



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland

RIVM Briefrapport 2019-0097
M. Maas et al.



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland

RIVM Briefrapport 2019-0097
M. Maas et al.

Colofon

© RIVM 2019

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

DOI 10.21945/RIVM-2019-0097

M. Maas (auteur), RIVM
T. Cuperus (auteur), RIVM
A. de Vries (auteur), RIVM
M.T.M. Fonville (auteur), RIVM
R. Jaarsma (auteur), RIVM
T.E. Hoornweg (auteur), RIVM
M. Opsteegh (auteur), RIVM

Contact:
Miriam Maas
Infectieziekten en Vaccinologie/Zoönosen en
Omgevingsmicrobiologie/Dier en Vector
miriam.maas@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn & Sport.

Dit is een uitgave van:
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
Nederland
www.rivm.nl

Publiekssamenvatting

Seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland

Ratten kunnen het seoulvirus bij zich dragen. Dit virus kan op mensen worden overdragen als zij in contact komen met urine, keutels of speeksel van besmette ratten. Het RIVM heeft daarom onderzoek gedaan bij 175 ratten van 29 particuliere eigenaren, 7 hobbyfokkers en 9 commerciële fokkers van (voeder)ratten in Nederland. Eén rat van een particuliere eigenaar droeg het virus bij zich. Bij 1 hobbyfokker was een kwart van de geteste ratten besmet. Bij 2 commerciële (voeder)rattenfokkers was dit ongeveer de helft van de geteste ratten.

Hoeveel besmette ratten er in Nederland precies zijn, is moeilijk te bepalen. Het is niet bekend hoeveel ratten er in Nederland worden gehouden en gefokt. Ook blijken er veel ratten uit het buitenland te worden ingevoerd.

Sinds 2016 is seoulvirus bij 5 patiënten in Nederland aangetoond. Ze hadden allemaal contact gehad met tamme huisdierratten of voederratten. Om te voorkomen dat meer mensen ziek worden is betere voorlichting voor particulieren en bedrijven belangrijk. Bijvoorbeeld over de mate waarin seoulvirus voorkomt, over ziekteverschijnselen en over hygiënemaatregelen. Een voorbeeld is handen wassen na contact met ratten. Of het nat maken van het strooisel bij het schoonmaken van de kooi om te voorkomen dat verzorgers besmette stofdeeltjes inademen.

Om te voorkomen dat seoulvirus binnen en tussen bedrijven wordt verspreid, zijn maatregelen nodig. Welke maatregelen effectief en haalbaar zijn, moet nog worden onderzocht.

Een klein deel van de mensen die geïnfecteerd raken met seoulvirus wordt ziek. Meestal krijgen ze milde klachten zoals griepigheid. Soms ontstaan klachten zoals koorts, overgeven, diarree, algehele malaise, spierzwakte in de benen en lage rugpijn. Heel soms zijn de klachten ernstiger: zoals leverontsteking, nierfalen of inwendige bloedingen. Ratten worden zelf niet ziek van het virus.

Kernwoorden: ratten, seoulvirus, zoönose, rattenhouderijen, rattenfokkers

Synopsis

Seoul virus in pet and feeder rats in the Netherlands

Rats can be reservoir of Seoul virus. Humans can be infected with Seoul virus when they come into contact with urine, faeces or saliva of infected rats. The RIVM performed a study on the presence of Seoul virus in 175 pet and feeder rats of 29 private owners, 7 hobby breeders and 9 commercial breeders in the Netherlands. One rat of a private owner tested positive. From 1 hobby breeder, 25% of the tested rats was positive. From 2 commercial breeders, about half of the tested rats had a positive result.

The number of rats infected with Seoul virus in the Netherlands, is difficult to determine. The total number of pet rats and rats in commercial breeding farms in the Netherlands is unknown. There is also a high number of rats that are imported into the Netherlands.

Since 2016, Seoul virus has been found in five patients in the Netherlands. These patients all had contact with pet rats or feeder rats. To prevent new human patients, public education about Seoul virus can be improved. For example regarding the presence of Seoul virus in the Netherlands, disease symptoms, and hygiene measures. An example of hygiene measures is washing of hands after contact with rats. Or wetting of the bedding material when cleaning cages to prevent inhalation of infected dust material.

To prevent spread of Seoul virus within and between (commercial) breeders, measures need to be taken. Which measures are effective and realistic, needs to be further examined.

A small part of the persons infected with Seoul virus become ill. The symptoms are usually mild, resembling flu. In some cases, additional symptoms develop such as fever, vomiting, diarrhoea, general malaise, leg muscle weakness and pain in the lower back. Infrequently, the symptoms are more severe, such as hepatitis, kidney failure or internal bleeding. Rats do not develop any disease symptoms themselves.

Keywords: rats, Seoul virus, zoonosis, domesticated rats, rattery, rat breeders

Inhoudsopgave

Samenvatting — 9

1 Inleiding — 11

2 Methoden — 13

- 2.1 Vergelijking diagnostiek op verse/ingevroren ratten — 13
- 2.2 Inventariseren van de mate van voorkomen van seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland — 13
 - 2.2.1 Particuliere bezitters (via dierenartspraktijken) — 13
 - 2.2.2 Rattery-eigenaren — 13
 - 2.2.3 Commerciële fokkers — 13
 - 2.2.4 Benodigde aantallen — 14
 - 2.2.5 Dieren — 14
 - 2.2.6 Moleculaire diagnostiek — 14
 - 2.2.7 Serologie- ELISA — 14
 - 2.2.8 Serologie- Virus neutralisatie test — 15
 - 2.2.9 Enquêtes — 15
- 2.3 Onderzoek fylogenie seoulvirus door Nederland en Europa — 15

3 Resultaten — 17

- 3.1 Vergelijking verse met ingevroren dieren — 17
- 3.2 Stakeholderbijeenkomst — 17
- 3.3 Deelname studie — 18
- 3.4 Testresultaten — 18
 - 3.4.1 Particuliere bezitters (via dierenartspraktijken) — 18
 - 3.4.2 Ratteries en opvangen — 19
 - 3.4.3 Commerciële (voeder)rattenfokkers en -handelaren — 19
 - 3.4.4 Samenvatting studie naar mate van voorkomen van seoulvirus — 20
- 3.5 Enquête-resultaten — 20
 - 3.5.1 Particuliere bezitters — 20
 - 3.5.2 Ratteries en opvangen — 21
 - 3.5.3 Commerciële (voeder)rattenfokkers/handelaren — 22
- 3.6 Sequentie-analyse — 23

4 Discussie — 27

- 4.1 Resultaten studie naar de mate van voorkomen van seoulvirus — 27
- 4.2 Diagnostische methode — 27
- 4.3 Fylogenie — 28
- 4.4 De rattenhouderij in Nederland — 28
- 4.5 Openstaande vragen — 30

5 Conclusie en aanbevelingen — 31

6 Dankzegging — 33

7 Referenties — 35

Bijlage 1: Enquête voor particuliere bezitters — 37

Bijlage 2: Enquête voor rattery-eigenaar — 40

Bijlage 3: Enquête voor commerciële rattenfokkers – 46

Bijlage 4: Enquête voor handelaren – 52

Bijlage 5: Deelnemerssamenvatting – 56

Samenvatting

Seoulvirus komt wereldwijd voor bij ratten. Infectie van mensen met het seoulvirus kan leiden van milde symptomen tot ernstige klachten zoals nierfalen en hemorragische koorts. Sinds 2016 is een seoulvirus-infectie bij vijf patiënten met ernstige klachten in Nederland gediagnosticeerd. Deze patiënten hadden allemaal contact met tamme huisdierratten of voederratten. Naar aanleiding van deze patiënten, en het gebrek aan inzicht in het voorkomen en de verspreiding van seoulvirus onder gehouden ratten in Nederland, is een studie naar seoulvirus uitgevoerd. Van drie typen houderijen zijn ratten getest: particuliere eigenaren, ratteries en commerciële (voeder)rattenfokkerijen. Alle deelnemers is gevraagd om dode ratten op te sturen voor onderzoek en een vragenlijst in te vullen over o.a. de herkomst van de rat. Daarnaast is ook gekeken of het gebruik van vers of ingevroren materiaal invloed had op de detectie van het virus. Met behulp van fylogenetische analyses van virussequenties is getracht om inzicht te krijgen in de transportroutes van seoulvirus in Nederland en Europa.

