Figuur 1). De besmettingen zijn geconstateerd bij 44 bedrijven in Noord-Brabant, bij 23 bedrijven in Limburg en bij 2 bedrijven in Gelderland.



Figuur 1. Verloop van de besmettingen in nertsensbedrijven en het vastgestelde viruscluster door Erasmus MC. De gele balken geven aan wanneer monitoringsactiviteiten zijn gestart en extra maatregelen, zoals hygiëneprotocollen, van kracht werden. Onder de figuur staan de werkzaamheden samengevat die hebben plaatsgevonden bij de nertsensbedrijven en veelal gepaard gaan met veel contact met de dieren en inzet van meer personeel dan in andere periodes.

Ondanks de ingestelde hygiëneprotocollen en het snel opsporen en ruimen van besmette bedrijven bleven nieuwe besmettingen op nertsensbedrijven vastgesteld worden. Daarom is nader onderzoek uitgevoerd om mogelijke besmettingsroutes te kunnen vaststellen.

Het onderzoek bestond uit vier hoofdonderdelen:

1. Een uitgebreid tracerings- en risicofactorenonderzoek aan de hand van informatie verzameld door NVWA, uitgebreid met interviews en enquêtes;
2. Klinisch- en diagnostisch onderzoek op nertsensbedrijven;
3. Vergelijken van de genetische code van nertsens en mensen bij de verschillende bedrijven;
4. Risicobeoordeling van de mogelijke rol van vrij-levende diersoorten in de verspreiding van SARS-CoV-2 tussen nertsensbedrijven.

De werkwijze en belangrijkste bevindingen per onderdeel worden hieronder toegelicht.

1. Tracerings- en risicofactorenonderzoek

Werkwijze

Om mogelijke besmettingsroutes in kaart te kunnen brengen is informatie over contacten met, en tussen nertsbedrijven, systematisch verzameld. Daarbij werden de volgende mogelijke contacten geïnventariseerd: contacten tussen mensen en nertsen, onderlinge contacten tussen mensen die met nertsen werken, af- en aanvoer van dieren- en dierproducten, leveringen van voer en materialen, aanwezigheid van huisdieren en aanwezigheid en mogelijke contacten tussen nertsen en vrij-levende diersoorten rondom de bedrijven. Tevens zijn bedrijfsspecifieke data samengevat over locatie, bedrijfsgrootte, huisvestingstype, voer-, water-, mest- en ventilatiesystemen en, indien bekend, informatie over handelingen waarbij direct contact was met de nertsen, gebruik van persoonlijke beschermingsmiddelen, gezondheidsklachten en de testhistorie van mensen.

Veel informatie was beschikbaar in de traceringsdossiers van NVWA, die voor alle besmette bedrijven beschikbaar waren. Tevens zijn bij de serologische screening tussen april en juni 2020 van alle nertsbedrijven in Nederland enquêtes door GD afgenomen met vragen over het bedrijf, het huishouden en bezoekers. Daarnaast hebben interviews plaatsgevonden met nertsenhouders tussen eind juli en eind december 2020. Hieraan hebben 28 houders van nertsbedrijven meegewerkt die besmet waren en 6 van bedrijven waar geen SARS-CoV-2 is geconstateerd. Ook is gesproken met dierenartsen, sectorvertegenwoordigers, GD- en NVWA-medewerkers die locatiebezoeken hadden uitgevoerd. Een overzicht van de verzamelde informatie is te vinden in tabel 1.

Bij het traceringsonderzoek is steeds gekeken naar de uitkomsten van moleculair-genetisch virusonderzoek (virussequentie-onderzoek, zie hoofdstuk 3). Bij een gelijkenis in virussequenties werd gekeken of dit vanuit het traceringsonderzoek te verklaren was, en andersom, bij verbanden die bij de tracering werden blootgelegd werd gekeken hoe waarschijnlijk het was dat dit tot een besmetting van een bedrijf heeft geleid.

Voor het bron- en contactonderzoek zijn veterinaire en humane contactstructuren bekeken, los van elkaar, maar ook in samenhang met elkaar. Bijvoorbeeld, als een voertuig op het erf komt is er niet alleen een kans op virusoverdracht via wielen of geleverde materialen (waaronder voer) maar ook via de betrokken chauffeur. En in het geval van afvoer van mest geldt dat dit mogelijk ook op het land terecht kan komen. Dit benadrukt dat de 'One Health' benadering, met oog voor veterinaire, humane en omgevingsaspecten, bij een dergelijk onderzoek noodzakelijk is.

Samenvatting resultaten

Patroon van besmettingen in tijd en ruimte

Opvallend was dat ondanks dat er minder werkzaamheden tussen mensen en nertsen plaats hebben gevonden sinds eind juli, SARS-CoV-2 zich bleef verspreiden tussen nertsbedrijven. Vanaf begin september werd alleen viruscluster A nog vastgesteld (Figuur 1).

Naastgelegen bedrijven hadden soms een ander viruscluster, hoewel vanaf augustus in toenemende mate geografische clustering werd gezien. Veel besmette nertsbedrijven lagen op korte afstand van elkaar (Tabel 2). Nabijheid van een ander SARS-CoV-2 besmet bedrijf lijkt zowel in Nederland als ook in Denemarken (Boklund et al., 2021; EFSA & ECDC, 2021) een risicofactor voor besmetting te zijn, maar welke onderliggende factoren dit kunnen verklaren is nog niet duidelijk. In Denemarken (Boklund et al., 2021) werd een associatie gevonden tussen bedrijfsgrootte en de kans op besmetting van een bedrijf. Vanwege regio-verschillen in bedrijfsgrootte kan dit verband in Nederland niet onderzocht worden. Voor de besmette bedrijven werd in ieder geval geen associatie aangetoond tussen bedrijfsgrootte en of het bedrijf voor of na augustus besmet werd verklaard. Ook zagen we geen associatie tussen bedrijfsgrootte en de klinische en diagnostische uitkomsten.

Eindrapport 'Onderzoek naar besmettingsroutes van SARS-CoV-2 op nertsenbedrijven'

Tabel 1. Overzicht informatie voor het tracering en risicofactorenonderzoek

Informatie	Toelichting	NVWA	WBVR	GD enquête mei/juni en/of interviews UU & GD na ruiming	Erasmus MC	UU-IRAS katten project	Wildlife werkgroep (Zoogdierverseniging, Sovon, Erasmus MC, UU, expertmeetings)
Bedrijf- en uitbraakdetails	Bedrijf, melding, datum diagnose en ruiming	Tracering					
Locatie	Ligging, afstanden ander nertsenbedrijf	Tracering					
Contacten nertsenfarms	Nevenlocaties, familie- of sociale contacten nertsenfarms, gedeeld personeel, dierenarts, voerleverancier en leveringsroutes	Tracering (incl. voerroutes)		Beiden			
Dier/diermaterialen afvoer	Aan- en afvoer materialen, levende of dode dieren, pelzen, mest	Tracering (incl. mestafvoermeldingen)		Interview/enquete			
Bedijfstype & diermanagement	Toeleveringen vanaf buiten erf, staltype, bedrijfsgrootte, werp en speenperiode, type water, watersysteem, ventilatie, voermanagement, afscheiding hokjes	Tracering (incl. foto's), taxatie voor dieraantallen		Beiden			
Huisdieren	Huisdieren, andere gehouden dieren, zwerf- of buurtkatten / testuitslagen	Tracering en waarnemingen NVWA	Uitslagen	Beiden (incl. info dierenartsen)		Data en uitslagen	Waarnemingen
Vrij-levende wilde diersoorten	Waarnemingen en toegankelijkheid vrij levende wilde dieren (huiskatten, vossen, nertsen en andere marterachtigen, vleermuizen, vogels, insecten en ratten/muizen) / testuitslagen	Tracering en waarnemingen NVWA	Uitslagen	Beiden (incl. waarnemingen) / bevindingen TRAAS ongediertebestrijding	Uitslagen		Waarnemingen en monsternames
Personeel	Aantal erf- en stalbetreders, vaste medewerkers, vaste seizoensmedewerkers, uitzendmedewerkers	Tracering (incl. presentielijsten ruiming/ bezoekersregistraties)		Beiden			
Sociale contacten	Woonvorm medewerkers, gezinsleden/werknemers met contacten in zorg, slachthuis, etc.	Tracering		Beiden			
Maatregelen humaan	Volgen hygiëneprotocolen, gebruik persoonlijke beschermingsmiddelen	Tracering & waarnemingen NVWA		Beiden			
Ziekte en testuitslag humaan	Ziekte- en testinformatie	Tracering en contact GGD		Beiden	Via GGD en PAMM		
Ziekte en testuitslag nertsen	Symptomen en testuitslagen	Testuitslagen	Uitslagen	Beiden + consultatie dierenartsen			
Virussequenties	Humaan en nertsen		Sequenties		Sequenties		

Traceringsonderzoek

In tabel 2 zijn kenmerken van de bedrijven uit het traceringsonderzoek samengevat.

