

Vogelgriep onderzoek in vossen uit beheer- en schadebestrijding in Friesland, 2024-2025

Eindrapport LVVN Ordernummers **1400013895** en **1400014057**

K.M. Bouwman¹, V. Caliendo², M. de Boer¹, J.M. Rijks²

1 Wageningen Bioveterinary Research (WBVR), Lelystad

2 Dutch Wildlife Health Centre (DWHC), Utrecht

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) en het Dutch Wildlife Health Centre (DWHC), en gesubsidieerd door het Ministerie van Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur.

December 2025

Rapport CORSA 2529110

© 2025 WBVR & DWHC

Wageningen Bioveterinary Research (WBVR), Postbus 65, 8200 AB Lelystad, T 0320 23 82 38,
E info.bvr@wur.nl, www.wur.nl/bioveterinary-research. Wageningen Bioveterinary Research.

Dutch Wildlife Health Centre (DWHC), Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht, Yalelaan 1
3584 CL Utrecht, T 030 2537925, E dwhc@uu.nl, dwhc.nl.

Dit rapport is uitgegeven onder een Creative Commons (CC) license: CC BY-NC-ND. BY: het werk kan worden geredistribueerd (kopiëren, publiceren, communiceren etc.), bij gebruik van het werk moet er wel worden gerefereerd naar het originele werk. NC: non-commercial use; ND: no derivative works.

DOI nummer: 10.18174 / 705407

Inhoud

Samenvatting	5
Achtergrond	7
1 Materiaal en Methoden	8
1.1 Materiaal	8
1.2 Diagnostische tests	8
1.2.1 Virologisch onderzoek	8
1.2.2 Serologisch onderzoek	8
1.3 Aanvullende analyses	9
1.3.1 Spatiale en temporele verdeling	9
1.3.2 Pathologie bij de vossen met actieve virus infectie	9
1.3.3 Sequentie bepaling en verwantschap met circulerende virussen	9
1.3.4 Zoönotische mutaties	9
2 Resultaten	10
2.1 Virologisch onderzoek	10
2.1.1 Sequentie bepaling en verwantschap met circulerende virussen	10
2.1.2 Zoönotische mutaties	10
2.2 Serologisch onderzoek bloedmonsters	12
2.2.1 Bloedmonsters	12
2.2.2 Orgaanmonsters en advies bemonstering voor serologisch onderzoek	14
2.3 Spatiale en temporele verdeling testresultaten	15
2.4 Pathologie bij de vossen met actieve virus infectie	17
3 Conclusies	18
Referenties	20
Appendix 1. Instructie voor inpakken vos	21
Appendix 2. Monster afname van de vossen in dit project	23
Appendix 3. Metadata van de 50 vossen in dit project	24
Appendix 4. Serologie in orgaanmonsters	26
Appendix 5. Vogeldata Friesland	28
Appendix 6. FlutMut output	29

Samenvatting

Voor de ontwikkeling van een effectief surveillance programma voor hoog pathogeen aviaire influenza (HPAI) bij zoogdieren zijn, in opdracht van het Ministerie van Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur (LVVN), in totaal 50 vossen onderzocht op de aanwezigheid van HPAI-virus of HPAI specifieke antilichamen. Het betrof vossen die in het kader van beheer en schadebestrijding werden geschoten in de provincie Fryslân gedurende maart 2024 – augustus 2025.

De kadavers werden bemonsterd door het Dutch Wildlife Health Centre (DWHC) in Utrecht. De verzamelde monsters werden vervolgens in batches geanalyseerd bij Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) in Lelystad. De verschillende monsters van deze vossen werden zowel virologisch als serologisch getest. In overeenstemming met het projectvoorstel is het bemonsteringsprotocol voor het serologisch onderzoek aangescherpt op basis van de serologische resultaten in de eerste 20 vossen.

In totaal, testten 2 van 50 vossen in de neus-en-keel swab positief in de virologische test voor aviaire influenza (AI), vos nummer 27 en vos nummer 30. Alleen het monster van vos 27 was geschikt was om verder te kunnen analyseren met sequencing. Uit de genetische analyse bleek het om een H5N1 clade 2.3.4.4b Genotype EA-2024-DI.2 te gaan, gelijk aan de virussen aangetroffen in wilde fauna uit dezelfde regio en periode. In de sequentie van de vos zijn ook potentieel zoönotische mutaties gevonden. In de literatuur wordt de PB2-E627K-mutatie veelal gebruikt als moleculaire marker, deze mutatie is in deze vos niet aangetroffen. Echter er is wel een mutatiecombinatie gevonden (PB2:L89V, PB2:G309D, PB2:T339K, PB2:R477G, PB2:I495V, PB2:K627E, PB2:A676T) welke in de literatuur wordt omschreven als bekende combinatie met hetzelfde effect als de enkele mutatie op positie PB2-627.

Extra bewijs voor een actieve HPAI H5N1 virusinfectie bij vos nummer 27 is gevonden door pathologisch onderzoek. Een ernstige subacute pneumonie werd vastgesteld, welke zeer waarschijnlijk veroorzaakt is door het aviaire influenza virus die virologisch is vastgesteld. Daarnaast zijn aanwijzingen gevonden voor een daaropvolgende bacteriële infectie.

Er zijn in totaal bij 22/47 ($\pm 47\%$) vossen in de bloedsera met de NP-ELISA positieve resultaten verkregen, welke erop duiden dat deze vossen antilichamen tegen aviaire influenza hebben, en dus ooit in het leven met vogelgriep in aanraking zijn geweest. Van deze 22 monsters was de kwaliteit van 14 monsters niet geschikt om aanvullende Hemagglutinaties Remmingstests (HAR) tegen hoog pathogene H5 en H7 antigenen mee te kunnen uitvoeren. Van de overige 8 monsters waarvan de kwaliteit goed genoeg was, werden bij 5 vossen antilichamen specifiek tegen hoog pathogene H5 gevonden ($5/22 = \pm 23\%$). In een eerder onderzoek (Chestakova et al., 2023) is te zien dat in 2020-2022 in Nederlandse vossen (welke in dat project zijn beschreven) 70% positief was in de NP-ELISA, en in die studie 37% positief was voor H5. Het verschil met de bevindingen van Chestakova et al. (2023) kan mogelijk worden verklaard door verschil in steekproefomvang, monstertype, of doordat in de studie van 2020/2022 dode en zieke vossen werden onderzocht in tegenstelling tot bejaagde vossen in deze studie. De bejaagde vossen waren veelal in goede of matige conditie en vormen als het waar een steekproef uit een populatie. In deze populatie hebben we vossen geïdentificeerd met antilichamen tegen het vogelgriepvirus, wat inhoudt dat ze een infectie met het vogelgriepvirus hebben doorgemaakt. Gezamenlijk tonen deze studies aan dat de vos een goed sentinel dier is voor monitoring van hoog pathogene vogelgriep bij zoogdieren, en dat monitoren van beschoten vossen een goed beeld kan geven van de mate van het voorkomen van hoog pathogene vogelgriep bij vossen in een gebied.

Bij een van deze H5 seropositieve vossen (vos nummer 30) is HPAI virus materiaal in neus-en-keel swab aangetoond, maar er was geen duidelijke aanwijzing voor een actieve infectie in de pathologie. In dit geval blijft het dus onduidelijk of het virus materiaal in de neus-en-keel swab duidde op een actieve infectie of contaminatie (bijvoorbeeld vanuit het vreten aan besmette kadavers).

In de periode maart 2024 – oktober 2024 was er geen detectie van HPAI-virus in vogels in Friesland en de negatieve virus resultaten in de eerste 20 vossen waren aanleiding om —in overleg met LVVN— het project in november-december 2024 tijdelijk stil te leggen en een tussenrapportage uit te brengen. In tegenstelling tot de verwachting, maar in lijn met de vogeltrek, werd meer HPAI H5 in wilde vogels gedetecteerd in de laatste

twee maanden van 2024. Het percentage vogels dat HPAI H5 positief testte in november en december bleek het hoogst voor 2024.

De vossen met actieve virus infectie en met antilichamen tegen HPAI H5 zijn allen gevonden in de tijd dat HPAI H5 infecties werden vastgesteld in wilde vogels. Er was aanwijzing voor HPAI H5 infectie zowel in de kustgebieden als rondom de Friese meren.

Deze studie laat zien dat het testen van de jaarlijks geschoten vossen bijdraagt aan de surveillance van aviaire influenza in zoogdieren. Virologisch onderzoek is het meest geschikt voor early warning, terwijl serologie inzicht geeft in de mate en trends van besmetting bij vossen. Vanuit andere studies hebben we gezien dat vossen een goede indicator zijn voor aviaire influenza besmetting van wilde vogels naar wilde carnivoren in Nederland.

Actieve infectie werd aangetoond in neus- en keel swabs, niet in hersenweefsel, wat suggereert dat infecties niet altijd gepaard gaan met neurologische laesies. Dit wijkt af van de huidige monitoring bij zoogdieren, die vooral focust op neurologische afwijkingen (afwijkend neurologisch gedrag ante mortem; aanwijzing voor hersenontsteking in histopathologie). De efficiëntie van monitoring met geschoten vossen kon niet goed worden beoordeeld doordat het project stil lag tijdens de periode met de meeste positieve vogels.

Achtergrond

Aviaire influenza virussen kunnen Nederland bereiken via migrerende vogelsoorten. Historisch markeerde de winterperiode (oktober tot maart) de piekperiode voor besmettingen, synchroniserend met de aankomst van migrerende vogelpopulaties uit Azië. Een belangrijk epidemiologisch omslagpunt trad op aan het begin van de jaren 2020. Een genetische variant van hoogpathogene aviaire influenza (HPAI) H5 virus toonde zich bijzonder geschikt voor verspreiding met ziekte en sterfte onder veel wilde vogelsoorten. Dit resulteerde in een fundamentele verandering van het voorkomenspatroon, met jaarrond voorkomen van hoogpathogene vogelgriepvirussen. Naast de aanvoer van hoogpathogene vogelgriepvirussen via migrerende vogels, moet Nederland daarom ook rekening houden met lokale circulatie van deze virussen.