In totaal zijn 176 ratten ontvangen voor onderzoek: 30 ratten van particuliere bezitters (waarvan 29 onderzocht), 41 ratten van 5 ratteries, 15 ratten van 2 rattenopvangen en 90 ratten van 9 commerciële (voeder)rattenfokkers of -handelaren. Van de huisdierratten was 1 rat seoulvirus positief. Van de 7 ratteries en opvangen die samen 56 ratten voor onderzoek hadden opgestuurd, was er 1 rattery positief. Van deze rattery waren 2 van de 8 ingestuurde ratten positief. Van de 9 commerciële fokkers waren er 2 positief voor seoulvirus. Bij deze bedrijven waren 6/10 en 5/10 ratten besmet. Eén van deze 2 bedrijven was eerder positief getest voor seoulvirus. Het gebruik van ingevroren materiaal om te testen op seoulvirus leverde kleine verschillen op ten opzichte van het verse materiaal, maar dit is mogelijk ook een teken van heterogene verspreiding van het virus binnen de organen. Uit de fylogenetische analyse kwam naar voren dat alle Nederlandse isolaten 99,4 tot 100% overeenkomst hadden met elkaar. De sequenties die de tamme ratten bij zich droegen, waren meer verwant aan de sequenties van tamme ratten in andere landen, dan aan sequenties van wilde ratten in Nederland en het buitenland.

In alle geteste typen rattenhouderijen in Nederland komt het seoulvirus voor. Vanwege de onbekende omvang van de sector in Nederland en het beperkte aantal deelnemers in deze studie, is het niet mogelijk om het percentage besmette houderijen te bepalen. Ook de prevalentie van seoulvirus binnen huishoudens, ratteries en bedrijven is niet nauwkeurig te bepalen, maar lijkt binnen positieve commerciële bedrijven redelijk hoog, namelijk tot 60%. Met een dergelijke binnen-bedrijfsprevalentie hoeft slechts een beperkt aantal ratten per bedrijf getest te worden om positieve bedrijven op te sporen. Echter, bestrijding van het seoulvirus is lastig. Ten eerste is er geen goed overzicht van de bedrijven, noch van commerciële, noch van hobbyfokkerijen. Ten tweede vindt er uitwisseling plaats tussen bedrijven (ook internationaal) en worden ratten geïmporteerd vanuit het buitenland. Tenslotte is onduidelijk welke effectieve interventies op positieve bedrijven genomen zouden kunnen worden.

Om nieuwe humane ziektegevallen te voorkomen, kan op dit moment ingezet worden op voorlichting, waarbij het vóórkomen van het seoulvirus, gezondheidsrisico's en mogelijke preventieve hygiënische maatregelen worden besproken. Deze publieks- en bedrijfsvoorlichting kan worden opgezet in samenwerking met o.a. Platform Verantwoord Huisdierenbezit, DIBEVO/dierenwinkels, de diverse platforms/fora van de rattenbezitters en dierenartsen. Daarnaast is aan te bevelen om ook extra voorlichting aan (huis)artsen te verstrekken over het vóórkomen van het seoulvirus in gehouden rattenpopulaties in Nederland. Naast voorlichting is het aan te bevelen ook de verspreiding van seoulvirus binnen en tussen bedrijven te beperken. Hiervoor is meer kennis nodig over de transmissie van seoulvirus en effectieve interventie maatregelen. Daarvoor is vervolgonderzoek nodig waarbij gebruik gemaakt kan worden van de contacten gelegd binnen dit onderzoek, de opgedane kennis met betrekking tot de diagnostiek en de ervaringen met interventie maatregelen bij één fokker. Ten slotte is het opstellen van regelgeving voor commerciële dierhouderijen aan te bevelen om inzicht te krijgen in de rattenfokkerij in Nederland en te kunnen handelen indien noodzakelijk voor de volksgezondheid.

1 Inleiding

Seoulvirus (SEOV) is een orthohantavirus dat wordt overgedragen door ratten. Een infectie met seoulvirus kan leiden tot klachten variërend van meestal milde, vaak griepachtige verschijnselen tot ernstigere klachten zoals leverontsteking, koorts, braken, diarree, algehele malaise, spierzwakte in de benen en lage rugpijn. In zeldzame gevallen komen ernstige klachten zoals nierfalen of zelfs hemorragische koorts (koorts met interne bloedingen: "hemorrhagic fever with renal syndrome") voor. Ratten kunnen drager zijn van seoulvirus, maar worden zelf niet ziek van een besmetting. Overdracht kan plaatsvinden via urine, keutels en speeksel van besmette ratten.

Sinds oktober 2016 zijn er vijf patiënten met een seoulvirus-infectie gediagnosticeerd in Nederland. Al deze patiënten hadden contact met tamme ratten. Bronopsporing toonde seoulvirus aan in ratten van de twee gerelateerde rattenfokkerijen en de huisdierratten. Drie van de patiënten waren geïnfecteerd door ratten die als slangenvoer dienden, zogenaamde voederratten, en twee patiënten zijn door huisdierratten besmet geraakt.

Naar aanleiding van de eerste patiënt is een risico-analyse uitgevoerd over de kans en impact van seoulvirusinfecties bij mensen in Nederland. Uit de risico-analyse kwamen verschillende hiaten in kennis over het voorkomen van seoulvirus en de Nederlandse rattenhouderij in het algemeen naar voren. Een belangrijk hiaat is het ontbreken van kennis over de prevalentie van seoulvirusinfecties bij verschillende types gehouden ratten.

De huidige studie is uitgevoerd om meer informatie te verkrijgen over gehouden ratten in Nederland en het voorkomen van seoulvirus. Er vallen drie onderzoeksvragen onder het onderzoek, gericht op het bepalen van het voorkomen en de verspreiding van seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland. Allereerst is onderzocht of voor het onderzoek ingevroren ratten gebruikt kunnen worden in plaats van verse ratten. Het testen van verse ratten op seoulvirus is een kostbare aangelegenheid, omdat het logistiek veel werk vereist. Als met een vergelijkbare zekerheid het virus kan worden gedetecteerd in dode/ingevroren ratten, scheelt dit veel in de kosten en vergemakkelijkt dit het onderzoek. Een eerste indicatie hiervoor was positief: bij de eerste seoulviruspatiënt was een deel van de ingevroren ratten positief. Echter, om meer zekerheid te krijgen over de sensitiviteit van diagnostiek op ingevroren dieren ten opzichte van verse dieren, moesten de resultaten hiervan met elkaar worden vergeleken.

Daarnaast is een studie uitgevoerd naar de mate waarin het seoulvirus voorkomt bij gehouden ratten in Nederland. Hierbij zijn verschillende typen houderijen getest: van particuliere bezitters tot aan grote, commerciële fokkers en handelaren van ratten als voederdieren en/of

huisdieren¹. Door middel van gesprekken met de betrokkenen bij deze studie is ook geprobeerd inzicht te verkrijgen of er overlap bestaat tussen de fokkerij van huisdierratten en voederratten.