Veterinaire contactstructuur

Een groot aantal bedrijven had dezelfde dierenarts of voerleverancier, maar er zijn geen eenduidige contacten gevonden tussen bedrijven binnen de verschillende virusclusters. Ook zijn er geen aanwijzingen dat het virus via gemeenschappelijke voertuigen en materialen, voerleveringen of via het verplaatsen van dieren of dierproducten is overgedragen. Bij vrijwel alle bedrijven werd het voer vanaf de weg geleverd. De nertsenhouders gaven aan dat bij voer- en andere transporten chauffeurs niet in de buurt van de nertsenhouders of dierverblijven kwamen, en dat als voertuigen wel binnen de erfgrans kwamen de geldende hygiëneprotocolen werden opgevolgd. Het voer van dezelfde fabriek, en soms ook hetzelfde voertuig, kwam tevens bij vele andere bedrijven die niet besmet zijn geraakt. Ook is in juni 2020 door WBVR een steekproef van in totaal 29 verzamelmonsters van volledig rantsoen onderzocht van vijf grote voerleveranciers, waarbij geen virus is aangetoond.

Eén derde van de bedrijven gaf aan dat opgeslagen drijfmest, voordat het bedrijf besmet bleek te zijn, op land is geïnjecteerd. Dit was veelal in de buurt van het bedrijf. Onduidelijk is of, en hoeveel, levensvatbaar virus hierin aanwezig is geweest en of dit had kunnen worden overgebracht naar een ander bedrijf. Echter, op basis van de afstanden van deze percelen tot nertsenbedrijven, in combinatie met het moment van uitrijden van de mest en de momenten van besmet raken van nertsenbedrijven, is het onwaarschijnlijk dat dit een rol heeft gespeeld bij besmettingen naar andere bedrijven.

Honden en katten

Bij veel nertsenbedrijven was een (waak)hond (62%) aanwezig. Veel minder bedrijven hadden zelf katten (15%) op het bedrijf. Wel gaven veel nertsenhouders (75%) aan dat buurtkatten of verwilderde katten op of rondom het bedrijf gezien werden.

Er is op 10 bedrijven onderzoek gedaan naar SARS-CoV-2 besmettingen bij honden en (zwerf)katten. Hieruit bleek dat van 101 geteste katten (12 huiskatten en 89 zwerfkatten) in totaal drie (3%) van de zwerfkatten PCR positief testten. Eén van de 13 honden (8%) had een positieve PCR test. Bij 11 zwerfkatten (van 62 geteste katten, 19%) en twee van de 13 honden (15%) konden antilichamen tegen SARS-CoV-2 aangetoond worden met ELISA en een virusneutralisatietest (VNT). Uit de keelwab van één van de katten werd een virussequentie gegenereerd die clusterde met de nertsensequenties van hetzelfde bedrijf. Omdat er sprake was van besmettingen van (schuwe) zwerfkatten heeft de meest waarschijnlijke introductie bij de katten via de nertsen (of gecontamineerde stalmaterialen) plaatsgevonden. Er zijn geen directe aanwijzingen gevonden voor transmissie van bedrijf naar bedrijf via katten (Van Aart et al., 2021, preprint). Echter, gezien de afstanden die katten kunnen overbruggen, kan een rol ook niet worden uitgesloten (zie hoofdstuk 4).

Medewerkers

Bij analyse van de GD-enquête werd geen statistisch significante associatie gevonden tussen de SARS-CoV-2 infectiestatus en het hebben van (vaste) medewerkers of inzetten van seizoenarbeiders. Uit de analyse van de traceringsinformatie van besmette bedrijven, samengevat in tabel 2, bleek dat 51% van de besmette bedrijven maximaal vijf stalbetreders had. De meeste bedrijven (64%) hadden niet meer dan twee vaste medewerkers en 78% niet meer dan drie seizoensmedewerkers. Vaak kwamen dezelfde seizoensmedewerkers elk jaar terug bij hetzelfde bedrijf en woonden dan vlakbij of op de nertsenfarm. Eén of meer tijdelijke medewerkers zonder vaste betrekking, die bijvoorbeeld via een uitzendbureau werden ingehuurd tijdens drukke periodes, werden bij 26% van de bedrijven ingezet (Tabel 2). Bij 86% bedrijven waren dit er minder dan twee (niet weergegeven in de tabel).

In figuur 1 is te zien dat werkzaamheden waarbij veel contact is met de dieren, en waarbij extra mankracht nodig is naast de nertsenhouders en vaste medewerkers zelf, tot half/eind juli hebben plaatsgevonden. Met name in de periode wanneer het extra personeel werd ingezet, was een bezoekersregistratie nog niet verplicht. Daarna werd het aantal stalbetreders beperkt gehouden en vertrokken veel seizoensmedewerkers en tijdelijke medewerkers naar eigen land zonder dat zij getest zijn of via bron- of contactonderzoek te achterhalen waren. Hierdoor is niet vast te stellen of deze mensen SARS-CoV-2 hebben binnengebracht of opgelopen tijdens de werkzaamheden.

Tabel 2. Samenvatting resultaten van het traceringsonderzoek voor geruimde bedrijven

Kenmerk	% Ja over totaal bekend*	Ja	Nee	Onbekend	Totaal bekend#
Algemeen & veterinaire contacten					
Besmet bedrijf < 3 km	74%	51	18	0	69
Besmet bedrijf < 3 km zelfde viruscluster	65%	43	25	3	66
Woonhuis < 400 m	65%	30	16	24	46
Huisvesting	Sheds: 54%	Sheds: 3	Hal/kas: 23	Combi: 9	70
Voerleverancier	A: 65%	A: 45	B: 15	C: 9	69
Dierenartspraktijk	A: 77%	A: 54	Overig: 16		70
Mest op land	35%	21	39	10	60
Delen materialen / voertuigen	10%	6	57	7	63
Afvoer kadavers < 3 wk voor diagnose	17%	11	53	6	64
Eigenaren en medewerkers*					
Zelfde eigenaar	46%	32	38	0	70
Familierelatie	54%	38	32	0	70
Gedeelde werknemers >=1	55%	36	29	5	65
Stalbetreders <=5	51%	35	34	0	69
		Gemiddeld = 5,94; mediaan = 5; min-max = 1-15			
Vaste Medewerkers ¹ <=2	64 %	44	25	0	69
		Gemiddeld = 2,48; mediaan = 2; min-max = 1-8			
Seizoens-Medewerkers ² <=3	78%	54	15	0	69
		Gemiddeld = 2,33; mediaan = 2; min-max = 0-8			
Tijdelijke Medewerkers ³ >=1	26%	18	51	0	69
		Gemiddeld = 0,49; mediaan = 0; min-max = 0-7			
Symptomen medewerkers ⁴	61% (n=51) 45% (n=69)	31	20	18	51 Alle: 69
Positief getest (PCR) ⁴	82% (n=51) 61% (n=69)	42	9	18	51 Alle: 69
Aanwezigheid van huisdieren op of rondom het bedrijf					
Eigen katten	15%	9	51	10	60
Eigen honden	62%	41	25	4	66
Verwilde- of buurtkatten	75%	50	17	3	67
Andere huisdieren (incl. vee)	54%	27	23	20	50

* % Ja = bepaald over aantal bedrijven waarvan informatie beschikbaar was. Bij 'eigenaren en medewerkers' zijn gemiddelde, mediaan en min/max berekend over alle (69) besmet verklaarde bedrijven; # Aantal bedrijven waarover informatie bekend is verschilt aan hand van beschikbare bronnen. Soms is het 70^e bedrijf in Putten, waar de besmetting niet officieel bevestigd werd, ook meegerekend; ¹ Vaste medewerkers = incl. eigenaar of bedrijfsleider; ² Seizoensmedewerkers = met vaste relatie met bedrijf die elk jaar in het drukke seizoen komen werken; ³ Tijdelijke medewerkers = zonder vaste relatie met bedrijf, die alleen in drukke periodes worden ingehuurd (zoals uitzendkrachten); ⁴ Volgens beschikbare informatie bij verschijnen rapport. Het bovenste % geeft aan bij hoeveel bedrijven, berekend over het aantal bedrijven waarvan informatie was, iemand positief is getest. Het onderste % is berekend over alle (69) bedrijven.

Van 55% van de bedrijven is bekend dat tussen een aantal bedrijven, voornamelijk in de periode met veel werkzaamheden, werknemers zijn uitgewisseld. Deze hadden niet allemaal contact met de nertsen (onder wie monteurs). Later in de uitbraak gebeurde dit veel minder, en dan voornamelijk tussen bedrijven met dezelfde eigenaar of familie. Van een aantal grotere bedrijven is bekend dat deze gebruik maakten van commerciële testlaboratoria om het personeel regelmatig te testen voordat deze bij een (ander) bedrijf werden ingezet. Vanaf de eerste besmettingen hebben de nertsenhouders het aantal medewerkers en ook sociale contacten met anderen, zowel binnen de nertsenhouderij als daarbuiten, tot een minimum beperkt. Wel hielpen medewerkers van nertsenbedrijven elkaar vaak bij de ruimingen. Dit waren meestal mensen van geruimde bedrijven.