Vanaf 2021 is vastgesteld dat ook vossen en andere wilde zoogdieren in Nederland besmet kunnen raken met HPAI, waarbij een deel van de dieren is overleden aan de gevolgen van de infectie (Rijks et al., 2021; Chestakova et al., 2023; Vreman et al., 2023). Overdracht naar zoogdieren vindt vermoedelijk plaats via consumptie van geïnfecteerde vogels en door blootstelling aan met HPAI-gecontamineerde omgevingen, zoals gedeelde waterbronnen.

Doelstelling

Het doel van dit onderzoek was om 50 dood geschoten vossen (*Vulpes vulpes*) uit de provincie Friesland te testen op genetisch HPAI-virusmateriaal in neus-keel- en hersen swabs en de aanwezigheid van HPAI-specifieke antilichamen in serum. Het eerste demonstreert een potentieel actieve virusinfectie met een HPAI vogelgriep virus, het tweede demonstreert dat de vos ooit in het leven met hoog pathogene vogelgriep virus in aanraking is geweest. Bij detectie van genetisch HPAI-virusmateriaal zal waar mogelijk het virus worden getypeerd en gescreend op mogelijke zoönotische veranderingen en verwantschap met circulerende virussen uit deze provincie. Aanvullend zijn de resultaten ruimtelijk weergegeven en in de tijd vergeleken met de mate van het voorkomen van HPAI H5-infecties in dode wilde vogels in Friesland. Verder is de pathologie beschreven voor de vossen met virus materiaal in de monsters. Deze informatie is van belang voor het uitwerken van een effectief surveillance programma voor zoogdieren en voorlichting over deze zoönose. Surveillance op mogelijke virusverspreiding tussen zoogdieren en analyse van mutaties in zoogdiervirussen zijn van essentieel belang voor dier- en volksgezondheid, in het bijzonder in het kader van One Health en pandemische paraatheid.

Eindrapportage

In deze eindrapportage worden de aanpak en de resultaten uitgebreid beschreven. Tevens wordt een integrale samenvatting en eindconclusie gepresenteerd op basis van alle 50 onderzochte dieren.

1 Materiaal en Methoden

1.1 Materiaal

De 50 vossen voor dit project zijn geschoten in 2024-2025 in Provincie Fryslân in het kader van beheer en schadebestrijding. Jachthouders, die verantwoordelijk zijn voor de uitvoering van beheer en schadebestrijding, zijn voor medewerking aan dit project benaderd via Faunabeheereenheid (FBE) Friesland. De jachthouders die bereid waren mee te werken, kregen van het Dutch Wildlife Health Centre (DWHC) toelichting over het project, en materialen en een instructie voor het verpakken van de vossen. De instructie voor het verpakken van vossen (zie **Appendix 1**) werd ontwikkeld in nauwe samenwerking met het Landelijke Coördinatie Infectieziektebestrijding (LCI) van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Daarbij is rekening gehouden met mogelijke besmetting van vossen met vogelgriep, maar ook met andere zoönosen zoals de vossenlintworm.

Binnen 48 uur na overlijden, werden de geschoten vossen ontvangen bij het DWHC, op de afdeling pathologie van de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht. De werkzaamheden zijn uitgevoerd volgens de standaard bioveiligheidsnormen. Eerst werden de geslacht, leeftijdscategorie en algemene conditie van de dieren beoordeeld. Vervolgens werden een swab van de neus-en-keel (droog) en een bloedmonster uit de oksel genomen. Daarna werd het kadaver geopend en werden bloedmonsters uit de hart- en borstholte genomen. Tot slot werden orgaanmonsters en een swab van de hersenen (droog) verzameld. De monsters voor het virologisch en serologisch onderzoek werden bij -80°C respectievelijk -20°C bewaard (zie **Appendix 2** voor details over bemonsteringsprotocol en bewaarmethode). De monsters werden bevroren aan Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) in Lelystad geleverd, en zijn bevroren bewaard gebleven tot moment van testen.

Een overzicht van de metadata van de 50 bemonsterde vossen is te vinden in **Appendix 3**. Het ging om 29 mannelijke en 21 vrouwelijke vossen, waarvan 33 volwassen (>12 maanden), 11 jongvolwassen (6-12 maanden) en 6 jong (< 6 maanden) waren. De conditie van de vossen was meestal goed (25 vossen) of gemiddeld (22 vossen), zelden slecht (3 vossen).

1.2 Diagnostische tests

1.2.1 Virologisch onderzoek

Van alle vossen zijn de afgenomen neus-en-keel en hersenweefsel swabs getest voor aanwezigheid van viraal genomisch materiaal via PCR (M-PCR). Wanneer de M-PCR een positieve uitslag had, werden de swabs aanvullend getest in de H5-specifieke, N1-specifieke en Hoog/Laag pathogeen PCR. Wanneer het monster geschikt was, zijn vervolganalyses uitgevoerd (zie § 1.3.3 en § 1.3.4).

1.2.2 Serologisch onderzoek

De opgestuurde bloedmonsters (bloederig vocht uit borstholte, hart, en/of oksel) zijn getest op de aanwezigheid van antilichamen tegen AI-virus in de NP-ELISA (detecteert antilichamen tegen alle subtypen HPAI virus en LPAI virus). Wanneer deze positief scoorden werden deze vervolgens getest in de Haemagglutinatieremmingstest (HAR) tegen hoog pathogene H5 en H7 antigenen.

Bij de eerste 20 vossen, zijn behalve bloedmonsters ook orgaanmonsters getest. Van de binnengekomen organen werden homogenaten gemaakt. Deze werden getest op de aanwezigheid van antilichamen tegen HPAI-virus in de NP-ELISA (detecteert antilichamen tegen alle subtypen HPAI virus en LPAI virus), en wanneer deze positief scoorden werden deze vervolgens getest in de Haemagglutinatieremmingstest (HAR) tegen hoog pathogene H5 en H7 antigenen.

Op basis van de beiden resultaten is het serologisch bemonsteringsprotocol na de eerste 20 vossen aangescherpt in overeenstemming met het projectvoorstel (zie ook tussen rapportage).

1.3 Aanvullende analyses

1.3.1 Spatiale en temporele verdeling

De spatiale verdeling van de virologische en serologische resultaten zijn weergegeven m.b.v. ArcGIS Pro 3.6. De temporele verdeling van de vossen per test uitslag werd uitgezet tegen het percentage HPAI H5 positieve dode vogels in de provincie Friesland (data uit de dode wilde vogelmonitoring).

1.3.2 Pathologie bij de vossen met actieve virus infectie

De coupes van de in formaline gefixeerde weefsels van de vossen met aanwijzing voor actieve virusinfectie op basis van de diagnostische tests werden gekleurd d.m.v. de hematoxyline-eosinekleuring voor histologisch onderzoek, zoals beschreven in Vreman et al. 2023.

1.3.3 Sequentie bepaling en verwantschap met circulerende virussen

Wanneer het monster geschikt was, werd met behulp van Next Generation Sequencing (NGS) de volledige genetische sequentie van het virus bepaald. Deze sequentie is vervolgens geanalyseerd op het voorkomen van bekende mutaties die wijzen op aanpassingen naar zoogdieren. In aanvullende analyses werd ook de genetische verwantschap bepaald met andere vogelgriepvirussen die in dezelfde periode in Friesland hebben gecirculeerd.

1.3.4 Zoönotische mutaties

Met behulp van de bio-informatica-tool FluMut (versie 0.6.4) is een analyse gedaan van de verkregen NGS genoom sequentie. Het programma wordt gebruikt om bekende moleculaire markers en mutaties te identificeren die in de literatuur zijn geassocieerd met biologische eigenschappen van het virus, waaronder gastheer-adaptatie, virulentie en antivirale resistentie.

FluMut analyseert de nucleotide-sequentie en screent deze op individuele mutaties en mutatiecombinaties waarvan is beschreven dat zij samenhangen met een verhoogd risico op overdracht naar zoogdieren (zogenaamde zoönotische mutaties), veranderingen in ziektebeeld of virulentie, en resistentie tegen antivirale middelen. Voor elke gedetecteerde marker rapporteert het programma de genoomcompositie, het verwachte biologische effect en bijbehorende literatuurreferenties. De output van het programma is in het Engels, en is vertaald in dit rapport weergegeven (Appendix 6).

2 Resultaten

2.1 Virologisch onderzoek

In totaal is bij 2 van de geteste 100 swab monsters viraal genetisch materiaal aangetroffen. Dit was beiden in een swab afkomstig uit de neus-en-keel. De monsters waren afkomstig van vos nummer 27 en vos nummer 30.

De neus-en-keel swab van vos nummer 27 en 30, zijn in aanvullende PCR-tests verder gekarakteriseerd met de volgende resultaten (**Tabel 1**):

Tabel 1 Uitslagen van PCR tests welke zijn uitgevoerd op de keel-en-neus swab afgenomen bij vossen nummers 27 en 30.

Soort PCR	Gebruikt voor detecteren van	Generiek/Specifiek	Uitslag (ct-waarde) vos #27	Uitslag (ct-waarde) vos #30
M-PCR	het M-gen	algemeen detecteren AIV	31.6	39.58
H5-PCR	Het HA-gen	H5-variant	30.44	-
N1-PCR	Het NA-gen	N1-variant	32.19	-
HP-PCR	Splitsingsplaats in HA-gen	Hoog pathogene varianten	32.67	39.66

De hoeveelheid genetisch materiaal in de swab van vos nummer 30 was ontoereikend om verder te kunnen karakteriseren.