Tenslotte is aan de hand van seoulvirus RNA uit humane en ratten monsters fylogenetisch onderzoek gedaan naar contacten tussen ratten en mogelijke verspreidingsroutes van seoulvirus, waarbij voldoende onderscheid nodig is om mutaties tussen verschillende seoulvirus genotypen te kunnen detecteren.

¹ Het fokken van ratten gebeurt op verschillende schalen: er zijn bijvoorbeeld huishoudens die één of enkele keren een nestje hebben. Daarnaast zijn er ratteries: een rattery is een hobbyfokkerij, waarbij ratten vaak op kleine tot middelgrote schaal worden gefokt- dat wil zeggen van enkele tot tientallen nestjes per jaar. Er zijn geen officiële definities, maar over het algemeen verdient een ratteryhouder geen noemenswaardig inkomen uit de rattery.

2 Methoden

2.1 Vergelijking diagnostiek op verse/ingevroren ratten

Twintig ratten, afkomstig van twee fokkerijen, zijn "vers" meegenomen, d.w.z. er was gevraagd de ratten pas vlak voor het ophalen (in de ochtend) te euthanaseren en gekoeld te bewaren. De monsters zijn vervolgens verzameld zoals gebruikelijk (zie 2.2.6), waarbij één nier en voldoende longweefsel achterbleven. De kadavers van deze ratten zijn daarna ingevroren voor > 2 weken bij -20°C, waarna ze zijn ontdooid en opnieuw long- en nierweefsel werd verzameld. Beide varianten zijn vervolgens getest met de RT-PCR (zie 2.2.7). De fokkerijen die hiervoor zijn uitgekozen, waren fokkerijen waar eerder seoulvirus bij ratten op het bedrijf werd aangetoond.

2.2 Inventariseren van de mate van voorkomen van seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland

Om inzicht te krijgen in de verspreiding van seoulvirus in Nederland bij de verschillende soorten rattenhouderijen, zijn diverse rattenhouders benaderd om deel te nemen aan het onderzoek.

2.2.1 *Particuliere bezitters (via dierenartspraktijken)*

Individuele eigenaren met een beperkt aantal ratten als huisdier zijn benaderd via dierenartspraktijken (DAPs). Via rattenfora, websites van liefhebbers en adviezen van eigenaren zijn DAPs gezocht die relatief veel ratten als patiënt krijgen. Uiteindelijk ontvingen 13 DAPs, verspreid over Nederland, een onderzoekspakket met verzamel materiaal en vragenlijsten en één pakket om weg te geven aan een rattery-eigenaar. De DAPs kregen vijf maanden (mei-september 2018) de tijd om geëuthanaseerde ratten te verzamelen.

2.2.2 *Rattery-eigenaren*

Ratteries (hobymatige fokkerijen), zijn in eerste instantie benaderd via een rattery-eigenaar die heel actief is in de rattery-wereld. Daarnaast zijn ratteries direct door het RIVM benaderd om ze uit te nodigen deel te nemen aan het onderzoek. Ratteries zijn gevonden via internet (rattenfora) en via stakeholders.

Daarnaast zijn rattenopvangen uitgenodigd om deel te nemen aan het onderzoek. Deze vangen ratten op als eigenaren er niet meer voor kunnen zorgen, of als er ratten gevonden zijn. Vaak proberen zij de ratten te herplaatsen. De aantallen die aanwezig zijn kunnen variëren, maar vaak betreft het enkele tientallen dieren. De rattenopvangen zijn gevonden via internet.

Er is een onbekend en wisselend aantal ratteries en rattenopvangen in Nederland, daarom werd voor dit onderzoek aangehouden dat we 5 tot 10 ratteries/rattenopvangen wilden testen. Ratteries en rattenopvangen kregen vijf maanden (juni-oktober 2018) de tijd om geëuthanaseerde of gestorven ratten te verzamelen.

2.2.3 *Commerciële fokkers*

Commerciële fokkerijen zijn zowel direct benaderd als via een tussenpersoon. Na een inventarisatie op internet (Google, Marktplaats)

naar voederrattenverkopers, zijn verspreid over Nederland verschillende fokkers gebeld. Daarnaast zijn enkele fokkers/handelaren ook benaderd via een tussenpersoon van de DIBEVO (brancheorganisatie voor ondernemers in de huisdierenbranche). Zij hadden eerder bij deze tussenpersoon aangegeven wel interesse te hebben om deel te nemen, maar wilden dit alleen op anonieme basis doen. De ratten werden vergoed en door de onderzoekers bij commerciële bedrijven opgehaald.

2.2.4 *Benodigde aantallen*

Eerder onderzoek leert dat als seoulvirus aanwezig is op een locatie, een groot deel van de dieren geïnfecteerd zullen zijn. Voor het berekenen van het benodigde aantal ratten per bedrijf is een ruime marge van een geschatte prevalentie van 50% aangehouden en een betrouwbaarheidslevel van 95%. Voor veel bedrijven (grootte 500-8000 ratten) resulteert dit in een steekproefgrootte van 5 ratten, die nodig zijn om aan te tonen of seoulvirus op een bedrijf aanwezig was (<http://www.winepi.net/uk/index.htm>). Echter, omdat ook andere factoren meewegen, o.a. wijze van houden (bv aanwezigheid van gescheiden ruimtes) en diermanagement (bv (veelvuldig) overzetten tussen bakken van ratten), is per rattery en commercieel bedrijf steeds gevraagd om 10 ratten. Iedere dierenartspraktijk heeft ook voor 10 dieren verzamelmaterialen en enquêtes ontvangen. Voor zowel de ratteries/opvangen als de dierenartsen was een einddatum afgesproken tot wanneer men ratten kon verzamelen. Na deze datum werden de ratten opgestuurd, ook wanneer er nog geen 10 dieren verzameld waren.

2.2.5 *Dieren*

Voor het onderzoek werden volwassen ratten onderzocht (> half jaar oud). Ratten konden worden verzameld na een natuurlijke dood (<12 uur dood) of na euthanaseren. Ratten werden veilig verpakt en ingevroren. Een enquête werd meegeleverd per dier voor de ratten van particuliere bezitters en van ratteries, en per bedrijf voor de commerciële fokkers en handelaren. Voor sectie werden de ratten ontdooid. De dieren werden onder aseptische omstandigheden opengemaakt. Longweefsel werd verwijderd en direct op droogijs geplaatst. Het hart werd in een buis met PBS geplaatst. De buis werd gecentrifugeerd en het hartvocht werd ingevroren (-20 °C).

2.2.6 *Moleculaire diagnostiek*

Longweefsel werd gehomogeniseerd en totaal nucleïnezuur werd geïsoleerd met behulp van het MagNA Pure 96 systeem. Vervolgens werd een seoulvirus-specifieke RT-PCR uitgevoerd, zoals eerder beschreven (Kramski et al., 2007). Monsters met een Cp waarde lager dan 40 werden als positief beschouwd. Van dieren met een RT-PCR negatief resultaat, maar een positief resultaat in de serologische test (zie 2.2.7), is een nieuw stukje long en een stukje nier getest ter confirmatie van het RT-PCR resultaat.

2.2.7 *Serologie- ELISA*

Alle ratten zijn ook serologisch getest. Hiervoor is hartvocht gebruikt in plaats van serum, omdat serum alleen bij levend, of net-gedode dieren kan worden afgenomen. Hartvocht is in verschillende studies al

succesvol gebruikt als vervanger voor serum (Swanink et al., 2018; Verner-Carlsson et al., 2015).

