

Serologische screening van rundvee op antilichamen tegen aviaire influenza virus

M.Z. Ballmann¹, E.A. Germeraad¹, M.H. Mars², I. Santman-Berends², S.M. de Boer¹

¹ Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad

² Royal GD, Deventer

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen Bioveterinary Research en gesubsidieerd door het Ministerie van Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoekthema 'Serologische screening van rundvee op antilichamen tegen aviaire influenza virus' (projectnummer BO-43-209-083)

Wageningen Bioveterinary Research
Lelystad, maart 2026

Rapport 2608033

Dit rapport is gratis te downloaden op <https://doi.org/10.18174/713793> of op www.wur.nl/bioveterinary-research (onder Wageningen Bioveterinary Research publicaties).

© 2026 Wageningen Bioveterinary Research

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

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.

Wageningen Bioveterinary Research Report

Inhoud

1	Samenvatting	4
2	Verklarende woordenlijst	5
3	Inleiding	6
4	Doel van de studie	7
5	Uitvoering	8
	5.1 Selectie van monsters	8
	5.2 Diagnostische testen	8
	5.2.1 NP-ELISA	8
	5.2.2 Virus Neutralisatie Test	9
	5.2.3 H5-ELISA	9
6	Resultaten	10
7	Discussie en conclusie	12
	Literatuur	13

1 Samenvatting

Aviaire influenza (AI) is een infectieziekte bij vogels die hoogpathogene (HPAI) en laagpathogene (LPAI) vormen kent. Hoewel herkauwers traditioneel niet als vatbaar werden beschouwd, wordt sinds 2024 in de Verenigde Staten HPAI H5N1 virus gedetecteerd in melkvee. In januari 2026 werd in Nederland (Friesland) op een melkveebedrijf HPAI H5N1 virus aangetoond in een kat. Runderen op deze locatie zijn vervolgens door de NVWA bemonsterd en de monsters zijn getest bij Wageningen Bioveterinary Research. Er is geen HPAI H5N1 virus gedetecteerd, maar er zijn wel bij meerdere runderen H5-specifieke antilichamen aangetoond.

Na bevestiging van deze resultaten op de betreffende locatie is vervolgonderzoek uitgevoerd om te bepalen of er meer runderen in Nederland zijn met antilichamen tegen vogelgriep. Daarvoor werden 3019 serummonsters van runderen van 427 bedrijven in Nederland, verzameld tussen november 2025 en januari 2026 en opgeslagen bij de Royal GD, getest op de aanwezigheid van antilichamen tegen vogelgriepvirus. Monsters van 113 bedrijven ($n = 1444$) waren afkomstig uit Friesland, een hoogrisicogebied voor introductie van het HPAI-virus vanwege landschapskenmerken, een hoge dichtheid van overwinterende watervogels en een hoge dichtheid van rundveebedrijven. Gemiddeld werden 13 dieren per bedrijf getest, waardoor een minimale seroprevalentie van 20% kan worden gedetecteerd. Daarnaast werden 1575 monsters getest uit de rest van Nederland.

Alle 3019 monsters zijn onderzocht met een NP-ELISA waarbij 30 monsters aanwijzing gaven voor antilichamen tegen vogelgriep ($\sim 1\%$). De 30 positieve NP-ELISA monsters zijn vervolgens onderzocht met de virusneutralisatietest (VNT) en een H5-specifieke ELISA, waarin alle monsters negatief testten. Er zijn dus geen H5 aviaire influenza-specifieke antilichamen gedetecteerd in deze 30 monsters.

Op basis van de resultaten van deze serologische screening kunnen we aannemen dat infectie van runderen met vogelgriep zeer beperkt voorkomt. De eerder gerapporteerde casus in Friesland lijkt derhalve een geïsoleerde casus te zijn, ondanks de wijdverspreide aanwezigheid van het vogelgriepvirus in het veld via wilde vogels. Deze screening kan niet uitsluiten dat er andere geïsoleerde casus in Nederland zijn geweest.