Gegevens over humane gevallen

Bij 61% van de bedrijven waarvan informatie bekend was (n=51) werd genoemd dat iemand van het bedrijf symptomen had gehad (Tabel 2). Een klein deel van deze medewerkers was negatief in de SARS-CoV-2 PCR test. Bij 102 mensen op 42 van de 69 bedrijven (61%) was een positieve testuitslag via de GGD bekend. In 57/102 gevallen was dit een nertsenvariant, van de andere personen was geen sequentie bekend aan de hand waarvan onderscheid kan worden gemaakt tussen de nertsenvirussen en andere circulerende SARS-CoV-2 virussen (zie hoofdstuk 3). De verschijnselen van de positieve personen op nertsenbedrijven waren erg wisselend: sommige mensen hadden geen symptomen, anderen noemden lichte verkoudheidsklachten, smaak- en geurverlies, vermoeidheid en in ieder geval één medewerker is opgenomen op de intensive care.

In de meeste gevallen was de datum van de positieve humane testuitslag ná de datum waarop de besmetting van het nertsenbedrijf was vastgesteld. Waar bij de eerste 16 bedrijven actieve 'case-finding' werd gedaan, konden daarna alleen mensen zich laten testen met klachten en werd er geen bloedonderzoek om antilichamen te detecteren meer gedaan. Een aantal van de houders van grotere bedrijven hebben vanwege dit testbeleid hun medewerkers regelmatig bij commerciële teststraten laten testen. Hiervan zijn alleen positieve uitslagen bekend. Ook was het door beperkingen in de informatie-uitwisseling vanwege privacyoverwegingen niet mogelijk namen uit dossiers en bezoekersregistraties van NVWA te koppelen aan de mensen die positief zijn getest. Door deze beperkingen was het niet mogelijk exact vast te stellen welke mensen wel en niet zijn getest en is het onbekend welke mensen niet goed in beeld zijn gekomen en of er specifieke werkzaamheden of type blootstelling (intensief contact ten opzichte van bijvoorbeeld alleen het wonen op het bedrijf) verband hebben gehouden met besmettingen. Op basis van de beschikbare informatie kunnen we vaststellen dat veel mensen besmet zijn geraakt die werkten met nertsen en/of woonden op de besmette nertsenbedrijven. Blootstelling aan besmette nertsen gaat dus gepaard met een hoog risico op een SARS-CoV-2 besmetting voor personen in direct contact met dieren.

Hygiënemaatregelen

Hoewel de meeste nertsenhouders tijdens interviews noemden dat ze de verplicht gestelde hygiënemaatregelen grotendeels hebben opgevolgd, werd ook gezegd dat het moeilijk bleek alle maatregelen consequent toe te passen. De niet-medische mondkmaskers, die gebruikt moesten worden volgens de eerste hygiëneprotocollen, werden vaak wel gebruikt. Extra maatregelen, zoals spatbrillen of medische mondkmaskers werden vrijwel niet toegepast, of door een beperkt aantal mensen op het bedrijf. Spatbrillen vonden de mensen vaak onhandig omdat die in combinatie met een mondkapje vaak besloegen. Het gebruik van medische mondkmaskers was alleen bij de ruiming en het pelzen verplicht. Opvallend is dat van in totaal 75 NVWA medewerkers die bij besmette bedrijven, inclusief ruimingen, zijn geweest van drie mensen bekend is dat zij besmet zijn geraakt. Hiervan werden twee mensen ziek binnen enkele dagen na de ruiming en één persoon na een monsternamen. Het was niet mogelijk om de genetische code van het virus te bepalen. Hierdoor is niet geheel zeker dat deze mensen tijdens de werkzaamheden besmet zijn geraakt met de nertsenvariant van SARS-CoV-2, hoewel dit wel aannemelijk was aangezien de infectie kort na de werkzaamheden werd bevestigd. Ervan uitgaand dat de infectie was opgelopen bij deze werkzaamheden, valt op dat het percentage geïnfecteerde NVWA medewerkers wel veel lager is dan het percentage geïnfecteerde werknemers op de bedrijven. Dit wijst erop dat de strikte protocollen voor het bezoeken van de besmette bedrijven door NVWA-personeel, waaronder het dragen van medische mondkmaskers en spatbrillen, bij consequent toepassen en bij de betreffende blootstellingsgraad en duur, besmettingen in de meeste gevallen konden tegengaan.

Koppeling traceringsinformatie en virussequentie-onderzoek

Voor de bedrijven die wat betreft sequenties erg op elkaar leken, of waarvan bekend was uit de analyse van de traceringsdata dat er mensen op meerdere bedrijven kwamen of dat er andere relevante contacten hadden plaatsgevonden, is gekeken of de gelijkenis in sequenties hieruit te verklaren was. Opmerkelijk was dat de virussequenties vanaf half augustus erg op elkaar leken. Met de data die tot nu kon worden geanalyseerd hebben we dit nog niet kunnen verklaren. De variantvirussen worden verder onderzocht in vergelijking met varianten die bij mensen zijn gevonden om mogelijke veranderingen in eigenschappen te kunnen vaststellen of uitsluiten.

Voor een aantal bedrijven lijkt gedeeld personeel een rol te kunnen hebben gespeeld. Dit was mogelijk het geval tussen eind april en begin mei voor een drietal bedrijven, begin juni tussen twee bedrijven en eind juni/begin juli tussen twee bedrijven. Daarna zijn bij twee bedrijven in augustus en vier bedrijven eind september mogelijke verbanden gevonden met gedeeld personeel.

Er is op verschillende manieren naar allerlei relevante verbanden gekeken. Sommige associaties op basis van sequenties lijken misschien verband te houden met personeel, anderen met korte afstanden tussen bedrijven en veel met nog onbekende factoren. En andersom, wanneer vanuit de traceringsinformatie duidelijke verbanden aanwezig leken te zijn, bleek dit vaak niet te koppelen aan vergelijkbare sequenties. Kortom, vooralsnog is voor een beperkt aantal bedrijven een mogelijke epidemiologische verklaring gevonden voor de besmetting. Deze uitkomsten zijn vergelijkbaar met wat is gevonden in Denemarken (Boklund et al., 2021). Nadere geavanceerde analyses zijn nog gaande, maar worden uitgevoerd buiten dit onderzoek.

2. Klinisch- en diagnostisch onderzoek op nertsenbedrijven

Werkwijze

Welke klinische verschijnselen bij nertsen kunnen wijzen op infectie, hoe het virus zich verspreidt tussen de dieren en stallen en wanneer mogelijke introductiemomenten hebben plaatsgevonden is onderzocht aan de hand van alle informatie die beschikbaar was over het klinische beeld en de testuitslagen. De uitslagen die beschikbaar waren betroffen:

- Early Warning (EW) onderzoek. Dit betrof het wekelijks insturen van recent gestorven dieren naar GD voor onderzoek met een SARS-CoV-2 PCR test. In het begin konden maximaal vijf dieren per week worden ingestuurd. Naderhand werd dit veranderd naar alle gestorven dieren, waarbij uiteindelijk een maximum van 50 nertsen per bedrijf is gehanteerd.
- Twee serologische onderzoeken, uitgevoerd eind mei/begin juni (alle nertsenbedrijven) en in half/eind september (nertsenbedrijven gelegen in het risicogebied). Hier is op de nertsenbedrijven van minimaal 60 dieren over het hele bedrijf een kleine hoeveelheid bloed op een zogenaamd kammetje (een filterpapierpapiertje ontworpen voor bloedverzameling) aangebracht en getest met de door GD ontwikkelde SARS-CoV-2 ELISA (GD ELISA).
- Ambtelijke monsternames. Hierbij werden standaard van 20 nertsen een keel- en rectaalswab genomen (in sommige gevallen meer) en de klinische verschijnselen gezien op het bedrijf genoteerd. Dit vond plaats na een klinische melding of positief resultaat uit de EW of vanuit één van de twee serologische onderzoeken. In een beperkt aantal gevallen werd tevens serologisch onderzoek gedaan met een virusneutralisatie test (VNT). Bedrijven werden alleen als positief aangemerkt als door WBVR één of meer dieren positief zijn getest.
- Resultaten van virussequencing van positieve keelwabs monsters bij WBVR en Erasmus MC.

Een aantal bedrijven is na een verdenking vanuit de EW of een klinische melding negatief getest in de ambtelijke monsternamen maar een paar weken later alsnog positief bevonden. Samen met het verminderde contact met de dieren en minder personeel leidde dat tot de veronderstelling dat het virus op sommige bedrijven mogelijk al in de periode met de intensieve werkzaamheden (voor half/eind juli) was geïntroduceerd en al die tijd ongemerkt aanwezig is geweest. Om dit nader te onderzoeken zijn extra monsternames uitgevoerd:

- Vanaf eind juli zijn van 39 bedrijven in totaal 60 kadavers van net gedode nertsen naar GD getransporteerd waarbij bloed werd verzameld op kammetjes en getest met de GD ELISA.
- Bij acht bedrijven in september en oktober zijn uitgebreide monsternames uitgevoerd waarbij 112-317 keelwabs en een even groot aantal bloedmonsters per bedrijf zijn genomen, willekeurig verdeeld over alle rijen en sheds of hallen op het bedrijf. Dit vond plaats een dag na de ambtelijke monsternamen en kort voor het ruimen.