Het hartvocht werd getest op de aanwezigheid van antilichamen tegen seoulvirus met een aangepaste humane anti-SEOV ELISA test (Hantavirus Dobrava/Hantaan IgG Elisa; Progen Biotechnik GmbH, Heidelberg, Duitsland), zoals eerder beschreven (Swanink et al., 2018). Een monster werd als positief beschouwd wanneer de OD hoger was dan de gemiddelde OD van negatieve monsters + 3 x SD (standaard deviatie).

2.2.8 *Serologie- Virus neutralisatie test*

Ratten die seropositief waren maar RT-PCR negatief zijn getest met de Virus Neutralisatie Test (VNT). In de VNT wordt de aanwezigheid van neutraliserende antilichamen tegen het seoulvirus getest. De VNT is specifiek dan de ELISA, en wordt beschouwd als de 'gouden standaard' in orthohantavirus serologie. Monsters met een neutralisatietiter ≥ 40 worden beschouwd als positief.

2.2.9 *Enquêtes*

Alle deelnemers aan het onderzoek hebben een enquête ontvangen. Deze waren verschillend per type houderij, en bevatten vragen over onder andere de herkomst van de ingezonde rat(ten), informatie over de houderij, contacten met andere fokkers/rattenhouderijen, en hygiënemaatregelen. De enquêtes zijn toegevoegd als supplementen (Bijlage 1-4).

2.3 **Onderzoek fylogenie seoulvirus door Nederland en Europa**

Bij de selectie van locaties van DAPs, ratteries en fokkers, is getracht een goede spreiding over Nederland te krijgen. Van positieve ratten (maximaal 2 per locatie) is vervolgens de sequentie van delen van het S (274 bp) en L (347 bp) segment bepaald om genetisch de variatie van het virus te onderzoeken. Primers zijn beschikbaar op verzoek. Alle fragmenten zijn gezuiverd met ExoSAP-IT PCR clean-up (Isogen Life Science, Utrecht, Nederland) en gesequenced door Baseclear BV (Leiden).

3 Resultaten

3.1 Vergelijking verse met ingevroren dieren

Bij fokkerij 5 en 6 zijn niet-ingevroren ratten verzameld om te kunnen bepalen of het invriezen van ratten invloed had op de testresultaten. De ratten van fokkerij 5 zijn na de euthanasie wel enkele uren in de vriezer geweest.

Bij fokkerij 5 werden geen positieve dieren gevonden. Bij fokkerij 6 werden met gebruik van verse (niet-ingevroren) longen zes ratten positief gevonden, en met longen die ingevroren waren geweest vijf. Vier ratten testten in beide categorieën positief, en in totaal is er dus bij zeven ratten seoulvirus gevonden. Met serologisch onderzoek testten acht ratten positief, waaronder de beschreven zeven ratten (Tabel 1). Omdat de verschillen tussen ingevroren en vers materiaal klein bleken, is daarna voor de studie naar de mate van voorkomen van seoulvirus onder gehouden ratten altijd ingevroren materiaal gebruikt.

Tabel 1. Overzicht van de seoulvirus RT-PCR resultaten op vers versus ingevroren longweefsel van 10 ratten. Cp waardes van de RT-PCR positieven zijn gegeven. Daarnaast is ook het resultaat van de ELISA gegeven, met de OD-waarde.

Rat ID	Vers weefsel	Ingevroren weefsel	Serologie (OD-waarde)
F6-1	neg	neg	negatief (0,07)
F6-2	27.83	neg	positief (0,28)
F6-3	30.11	26.53	positief (1,20)
F6-4	neg	neg	positief (1,44) ¹
F6-5	neg	28.38	positief (0,31)
F6-6	25.61	25.72	positief (1,15)
F6-7	23.68	22.61	positief (1,07)
F6-8	26.67	27.91	positief (0,59)
F6-9	neg	neg	negatief (0,03)
F6-10	29.84	neg	positief (0,40)

¹ Dit dier had een titer van 40 in de VNT.

3.2 Stakeholderbijeenkomst

Tijdens verkennende gesprekken met ratteneigenaren, zowel van huisdierratten als commerciële fokbedrijven, bleek dat het onderwerp van een zoonose bij ratten verschillende zorgen veroorzaakte. Daarom is besloten bij de opzet van het onderzoek stakeholders uit verschillende branches te betrekken. In januari 2018 is een stakeholderoverleg geweest, met een dierenarts, ratteryhouder, bestuurslid van de Nederlandse Knaagdierfokkers Vereniging (NKV), een medewerker van DIBEVO en de betrokken onderzoekers. De medewerker van DIBEVO kon ook inzicht geven in de commerciële fokkerij en handel. Uit de stakeholderbijeenkomst is zeer nuttige feedback gekomen die is meegenomen in de opzet van het onderzoek. De stakeholders zijn na het overleg ook in meer of mindere mate actief betrokken gebleven bij het onderzoek.

3.3 Deelname studie

In Tabel 2 is een overzicht te vinden van de deelnemende dierenartspraktijken, ratteries, rattenopvangen en commerciële bedrijven (waarvan 7 fokkers en 2 handelaren). Dierenartspraktijken werd ook de mogelijkheid geboden om bloed te verzamelen van de ratten in plaats van de dode rat, maar hier is geen gebruik van gemaakt. Van de 30 ingezonden ratten via dierenartspraktijken werden er 29 ratten getest, omdat van één rat het hart en de longen ontbraken (het dier werd opengesneden ontvangen). Tweemaal waren er twee huisdierratten door eenzelfde persoon ingezonden. Omdat vragenlijsten voor huisdierratten ook zonder persoonsgegevens konden worden ingevuld, kon het totale aantal personen dat huisdierratten had ingezonden, niet worden bepaald.

Tabel 2. Overzicht van de deelnemende dierenartspraktijken (DAPs), ratteries, opvangen en commerciële bedrijven (rattenfokkers en handelaren).

Type	Benaderd	Ingestemd met deelname	Deelnemers die ratten hebben ingestuurd	Totaal ratten (spreiding aantal ratten per deelnemer)
DAP	14	13	8	30 (2-11)
Rattery	30 ¹	8	5	41 (5-10)
Opvang	3	3	2	15 (6-9)
Commercieel Bedrijf (bekend)	15	6	5	50 (10)
Commercieel bedrijf (anoniem) ²	onbekend	4	4	40 (10)

¹ Waarvan 15 door een contactpersoon en 15 door het RIVM zijn uitgenodigd.

² Via een tussenpersoon van DIBEVO.

3.4 Testresultaten

3.4.1 Particuliere bezitters (via dierenartspraktijken)

Van de 29 ratten werd één rat positief bevonden met RT-PCR, en drie met ELISA, waaronder de RT-PCR positieve rat (Tabel 3). De RT-PCR positieve rat betrof een volwassen vrouwelijk dier van 256 gram. Het dier was volgens de ingevulde vragenlijst 12 maanden oud en afkomstig van een particuliere eigenaar uit België. De twee ELISA-positieve ratten die RT-PCR negatief waren, hadden een titer van <40 in de VNT en beschouwen we daarom als negatief.

Tabel 3. *Seoulvirus RT-PCR en serologie resultaten van de ratten van particuliere bezitters.*

Aantal	RT-PCR	Serologie ¹	OD-waarde (gemiddeld; 95% betrouwbaarheidsinterval)
26	negatief	negatief	0,11 (0,09-0,13)
1	positief	positief	1,05
2	negatief	ELISA positief VNT negatief ¹	0,35 (0,29-0,41)

¹ De VNT is leidend voor de definitieve uitslag van de serologie.

² Deze hadden een titer van <40 in de VNT en beschouwen we daarom als negatief.