2 Verklarende woordenlijst

AHR	Animal Health Regulation
AI	Aviaire influenza
EURL	European Union Reference Laboratory
HA	Haemagglutinine
HPAI	Hoogpathogene aviaire influenza
ICPI	Intracerebral pathogenicity index
IVPI	Intravenous pathogenicity index
LPAI	Laagpathogene aviaire influenza
LVVN	Ministerie van Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney cells
NA	Neuraminidase
NP-ELISA	Nucleoproteine Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
NRL	Nationaal Referentie Laboratorium
VNT	Virus Neutralisatie Test
WBVR	Wageningen Bioveterinary Research

3 Inleiding

Vogelgriep, ook wel Aviaire influenza (AI) genoemd, is een infectieuze ziekte in vogels en wordt veroorzaakt door Influenza A virus. Er wordt een onderscheid gemaakt op basis van de pathogeniciteit van het virus. Dit kan op basis van kliniek of op basis van de sequentie van het splitsing site in de hemagglutinine-gen (Animal Health Regulation, 2016/429). Laagpathogene aviaire influenza (LPAI) veroorzaakt milde ziekte, terwijl hoogpathogene aviaire influenza (HPAI) ernstige ziekteverschijnselen kan veroorzaken, voornamelijk bij vogels, maar ook zoogdieren kunnen geïnfecteerd raken en ziek worden. De natuurlijke reservoirs van vogelgriepvirussen zijn voornamelijk wilde watervogels. Vogelgriepvirussen worden verder geclassificeerd op basis van twee oppervlakte-eiwitten: haemagglutinine (HA) en neuraminidase (NA). Aan de hand van deze eiwitten worden subtypen onderscheiden. Tot op heden zijn bij vogels de HA-subtypen 1–16 en 19, en de NA-subtypen 1–9 aangetroffen. Het virus dat verantwoordelijk is voor de wereldwijde uitbraken sinds 2020 behoort tot de HPAI H5N1-clade 2.3.4.4b.

Herkauwers werden traditioneel niet als vatbaar beschouwd voor HPAI-virusinfecties. Sinds maart 2024 is echter in de Verenigde Staten grootschalige verspreiding van HPAI H5N1 virus bij melkvee vastgesteld, waarbij inmiddels op meer dan 1.000 bedrijven besmette koeien zijn aangetroffen. De HPAI H5N1 virussen die deze uitbraken bij melkvee veroorzaken, behoren tot een ander genotype dan de HPAI H5N1 vogelgriepvirussen die nu in Europa circuleren. Een in vitro onderzoek (Bordes et al., 2024) en een in vivo onderzoek (Halwe et al., 2025) met zowel Europese als Amerikaanse HPAI H5N1-stammen tonen aan dat het Europese virus ook in staat is runderen te infecteren. Eerder werd in Nederland een grootschalige retrospectieve serologische studie bij melkgevend runderen uitgevoerd (Fabri et al., 2025), waarbij geen antilichamen tegen aviaire influenzavirussen werden aangetroffen in Nederlands melkvee.

Na de detectie van HPAI H5N1 clade 2.3.4.4b, genotype DI.2.1, bij een kat op een melkveebedrijf in Friesland op 5 januari 2026, zijn individuele melkmonsters van 20 koeien en één tankmelkmonster van die locatie onderzocht op aanwezigheid van aviaire influenzavirus en antilichamen. Viraal RNA werd niet gedetecteerd (indicatie voor virus vermeerdering), maar serologisch onderzoek toonde H5N1-specifieke antilichamen aan. Naar aanleiding van het positieve serologische resultaat werd het gehele bedrijf op 22 januari 2026 bemonsterd waarbij 70 individuele melkmonsters, twee tankmelkmonsters, evenals serummonsters van 72 lacterende koeien en 38 stuks jongvee werden genomen. Op basis van deze analyses lag de seroprevalentie, het deel van de dieren met antilichamen tegen influenza virus, bij lacterende koeien tussen 5,7–20,0% in melk en 23,6–47,2% in serum. Bij jongvee werd een seroprevalentie van 23,7–63,2% vastgesteld.

4 Doel van de studie

Naar aanleiding van de detectie van H5 specifieke antilichamen in runderen in Friesland is deze screening uitgevoerd in opdracht van LVVN na advies van het Responsteam Zoönosen. Het doel van deze screening is vaststellen of de casus in Friesland een geïsoleerd geval betrof of dat H5-vogelgriepvirus subklinisch aanwezig was op andere rundveebedrijven in Nederland. Als er HPAI H5 virus subklinisch aanwezig is op meerdere bedrijven kan het een risico vormen voor de dier- en volksgezondheid.