2.1.1 Sequentie bepaling en verwantschap met circulerende virussen

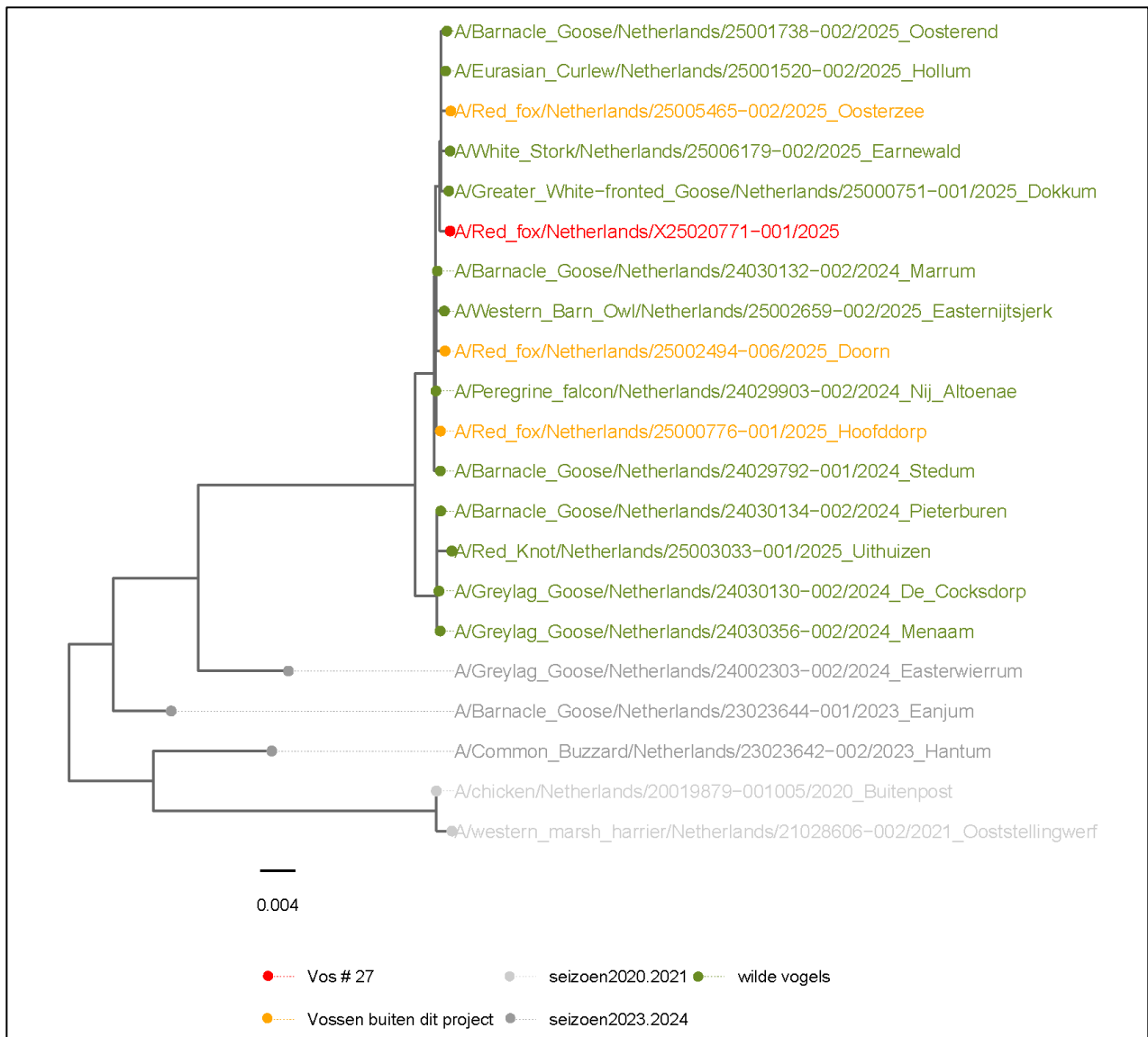
De volledige genoomsequentie van het virus welke in vos nummer 27 is aangetroffen heeft het volgende identificatienummer gekregen: EPI_ISL_20271988_A/Red_fox/Netherlands/X25020771-001/2025. Dit virus wordt ingedeeld als H5N1 clade 2.3.4.4b Genotype EA-2024-DI.2.

Deze volledige genoomsequentie is vergeleken met de sequentie van verschillende virussen gevonden in wilde vogels en andere vossen welke geen onderdeel waren van dit project (**Figuur 1**, Fylogenetische boom).

Voor de vergelijking zijn alle segmenten van het volledige virus genoom achter elkaar samengevoegd (concateneren). Door reassortments (uitwisseling van genoom segmenten) die in de loop van de tijd plaatsvinden bij het vogelgriepvirus geeft concateneren geen correcte evolutionaire weergave, maar geeft dit wel een beeld van de verwantschap tussen de virussen in de fylogenetische boom. Uit **Figuur 1** is af te leiden dat het virus uit vos nummer 27, een nauwe verwantschap heeft met virussen van wilde fauna uit dezelfde regio rond dezelfde tijd.

2.1.2 Zoönotische mutaties

Met behulp van FlutMut zijn de potentieel zoönotische mutaties bepaald (**Appendix 6**). Eén van de bekendste zoönotische mutatie is PB2-E627K. Dit betekent dat de mutatie in het genoomsegment PB2 zit, en dat in een vogelgriepvirus op aminozuur positie 627 een E (glutaminezuur) aanwezig is, maar in de sequentie van vos nummer 27 deze is veranderd in een K (lysine). De PB2-E627K-mutatie is geassocieerd met verhoogde polymeraseactiviteit en efficiëntere virusrelicatie in zoogdiercellen, wat leidt tot een toegenomen virulentie in zoogdiermodellen. Deze mutatie wordt beschouwd als een belangrijke marker voor adaptatie van aviaire influenza virussen aan zoogdieren. Deze specifieke mutatie (PB2-E627K) is in vos nummer 27 niet gevonden. Echter er is wel een mutatiecombinatie gevonden (PB2:L89V, PB2:G309D, PB2:T339K, PB2:R477G, PB2:I495V, PB2:K627E, PB2:A676T) welke in de literatuur wordt omschreven als bekende combinatie met hetzelfde effect als de enkele mutatie op positie PB2-627. Deze combinatie van mutaties is in vos nummer 27 wel aangetroffen (**Appendix 6**).



Figuur 1 *Fylogenetische boom van de volledige virussequentie welke is gevonden in vos nummer 27 in dit project. Deze is vergeleken met de sequenties van verschillende virussen gevonden in wilde vogels in voorgaande jaren (seizoen 2020-2021 (licht grijs), en seizoen 2023-2024 (donker grijs)), een selectie van wilde vogels in de provincie Friesland in 2024-2025 en andere vossen welke geen onderdeel waren van dit project (geel, allen gevonden in 2025). Alle sequenties die zijn weergegeven behoren tot H5N1 clade 2.3.4.4b, maar met verschillende genotypen. Alle groene, gele en rode sequentie behoort tot Genotype EA-2024-DI.2, sequentie uit Easterwierrum is genotype EA-2023-DJ, uit Eanjum is genotype EA-2023-DB, uit Hantum is [unassigned] en uit Buitenpost en Ooststellingwerf zijn genotype EA-2020-C.*

2.2 Serologisch onderzoek bloedmonsters

2.2.1 Bloedmonsters

De uitslagen van het serologisch onderzoek uitgevoerd op de verkregen bloedmonsters staan in **Tabel 2** weergegeven. Hierin is te zien dat er bij 22/47 vossen (39/85 geteste monsters) een positief NP-ELISA resultaat werd verkregen (**Tabel 2**, dikgedrukte waarden). Van drie vossen waren geen geschikte bloedmonsters voor onderzoek, alleen orgaanmonsters (vos nummer 7, vos nummer 9, en vos nummer 20). Bij alle overige vossen waren beide bloedmonsters (wanneer beiden waren verzameld) óf negatief, óf positief met uitzondering van vos nummer 27. Hier werd in het bloedmonster verkregen uit het hart een positieve uitslag gemeten. In het monster verkregen uit de borst een negatieve uitslag, al valt deze maar net onder de afkapwaarde van 50 (NB. Bij deze vos is ook genetisch materiaal van HPAI H5N1-virus aangetoond).

De monsters met de hoogste positieve NP-ELISA uitslag zijn vervolgens getest in de HAR tegen hoog pathogene H5 en H7 antigenen. Hiervan konden 23 sera niet worden gebruikt (zie **Tabel 2**). In 5 van de overgebleven 8 monsters was de HAR tests positief voor H5 (inclusief vos # 30), voor de overige 3 monsters was de uitslag negatief voor H5 & H7 antilichaam detectie.

Tabel 2 Uitslagen serologische tests uitgevoerd op de verkregen bloedmonsters. NP-ELISA uitslag van ≥ 50 (dikgedrukt) zijn positief en de monsters zijn (waar mogelijk) getest in de HAR. Als er meer dan 1 monster van dezelfde vos positief was in de NP-ELISA, is alleen het monster met de hoogste score in de HAR getest. Monsters met de aanduiding MOB waren niet geschikt voor de test door hemolyse en zijn niet getest. Ook monsters met aanduiding MLO of TWS konden niet worden getest, doordat er geen respectievelijk onvoldoende monstermateriaal over was voor de HAR test. Geen van de monsters was positief wanneer werd getest met het H7 antigeen, en deze resultaten zijn niet in deze tabel genoteerd. De aanduiding 'Borst' staat voor bloed uit de borstholte, 'Hart' voor bloed uit het hart en 'oksel' voor bloed uit de oksel.