3.4.2 Ratteries en opvangen

Er zijn bij één rattery twee RT-PCR positieve ratten gevonden (Tabel 4). Deze ratten waren ook beide serologisch positief. De positieve dieren betroffen een vrouwtje (146 gram) en een mannetje (286 gram). Deze dieren waren respectievelijk 10 en 18 maanden oud en afkomstig uit ratteries in Nederland en Duitsland.

Daarnaast zijn met ELISA bij twee ratteries elk één serologische positieve rat gevonden (OD waardes van 0,40 en 0,43). Van één opvang is ook één rat serologisch positief bevonden (OD waarde 0,53). Van deze drie ratten die in de ELISA positief waren en RT-PCR negatief is het serum getest met de VNT. Twee ratten hadden een titer van <40. Van de derde rat kon de eerste verdunning niet worden afgelezen, dus die had een titer van <80. Wij beschouwen ze daarom alle drie als negatief.

Tabel 4. *Seoulvirus RT-PCR en serologie resultaten van de ratten van ratteries en opvangen (samengevoegd).*

Aantal ratteries/opvangen (ratten)	RT-PCR	Serologie ¹	OD waarde (gemiddeld; 95% betrouwbaarheidsinterval)
3 (51)	negatief	negatief	0,08 (0,06-0,09)
1 (2 ³)	positief (2/8)	positief (2/8)	0,72 (0,48-0,96)
3 (3 ⁴)	negatief	ELISA positief ² VNT negatief	0,45 (0,38-0,53)

¹ De VNT is leidend voor de definitieve uitslag van de serologie.

² Twee van de drie ratten hadden een titer <40 in de VNT. De derde had een titer <80. We beschouwen alle drie daarom als negatief.

³ Deze rattery had in totaal 8 ratten ingestuurd voor onderzoek.

⁴ De betrokken ratteries en opvang hadden in totaal 6, 8 en 9 ratten ingestuurd.

3.4.3 Commerciële (voeder)rattenfokkers en -handelaren

Bij twee fokkerijen werden PCR positieve ratten gevonden (respectievelijk 5 en 6 van de 10 onderzochte dieren, Tabel 5). In één van de gevallen ging dit om een bedrijf dat in het verleden in verband was gebracht met humane patiënten en dat destijds ook positief bevonden was. Op vijf bedrijven werden met de ELISA antilichamen gevonden tegen seoulvirus, inclusief de twee bedrijven die ook positief waren bevonden met behulp van de RT-PCR. De vier ratten die RT-PCR negatief waren en seropositief zijn getest in de ELISA hadden allemaal een titer van <40 in de VNT, dus worden ze negatief beschouwd.

Tabel 5. *Seoulvirus RT-PCR en serologie resultaten van de ratten van commerciële rattenhouderijen (7 fokkers en 2 handelaren). Alle commerciële rattenhouderijen hadden ieder 10 dieren opgestuurd.*

Aantal bedrijven (ratten)	RT-PCR	Serologie ¹	gemiddelde waarde	OD
4 (75)	negatief	negatief	0,11 (0,07- 0,15)	
2 (11)	positief (6/10 en 5/10)	positief (6/10 en 8/10)	0,92 (0,72-1,12)	
3 (4)	negatief	ELISA positief ² VNT negatief	0,26 (0,19-0,32)	

¹ De VNT is leidend voor de definitieve uitslag van de serologie.

² Alle vier de ratten hadden een titer van <40 in de VNT. We beschouwen alle vier daarom als negatief.

3.4.4

Samenvatting studie naar mate van voorkomen van seoulvirus

De resultaten van de studie zijn samengevat in Tabel 6. De studie had het doel om inzicht te verkrijgen in het voorkomen van seoulvirus bij gehouden ratten in Nederland. Vanwege het ontbreken van betrouwbare cijfers over het aantal rattenhouderijen, de contacten tussen de verschillende (typen) houderijen en de aantallen gehouden ratten in Nederland, kunnen deze resultaten niet worden beschouwd als prevalentie van seoulvirus binnen de verschillende rattenhouderijen. Desalniettemin geven de gevonden resultaten wel een indicatie in de frequentie van het voorkomen.

Tabel 6. *Seoulvirus (SEOV) aangetoond bij verschillende typen rattenhouderijen in Nederland, gebaseerd op RT-PCR en serologie.*

	Aantal geteste deelnemers (aantal ratten)	Aantal SEOV positieve deelnemers (aantal + ratten)
Particuliere bezitters	29 (29)	1 (1)
ratteries/opvangen	7 (56)	1 (2)
commerciële fokkers/handelaren	9 (90)	2 (11)

3.5

Enquêteresultaten

3.5.1

Particuliere bezitters

Bij 29 ratten werd een ingevulde vragenlijst ontvangen. De gemiddelde leeftijd van de dieren was 20 maanden. De herkomst van deze groep ratten was zeer divers. De meeste dieren waren afkomstig uit een asiel of rattenopvang of gekocht bij een particuliere eigenaar (beide 24%). Ook waren sommige dieren gekocht bij een rattery (21%) of dierenwinkel (14%). Twee van de onderzochte dieren waren door de eigenaar zelf gefokt (7%). Vrijwel alle eigenaren (93%) gaven aan meerdere ratten in huis te hebben (2 - >50). In deze groep van ratteneigenaren werd weinig met de dieren gefokt, slechts twee eigenaren gaven aan meer dan 2 nestjes per jaar te fokken. In deze gevallen werd aangegeven dat de dieren voornamelijk binnen de kring van eigen contacten werden doorverkocht. Bij 21% van deze ratten (4 eigenaren) kwamen de ratten met enige regelmaat in contact met ratten buiten het eigen huis. Hierbij werden ratten van kennissen,

uitwisselingen voor de fok en beurzen of bijeenkomsten genoemd als momenten van contact (Tabel 8). Mogelijk contact van de huisdieren met wilde ratten werd in twee gevallen genoemd. Slechts één van de eigenaren gaf aan ratten uit het buitenland te hebben, te weten België. Uit de vragen naar hygiënemaatregelen (Tabel 7) kwam naar voren dat het handen wassen na het verschonen van de kooi het meest wordt gepraktiseerd, het merendeel van de eigenaren (90%) gaf aan dit 'vaak of altijd' te doen. Handen wassen na contact met de ratten wordt iets minder vaak uitgevoerd: in 28% van de gevallen 'vaak of altijd', maar bij bijna evenveel eigenaren (24%) 'nooit of zelden'. De kooi wordt redelijk vaak in een goed geventileerde ruimte schoongemaakt (69% 'vaak of altijd'), maar het natmaken van de bodembedekking voor het schoonmaken gebeurt zeer weinig (83% 'nooit of zelden').

3.5.2 *Ratteries en opvangen*

Alle deelnemende ratteries en opvangen hebben een ingevulde vragenlijst ingeleverd. Hieruit bleek dat de gemiddelde leeftijd van de ratten 23 maanden was (spreiding 7-35 maanden). Van de ratten afkomstig van ratteries was het merendeel van eigen fok (61%). Daarnaast waren dieren afkomstig van andere ratteries in Nederland (20%) of gekocht of overgenomen van een particuliere eigenaar (12%). Eén dier was afkomstig van een rattery uit het buitenland (Duitsland). De ratten van de twee deelnemende opvangen waren voornamelijk afkomstig van de dierenambulance of overgenomen van particuliere eigenaren. Het grootste deel van de ratten afkomstig uit ratteries (80%) was niet in contact geweest met ratten buiten de eigen rattery. De overige dieren (20%) kwamen sporadisch tot wekelijks in contact met ratten van kennissen (Tabel 8).