De serologische screening van Fabri et al. (2025) toonde aan dat er tussen januari 2022 en februari 2024 geen aanwijzingen waren voor HPAI H5-infecties bij Nederlands rundvee. Het vogelgriepseizoen 2024–2025 bleef mild bij vogels, terwijl het seizoen 2025/2026 in oktober begon met veel HPAI H5N1 virus detecties bij zowel wilde als gehouden vogels, waardoor de kans op blootstelling van rundvee in het veld toenam. Daarvoor zullen retrospectief, over de periode van november 2025 t/m januari 2026, serummonsters van runderen worden onderzocht op de aanwezigheid van specifieke neutraliserende antilichamen tegen H5 aviaire influenza virus. Na afronding van deze serologische screening wordt verwacht een eerste indicatie te verkrijgen van de seroprevalentie van antilichamen tegen H5 aviaire influenza in runderen in Nederland.

5 Uitvoering

5.1 Selectie van monsters

Over de periode van 1 november 2025 tot en met 31 januari 2026 waren er bij GD in totaal 33.262 serummonsters opgeslagen waarvan de inzendhistorie bekend was. Voor de selectie van serummonsters voor de screening zijn serummonsters verwijderd die afkomstig waren van geïmporteerde dieren, dieren die in deze periode (1 november 2025 - 31 januari 2026) waren aangevoerd, en monsters van dieren zonder bekende herkomstlocatie. De monsters waren afkomstig uit drie verschillende leeftijdsgroepen: kalveren (1116), jongvee (785) en koeien (1128). De monsters werden verzameld in november 2025 (274), december 2025 (1067) en januari 2026 (1688).

Een van de gestelde inclusiecriteria was dat er per bedrijf minimaal vijf monsters beschikbaar moesten zijn. Serummonsters van bedrijven met minder dan vijf ingezonden monsters zijn daarom niet meegenomen in de selectie. Daarnaast zijn monsters van bedrijven die uitsluitend serummonsters van dieren jonger dan één jaar hadden ingezonden, buiten de selectie gelaten omdat deze dieren zijn veelal binnen gehuisvest en daarmee minder at risk.

Alle 1448 serummonsters zijn geselecteerd die beschikbaar waren van 113 verschillende rundveebedrijven uit het 2-cijferig postcodegebied van het initieel besmette bedrijf, inclusief de aangrenzende 2-cijferige postcodegebieden (een klein deel hiervan valt echter in de provincie Groningen, maar wordt voor de eenvoud hierna gezamenlijk aangeduid als 'Friesland'). Gemiddeld werden in dit gebied 13 dieren per bedrijf getest. Van de 11.498 beschikbare serummonsters afkomstig van 960 rundveebedrijven in de rest van Nederland, zijn vervolgens 1581 serummonsters van 314 rundveebedrijven willekeurig geselecteerd, van vijf monsters per bedrijf. Deze monsters zijn geanonimiseerd voordat zij naar WBVR zijn verzonden.

Daarbij is de volgende metadata behouden:

- een geanonimiseerd UBN waarmee herleidbaar bleef welke monsters van hetzelfde bedrijf afkomstig waren,
- de regio: Friesland, of in de rest van Nederland,
- het gebied waarin het bedrijf was gelokaliseerd (genummerd van 1 (noord) tot 20 (zuid)),
- de leeftijdscategorie van het rund waarvan het monster afkomstig (kalf <1 jaar, jongvee 1-2 jaar en koe >2 jaar).
- de maand waarin het monster was ingezonden naar GD (november, december of januari).

5.2 Diagnostische testen

In totaal werden 3029 sera ontvangen, maar van 10 sera was er onvoldoende serum beschikbaar om de NP-ELISA test uit te voeren. In deze studie waren alle serummonsters (n = 3019) getest met een in-house ontwikkelde NP-ELISA (Germeraad, 2017). Alle monsters met een positief resultaat in de NP-ELISA werden vervolgens getest met de virusneutralisatietest (VNT) en de H5-ELISA (ID Screen® Influenza H5 Indirect ELISA) ter bevestiging. Een sera is positief bij een positieve NP-ELISA én een positieve VNT uitslag (titer >2).

5.2.1 NP-ELISA

De in-house NP-ELISA is een serologische test die antilichamen tegen de nucleoproteïne (NP) van het influenzavirus detecteert. Het betreft een blockings-ELISA, waarbij aanwezige antilichamen in het serum de binding van een gelabeld detectie-antilichaam aan het vastgemaakte antigeen blokkeren. De mate van blokkering wordt kwantitatief weergegeven als een blockingspercentage, waarbij hogere percentages wijzen op een sterkere aanwezigheid van specifieke antilichamen in het monster.