WBVR ID no:	Volgnummer:	Vos nummer:	Monster:	NP-ELISA uitslag:	HAR uitslag:
X24009941	001	Vos 1	Borst	23	
	002	Vos 2	Hart	92	niet pos voor H5
	003	Vos 3	Borst	42	
	004	Vos 4	Borst	69	TWS
	008	Vos 5	Hart	45	
	009	Vos 6	Borst	22	
	010	Vos 6	Hart	-13	
	012	Vos 8	Borst	89	MLO
	017	Vos 10	Borst	87	TWS
	020	Vos 11	Borst	12	
	023	Vos 12	Oksel	38	
	024	Vos 13	Borst	94	MOB
	025	Vos 13	Hart	93	MOB
	026	Vos 14	Borst	14	
	027	Vos 14	Hart	8	
	028	Vos 14	Oksel	17	
	029	Vos 15	Borst	10	
	030	Vos 15	Oksel	8	
	031	Vos 16	Borst	2	
	032	Vos 16	Hart	8	

	033	Vos 17	Borst	0	
	034	Vos 17	Hart	8	
	035	Vos 18	Borst	38	
	036	Vos 19	Borst	84	MOB
	037	Vos 19	Hart	68	TWS
X25007050	1	Vos 21	Hart	25	
	2	Vos 21	Bloed	47	
	3	Vos 22	Hart	9	
	4	Vos 22	Borst	9	
	5	Vos 23	Hart	14	
	6	Vos 23	Borst	13	
	7	Vos 24	Hart	-6	
	8	Vos 24	Bloed	-8	
	9	Vos 25	Hart	85	MOB
	10	Vos 25	Borst	74	MOB
	11	Vos 26	Hart	11	
	12	Vos 26	Borst	7	
	13	Vos 27	Hart	66	MOB
	14	Vos 27	Borst	48	
	15	Vos 28	Hart	15	
	16	Vos 28	Borst	28	
	17	Vos 29	Hart	89	
	18	Vos 29	Borst	91	MOB
	19	Vos 30	Hart	91	
	20	Vos 30	Borst	92	Pos voor H5
	21	Vos 31	Hart	88	MOB
	22	Vos 31	Borst	83	MOB
	23	Vos 32	Hart	85	MOB
	24	Vos 32	Borst	81	MOB
	25	Vos 33	Hart	88	MOB
	26	Vos 33	Borst	89	MOB
	27	Vos 34	Hart	86	MOB
	28	Vos 34	Borst	84	MOB
X25009470	1	Vos 35	Hart	94	Pos voor H5
	2	Vos 35	Borst	94	
	3	Vos 36	Hart	6	
	4	Vos 36	Borst	8	
	5	Vos 37	Hart	21	

	6	Vos 37	Borst	21	
	7	Vos 38	Hart	43	
	8	Vos 38	Borst	24	
	9	Vos 39	Hart	45	
	10	Vos 39	Borst	17	
	11	Vos 40	Hart	17	
	12	Vos 40	Borst	39	
	13	Vos 41	Hart	95	
	14	Vos 41	Borst	95	Pos voor H5
	15	Vos 42	Hart	54	MOB
	16	Vos 42	Borst	89	MOB
	17	Vos 43	Hart	65	Neg voor H5
	18	Vos 43	Borst	57	
	19	Vos 44	Hart	90	
	20	Vos 44	Borst	90	Pos voor H5
	21	Vos 45	Hart	73	Pos voor H5
	22	Vos 45	Borst	66	
	23	Vos 46	Hart	71	MOB
	24	Vos 46	Borst	61	MOB
X2017386	1	Vos 47	Hart	86	
	2	Vos 47	Borst	87	Neg voor H5
	3	Vos 48	Hart	7	
	4	Vos 48	Borst	7	
	5	Vos 49	Hart	8	
	6	Vos 49	Borst	9	
	7	Vos 50	Hart	8	
	8	Vos 50	Borst	10	

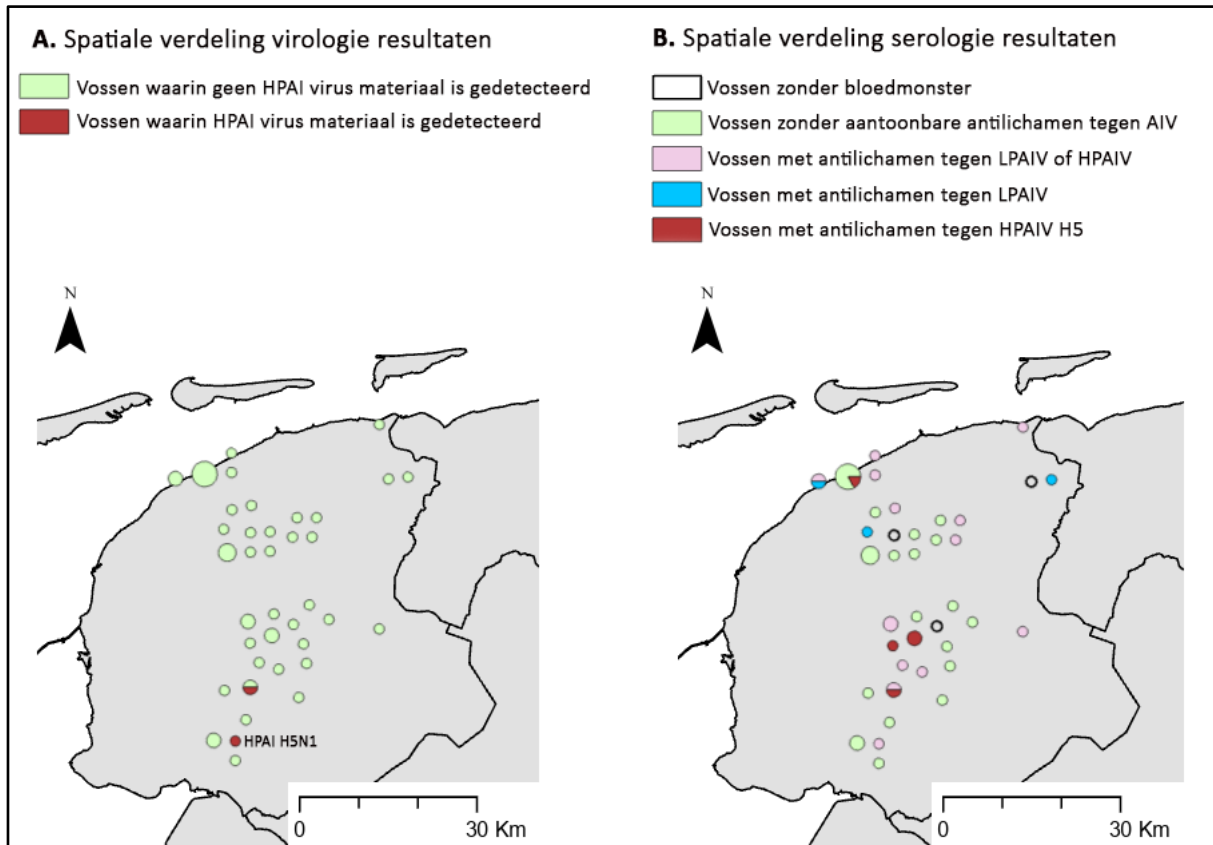
2.2.2 Orgaanmonsters en advies bemonstering voor serologisch onderzoek

De uitslagen voor de orgaanmonsters welke voor vossen nummers 1 t/m 20 zijn binnengekomen bij WBVR voor serologische analyse zijn weergegeven in **Appendix 4**. Hierin is te zien dat de orgaanmonsters van vos nummer 7, vos nummer 9, en vos nummer 20 (vossen waarvoor geen bloedmonster aanwezig waren) negatief testten in de NP-ELISA. In totaal was er 1 long monster in de NP-ELISA positief (volgnummer 005, vos 2). Dit monster is getest in de HAR met hoog pathogene H5 en H7 antigenen. Voor monster met volgnummer 005 werd geen positieve uitslag gezien met zowel de hoog pathogene H5 als de H7 antigenen. Dit resultaat is in overeenstemming met de resultaten van de serologie van de bloedmonsters van deze vos (**Tabel 2**, NP-ELISA positief, HAR negatief). Het is aannemelijk dat de antilichamen welke in de NP-ELISA reageren tegen een laag pathogene aviaire influenza (LPAI) gericht zijn.

Naar aanleiding hiervan werd bij de resterende 30 vossen alleen bloederig vocht uit borstholte en hart, verzameld. Alleen wanneer onvoldoende vocht beschikbaar was (<4 ml), werd aanvullend ook een long monster genomen.

2.3 Spatiale en temporele verdeling testresultaten

De spatiale verdeling van de virologische en serologische resultaten laat zien dat de gebieden rond de Friese meren gedurende de onderzoeksperiode minstens zo relevant waren voor HPAI monitoring bij zoogdieren als de kustgebieden (**Figuur 2**).