Van de deelnemende ratteries hadden drie 10-25 ratten, de overige twee hadden 25-100 ratten. De twee opvangen hadden respectievelijk 25-100 en meer dan 100 ratten. De meeste ratteries fokten 2-10 nestjes per jaar, behalve één rattery, die aangaf 10-25 nestjes per jaar te fokken. Het merendeel van de jonge ratten werd door ratteries verkocht via de eigen website of in de kennissenkring. Bij de opvangen werd niet gefokt. Vier van de vijf deelnemende ratteries gaven aan sporadisch ratten voor de fok uit te wisselen met andere ratteries (Tabel 8).

Alle deelnemende ratteries gaven aan minder dan 10 nieuwe dieren per jaar te kopen of krijgen. Bij alle ratteries werden er dieren van andere ratteries in Nederland gekocht, bij twee deelnemers ook dieren van ratteries uit België en Duitsland. Contact van de tamme ratten met wilde ratten was bij géén van de deelnemende ratteries of opvangen aan de orde.

Alle deelnemende ratteries en opvangen gaven aan de bodembedekking van de rattenkooien wekelijks te vervangen en de kooien wekelijks schoon te maken met schoonmaakmiddel. Uit de vragen naar de hygiënemaatregelen (Tabel 7) werd het wassen van de handen na het schoonmaken van de kooi en het schoonmaken van de kooi in een goed geventileerde ruimte het meest gemeld. Handen wassen na het contact met de ratten werd minder vaak gedaan en het natmaken van de bodembedekking voor het verwijderen werd door geen van de deelnemers toegepast.

3.5.3 *Commerciële (voeder)rattenfokkers/handelaren*

In de enquêtes werd gevraagd naar verschillende bedrijfskenmerken. Bij de zeven deelnemende fokkers liep het aantal ratten uiteen van minder dan 100 tot 5000. De twee handelaren kochten beide minder dan 10.000 volwassen ratten per jaar in. De fokkers kopen meestal weinig nieuwe dieren in, minder dan 100 was het meest gegeven antwoord. Twee fokkers gaven aan geen nieuwe dieren in te kopen. Drie fokkers gaven aan de dieren (deels) uit het buitenland te ontvangen, hierbij werden de landen Polen, Tsjechië en Hongarije genoemd. De twee deelnemende handelaren gaven aan hun dieren grotendeels te ontvangen van voederrattenfokkers in Nederland. Contact tussen de ratten van de fokkers en andere ratten, buiten in- en verkoop, is beperkt (Tabel 8). Twee fokkers gaven aan dat er sporadisch contacten met andere ratten waren, bijvoorbeeld uitwisselingen voor de fok. Binnen de groep deelnemende fokkers was er veel variatie in het type afnemers van de gefokte dieren. Drie fokkers verkochten het merendeel van hun ratten direct aan de eindgebruiker als voederrat. De overige fokkers verkochten hun dieren aan handelaren of winkels om verder als voederrat verkocht te worden. De verkoop als huisdierrat nam een kleiner percentage (~20%) in van de verkoop van drie van deze fokkers. De twee deelnemende handelaren verkochten vrijwel al hun ratten als voederrat aan eindgebruikers.

De ratten werden bij vier fokkers allemaal in één grote ruimte gehouden, bij de overige fokkers waren er meerdere ruimtes. Hierbij werden in alle gevallen dieren tussen de verschillende ruimtes uitgewisseld. Fokvrouwtjes worden na het krijgen van een nestje vaker in een wisselende groep dieren teruggeplaatst (5x). Slechts in twee gevallen werden fokvrouwtjes in een vaste groep gehouden. Ratten worden gehouden op verschillende typen bodembedekking; bijvoorbeeld houtsnippers of vlas. Alle fokkers gaven aan de gehele bodembedekking van de kooi wekelijks te vervangen. Daarnaast wordt de kooi ook schoongemaakt met schoonmaakmiddel, alhoewel met wisselende frequentie (wekelijks tot minder vaak dan maandelijks). Ook de handelaren maakten beide de kooien schoon terwijl de ratten bij hen verblijven.

Hygiënemaatregelen die de fokkers en handelaren voor zichzelf en hun personeel vaak toepassen zijn het wassen van de handen na het schoonmaken van de kooi en na contact en het schoonmaken van de kooien in een goed geventileerde ruimte. Een mondkapje wordt weinig gebruikt en het natmaken van de bodembedekking voor het schoonmaken van de kooi wordt in het geheel niet toegepast (Tabel 7).

Tabel 7. Overzicht van de hygiënemaatregelen bij verschillende houderijen. Op basis van antwoorden uit enquêtes.

Maatregel	Type houderij	Frequentie gebruik hygiënemaatregel (%)			
		altijd/vaak	soms	zelden/nooit	onbekend
Handen wassen na contact	Particulieren	28	45	24	3
	Ratteries/opvang	43	43	0	14
	Commerciële fok	89	11	0	0
Handen wassen na schoonmaken kooi	Particulieren	90	7	0	3
	Ratteries/opvang	86	14	0	0
	Commerciële fok	100	0	0	0
Kooi schoonmaken in geventileerde ruimte	Particulieren	69	21	7	3
	Ratteries/opvang	86	0	14	0
	Commerciële fok	89	0	11	0
Bodembedekking natmaken vóór schoonmaken kooi	Particulieren	3	3	83	11
	Ratteries/opvang	0	0	86	14
	Commerciële fok	0	0	100	0

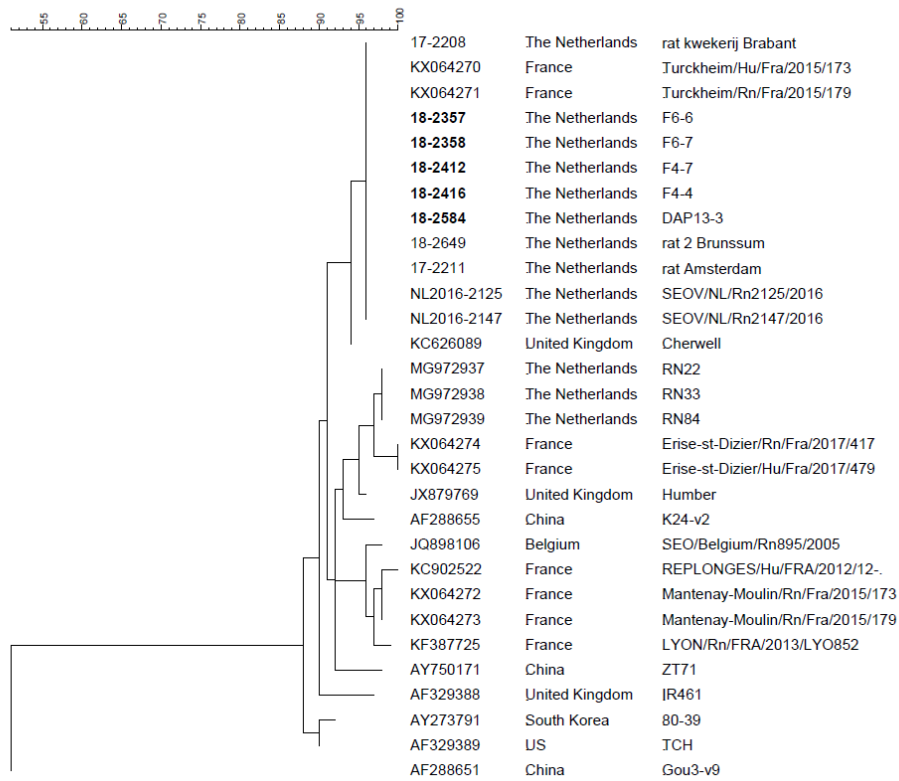
Tabel 8. Overzicht van contacten tussen ratten van verschillende houders. Op basis van antwoorden uit enquêtes.