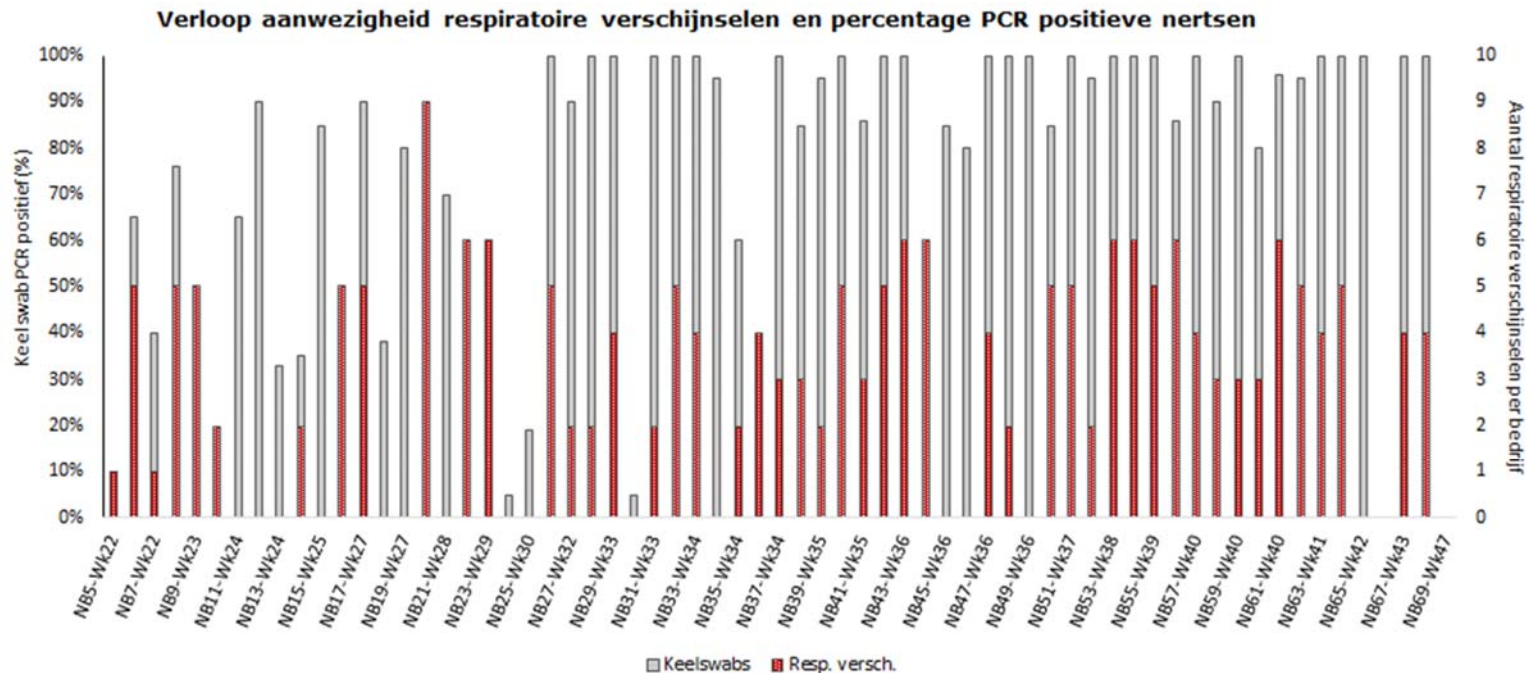
Samenvatting resultaten

Klinische verschijnselen

- De mate van ziekte was sterk wisselend per bedrijf. De klinische verschijnselen die het meest werden gezien waren verhoogde uitval, verminderde voeropname, verminderde activiteit, bemoeilijkte ademhaling en snotneuzen, vaak met uitvloeiing of vastgekoekt materiaal rond de neus en ogen, en bij sectie van dode dieren uitgebreide longontsteking.
- Het aantal bedrijven dat is opgespoord op basis van melding van klinische verschijnselen, en op basis van monitoring door middel van EW of serologische onderzoeken was ongeveer gelijk. Na een klinische melding werd een meer gevarieerd en ernstiger klinisch beeld gezien dan bij bedrijven die verdacht waren op basis van monitoring.
- Bij bedrijven met viruscluster A en C werd een meer gevarieerd en ernstiger klinisch beeld gezien dan bij cluster D.
- Vanaf augustus veranderde het beeld en viel op dat vaker en meer verschillende typen symptomen van het ademhalingsapparaat werden gezien (Figuur 2). Deze bevindingen wijzen erop dat hetzelfde ziekteproces in ernstiger mate aanwezig was.

Diagnostische uitslagen

- Het testen van keelwabs gaf significant meer positieve resultaten vergeleken met rectaalswabs. Wanneer alleen rectaalswabs waren genomen, zou ruim een kwart van de besmette bedrijven ten onrechte negatief getest zijn.



Figuur 2. Verloop van het percentage (%) nertsen dat PCR positief is getest d.m.v. keelwabs bij ambtelijke monsternamen op de linker verticale as en het totale aantal klinische verschijnselen van het ademhalingsapparaat per bedrijf (met een maximum van 9 verschillende typen symptomen) zoals gezien door de dierenarts en/of door de nertsenhouder op de rechter as. Dit betrof symptomen waaronder oog- en neusuitvloeiing, bijgeluiden (zoals hoesten en proesten) en bemoeilijkte ademhaling. Op de horizontale as is het bedrijf en de week van diagnose weergegeven. Met name vanaf augustus (NB27, week 32) werd een toename gezien in het % positieve dieren en in de mate waarin verschillende klinische verschijnselen van het ademhalingsapparaat werden waargenomen. Het NB nummer verwijst naar het nertsenbedrijf (uitbraaknummer). Deze zijn genummerd in volgorde van de vaststelling van besmetting.

- Vanaf augustus waren meer keelwabs bij ambtelijke monsternamen positief dan bij bedrijven die voor augustus besmet werden verklaard (Figuur 2). De hoge virusprevalenties geven aan dat het virus snel kan spreiden tussen de nertsen in de bedrijven. Dit is ook gezien bij uitbraken in Denemarken, waarbij het aantal PCR positieve dieren toenam van 13% naar 86% in vier dagen (Hammer et al., 2021).

- Er werden geen verschillen gezien in het percentage PCR positieve dieren tussen de verschillende virusclusters.
- Uit de serologische screening van alle bedrijven in mei/juni bleek dat er buiten het risicogebied in Noord-Brabant/Limburg geen bedrijven in de GD ELISA positief waren, met andere woorden dat er geen aanwijzingen waren dat daar het virus subklinisch op bedrijven aanwezig was.
- Bij 30 van de 39 geruimde bedrijven die bij ruiming serologisch zijn onderzocht met de GD ELISA zijn antistoffen aangetoond. Bij zeven bedrijven werden geen antistoffen aangetoond. Het zou hier kunnen gaan om een zeer recente infectie, omdat de test enkel IgG aantoon (IgG antistoffen ontwikkelen zich waarschijnlijk vanaf een week na infectie). Maar het kan ook een infectie in een beperkt deel van de nertsbevolking zijn geweest, die met het aantal gekozen monsters, de wijze van monsterselectie en de gevoeligheid van de test gemist is. Bij twee bedrijven was om technische redenen de test niet gelukt.
- Ongeveer de helft van de bedrijven is opgespoord vanuit de monitoring, waarbij klinische verschijnselen pas gezien werden bij de officiële monsternamen.
- 15 bedrijven (tussen begin juli en half oktober) werden na een verdenking op basis van klinische verschijnselen of EW op kadavers negatief getest bij ambtelijke monsternamen maar bleken later positief. Negen bedrijven zijn eenmaal eerder negatief getest bij ambtelijke monsternamen, vijf bedrijven tweemaal eerder en één bedrijf zelfs driemaal eerder (12 weken voor de uiteindelijke diagnose). Tussentijds waren deze bedrijven negatief in de EW. Vijf van deze bedrijven bevonden zich onder de selectie van acht bedrijven die uitgebreider en willekeurig over de stal zijn bemonsterd om vast te stellen of het virus hier langer had gecirculeerd (zie hieronder).

Uitgebreide monsternamen bij acht bedrijven

- Bij de ambtelijke monsternamen, die bij de meeste bedrijven een dag voor de uitgebreide monsternamen had plaatsgevonden, waren bijna alle keelwabs positief. Voor drie bedrijven was het percentage PCR positieve keelwabs (bij bemonsteren van circa 20 dieren) 100%, voor de andere vier bedrijven was dit 80%, 85%, 95% en 96%. Bij het achtste bedrijf werden geen PCR positieve dieren aangetroffen. Dit bedrijf was bij de tweede serologische screening opgespoord.
- Bij de uitgebreide monsternamen van willekeurige bemonsterde dieren over de hele stal een dag later was het percentage positieve keelwabs voor de zeven bedrijven (excl. het bedrijf met 0% positieve dieren) 100%. Bij deze zeven bedrijven vertoonde minder dan 10% van de willekeurig over het bedrijf bemonsterde nerts symptomen. Er waren zes bedrijven positief in de serologische test (GD ELISA).