De cut-off, de grens vanaf wanneer een monster positief is, is $\geq 35\%$. Deze cut-off is gebaseerd op een vergelijking met een door de EURL aanbevolen commerciële NP-ELISA (ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multispecies NP-ELISA van IDVet) uitgevoerd op een set van 110 rundersera, bestaande uit zowel positieve als negatieve monsters, zoals bepaald met de commerciële test.

5.2.2 Virus Neutralisatie Test

De VNT is een kwantitatief, functionele serologische test waarbij wordt bepaald of de aanwezige antilichamen in het serum in staat zijn het virus te neutraliseren en de infectie van cellen in cultuur te voorkomen. Positieve neutralisatie duidt op de aanwezigheid van functioneel actieve antilichamen tegen het virus. Het serum wordt met gelijke stappen steeds verder verdund bij een gelijke concentratie van het virus om de hoeveelheid neutraliserende antilichamen te bepalen.

Alle monsters die positief waren in de NP-ELISA zijn getest met de VNT op Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) cellen met een clade 2.3.4.4b H5N1-virus. Een monster werd als positief beschouwd wanneer de VNT-titer op de eerste verdunning (factor 2) neutralisatie van het virus laat zien.

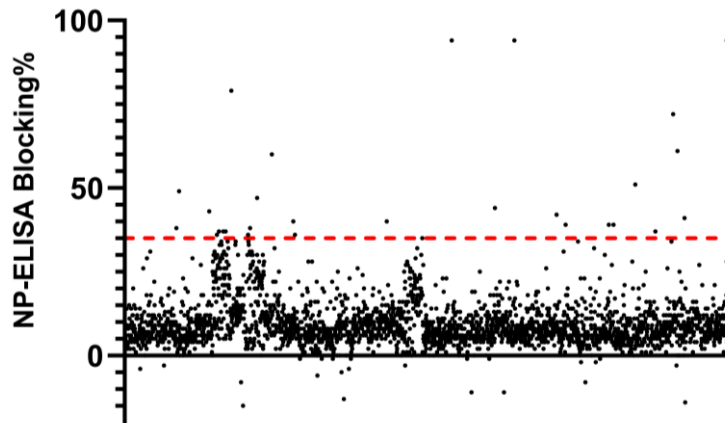
5.2.3 H5-ELISA

H5-ELISA (ID Screen® Influenza H5 Indirect ELISA van IDVet) is een subtype-specifieke ELISA die antilichamen tegen het H5-antigeen van het aviaire influenzavirus detecteert. De test wordt gebruikt om monsters die positief zijn in de in-house NP-ELISA verder te karakteriseren en vast te stellen of de antilichamen specifiek gericht zijn tegen het H5-subtype.

Deze test wordt aanbevolen door de EURL. Echter is bekend dat de gevoeligheid van deze assay lager is dan die van de NP-ELISA of de VNT. Daarom wordt de uitslag van deze test niet gebruikt om te beslissen of een monster als positief of negatief moet worden beschouwd ter bevestiging van de NP-ELISA. Voor deze beoordeling worden uitsluitend de resultaten van de NP-ELISA en de VNT gebruikt.

6 Resultaten

De NP-ELISA is uitgevoerd op 3019 monsters. De resultaten zijn weergegeven in Figuur 3.1. In totaal testten 30 monsters positief.



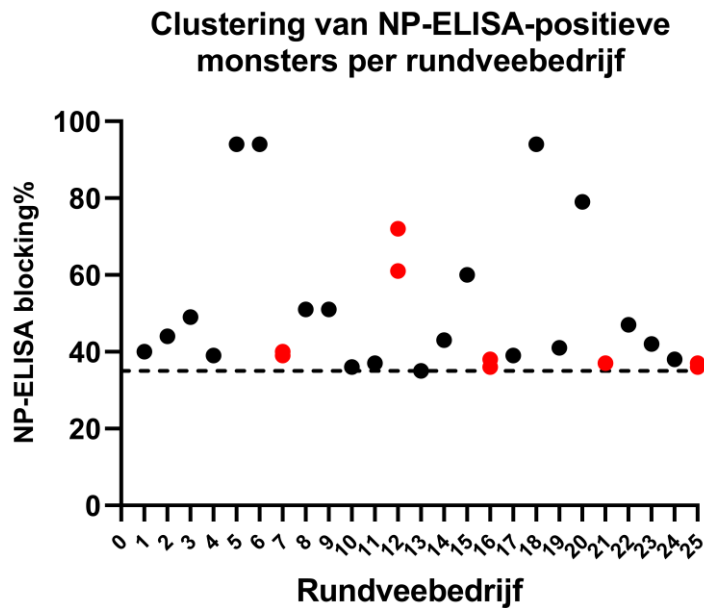
Figuur 3.1 NP-ELISA-resultaten van alle geteste serummonsters (n=3019). Rode stippellijn: cut-off van de NP-ELISA.