Maatregel	Type houderij	Totaal	Frequentie van contact (%)		
			dagelijks/ wekelijks	maandelijks/ enkele keren per jaar	sporadisch
Contact met andere ratten: ratten van kennissen	Particulieren	17	-	-	17
	Ratteries/opvang	43	-	-	43
	Commerciële fok	29	-	-	29
Contact met andere ratten: op beurzen en bijeenkomsten	Particulieren	10	-	7	3
	Ratteries/opvang	0	-	-	-
	Commerciële fok	14	-	-	14
Contact met andere ratten: uitwisselingen voor de fok	Particulieren	3	-	-	3
	Ratteries/opvang	57	-	-	57
	Commerciële fok	29	-	14	15

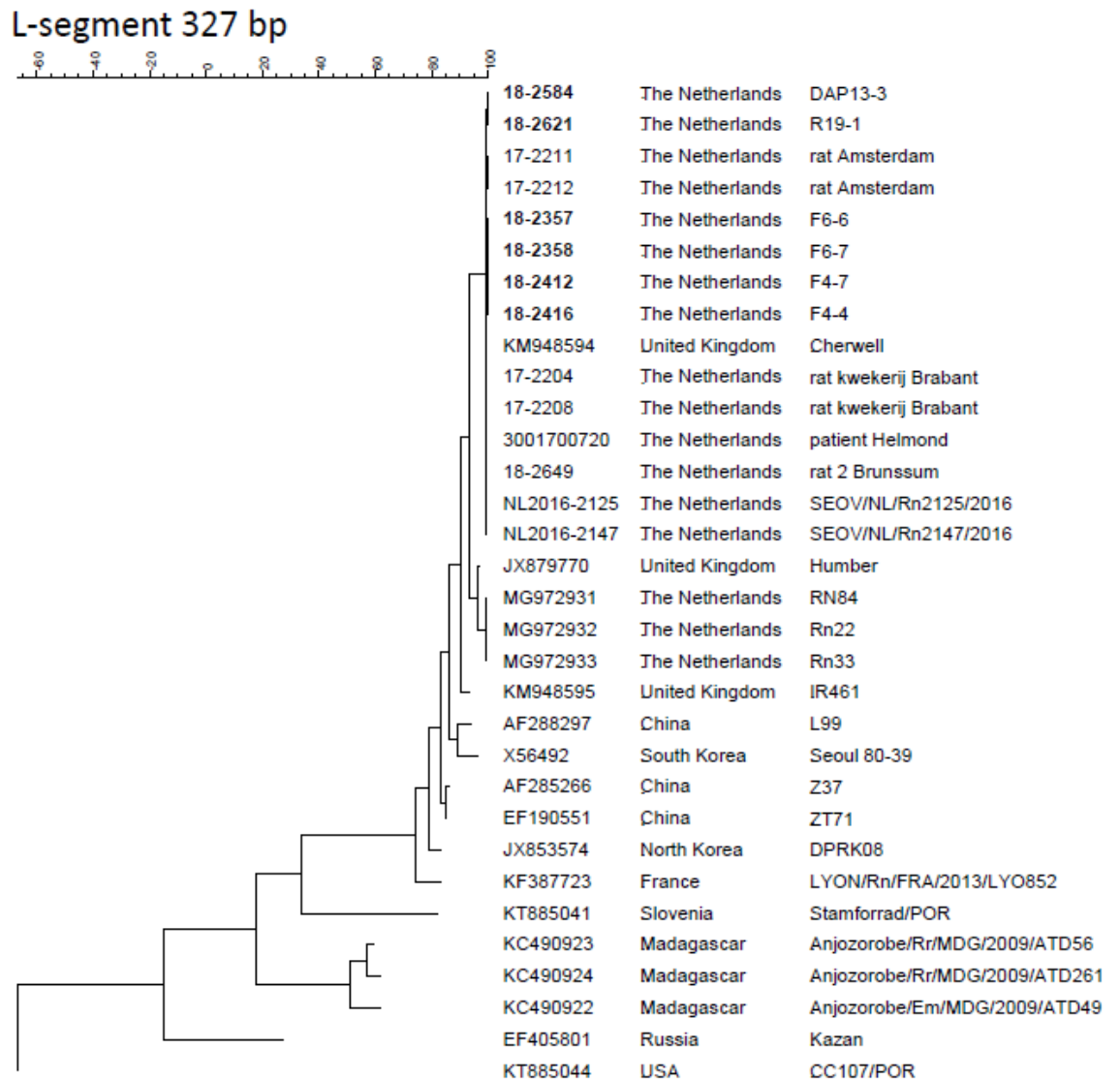
3.6 Sequentie-analyse

Van een random selectie van de RT-PCR positieve ratten (n=7; twee dieren van beide positieve commerciële rattenfokkers, twee dieren van de positieve rattery en de positieve huisdierrat) zijn het S- en het L-segment van seoulvirus gesequenced (respectievelijk 274 en 347 baseparen), om te bepalen of er onderscheid is te maken tussen de verschillende locaties. De sequenties zijn vergeleken met eerdere seoulvirus sequenties (Figuur 1 en 2). Van het L-segment kon alleen een stuk van 323 bp gebruikt worden voor de genetische analyse. De in deze studie gevonden sequenties komen zeer sterk overeen met elkaar en met eerder gevonden sequenties in Nederland en in Cherwell (VK) en Turckheim (Frankrijk). Bij de S-sequentie is deze overeenkomst zelfs 100%. Bij de L-sequentie is dit ten minste 99,7% met Cherwell (VK).

S-segment 274 bp



Figuur 1. Fylogenetische boom van het S-segment (274 bp). De sequenties uit de huidige studie zijn vetgedrukt. Van de twee ratten van de rattery waren de sequenties niet goed genoeg om in de vergelijking mee te nemen.



Figuur 2. Fylogenetische boom van het L-segment (327 bp). De sequenties uit de huidige studie zijn vetgedrukt. Van één van de twee ratten van de rattery was de sequentie niet goed genoeg om in de vergelijking mee te nemen.

4 Discussie

4.1 Resultaten studie naar de mate van voorkomen van seoulvirus

Deze studie is, voor zover bekend, de eerste brede studie naar de mate van voorkomen van seoulvirus in gehouden ratten. In deze studie werden in alle drie de onderzochte typen rattenhouderijen positieve dieren gevonden: 1/29 (3%, Wilson 95% CI: 0,6-17%) bij huisdierratten ontvangen via DAPs, 2/43 (5%, Wilson 95% CI: 1,3-15%) bij dieren ontvangen van ratteries en opvangen en 11/90 (12%, Wilson 95% CI: 7,0-21%) bij dieren ontvangen van fokkerijen en handelaren. Op het niveau van de houderij is 1 van 7 ratteries/opvangen (95% CI: 2,6-51%) en zijn 2 van 9 fokkerijen/handelaren (95% CI: 6.3-55%) positief bevonden. Het is lastig om het percentage besmette dieren te duiden als hoog of laag omdat er geen vergelijkbare studies bekend zijn.

Binnen de door ons positief bevonden houderijen (2 fokkers en 1 rattery) was de prevalentie 50% (95% CI: 24-76%), 60% (95% CI: 31-83%) en 25% (95% CI: 7.2-59%) (Wilson Score intervals, <https://epitools.ausvet.io/ciproportion>). In tot nu toe gepubliceerde studies naar seoulvirus bij huisdierratten is de prevalentie weliswaar veel hoger (80-100%), maar hier werden telkens ratten van één houderij getest, die gerelateerd was aan een humane patiënt (McElhinney et al., 2017; Reynes et al., 2017; Swanink et al., 2018). Dit suggereert dat er een hoge infectiedruk moet zijn alvorens mensen ziek worden. Deze hypothese zou in de toekomst verder onderzocht moeten worden. De gevonden prevalentie binnen positieve houderijen is gunstig voor eventuele onderzoeken van mogelijke interventie maatregelen: bij een binnen bedrijfsprevalentie van 50% hoeven slechts 5 dieren getest te worden om 95% betrouwbaarheid aan te tonen dat een bedrijf negatief is.