Samenvattend kan gesteld worden dat bij bedrijven die in het EW onderzoek herhaaldelijk negatief waren getest circa 75-100% van de bemonsterde nerts bij de ambtelijke monsternamen volgend op een eerste positieve EW uitslag PCR positief bleken te zijn, met name vanaf augustus. Ook wanneer nerts geheel willekeurig over het bedrijf werden bemonsterd bleken alle monsters PCR positief te zijn. Op basis hiervan, en wat bekend is uit herhaaldelijke monsternamen op besmette nertsbedrijven in Denemarken (Boklund et al., 2021) en experimenten met nerts en fretten (EFSA & ECDC, 2021), lijkt SARS-CoV-2 snel te kunnen verspreiden tussen nerts, zelfs als deze zich in andere rijen, hallen of sheds bevinden. In de periode vanaf augustus gingen de besmettingen ook steeds vaker gepaard met acute ziekteverschijnselen bij relatief veel van de dieren. Het beeld dat is gezien zou kunnen passen bij het zich bevinden in de acute fase van de uitbraak. Een tweede mogelijkheid is dat mutaties in de virussen zijn opgetreden die invloed hebben gehad op de mate van verspreiding tussen de nerts, maar dit kon niet worden aangetoond. We kunnen een infectie bij een klein aantal dieren, die niet direct werd opgemerkt met de monitoringsactiviteiten en de klinische meldplicht, op basis van deze uitkomsten niet uitsluiten. De serologische uitslagen samen met de genetische bevindingen beschreven verderop (zie hoofdstuk 3), kunnen erop wijzen dat het virus al eerder aanwezig was bij een aantal bedrijven. Omdat bedrijven wekelijks getest zijn in het kader van EW, en tweemaal getest zijn in serologische screenings, en geen klinische symptomen van de ziekte zijn gezien, is het virus wellicht niet lang of in een heel beperkt deel van de populatie aanwezig geweest. Bij het nader onderzoeken van ruim 50 van de positieve monsters van drie van deze bedrijven is daarom ook gekeken naar het aantal mutaties om een inschatting te kunnen maken van hoe lang het virus heeft gecirculeerd op het bedrijf tussen de dieren. De betekenis van het aantal gevonden mutaties wordt nog nader geanalyseerd (zie hoofdstuk 3).

3. Vergelijken van de genetische code van nertsen en mensen

Werkwijze

Van alle humane en een aantal nertsenmonsters zijn de sequenties bepaald. Keelwabs van nertsen van alle positieve bedrijven zijn gesequenced met uitzondering van NB22, NB30 en NB37 aangezien hiervan geen samples met voldoende RNA concentraties beschikbaar waren. Deze materialen zijn verzameld tijdens de ambtelijke monsternames, door WBVR getest met RT-PCR, en vervolgens doorgestuurd naar Erasmus MC. Per bedrijf zijn waar mogelijk vijf monsters geselecteerd met de hoogste virale concentraties om te sequencen. Waar mogelijk zijn materialen van positief geteste personen gerelateerd aan de positieve bedrijven opgevraagd, maar dat was vanwege de complexe logistiek niet in alle gevallen mogelijk. Serologie is bij mensen niet meer uitgevoerd na uitbraaknummer 16.

Om te bepalen of er besmettingen van personen wonend in de buurt van nertsenbedrijven heeft plaatsgevonden heeft tweemaal een screening plaatsgevonden van een random selectie van COVID-19 patiënten in dezelfde postcoderegio als de besmette nertsenbedrijven. In de eerste screening zijn 34 SARS-CoV-2-positieve monsters rondom uitbraaknummers 1-4 (verzameld tussen 4 maart - 29 april 2020) gesequenced. De tweede screening vond plaats van 15-10-2020 tot 16-11-2020 in de postcoderegio's van de 69 SARS-CoV-2 positieve nertsenbedrijven. Er zijn 10 SARS-CoV-2 positieve monsters per postcode opgevraagd. Niet in alle gevallen was het mogelijk om 10 monsters te onderzoeken omdat er niet altijd 10 SARS-CoV-2 positieve personen in de geselecteerde tijdsperiode waren gedetecteerd of omdat niet alle monsters bewaard waren door de laboratoria.

Samenvatting resultaten

Introductie en transmissie

- Op basis van de sequentie-informatie hebben de eerste introducties in de nertsenpopulatie enkele weken voor de eerste detecties van positieve nertsenbedrijven plaatsgevonden, waarschijnlijk tussen halverwege maart en eind april.
- Er is sprake geweest van vijf verschillende introducties vanuit mensen naar nertsen waarna transmissie tussen nertsenbedrijven heeft plaatsgevonden. De virussen op de meeste bedrijven behoorden tot cluster A. Tijdens de verspreiding binnen bedrijven treden mutaties op die bij de meeste bedrijven zorgen voor een herkenbaar sequenti patroon per bedrijf. Deze patronen zijn ook gebruikt om vast te stellen of er bij personen met contact met nertsen sprake was van zoönotische infecties.

Specifieke mutaties in nertsenvirussen

- In de nertsenvirussen is een aantal mutaties te zien in de spike regio, belangrijk voor de binding met de ACE2 receptor en ook de binding van antilichamen. Een aantal van deze mutaties komt overeen met mutaties die te zien zijn in sequenties uit geïnfecteerde nertsen uit Litouwen en Denemarken. Het is nog niet bekend wat het effect is van de gevonden mutaties.
- De monsters met spike mutaties zijn opgekweekt en worden verder gekarakteriseerd door middel van virusneutralisatietesten om de mate van binding van neutraliserende antistoffen in sera van eerder geïnfecteerde en gevaccineerde mensen te onderzoeken.

Humane infecties

- 102 mensen op 42 van de 69 bedrijven (61%) testten positief op SARS-CoV-2 in de periode april-november 2020. In 57/102 gevallen was dit een nertsenstam, van de andere personen was geen sequentie bekend aan de hand waarvan onderscheid kan worden gemaakt tussen de nertsenvirussen en andere circulerende SARS-CoV-2 virussen. Deze 57 personen waren gelinkt aan 28 nertsenbedrijven (medewerkers, eigenaren en gezin). Alle sequenties clusteren met de sequenties gevonden in de nertsen op die bedrijven.
- In de eerste postcodescreening zijn geen sequenties gevonden die clusteren met de nertsenclusters. In de tweede screening is één sequentie gevonden die in cluster A valt (inclusief F486 mutatie), positief bevonden op 1 november 2020. Deze persoon rapporteerde geen contact met nertsenbedrijven, of mensen die op nertsenbedrijven woonden of werkten. Twee andere sequenties (juli en oktober) die clusteren met nertsen in cluster A,

respectievelijk cluster C zijn gevonden in de zogenaamde kiemsurveillance die regulier door RIVM en Erasmus MC wordt uitgevoerd ([Kiemsurveillance | RIVM](#)). Beide patiënten hadden geen link met een nertsenhouderij en woonden buiten de risicoregio met besmette nertsenbedrijven. Dit wijst op beperkte verspreiding in de algemene bevolking. Na 1 november 2020 zijn geen sequenties meer gedetecteerd in de Nederlandse bevolking die lijken op de nertsensequenties. Daarom wordt aangenomen dat de circulatie in mensen met de nertsensvariant buiten de nertsenhouderij beperkt is gebleven en wordt niet verwacht dat deze virusvarianten nog zullen worden aangetroffen in mensen.

Uitgebreide monstername

- Drie van de acht bedrijven waarbij uitgebreide monstername heeft plaatsgevonden (zie hoofdstuk 2) zijn geselecteerd voor nader onderzoek op basis van de diversiteit in de sequenties die op dat moment bekend waren uit de ambtelijke monstername door NVWA (deze bedrijven lieten de grootste diversiteit zien). Deze ambtelijke monstername door NVWA was een dag voor de uitgebreide monstername uitgevoerd. De dieren waarvan een keelwab was afgenomen waren willekeurig over het gehele bedrijf gehuisvest. Bij de monstername werden kenmerken van de dieren genoteerd (geslacht, leeftijd, kleurslag en klinische verschijnselen), en de exacte locatie ingetekend op plattegronden. Bij de selectie van monsters voor sequencing (in totaal ruim 50 monsters van de drie bedrijven) is gezorgd voor een gelijke verdeling over alle rijen kooien over het hele bedrijf, waardoor het aantal monsters verschillend was door verschillen in grootte en indeling van de bedrijven. Tevens is ervoor gezorgd dat alle leeftijdsgroepen, geslachten en kleurslagen evenredig vertegenwoordigd waren in de selectie. Tussen de sequenties per bedrijf (n=13-20) was het verschil maximaal vijf of zes nucleotiden.
- De gegenereerde sequenties, die deel uitmaken van cluster A, wijzen mogelijk op meerdere introducties per bedrijf of een gemeenschappelijke bron. Daarom is het nog niet mogelijk om aan de hand van de diversiteit de tijd tussen introductie en detectie te schatten. Er zijn geavanceerde analyses voor nodig om hier meer zicht te krijgen die buiten dit onderzoek nog gaan plaatsvinden.