De NP-ELISA-resultaten werden geanalyseerd per regio, leeftijdsgroep en bemonsteringsmaand (zie Tabel 1). Het verschil in seropositiviteit tussen Friesland en de rest van Nederland was niet statistisch significant ($p = 0,14$; Fisher's exact test). Er werd ook geen statistisch significant verschil waargenomen tussen de drie leeftijdsgroepen — kalf, jongvee en lacterende koe ($p = 0,13$; chi-kwadraattest) — noch tussen de maanden van monsternamen (november 2025, december 2025 en januari 2026; $p = 0,97$; chi-kwadraattest).

Tabel 1 NP-ELISA-resultaten per regio, per leeftijdsgroep en per bemonsteringsmaand.

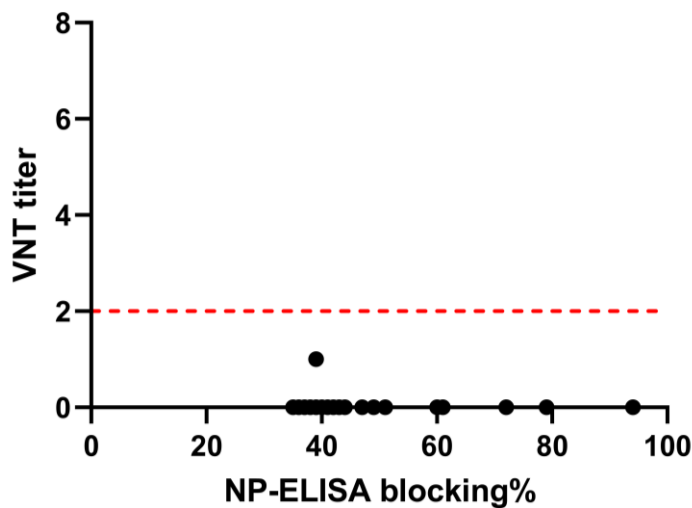
		Totaal	Negatief	Positief	Seropositiviteit
Regio (aantal bedrijven)	Friesland	1444 (113)	1434	10 (8)	0,69%
	Rest van Nederland	1575 (314)	1555	20 (17)	1,27%
Leeftijdsgroep	Kalf	1112	1102	10	0,90%
	Jongvee	784	780	4	0,51%
	Koe	1123	1107	16	1,42%
Bemonsteringsmaand	2025 november	271	268	3	1,11%
	2025 december	1063	1053	10	0,94%
	2026 januari	1685	1668	17	1,01%

Voor de 30 NP-ELISA-positieve monsters werd onderzocht of sprake was van clustering, gedefinieerd als het voorkomen van meerdere positieve monsters afkomstig van dezelfde rundveebedrijven. De resultaten zijn weergegeven in Figuur 3.2. Positieve sera werden aangetroffen op 25 verschillende rundveebedrijven, waarvan er op vijf rundveebedrijven twee positieve monsters werden geïdentificeerd.



Figuur 3.2 Clustering van NP-ELISA positieve monsters per rundveebedrijf.

De 30 monsters die positief testten in de NP-ELISA zijn vervolgens getest met de VNT en de H5-ELISA. Geen van deze monsters testte positief in de VNT (Figuur 3.3) of in de H5-ELISA (data niet weergegeven).



Figuur 3.3 VNT titer van de NP-ELISA positieve monsters. Rode stippellijn: afkapwaarde van de VNT.

7 Discussie en conclusie

In deze studie zijn in totaal 3019 sera onderzocht waarvan 1444 monsters afkomstig zijn van runderen in Friesland en 1575 zijn afkomstig van runderen in de rest van Nederland. De monsters van de runderen zijn afkomstig van drie leeftijdsgroepen (kalveren, jongvee en koeien) en verzameld in de periode november 2025 tot en met januari 2026 en opgeslagen door de GD. Met de NP-ELISA is bij ~1% van de monsters (n = 30) antilichamen aangetoond. Geen van deze monsters kon worden bevestigd met de virusneutralisatietest (VNT) en de H5-specifieke ELISA.