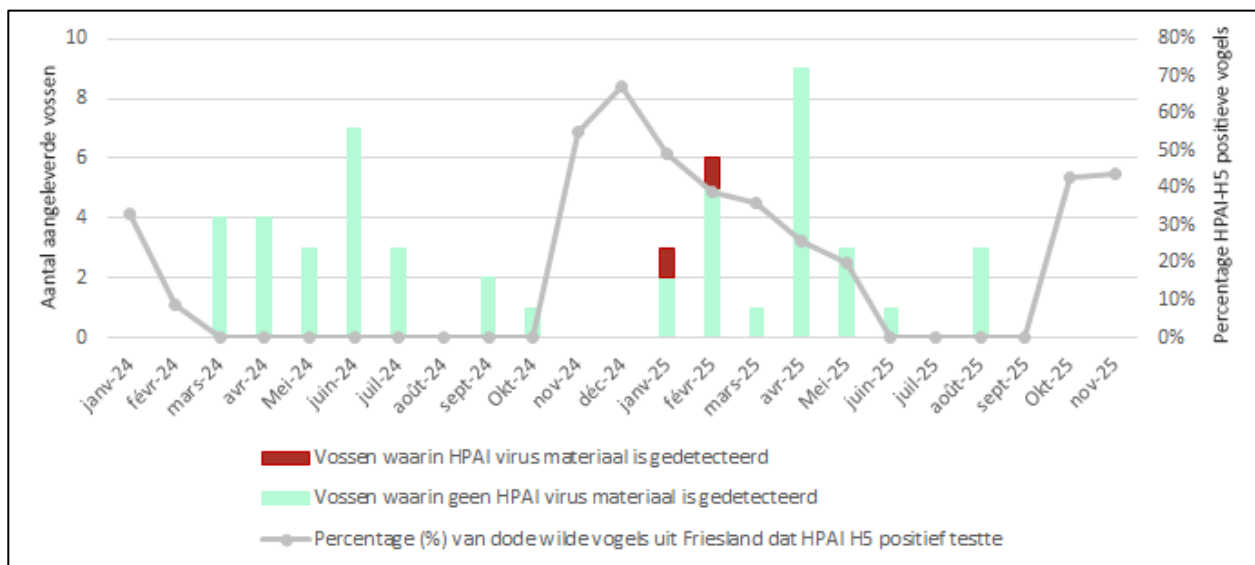


Figuur 2 Kaart van Friesland met locatie van afschot van de vossen per test resultaat. De cirkel grootte is proportioneel aan het aantal geteste vossen per locatie (cirkel grootte gaande van 1 t/m 6 vossen).

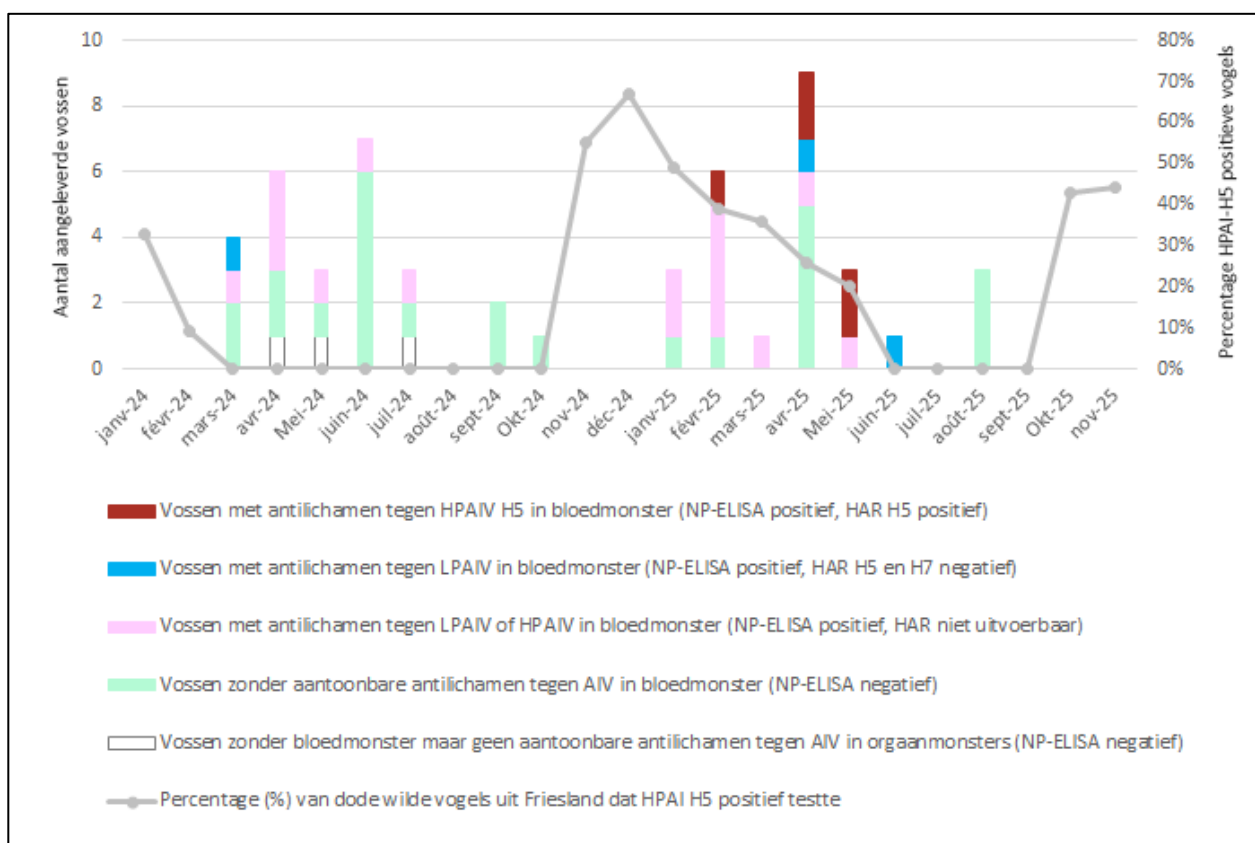
De temporele verdeling van de virologische resultaten is weergegeven in **Figuur 3**, dat van de serologische resultaten in **Figuur 4**. Het aantal aangeleverde geschoten vossen per maand zijn aangegeven op de linker y-as. In november en december 2024 zijn geen vossen aangeleverd. In de maanden november 2024 tot met mei 2025 waren er aanwijzingen voor circulatie van HPAI H5-virus in wilde vogels in Friesland, gebaseerd op surveillance van dode wilde vogels. Het hoogste percentage positief geteste vogels werd waargenomen in december 2024 (67%) (**Figuren 3 en 4**; rechter y-as; **Appendix 5**).

Vossen met HPAI virus materiaal en/of met HPAI H5-antilichamen zijn uitsluitend aangetroffen in de periode waarin aanwijzingen bestond voor virus circulatie in de wilde vogels. Vos nummer 27, met een bevestigde HPAI H5N1 virus infectie, was afkomstig uit januari 2025. Vos nummer 30 die AIV positief testte was geschoten in februari 2025; in dit dier werden ook H5 antilichamen aangetoond. De overige vier vossen waarin HPAI H5-antilichamen werden aangetoond, waren afkomstig uit april en mei 2025 (**Figuren 3 en 4**).

Helaas zijn er geen vossen uit de maanden november en december 2024 onderzocht -de maanden met het hoogste percentage positieve wilde vogels- omdat het project, in overleg met LVVN, tijdelijk was stil gelegd. Dit besluit was gebaseerd op de HPAI circulatie in wilde vogels in de periode maart t/m oktober 2024 (geen aanwijzing voor circulatie) en op de resultaten van eerste 20 onderzochte vossen.



Figuur 3 Temporele verdeling virologische resultaten (aantal vossen op linker y-as) tegen het percentage HPAI-H5 positieve dode wilde vogel (op rechter y-as).



Figuur 4 Temporele verdeling serologische resultaten (aantal vossen op linker y-as) tegen het percentage HPAI-H5 positieve dode wilde vogel (op rechter y-as).

2.4 Pathologie bij de vossen met actieve virus infectie

Vos nummer 27 van januari 2025, bij wie HPAI H5N1 virusmateriaal in de neus-en-keel swab werd aangetoond, was een volwassen mannelijke vos met gemiddelde lichaamsconditie. De vos is overleden aan afschot in de kop. Het dier had een ernstige subacute pneumonie (longontsteking). Deze is zeer waarschijnlijk veroorzaakt door hoogpathogene aviaire influenza virus, met waarschijnlijk een daaropvolgende bacteriële infectie. Het dier had daarnaast een hevige purulente nefritis (nierontsteking), waarvan de etiologie verdacht bacterieel was. In de hersenen zijn geen veranderingen gezien.

Vos nummer 30 van februari 2025, bij wie HPAI virusmateriaal in de neus-en-keel swab werd aangetoond in lage hoeveelheid waardoor het niet getypeerd kon worden, was een volwassen vrouwelijke vos in goede lichaamsconditie en drachtig van vijf foetussen. De vos is overleden door afschot. Het dier had een matige chronische hepatitis (leverontsteking) met focale necropurulente haarden, waarschijnlijk t.g.v. Trematode infectie. Deze waargenomen pathologische veranderingen wijzen niet op een actieve infectie van de aviaire influenza virus.

3 Conclusies

Eindconclusie

Deze studie laat zien dat geschoten vossen besmet kunnen zijn met HPAI-H5, vooral wanneer dit virus circuleert onder wilde vogels. Virologisch onderzoek is het meest geschikt voor early warning, terwijl serologie inzicht geeft in de mate en trends van besmetting bij wilde carnivoren. Actieve infectie werd aangetoond in neus- en keel swabs, niet in hersenweefsel, wat suggereert dat infecties niet altijd gepaard gaan met neurologische laesies. Dit wijkt af van de huidige monitoring bij zoogdieren, die vooral focust op neurologische afwijkingen (afwijkend neurologisch gedrag ante mortem; aanwijzing voor hersenontsteking in histopathologie). De efficiëntie van monitoring met geschoten vossen kon niet goed worden beoordeeld doordat het project stil lag tijdens de periode met de meeste positieve vogels.