4. Risicobeoordeling van de mogelijke rol van vrij-levende diersoorten in de verspreiding van SARS-CoV-2 tussen nertsbedrijven

Werkwijze

Voor de risicobeoordeling van verspreiding van SARS-CoV-2 tussen bedrijven via vrij-levende wilde en gedomesticeerde diersoorten was het onderzoek gericht op vier inschattingen. Eerst is een inschatting gemaakt welke vrij-levende diersoorten mogelijk betrokken kunnen zijn bij de verspreiding van SARS-CoV-2 tussen nertsbedrijven, gebaseerd op een inschatting van de gevoeligheid voor SARS-CoV-2 van de diersoort, het vóórkomen van de soort in de regio met SARS-CoV-2 positieve nertsbedrijven en of het aannemelijk is dat de soort op een nertsbedrijf komt (aandachtsoorten). Ten tweede is een inschatting gemaakt over de mogelijkheid van vrij-levende diersoorten om contact te maken met gehouden nertsen. Ten derde hebben we gekeken of vrij-levende dieren de afstanden tussen bedrijven kunnen overbruggen. Ten vierde is onderzocht of er aanwijzingen zijn dat in vrij-levende dieren SARS-CoV-2 infecties circuleren.

Samenvatting resultaten

De aandachtsoorten

Dieren kunnen SARS-CoV-2 verspreiden via het mechanisch verplaatsen van virus en/of wanneer ze zelf een actieve infectie doormaken en virus uitscheiden (productieve infectie). Mechanische verspreiding kan waarschijnlijk gedurende een veel kortere periode plaatsvinden. Een productieve infectie daarentegen zorgt voor uitscheiding van infectieus virus over langere tijd. De aanname voor de selectie van aandachtsoorten is dat dieren die virus alleen mechanisch overdragen een minder groot risico vormen voor de verspreiding tussen nertsbedrijven vergeleken met dieren die een productieve infectie met het virus kunnen doormaken.

Er zijn aanwijzingen uit de literatuur gevonden dat roofdieren (marterachtigen, katachtigen en hondachtigen) gevoelig zijn voor infectie. Voor vleermuizen kunnen we niet uitsluiten dat sommige soorten gevoelig zouden kunnen zijn voor infectie. Er zijn geen aanwijzingen uit de literatuur dat vogels, ratten, stal-, huis- en vleesvliegen een infectie met SARS-CoV-2 door kunnen maken. Deze laatste diersoorten zouden het virus mogelijk wel via mechanische transmissie kunnen verspreiden. De kennis over welke diersoortgroepen wel of niet een productieve infectie kunnen doormaken is nog onvolledig, in het bijzonder voor de verschillende SARS-CoV-2 varianten. Zeer recent is beschreven dat laboratoriummuizen wel te infecteren zijn met de recent opgedoken Zuid-Afrikaanse en Braziliaanse varianten van SARS-CoV-2 en niet met het oorspronkelijke virus (Montagutelli et al., 2021, preprint).

De kans op infectie van de aandachtsoorten door contact met nertsen

De kans op mechanische transmissie en productieve infectie hangt samen met de mogelijkheden tot contact met nertsen. Dit hangt samen met het vóórkomen van de soorten in de regio, met de mogelijkheden van de soorten om bedrijven op te komen en af te komen, en of er vanuit het gedrag van de soort verwacht kan worden dat ze een bepaalde mate van contact met nertsen maken, wanneer ze eenmaal op een bedrijf zijn.

- Vóórkomen in de regio: De volgende wilde roofdiersoorten komen algemeen voor in de regio van de besmette nertsbedrijven: vos (*Vulpes vulpes*), das (*Meles meles*), steenmarter (*Martes foina*), bunzing (*Mustela putorius*) en Amerikaanse nerts (*Neovison vison*). De volgende vleermuissoorten komen algemeen voor in de regio van de nertsbedrijven en kunnen foeragerend worden verwacht in en direct rond stallen met nertsen: gewone dwergvleermuis (*Pipistrellus pipistrellus*), gewone en grijze grootoorvleermuis (*Plecotus spp.*), laatvlieger (*Eptesicus serotinus*), en franjestaart (*Myotis nattereri*). Daarnaast komen minstens 30 verschillende vogelsoorten waarschijnlijk regelmatig voor op en rond het merendeel van de Nederlandse nertsbedrijven.
- De inrichting en infrastructuur van de onderzochte nertsbedrijven was dusdanig, dat allerlei vrij-levende diersoorten de nertsstallen zowel konden binnenkomen als uitgaan. Deze betroffen zowel verschillende soorten roofdieren, vleermuizen en vogels, als vrij-levende gedomesticeerde dieren als huiskatten, en ontsnapte nertsen.

- Wanneer de vrij-levende dieren een nertsbedrijf binnengaan is te verwachten dat roofdieren dichtbij de nertsen zullen komen, onder andere door hun interesse in het voer wat op de kooien ligt. Daardoor bestaat de kans dat ze geïnfecteerd kunnen raken met SARS-CoV-2. Vogels, ratten- en muizensoorten en andere soorten kunnen eveneens dichtbij de nertsen komen, al dan niet aangetrokken door voer, uitwerpselen, strooisel of en/of andere materialen. Vleermuizen zullen op grotere afstand van de nertsen vliegen en foerageren.

De mogelijkheden van vrij-levende dieren om de afstanden tussen bedrijven te overbruggen

- Gelet op hun gemiddelde foerageerafstanden en leefgebied, zouden geïnfecteerde individuen van huiskatten en Amerikaanse nertsen in principe in staat zijn om SARS-CoV-2 over te brengen naar naburige nertsbedrijven.
- Het is ook in theorie mogelijk dat andere carnivoren en vleermuizen meerdere nabijgelegen nertsbedrijven bezoeken, en op die manier SARS-CoV-2 zouden kunnen overbrengen, indien zij geïnfecteerd zijn (wilde carnivoren: 1-3 km; vleermuizen: > 6 km).
- Van ca. 30 verschillende vogelsoorten die op nertsbedrijven te verwachten zijn hebben er ca. 20 een middelgrote tot grote actieradius (honderden meters tot meerdere kilometers), die hen in staat stelt om meerdere bedrijven te bezoeken. Daarvan zijn de volgende vogelsoorten meerdere malen gerapporteerd op nertsbedrijven: enkele soorten meeuwen, duiven, kraaien en zwaluwen, alsmede spreeuwen (*Sturnus vulgaris*). Huismussen (*Passer domesticus*) zijn ook waargenomen op bedrijven, maar hebben een beperkte foerageerafstand, en de kans is daardoor zeer klein dat ze verschillende bedrijven bezoeken.

De waarschijnlijkheid van voorkomen en vestiging van SARS-CoV-2 in aandachtsoorten

- Uit virologische en antistoffenanalyse bleken zowel 12 huiskatten (allemaal verwilderde katten, gevangen op SARS-CoV-2 positieve nertsbedrijven) als twee ontsnapte Amerikaanse nertsen een SARS-CoV-2 infectie te hebben, of gehad te hebben. Het is waarschijnlijk dat de katten en nertsen de infectie hebben opgedaan op een nertsbedrijf. Op grond van virologische analyses van vrij-levende wilde dieren (50 karkassen en 755 fecesmonsters van das, bunzing, steenmarter, wezel, vos, gewone of grijze grootoorvleermuis, gewone of ruige dwergvleermuis, laatvlieger, merel, torenvalk), waren geen aanwijzingen voor productieve SARS-CoV-2 infecties. Hoewel een rol in virustransmissie van vrij-levende wilde diersoorten ten tijde van de uitbraken hiermee niet kan worden uitgesloten, maakt de afwezigheid van virusdetectie dit wel onwaarschijnlijker omdat SARS-CoV-2 blijkbaar niet uitgebreid circuleert in deze vrij-levende wilde diersoorten.
- Uit virologische analyse van gevonden dode vrij-levende wilde vogels op twee positieve nertsbedrijven bleek op de poten van twee (huis)mussen, en op de veren van één van deze twee mussen, genetisch materiaal (virus RNA) van SARS-CoV-2 te kunnen worden gedetecteerd. De hoeveelheid genetisch materiaal was echter onvoldoende voor het kunnen uitvoeren van een viruskweek om vast te stellen of het infectieus virus betrof. Een torenvalk (*Falco tinnunculus*) en twee merels (*Turdus merula*) van twee andere bedrijven waren negatief. Dit geeft aan dat de buitenzijde van vogels bevuild kan raken met besmet materiaal, zoals ook beschreven voor mest, strooisel en veegdoekjes (de Rooij et al., 2021, preprint). Dit wijst erop dat mechanische transmissie van SARS-CoV-2 via vogels in theorie een mogelijkheid is, echter, de inschatting is dat de kans erop erg klein lijkt te zijn.

Afsluitende woorden, geleerde lessen en aanbevelingen

In dit onderzoek is vanuit veel verschillende expertises kennis verzameld en uitgewisseld om inzicht te krijgen in het relatieve belang van de verschillende infectie- en verspreidingsroutes. Hierbij zijn informatie uit bron- en contactopsporingsonderzoek, gegevens van klinische waarnemingen en uitslagen van nadere diagnostiek en genetische codes van virussen bij nerts en mensen in samenhang met elkaar bestudeerd door het consortium. De hoofdconclusies, zoals weergegeven in de samenvatting aan het begin van dit rapport, zijn het resultaat van dit proces.