Het feit dat met deze testen de resultaten van de NP-ELISA niet werden bevestigd suggereert dat de initiële NP-ELISA-positieve resultaten waarschijnlijk het gevolg zijn van niet-specifieke reacties of kruisreactiviteit, en niet wijzen op daadwerkelijke infectie van runderen met aviaire influenzavirus. Dit benadrukt het belang van confirmatietesten bij serologische screening.

Het onderzochte gebied in Friesland (deels in de provincie Groningen) wordt gekenmerkt door hoge dichtheden van wilde watervogels, waterrijke omgevingen en geschikte graslanden voor overwinterende ganzen en eenden. Volgens risicobeoordelingen, gebaseerd op landschapsspecifieke kenmerken en dichtheden van wilde vogels, wordt dit gebied beschouwd als een van de regio's met het hoogste risico in Nederland op introductie van het HPAI-virus in de commerciële pluimveehouderij (Gonzales et al., 2023). Dit gebied in Nederland wordt ook gekenmerkt door een hoge dichtheid van melkveebedrijven, wat resulteert in een hoog risico op blootstelling van runderen aan het HPAI-virus.

Het is echter niet bekend of elk individueel bedrijf toegang had tot weidegang of wanneer de dieren op stal zijn gezet in het najaar. Gemiddeld had 78,2% van de bedrijven in Nederland in 2025 toegang tot weidegang. Daarom kan worden aangenomen dat dieren van een aanzienlijk deel van de bedrijven in deze studie potentieel direct zijn blootgesteld aan wilde vogels en hun uitwerpselen. Runderen die op stal worden gehouden, kunnen ook worden blootgesteld aan HPAI-virus via voer dat afkomstig is van door wilde vogels verontreinigde weides.

Gemiddeld werden in dit hoogrisicogebied 13 dieren per bedrijf getest, waardoor een minimale seroprevalentie van 20% kan worden gedetecteerd. Het feit dat alle monsters in dit hoogrisicogebied negatief waren in de serologische screening, suggereert dat de kans op besmetting van runderen met het H5 vogelgriepvirus zeer klein is, ondanks de wijdverspreide aanwezigheid van het hoogpathogeen H5N1-virus in het veld bij wilde vogels. De eerder gerapporteerde casus in Friesland lijkt derhalve een geïsoleerd casus te zijn geweest, zonder indicaties voor verdere verspreiding binnen de Nederlandse rundveepopulatie. Deze screening kan niet uitsluiten dat er geen andere geïsoleerde casus in Nederland zijn geweest.

Literatuur

- Bordes, L., Gerhards, N.M., Peters, S., van Oort, S., Roose, M., Dresken, R., Venema, S., Vrieling, M., Engelsma, M., van der Poel, W.H.M. en de Swart, R.L., 2024. H5N1 clade 2.3.4.4b avian influenza viruses replicate in differentiated bovine airway epithelial cells cultured at air-liquid interface. *Journal of General Virology* 105(6):002007.
- Fabri, N.D., Santman-Berends, I.M.G.A., Roos, C.A.J., van Schaik, G., Het Lam, J., Germeraad, E.A. en Mars, M.H., 2025. No indication of highly pathogenic avian influenza infections in Dutch cows. *JDS Communications* 6(3):394–399.
- Germeraad, E.A., Elbers, A.R.W., de Bruijn, N.D., Heutink, R., van Voorst, W., Hakze-van der Honing, R., Bergervoet, S.A., Engelsma, M.Y., van der Poel, W.H.M., Beerens, N., 2020. Detection of Low Pathogenic Avian Influenza Virus Subtype H10N7 in Poultry and Environmental Water Samples During a Clinical Outbreak in Commercial Free-Range Layers, Netherlands 2017. *Front Vet Sci.* May 5;7:237. doi: 10.3389/fvets.2020.00237. PMID: 32478107; PMCID: PMC7232570.
- Gonzales, J.L., de Freitas Costa, E., Hennen, W.H.G.J., Petie, R. & Elbers, A.R.W., 2023. Voorspellend model voor besmettingsrisico van HPAI-virus bij commerciële pluimveebedrijven in Nederland. Rapport / Wageningen Bioveterinary Research, no. 2301353, Wageningen Bioveterinary Research, Lelystad. <https://doi.org/10.18174/633656>
- Halwe, N.J., Cool, K., Breithaupt, A., et al., 2025. H5N1 clade 2.3.4.4b dynamics in experimentally infected calves and cows. *Nature* 637:903–912.

Regulation - 2016/429 - EN - EUR-Lex