Virologie

In totaal is er bij 2/50 vossen in de swab genomen uit de neus-en-keel genetisch materiaal aangetroffen van aviaire influenza virus. De overige 48/50 neus-en-keel swabs waren negatief, en in geen van de 50 swabs genomen van de hersenen kon viraal genetisch materiaal worden aangetoond. De hoeveelheid genetisch materiaal in de neus-en-keel swab was in 1/2 gevallen ontoereikend om verder te kunnen karakteriseren. Het virus waarvan de volledige genoomsequentie is bepaald behoort tot H5N1 clade 2.3.4.4b Genotype EA-2024-DI.2, gelijk aan de virussen welke zijn gevonden in wilde fauna uit dezelfde regio rond dezelfde tijd. In de sequentie van het virus gevonden in deze vos zijn potentieel zoönotische mutaties gevonden. In de literatuur wordt de PB2-E627K-mutatie veelal gebruikt als moleculaire marker, deze mutatie is in deze vos niet aangetroffen. Echter er is wel een mutatiecombinatie gevonden (PB2:L89V, PB2:G309D, PB2:T339K, PB2:R477G, PB2:I495V, PB2:K627E, PB2:A676T) welke in de literatuur wordt omschreven als bekende combinatie met hetzelfde effect als de enkele mutatie op positie PB2-627. Er kan niet worden geconcludeerd of deze of andere mutaties welke in het virus zijn gevonden in deze vos hebben bijgedragen dat deze vos besmet is geraakt met het virus. Overdracht of besmetting van zoogdieren kan namelijk ook plaats vinden via consumptie van geïnfecteerde vogels en door blootstelling aan met HPAI-gecontamineerde omgevingen, zoals gedeelde waterbronnen.

Serologie

Daarnaast zijn er in totaal bij 22/47 vossen in de bloedsera met de NP-ELISA positieve resultaten verkregen, welke erop duiden dat deze vossen antilichamen tegen aviaire influenza hebben, en dus ooit in het leven met vogelgriep in aanraking zijn geweest. Van deze 22 monsters was de kwaliteit van 14 monsters niet geschikt om aanvullende Hemagglutinaties Remingtonstests (HAR) tegen hoog pathogene H5 en H7 antigenen mee te kunnen uitvoeren. Van de overige 8 monsters waarvan de kwaliteit goed genoeg was, werden bij 5 vossen antilichamen specifiek tegen H5 gevonden, en dus in aanraking met een H5 vogelgriep virus zijn geweest, maar deze infectie hebben overleefd. Voor het serologisch onderzoek gaat de voorkeur uit naar bloederig vocht uit borstholte en hart, en alleen wanneer hiervan onvoldoende vocht beschikbaar is (<4 ml), dan zou aanvullend ook longweefsel voor serologisch onderzoek moeten worden verzameld.

Spatiale en temporele verdeling

Aanwijzing voor HPAI H5 infectie werd in zowel in de kustgebieden als rondom de Friese meren gevonden. Net na de periode dat het percentage dode wilde vogels dat positief testte voor HPAI H5-virus materiaal het hoogst was (nov-dec 2024), zijn bij de geschoten vossen de actieve virus infecties gevonden, en iets later in de tijd, de meeste bevestigd H5 seropositieve gevallen. Het begin van deze periode is gemist, omdat het project tijdelijk was stilgelegd. Gezamenlijk pleit dit voor een continue surveillance in geschoten vossen (uit waterrijke gebieden), met opschalen bij verhoogd voorkomen van HPAI in wilde vogels.

Pathologie

Vos # 27, de vos waarvan we de sequentie van het virus hebben kunnen bepalen vanuit de neus-en-keel swab, had een ernstige subacute longontsteking, zeer waarschijnlijk veroorzaakt door aviaire influenza virus (vogelgriep), met waarschijnlijk een daaropvolgende bacteriële infectie. Dit maakt actieve HPAI H5N1 infectie in deze vos aannemelijk. De laesies in vos # 30, met weinig HPAI virusmateriaal in de neus-en-keel swab die wel H5 seropositief was toonde geen duidelijke aanwijzing voor een actieve HPAI infectie op het moment van

afschot. Het is in dit geval dus onduidelijk of het virus materiaal in de neus-en-keel swab duidde op (een aflopende) infectie of contaminatie (bijvoorbeeld vanuit voedsel). Dit pleit voor aanvullende bemonstering van weefsels voor virologie en pathologie in de zoogdiermonitoring.

Referenties

Chestakova IV, van der Linden A, Bellido Martin B, Caliendo V, Vuong O, Thewessen S, Hartung T, Bestebroer T, Dekker J, Jonge Poerink B, Gröne A, Koopmans M, Fouchier R, van den Brand JMA, Sikkema RS. High number of HPAI H5 virus infections and antibodies in wild carnivores in the Netherlands, 2020-2022. *Emerg Microbes Infect.* 2023 Dec;12(2):2270068. doi: 10.1080/22221751.2023.2270068.

Rijks JM, Hesselink H, Lollinga P, Wesselman R, Prins P, Weesendorp E, Engelsma M, Heutink R, Harders F, Kik M, Rozendaal H, van den Kerkhof H, Beerens N. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Virus in Wild Red Foxes, the Netherlands, 2021. *Emerg Infect Dis.* 2021 Nov;27(11):2960-2962. doi: 10.3201/eid2711.211281.

Vreman S, Kik M, Germeraad E, Heutink R, Harders F, Spierenburg M, Engelsma M, Rijks J, van den Brand J, Beerens N. Zoonotic Mutation of Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus Identified in the Brain of Multiple Wild Carnivore Species. *Pathogens* 2023, 12, 168. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020168>

Appendix 1. Instructie voor inpakken vos

Instructie inpakken vos

Risico's voor besmetting bij het hanteren en verpakken van kadavers zijn laag, mits goede voorzorgsmaatregelen genomen worden. Bij vossen moet ook rekening gehouden worden met **eventuele vossenlintworm-eieren** in de ontlasting die ook op de vacht kunnen zitten.

De inpakker moet **gezond zijn**, geen aandoeningen hebben waarbij de immuunrespons is verminderd, en niet zwanger zijn. Men heeft een intacte huid, dus **geen open wondjes of wonden**. Verder is algemeen goed hygiënisch gedrag van belang, zoals niet tussendoor eten/drinken of roken; handen goed wassen met water en zeep na de handelingen. De inpakker dient **elk contact met bloed of andere lichaamsvloeistoffen (speeksel, urine, ontlasting) van de vos vermijden, en voorkomen geprikt of gesneden te worden door tanden, klauwen, en gereedschap**. Indien men zich toch prikt of snijdt: dan wond door laten bloeden, goed (spoelen en) wassen met schoon water en zeep en eventueel ontsmetten met bijvoorbeeld 70% alcohol/Sterilium. Bij het ontstaan van klachten (lokaal of algemeen), neem contact op met een huisarts en vermeldt dat er contact (prik/snijincident) is geweest met een dood wild dier.

Onderstaande instructie is voor vossen in dit project, die worden geschoten in het kader van beheer en schadebestrijding, en niet verdacht van vogelgriep.

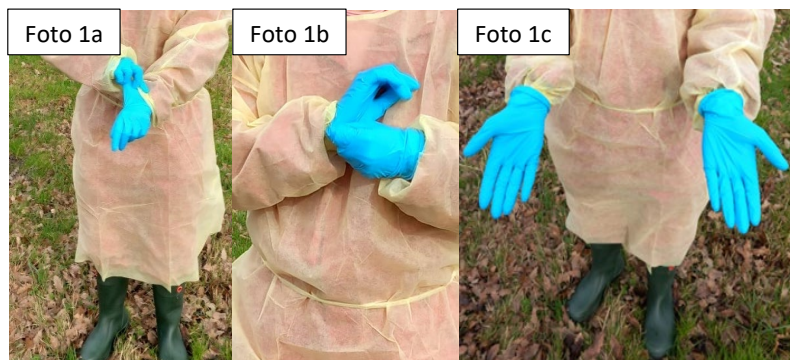
NB. Bij een doodgefounden vos of een vos met waargenomen neurologische symptomen, volg deze instructie:

<https://www.nvwa.nl/documenten/dier/dierziekten/vogelgriep/protocollen/handleiding-voor-het-opruimen-van-dood-gevonden-wilde-zoogdieren-vlees-en-aaseter-verdacht-van-een-besmetting-met-hoog-pathogene-vogelgriep>.

Aangeleverde persoonlijke beschermingsmiddelen:

Handschoenen, schort, handdesinfectie middel, beschermbril en mondmasker

- Gebruik schoeisel dat ontsmet kan worden.
- Handschoenen en schort aandoen. Handschoenen over schortmouwen trekken, dit is van belang bij het later uittrekken (Foto's 1a-c).
- Als u spetters verwacht, dan ook beschermbril en mondmasker gebruiken.



Aangeleverd materiaal, vos in zak:

2 stevige blauwe zakken, 2 kabelbinders, etiketten met potlood

- Vos wordt verpakt in 2 plastic zakken. De zakken iets op afstand van de vos plaatsen, weg van de eventuele bevulde plekken rondom de vos.
- De bovenkant van de zakken omrollen (**Foto 2**).
- De vos voorzichtig oppakken, en zonder spetteren in zak 1 laten zakken (**Foto 3**). Voorkom dat de vos de buitenkant van de zak 1 raakt. Dan blijft de buitenkant van de zak 1 schoon, en ook de binnenkant van het omgerolde deel.



Verwijderen gebruikt materiaal

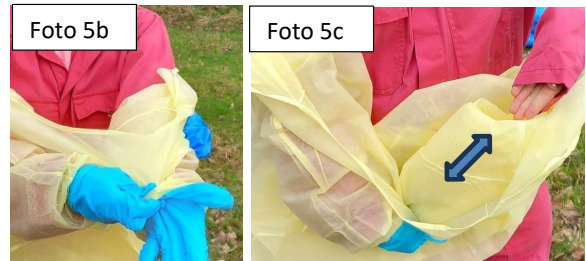
- Buitenkant en handschoenen zijn nu 'vies', binnenkant schort is 'schoon'.
- Knoop schort lostrekken door schort aan de zijden (buitenkant) vastpakken en naar voren te trekken (Foto 4).
- Met rechterhand de buitenkant van schort naast de linker bovenarm vastpakken (Foto 5a) en over elleboog naar voren trekken, met rechterhand ook linkerhandschoen vastpakken (Foto 5b), en de linkerhand uit de mouw terugtrekken. De mouw wordt zo binnenstebuiten getrokken (Foto 5c).
- De blote linkerhand heeft alléén contact met de binnenzijde van de schort. Het rolt losse delen op, en trekt vanuit binnenkant nu ook de rechtermouw en handschoen binnenstebuiten uit (Foto 6). De beiden blote handen hebben nu alleen contact met binnenkant schort. De prop van schort met handschoenen bij vos in zak 1 doen (Foto 7).