Buiten dit onderzoeksproject gefinancierd door het ministerie van LNV en het ministerie van VWS, maar binnen dit consortium dat samenwerkt in the Netherlands Centre for One Health (NCOH) zal het onderzoek nog voortgezet worden. Er vinden nog analyses plaats met complexe wiskundige modellen, waarbij gegevens uit het genetisch onderzoek, informatie over de verspreiding in ruimte en tijd van infecties bij mens en dier, en mogelijke risicofactoren nog nader in samenhang worden geanalyseerd. Daarnaast wordt nader onderzoek gedaan naar de betekenis van de verschillende mutaties die zijn gevonden in de nertsenvirussen. Aanvullende informatie zal dan ook nog in wetenschappelijke publicaties volgen.

Er is tijdens dit onderzoek niet alleen kennis verzameld over de inhoudelijke vragen die zijn gesteld over infectie- en verspreidingsroutes. Ook uit de ervaringen tijdens dit onderzoek is een hoop te leren. Terugkijkend op het proces zijn er een aantal zaken opgevallen en naar aanleiding daarvan hebben we een aantal aanbevelingen hieronder samengevat.

Covid-19 is een virusziekte waarbij zowel mens als dier de ziektekiem kunnen doorgeven, en waarbij nog weinig bekend is over mogelijke bronnen van het virus (virusreservoirs en virusgastheren) en overlevingsduur van het virus in de omgeving. Dit maakt de bestrijding ervan extra moeilijk. Een dergelijke infectieziekte vraagt om een 'One Health' aanpak met nauwe samenwerking tussen humane en veterinaire instanties onderling, en met andere relevante instanties, bijvoorbeeld op gebieden van milieu en ecologie. Hierbij is een gestroomlijnde en goed gecoördineerde **interdisciplinaire samenwerking** bij de preventie, surveillance en bestrijding nodig, **met real-time informatie-uitwisseling** tussen de verschillende domeinen om snel genoeg te kunnen ingrijpen. Het direct betrekken van een onderzoeksgroep met vertegenwoordigers uit diverse One Health disciplines, die samenwerkt met overige (overheids)instanties, kan hierbij nuttige input leveren voor het beleid rondom de opsporing en bestrijding.

Hierover is verder het volgende op te merken:

- Er is veel multidisciplinair samengewerkt door allerlei instanties en snel gehandeld om de infecties bij mens en dier snel te kunnen opsporen. Binnen korte tijd zijn verschillende **monitoringsprogramma's** zoals het Early Warning systeem, met wekelijks inzenden van kadavers en serologische screenings ontwikkeld en uitgevoerd, en is ook breder gekeken naar andere diersoorten dan nerts. Deze monitoringsprogramma's werkten aanvullend op de ingestelde aangifteplicht bij de opsporing van nieuwe besmette bedrijven.
- Ook werd **onderzoek** ingezet bij de bedrijven. Allereerst bij de eerste vijf bedrijven, waarbij onder meer ook naar risico's voor omwonenden is gekeken door het uitvoeren van luchtmetingen in de omgeving, en daarna om de besmettingsroutes te bestuderen. Een dergelijke aanpak, met snel inzetten van programma's om bij verschillende diersoorten en mensen infecties te kunnen detecteren, in combinatie met wetenschappelijk onderzoek, zorgt ervoor dat de opgedane kennis uit monitoring en nader onderzoek direct kan worden ingezet voor de bestrijding.
- Een uitdaging bij het integreren van informatie is de **communicatie en informatie-uitwisseling** tussen instanties van de verschillende domeinen. Bij de informatie-uitwisseling tussen humane en veterinaire instanties, o.a. bij het bron- en contactonderzoek, moest rekening worden gehouden met privacywetgeving. Daarnaast werd het vervolgonderzoek bemoeilijkt door de beperkingen ten gevolge van de pandemie en de hoge werkdruk bij o.a. de GGD-en en laboratoria.

Hierdoor was het bijvoorbeeld niet mogelijk vast te stellen welke mensen wel of niet zijn getest, weten we niet welke mensen niet goed in beeld zijn gekomen en of er specifieke werkzaamheden of typen blootstelling (van intensief contact met de dieren tot bijvoorbeeld alleen het wonen op het bedrijf) verband hebben gehouden met het risico op besmetting. Dit kan een effectieve bestrijding in de weg staan. Voor de toekomst zou het aan te bevelen zijn om meer mogelijkheden te hebben om informatie te delen in geval van uitbraken met zoonotische infecties.

- De goede samenwerking en betrokkenheid van o.a. de **NVWA als integraal onderdeel van het onderzoeksconsortium** maakte het mogelijk de standaardtracering door de NVWA in te zetten voor het onderzoek naar mogelijke besmettingsroutes en vroeg in de epidemie uit te breiden met extra vragen, o.a. betreffende humane contacten en het verloop van het klinische beeld en deze op de contactstructuur binnen de nertsenhouders af te stemmen. Toen bleek dat sommige vragen over de duur van circuleren van het virus op bedrijven moeilijk te beantwoorden waren, werd mogelijk gemaakt voor de onderzoeksgroep om extra monsters te nemen, waarbij alle instanties en de nertsenhouders zich flexibel opstelden om dit mogelijk te maken.
- Bij het traceringsonderzoek werd uitgebreid gekeken naar routes van passieve verspreiding via mensen, voertuigen, diermaterialen etc., die van oudsher als belangrijke besmettingsroutes worden beschouwd in de dierziektebestrijding. De ingestelde maatregelen zoals bezoekers- en vervoersverboden zijn van groot belang om verspreiding te beperken. Het virus is niet bij nertsbedrijven in andere delen van het land gevonden, maar de maatregelen bleken niet voldoende te zijn om doorgaande verspreiding in de regio waar de eerste besmettingen plaatsvonden tegen te gaan. Vanuit het traceringsonderzoek kon voor de clustering van infecties en de doorgaande verspreiding tussen bedrijven in dit gebied, wat ook in andere landen werd gezien (EFSA & ECDC, 2021) en vaker wordt gezien bij dierziekten, geen verklaring worden gevonden.
 - Het niet volledig kunnen verklaren van de verspreiding vanuit het reguliere traceringsonderzoek geeft aan dat het **vergroten van kennis** over de mogelijke rol van o.a. deposities en verspreiding van ziekteverwekkers in het milieu, verspreiding via de lucht, mechanische verspreiding via mensen, voertuigen of andere vectoren en de rol van vrij-levende dieren, en hoe dit het beste gemeten kan worden, nuttig kan zijn voor de bestrijding. Het is niet ondenkbaar dat dergelijke besmettingsroutes, met op zichzelf een kleine kans op virusoverdracht, toch relevant kunnen zijn in de dierziektebestrijding, met name wanneer de bedrijven dichtbij elkaar liggen. Er wordt nog gewerkt aan het modelleren van het verspreidingspatroon van deze uitbraken, om meer inzicht te krijgen in de relatieve rol van verschillende mogelijke besmettingsroutes.
 - De SARS-CoV-2 uitbraken in nertsbedrijven passen in een algemeen bekend patroon dat verspreiding van infectieziekten gemakkelijker kan plaatsvinden wanneer veel dieren en bedrijven zich dicht bij elkaar bevinden. Dit verhoogt ook de kans dat mensen in aanraking komen met deze virussen. Bij virusverspreiding tussen veel dieren neemt bovendien de kans op het ontstaan van veranderingen in het virus toe.

Daarom is het belangrijk verschillende typen potentiële besmettingsroutes, ook bij toekomstige uitbraken, direct bij het onderzoek bij uitbraken te betrekken. Daarnaast is aan te bevelen dat wanneer transities naar andere typen dierhouderijsystemen worden overwogen, hierbij de infectieziektebestrijding mee te laten wegen. Het is belangrijk om een systeem te hebben waarbij infecties zo goed mogelijk worden voorkómen, tijdig kunnen worden opgespoord, maar er ook mogelijkheden zijn om infecties snel in te dammen als ze toch toeslaan, waarbij factoren zoals de locatie en dichtheid van bedrijven en dieren een rol kunnen spelen.

Samenvattend kunnen we stellen dat de introductie van SARS-CoV-2 in nertsen en de daaropvolgende verspreiding en evolutie van het virus in de nertsenpopulatie een moeilijk te bestrijden probleem was. De **monitoring, surveillance en tracering zijn snel op gang** gekomen om de infecties zo snel mogelijk op te sporen. Ook is er snel na diagnose tot ruiming overgegaan en zijn hygiëneprotocollen opgesteld, waarbij o.a. het gebruik van persoonlijke beschermingsmiddelen bij het werken met de nertsen verplicht werd gesteld. Er is dus veel aan gedaan om de blootstelling van mensen aan het virus en de overdracht van infecties te beperken. Desondanks is het niet gelukt de virusverspreiding tussen nertsenbedrijven te stoppen en zijn mensen werkzaam op nertsenbedrijven besmet geraakt. Wel is waarschijnlijk voorkomen dat de infectie in andere delen van Nederland is toegeslagen in nertsenbedrijven. Hoewel ondanks alle ingestelde maatregelen en hygiëneprotocollen op in ieder geval 61% van de besmette bedrijven mensen besmet zijn geraakt, lijkt de verspreiding naar mensen buiten de nertsenhouderij beperkt te zijn gebleven.

Het is aan te bevelen om de **aanpak van de bestrijding** van SARS-CoV-2 bij de nertsen, en die van andere infectieziekten, samen met de **uitkomsten van onderzoek** (inclusief de eerdergenoemde modelstudies) door vertegenwoordigers van de verschillende domeinen (mens, dier en omgeving) te laten **evalueren**. Hierbij kan worden bekeken welke informatie bruikbaar is gebleken voor de tracering, welke informatie ontbrak om additionele mechanismen van verspreiding op te helderen, welke gerichte metingen een bijdrage kunnen leveren aan het in kaart brengen van deze mechanismen en/of voor surveillance, en wie dit kunnen uitvoeren. Aan de hand hiervan kunnen **draaiboeken worden voorbereid of bestaande worden geoptimaliseerd** voor de bestrijding van toekomstige vergelijkbare uitbraken die een 'One Health' benadering vragen.

Bronnen

Wetenschappelijke publicaties van het consortium

De gepubliceerde werken (inclusief preprint versies die nog niet zijn geaccepteerd voor publicatie) tot nu toe zijn opgesomd. Veel meer publicaties zijn nog in voorbereiding.

Molenaar RJ, Vreman S, Hakze-van der Honing RW, Zwart R, de Rond J, Weesendorp E, Smit LAM, Koopmans M, Bouwstra R, Stegeman A, van der Poel WHM. Clinical and Pathological Findings in SARS-CoV-2 Disease Outbreaks in Farmed Mink (*Neovison vison*). *Veterinary Pathology*. 2020, 57 (5), pp. 653-657.

<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985820943535>

Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Van der Honing RWH, Gerhards N, Tolsma P, Bouwstra R, Sikkema RS, Tacken MGJ, de Rooij MMT, Weesendorp E, Engelsma MY, Brusckhe CJM, Smit LAM, Koopmans M, van der Poel WHM, Stegeman A. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Eurosurveillance*. 2020, 25 (23), art. no. 2001005.

<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005>

Oude Munnink BB, Sikkema RS, Nieuwenhuijse DF, Molenaar RJ, Munger E, Molenkamp R, van der Spek A, Tolsma P, Rietveld A, Brouwer M, Bouwmeester-Vincken N, Harders F, Hakze-van der Honing R, Wegdam-Blans MCA, Bouwstra RJ, Geurts van Kessel C, van der Eijk AA, Velkers FC, Smit LAM, Stegeman A, van der Poel WHM, Koopmans MPG. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science*. 2020, Nov 10: eabe5901.

<https://doi.org/10.1126/science.abe5901>

de Rooij MMT, Hakze-Van der Honing RW, Hulst MM, Harders F, Engelsma M, van de Hoef W, Meliefste K, Nieuwenweg S, Oude Munnink BB, van Schothorst I, Sikkema RS, van der Spek AS, Spierenburg M, Spithoven J, Bouwstra R, Molenaar RJ, Koopmans MPG, Stegeman A, van der Poel WHM, Smit LAM. Occupational and environmental exposure to SARS-CoV-2 in and around infected mink farms. *medRxiv* 2021.01.06.20248760;

<https://doi.org/10.1101/2021.01.06.20248760> (preprint, not yet peer-reviewed)

van Aart AE, Velkers FC, Fischer EAJ, Broens EM, Egberink H, Zhao S, Engelsma M, Hakze-van der Honing RW, Harders F, de Rooij MMT, Radstake C, Meijer PA, Oude Munnink BB, de Rond J, Sikkema RS, van der Spek AN, Spierenburg M, Wolters WJ, Molenaar RJ, Koopmans MPG, van der Poel WHM, Stegeman A, Smit LAM. SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in infected mink farms. *Authorea*. April 12, 2021. <https://doi.org/10.22541/au.161821264.49927405/v1> (preprint, submitted to *Transboundary and Emerging Diseases*, not yet peer-reviewed)

Verwezen literatuur in het rapport

Boklund A, Hammer AS, Quaade ML, Rasmussen TB, Lohse L, Strandbygaard B, Jørgensen CS, Olesen AS, Hjerpe FB, Petersen HH, Jensen TK, Mortensen S, Calvo-Artavia FF, Lefèvre SK, Nielsen SS, Halasa T, Belsham GJ, Bøtner A. SARS-CoV-2 in Danish Mink Farms: Course of the Epidemic and a Descriptive Analysis of the Outbreaks in 2020. *Animals (Basel)*. 2021 Jan 12; 11(1):164. <https://doi.org/10.3390/ani11010164>

Eindrapportage SARS-CoV-2 bij besmette nertsbedrijven. Bijlage bij 'Kamerbrief over stand van zaken SARS-CoV-2 bij nertsen, OMT-Z advies en voorgenomen beleid nertsenhouders', 31-07-2020. Toegankelijk via:

<https://www.rijksoverheid.nl/documenten/rapporten/2020/07/31/eindrapportage-sars-cov-2-bij-besmette-nertsbedrijven>

European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, Boklund A, Gortazar C, Pasquali P, Roberts H, Nielsen SS, Stahl K, Stegeman A, Baldinelli F, Broglia A, Van Der Stede Y, Adlhoch C, Alm E, Melidou A and Mirinaviciute G, 2021. Scientific Opinion on the monitoring of SARS-CoV-2 infection in mustelids. *EFSA Journal*. 2021; 19(3):6459, 68 pp.

<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6459>

Hammer AS, Quaade ML, Rasmussen TB, Fonager J, Rasmussen M, Mundbjerg K, Lohse L, Strandbygaard B, Jørgensen CS, Alfaro-Núñez A, Rosenstjerne MW, Boklund A, Halasa T, Fomsgaard A, Belsham GJ, Bøtner A. SARS-CoV-2 Transmission between Mink (*Neovison vison*) and Humans, Denmark. *Emerging Infectious Diseases*. 2021;27(2), pp. 547-551.
<https://dx.doi.org/10.3201/eid2702.203794>

Montagutelli X, Prot M, Levillayer L, Baquero Salazar E, Jouvion G, Conquet L, Donati F, Albert M, Gambaro F, Behillil S, Enouf V, Rousset D, Jaubert J, Rey F, van der Werf S, Simon-Loriere E. The B.1.351 and P.1 variants extend SARS-CoV-2 host range to mice. *bioRxiv* 2021.03.18.436013; <https://doi.org/10.1101/2021.03.18.436013> (preprint, not yet peer-reviewed)

Dankwoord

Veel dank gaat uit naar de nertsenhouders die op verschillende manieren hebben meegewerkt aan het onderzoek.

Ook zijn wij erg dankbaar voor de hulp van de Nederlandse federatie van Pelsdierhouders en de dierenartsen van Pecon B.V.: Cobi Dijkshoorn en Haiko Koenen.

Daarnaast hebben, naast de consortiumleden die in het voorwoord zijn opgesomd, veel andere medewerkers van de organisaties binnen het consortium, en daarbuiten, continu voor ons klaar gestaan om steeds op korte termijn veel werk te verrichten of informatie te verstrekken. Een deel van deze mensen, is hieronder opgesomd.

We willen iedereen hartelijk bedanken voor alle bijdragen aan dit onderzoek.

Universiteit Utrecht

Egil Fischer
Wendy Wolters

NVWA

Ingrid Keur
Geert Eleveld
Edwin Vries
Harry Rozendaal
Paul Groot Koerkamp
Suyin Oldenburg
Vanessa Visser

WBVR

Frank Harders
Sandra Vreman
Marcel Hulst
Marc Engelsma
Frank Harders
Gert Jan Boender
Peter Hobbelen
Thomas Hagenaars
Phaedra Eble
Erik van Weezep

GD

Ruth Bouwstra
Remco Dijkman
Teun Fabri
Harold van der Heijden
Irene Jorna
Rob Nijland
Sander Schuurman
Constance Smits

WUR: Mart de Jong

Alle vrijwilligers van de
Zoogdierverseniging en ZITN, Ton
en Anja Popelier, Sjef Demaret,
Jan Jeucken (Stichting de
Laatvlieger) en Chris Driessen

Naturalis: Peter Lina

University of Copenhagen
Anette Boklund, Anette Bøtner
and Tariq Halasa

University of Edinburgh
Lu Lu and Samantha Lycett

Erasmus MC

David Nieuwenhuijse
Anne van der Linden
Irina Chestakova
Babette Weller
Marjan Boter
Corine Geurts- van Kessel

GGD-en

Paulien Tolsma
Joost van der Steen
Ariene Rietveld
Miranda Brouwer
Noortje Bouwmeester-Vincken
Luuk Levels
Danielle van Oudheusden
Laura Meddens
Jeannine Hautvast

PAMM: Marjolein Wegdam-Blans

Sanquin: Marco Koppelman

Ten slotte danken wij de ministeries van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit en van Volksgezondheid, Welzijn en Sport voor het mogelijk maken van dit onderzoek.