Afsluiting zakken en identificatie

- Zak 1 afrollen en met een kabelbinder afsluiten. In principe is de gesloten zak 1 schoon aan de buitenkant.
- De afgesloten zak 1 (met daarin kadaver, handschoenen en schort) nu in zak 2 plaatsen (Foto 8).
- Zak 2 afrollen en afsluiten door kabelbinder met etiket voor identificatie (met tenminste naam inzender, plaats van afschot, datum van afschot; t.z.t. ook het DWHC-meldingsnummer, verkregen na melding bij DWHC via <https://dwhc.nl/meldingsformulier/meldingen-voor-insturen/>). Vos koel bewaren (niet invriezen) tot de zak wordt opgehaald op het door u in het formulier aangegeven adres.

Tot slot

- Als u tegen spetters beschermbril en masker heeft gebruikt (Foto 10), dan kunt u die nu afdoen en in zak 2 gooien voordat u die afsluit (DWHC reinigt de beschermbril later voor hergebruik). Hierna de handen reinigen met Sterilium (Foto 11).
- Als u geen masker of spatbril hebt gebruikt, blijven uw handen in principe schoon, maar voor de zekerheid is ontsmetten met Sterilium of alcoholhoudend gel (Foto 11) is aan te bevelen.
- Bij twijfel of zak 2 aan de buitenkant schoon is, besproei met desinfectiemiddel, bij voorkeur alcohol 70-80%.



Bij vragen:
dwhc@uu.nl
of 030-2537925

Appendix 2. Monster afname van de vossen in dit project

	Type monster	Monsters voor virologisch onderzoek bij WBVR (bewaard bij - 80°C)	Monsters voor serologisch onderzoek bij WBVR (bewaard bij -20°C)	Monsters voor histopathologie en immunohistochemie bij DWHC (bewaard in formaline)
1	Neus-en-keel swab	X		
2	Bloederig vocht uit oksel		X*	
3	Bloederig vocht uit borstholte		X	
4	Bloederig vocht uit hart		X	
5	Long weefsel		X**	X
6	Lever weefsel		X*	X
7	Spier weefsel		X*	
8	Hart weefsel			X
9	Milt weefsel			X
10	Nier weefsel			X
11	Duodenum weefsel			X
12	Colon/einddarm weefsel			X
13	Hersenen swab	X		
14	Hersenen weefsel	X		X
15	Neusschelp weefsel			X
16	Reukbulbus weefsel			X

*Alleen bij de eerste 20 vossen

**Bij de eerste 20 vossen, en bij de laatste 30 vossen als de bloederig vocht monsters $\leq$ 4ml opleveren.

Appendix 3. Metadata van de 50 vossen in dit project

Overzicht van datum en plaats van afschot, en leeftijdscategorie (Jong < 6 maanden; Jong-volw. 6-12 maanden; Volw. >12 maanden), geslacht, en conditie van de 50 onderzochte vossen.

Vos nummer	DWHC id	Afschot datum	Geografische coördinaten		Dichtstbijzijnde locatie	Leeftijdscategorie	Geslacht	Conditie
			X	Y				
1	DWHC.215031.1	14-mrt-24	5.95	53.25	Feanwâlden	Volw.	Vrouw	Goed
2	DWHC.215036.1	15-mrt-24	6.21	53.32	Warfstermolen	Volw.	Vrouw	Goed
3	DWHC.215047.1	22-mrt-24	5.93	52.98	Luinjeberd	Volw.	Man	Goed
4	DWHC.215095.1	26-mrt-24	5.82	53.07	Akkrum	Volw.	Man	Goed
5	DWHC.215099.1	2-apr-24	5.90	53.08	Goengahuizen	Volw.	Man	Slecht
6	DWHC.215101.1	6-apr-24	5.95	53.04	Gersloot	Volw.	Man	Gemiddeld
7	DWHC.215170.1	16-apr-24	5.92	53.08	Goengahuizen	Volw.	Man	Gemiddeld
8	DWHC.215226.1	27-apr-24	5.97	53.23	Feanwâlden	Volw.	Man	Gemiddeld
9	DWHC.215257.1	2-mei-24	6.17	53.32	Kollumerpomp	Volw.	Vrouw	Goed
10	DWHC.215278.1	8-mei-24	6.14	53.40	Ljussens	Volw.	Vrouw	Gemiddeld
11	DWHC.215325.1	21-mei-24	5.99	53.10	Smalle Ee	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld
12	DWHC.215380.1	8-jun-24	5.77	52.92	Sint Nicolaasga	Jong-Volw.	Man	Gemiddeld
13	DWHC.215418.1	21-jun-24	5.98	53.26	Feanwâlden	Volw.	Man	Goed
14	DWHC.215441.1	22-jun-24	5.77	52.92	Sint Nicolaasga	Jong-volw.	Man	Gemiddeld
15	DWHC.215420.2	22-jun-24	5.77	52.92	Sint Nicolaasga	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld
16	DWHC.215423.2	25-jun-24	5.96	53.24	Feanwâlden	Volw.	Man	Gemiddeld
17	DWHC.215464.1	28-jun-24	5.74	53.00	Broek	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld
18	DWHC.215465.1	28-jun-24	6.01	53.10	Smalle Ee	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld
19	DWHC.215463.1	1-jul-24	6.14	53.09	Ureterp	Volw.	Man	Gemiddeld
20	DWHC.215462.1	2-jul-24	5.81	53.24	Jelsum	Volw.	Vrouw	Gemiddeld
21	DWHC.215873.1	1-jul-24	6,13	53,08	Ureterp	Volw.	Man	Gemiddeld
22	DWHC.215945.1	10-sep-24	5,8	53,26	Stiens	Volw.	Man	Goed
23	DWHC.215946.1	11-sep-24	5,8	53,26	Stiens	Volw.	Vrouw	Goed
24	DWHC.215963.1	21-okt-24	5,79	53,23	Jelsum	Volw.	Vrouw	Slecht
25	DWHC.216328.1	14-jan-25	6,12	53,19	Drogeham	Volw.	Man	Goed
26	DWHC.216331.1	17-jan-25	5,94	53,05	Nij Beets	Volw.	Man	Gemiddeld
27	DWHC.216337.1	24-jan-25	5,77	52,91	Sint Nicolaasga	Volw.	Man	Gemiddeld
28	DWHC.216403.1	8-feb-25	5,79	52,95	Scharsterbrug	Volw.	Man	Goed
29	DWHC.216435.1	15-feb-25	5,8	53	Vegelinsoord	Volw.	Man	Goed
30	DWHC.216435.2	15-feb-25	5,8	53	Vegelinsoord	Volw.	Vrouw	Goed
31	DWHC.216457.1	17-feb-25	5,76	53,32	Marrum	Volw.	Man	Goed
32	DWHC.216461.1	19-feb-25	5,82	53,06	Leppedyk	Volw.	Man	Goed
33	DWHC.216483.1	20-feb-25	5,88	53,02	Aldeboarn	Volw.	Man	Goed
34	DWHC.216575.1	9-mrt-25	5,84	53,03	Akkrum	Volw.	Man	Slecht
35	DWHC.216698.1	8-apr-25	5,69	53,32	Oude Bildtzijl	Volw.	Vrouw	Goed
36	DWHC.216698.2	8-apr-25	5,69	53,32	Oude Bildtzijl	Jong	Man	Goed
37	DWHC.216698.3	8-apr-25	5,69	53,32	Oude Bildtzijl	Jong	Man	Goed
38	DWHC.216698.4	8-apr-25	5,69	53,32	Oude Bildtzijl	Jong	Man	Goed
39	DWHC.216698.5	8-apr-25	5,69	53,32	Oude Bildtzijl	Jong	Man	Goed
40	DWHC.216698.6	8-apr-25	5,69	53,32	Oude Bildtzijl	Jong	Vrouw	Goed
41	DWHC.216753.1	9-apr-25	5,82	53,06	Akkrum	Volw.	Vrouw	Goed
42	DWHC.216710.1	11-apr-25	5,64	53,31	Sint Annaparochie	Volw.	Vrouw	Goed
43	DWHC.216710.2	11-apr-25	5,64	53,31	Sint Annaparochie	Jong	Vrouw	Goed
44	DWHC.216798.2	10-mei-25	5,88	53,07	Goengahuizen	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld

45	DWHC.216798.1	10-mei-25	5,88	53,07	Goengahuizen	Jong-volw.	Man	Gemiddeld
46	DWHC.216842.1	17-mei-25	5,81	53,27	Hallum	Volw.	Man	Goed
47	DWHC.216947.1	3-jun-25	5,74	53,24	Britsum	Volw.	Vrouw	Gemiddeld
48	DWHC.217242.1	22-aug-25	5,8	53,23	Jelsum	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld
49	DWHC.217242.2	22-aug-25	5,8	53,23	Jelsum	Jong-volw.	Man	Gemiddeld
50	DWHC.217242.3	22-aug-25	5,8	53,23	Jelsum	Jong-volw.	Vrouw	Gemiddeld

Appendix 4. Serologie in orgaanmonsters

Overzicht van de binnengekomen orgaanmonsters bij WBVR en resultaten van NP-ELISA en HAR. NP-ELISA uitslag van ≥ 50 (dikgedrukt) zijn positief en de monsters zijn (waar mogelijk) getest in de HAR.

WBVR ID no:	Volgnummer:	Vos nummer:	Monster:	NP-ELISA uitslag:	HAR uitslag:
X24013211	001	Vos 1	Spier	9	
	002	Vos 1	Long	20	
	003	Vos 1	Lever	18	
	004	Vos 2	Spier	8	
	005	Vos 2	Long	57	niet pos voor H5 en H7
	006	Vos 2	Lever	16	
	007	Vos 3	Spier	8	
	008	Vos 3	Long	15	
	009	Vos 3	Lever	11	
	010	Vos 4	Spier	6	
	011	Vos 4	Long	26	
	012	Vos 4	Lever	15	
	013	Vos 5	Spier	12	
	014	Vos 5	Long	19	
	015	Vos 5	Lever	12	
	016	Vos 6	Spier	4	
	017	Vos 6	Long	14	
	018	Vos 6	Lever	11	
	019	Vos 7	Spier	5	
	020	Vos 7	Long	19	
	021	Vos 7	Lever	12	
	022	Vos 8	Spier	18	
	023	Vos 8	Long	37	
	024	Vos 8	Lever	39	
	025	Vos 9	Spier	6	
	026	Vos 9	Long	26	
	027	Vos 9	Lever	15	
	028	Vos 10	Spier	10	
	029	Vos 10	Long	40	
	030	Vos 10	Lever	35	
	031	Vos 11	Spier	10	
	032	Vos 11	Long	15	
	033	Vos 12	Spier	6	

034	Vos 12	Long	16
035	Vos 12	Lever	13
036	Vos 13	Spier	10
037	Vos 13	Long	24
038	Vos 13	Lever	23
039	Vos 14	Spier	4
040	Vos 14	Long	12
041	Vos 14	Lever	12
042	Vos 15	Spier	11
043	Vos 15	Long	13
044	Vos 15	Lever	11
045	Vos 16	Spier	7
046	Vos 16	Long	14
047	Vos 16	Lever	10
048	Vos 17	Spier	6
049	Vos 17	Long	11
050	Vos 17	Lever	7
051	Vos 18	Spier	15
052	Vos 18	Long	17
053	Vos 18	Lever	11
054	Vos 19	Spier	8
055	Vos 19	Long	20
056	Vos 19	Lever	11
057	Vos 20	Spier	5
058	Vos 20	Long	14
059	Vos 20	Lever	5

Appendix 5. Vogeldata Friesland

Overzicht van het aantal in Friesland doodgevonden wilde vogels dat per maand getest is voor AI, en het aantal en percentage HPAI H5 positieve daarvan

Maand	Aantal geteste vogels	Aantal geteste vogels HPAI H5 positief	Percentage HPAI H5 positief
Jan-24	6	2	33%
Feb-24	11	1	9%
Mar-24	4	0	0%
Apr-24	3	0	0%
Mei-24	0	0	0%
Jun-24	0	0	0%
Jul-24	2	0	0%
Aug-24	8	0	0%
Sep-24	8	0	0%
Okt-24	4	0	0%
Nov-24	9	5	55%
Dec-24	21	14	67%
Jan-25	37	18	49%
Feb-25	38	15	39%
Mar-25	11	4	36%
Apr-25	19	5	26%
Mei-25	5	1	20%
Jun-25	4	0	0%
Jul-25	1	0	0%
Aug-25	0	0	0%
Sep-25	3	0	0%
Okt-25	28	12	43%
Nov-25	25	11	44%

Appendix 6. FlutMut output

Overzicht van potentiële zoönotische mutaties gevonden in vos # 27 geïdentificeerd met FluMut (versie 0.6.4).

Mutatie (of mutatie combinatie)			
(Genoomsegment: Aminozuur in vogelgriep-aminozuurpositie-veranderd naar aminozuur)	Beschreven effect van de mutatie in literatuur	Subtype virus (in literatuur)	Literatuur referentie(s)
HA1-5:K218Q,HA1-5:S223R	Toegenomen virusbinding aan α 2-3	H5N1	Guo H. et al., 2017; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virusbinding aan α 2-6		
HA1-5:S107R,HA1-5:T108I	Verhoogde fusie-pH	H5N1	Suttie A. et al., 2019; Wessels U. et al., 2018
	Toegenomen virulentie bij kippen		
	Toegenomen virulentie bij muizen		
HA1-5:S133A	Toegenomen pseudovirusbinding aan α 2-6	H5N1	Suttie A. et al., 2019; Yang Z. et al., 2007
HA1-5:S154N	Toegenomen virusbinding aan α 2-6	H5N1	Suttie A. et al., 2019; Wang W. et al., 2010
HA1-5:T156A	Toegenomen transmissie bij cavia's	H5N1	Gao Y. et al., 2009; Suttie A. et al., 2019; Wang W. et al., 2010
	Toegenomen virusbinding aan α 2-6		
HA1-5:V182N	Afgenomen virusbinding aan α 2-3	H13N6	Lu X. et al., 2013; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virusbinding aan α 2-6		
HA2-5:K64E	Verminderde HA-stabiliteit	H7N9	Sun X. et al., 2019; Suttie A. et al., 2019
	Afgenomen virulentie bij muizen		
	Verhoogde fusie-pH		
M1:I43M	Toegenomen virulentie bij kippen	H5N1	Nao N. et al., 2015; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij eenden		
	Toegenomen virulentie bij muizen		
M1:N30D	Toegenomen virulentie bij muizen	H5N1	Fan S. et al., 2009; Suttie A. et al., 2019

M1:T215A	Toegenomen virulentie bij muizen	H5N1	Fan S. et al., 2009; Suttie A. et al., 2019
NP:A184K	Versterkte interferonrespons	H5N1	Suttie A. et al., 2019; Wasilenko J. et al., 2009
	Toegenomen replicatie in aviaire cellen		
	Toegenomen virulentie bij kippen		
NS-1:C138F	Verminderde interferonrespons	H5N1	Li J. et al., 2018; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virale replicatie in zoogdier cellen		
NS-1:C138F,NS-1:K55E,NS-1:K66E	Verminderde interferonrespons	H5N1	Li J. et al., 2018; Suttie A. et al., 2019
	Versterkte replicatie in zoogdier cellen		
NS-1:I106M	Toegenomen virale replicatie in zoogdier cellen	H1N1 with all internal genes from H7N9	Ayllon J. et al., 2014; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij muizen		
NS-1:L103F,NS-1:I106M	Toegenomen virulentie bij muizen	H5N1	Kuo R. et al., 2009; Spesock A. et al., 2011; Suttie A. et al., 2019
NS-1:P42S	Afgenomen antivirale respons bij muizen	H5N1	Jiao P. et al., 2008; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij muizen		
NS-1:V149A	Verminderde interferonrespons bij kippen	H5N1	Li Z. et al., 2006; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij kippen		
PA:N383D	Toegenomen polymerase activiteit in aviaire cellen	H5N1	Song J. et al., 2011; Song J. et al., 2015; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen		
PA:N409S	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H7N9	Suttie A. et al., 2019; Yamayoshi S. et al., 2014
	Toegenomen replicatie in zoogdier cellen		
PA:P190S	Afgenomen virulentie bij muizen	H7N3	DesRochers B. et al., 2016; Suttie A. et al., 2019
PA:S37A	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H7N9	Suttie A. et al., 2019; Yamayoshi S. et al., 2014
PB1:D3V	Toegenomen polymerase activiteit in aviaire cellen	H5N1	Elgendy E. et al., 2017; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen		
	Toegenomen replicatie in aviaire cellen		
	Toegenomen replicatie in zoogdier cellen		

PB1:D622G	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H5N1	Feng X. et al., 2016; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen polymerase activiteit bij muizen		
	Toegenomen virulentie bij muizen		
PB2:K389R	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H7N9	Hu M. et al., 2017b; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen replicatie in zoogdier cellen		
PB2:L89V,PB2:G309D	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H5N1	Li J. et al., 2009; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij muizen		
PB2:L89V,PB2:G309D,PB2:T339K,PB2:R477G, PB2:I495V,PB2:K627E,PB2:A676T	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H5N1	Li J. et al., 2009; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij muizen		
PB2:S715N	Afgenomen virulentie bij muizen	H5N1	Sun H. et al., 2015; Suttie A. et al., 2019
PB2:V598T	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H7N9	Hu M. et al., 2017b; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen replicatie in zoogdier cellen		
	Toegenomen virulentie bij muizen		
NS-1:N205S,NS-2:T48A	Afgenomen antivirale respons bij fretten	H5N1	Imai H. et al., 2010; Suttie A. et al., 2019
PB2:I292V	Toegenomen polymerase activiteit in zoogdier cellen	H10N8	Suttie A. et al., 2019; Xiao C. et al., 2016
		H9N2	Gao W. et al., 2019; Suttie A. et al., 2019
	Toegenomen virulentie bij muizen	H9N2	
HA1-5:T134A	Toegenomen virale replicatie in muizenlongen	H9N2	Zhang J. et al., 2023
	Toegenomen thermostabiliteit van het virus		

Dutch Wildlife Health Centre (DWHC),
Universiteit Utrecht

Yalelaan 1

3584 CL Utrecht

T 030-2537925

dwhc@uu.nl

Website: dwhc.nl

De missie van het Dutch Wildlife Health Centre is het vergroten van de kennis over de gezondheid van wilde dieren en het bevorderen van een goed gebruik van deze kennis bij het beleid aangaande de volksgezondheid en de gezondheid van gedomesticeerde en in het wild levende dieren.

Wageningen Bioveterinary Research

Postbus 65

8200 AB Lelystad

T 0320 23 82 38

info.bvr@wur.nl

wur.nl/bioveterinary-research

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 7.700 medewerkers (7.000 fte), 2.500 PhD- en EngD-kandidaten, 13.100 studenten en ruim 150.000 Leven Lang Leren-deelnemers behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

Wageningen Bioveterinary Research