De totale grootte en organisatie van zowel de commerciële als hobbymatige rattenhouderij en - fokkerij in Nederland is onbekend. In 2014 waren 136 bedrijfsmatige houders van 'Overige zoogdieren' (geen honden/katten; niet gespecificeerd op ratten) geregistreerd bij RVO (*Feiten & Cijfers Gezelschapsdierensector 2015*, 2015). Ervaringen uit het onderzoek leren dat een deel van de rattenfokkers niet geregistreerd staat als bedrijf, omdat de definitie van "beroepsmatig fokken" in het "Besluit houder van dieren" niet heel duidelijk is ("Bedrijfsmatig huisdieren houden," 2019). Omdat officiële cijfers dus ontbreken, is het niet mogelijk een prevalentie van het seoulvirus te bepalen. Daarnaast zijn meer kwantitatieve analyses van verschillen tussen bedrijfstypes niet mogelijk, omdat we geen steekproef voor de hoeveelheid deelnemende bedrijven konden nemen, omdat het totale aantal bedrijven onbekend is. De hierboven genoemde cijfers kunnen dan ook niet worden opgevat als een landelijke prevalentie van seoulvirus, maar geven een indicatie van de verspreiding van dit virus.

4.2 Diagnostische methode

Het onderzoek is uitgevoerd door diagnostiek op dode ratten. Uit stakeholdergesprekken met dierenartsen en ratteneigenaren kwam naar voren dat dit de meest haalbare methode was, waarbij de kans op het ontvangen van veel dieren het grootst was. Dit betekent echter wel dat

de onderzochte ratten allemaal voor kortere of langere tijd ingevroren zijn geweest. Om te onderzoeken of het invriezen van de dieren invloed heeft op de detectie van seoulvirus zijn twintig ratten, afkomstig van twee fokkerijen, zowel vers als na invriezen onderzocht. Bij één van deze fokkerijen werd seoulvirus gevonden, zowel in het verse als het ingevroren materiaal. Twee ratten waren alleen in het verse materiaal positief en één rat alleen in het ingevroren materiaal. Bij de tweede fokkerij waren alle geteste ratten negatief, dus konden deze ratten geen bijdrage leveren in de beslissing om vers of ingevroren materiaal te gebruiken.

Er is dus verschil in detectie tussen vers en ingevroren materiaal, maar de vraag blijft of invriezen hiervan de oorzaak is of het testen van verschillende delen van een orgaan waar wellicht geen evenredige verspreiding van virus is. Hierbij moet ook worden meegewogen dat het detectielimiet van seoulvirus RNA in weefsel onbekend is. In ieder geval lijkt het verstandig om bij toekomstige onderzoeken standaard twee plekken van organen te testen, zodat dit mogelijk ondervangen wordt. Voor de serologische diagnostiek is een aangepaste humane test gebruikt, waarbij de afkapwaarde niet officieel is gevalideerd. Deze is vastgesteld door de gemiddelde OD van negatieve monsters + 3 x SD (standaard deviatie) te nemen. Hoewel dit een gebruikelijke methode voor ELISAs is, is het een vrij grove benadering, die in de toekomst nog verder kan worden bepaald. Voor de huidige studie is besloten van de ratten die een positieve ELISA uitslag hadden, maar een negatieve RT-PCR, deze uitslag te bevestigen met de virus neutralisatie test (VNT). Dieren die alleen (zwak) seropositief waren zonder positief RT-PCR resultaat, waren allemaal negatief in de VNT.

4.3 **Fylogenie**

Uit gepubliceerde studies blijkt dat sequenties van seoulvirus uit wilde en gehouden ratten in verschillende Europese landen sterk overeenkomen en clusteren binnen 'group E' of 'lineage 9'. (Kim et al., 2018; Ling et al., 2019; Murphy et al., 2019). Een klein deel valt in 'lineage 7', wat wijst op meerdere introducties van seoulvirus in Europa. De sequenties die in deze studie gevonden zijn bij de gehouden ratten lijken sterk op elkaar en vallen in 'group E'. Binnen deze groep clusteren ze met sequenties van eerder onderzochte gehouden ratten in Nederland en sequenties van gehouden ratten uit Groot-Brittannië en Frankrijk (Reynes et al., 2017). Deze groep verschilt van de sequenties die gevonden zijn bij wilde ratten binnen Europa.

4.4 **De rattenhouderij in Nederland**

Hoewel het geen specifiek doel van het onderzoek was, is tijdens gesprekken met rattenhouders en door middel van de enquêtes meer inzicht verkregen in uitwisselingen binnen en tussen de verschillende houderijen. Eén van de belangrijkste inzichten was dat de (commerciële) fok van voeder- en huisdierratten niet gescheiden verloopt. Meerdere bedrijven gaven aan zowel ratten als huisdieren en als voederrat te verkopen. Voor de kleinere (hobbymatige) fokkers geldt in de meeste gevallen dat zij zich exclusief richten op huisdieren (ratteries) of voederratten (deze fokkers zijn vaak eigenaren van reptielen). De commerciële verkoop van ratten kent veel lagen. Uit gesprekken werd duidelijk dat er veel groothandelaren zijn, die zelf geen ratten

fokken, maar de dieren ontvangen van meerdere fokkers. Toch wordt vanuit de fokkers ook wel directe verkoop gemeld naar dierenwinkels of eigenaars. Ook verkoop via Marktplaats komt voor, waarschijnlijk van bedrijven die relatief wat kleiner zijn (500-1000 dieren, persoonlijke communicatie G. Hofstra, DIBEVO). Dit alles maakt het totale beeld van de commerciële rattenfokkerij in Nederland complex.

De populariteit van huisdierratten lijkt de afgelopen jaren iets afgenomen, afgaande op de ervaringen van enkele dierenartsen, die noemen dat zij minder ratten in de praktijk zien dan voorgaande jaren. In drie grote Facebookgroepen, waarin ratteneigenaren zich lijken te verenigen, zijn 1835, 1300 en 1600 leden actief, maar hier zit ook veel overlap bij. Uit informatie van rattenliefhebbers komt naar voren dat er zo'n 10 ratteries zijn die al meer dan vijf jaar actief zijn. Daarnaast is er groter verloop in de wat kleinere ratteries, die vaak binnen een jaar worden opgebouwd en weer stoppen. Tussen ratteries worden veelvuldig dieren uitgewisseld, bijvoorbeeld voor de fok, maar ook omdat bevriende eigenaren op elkaars dieren passen. Uit gesprekken ontstaat het beeld van een hechte groep gepassioneerde rattenfokkers die veelvuldig samenwerken.

Hoewel de aantallen positieve ratten in de verschillende houderijen te klein zijn om een goede risicofactor-analyse uit te voeren, is de relatie met het buitenland opvallend. Bij de particuliere bezitters werd in de vragenlijst gevraagd of de eigenaar ratten uit het buitenland had, of dat zijn/haar ratten de afgelopen twee jaar in contact geweest met ratten uit het buitenland". Van de 29 geteste huisdierratten was de seoulvirus positieve rat de enige rat waarvoor deze vraag bevestigend was beantwoord (België).

Van de vijf deelnemende ratteries hadden er twee (contacten met) buitenlandse ratten (België en Duitsland). Eén hiervan was de positieve rattery (Duitsland), waarbij zelfs één van de positieve ratten uit Duitsland kwam.

Uit de enquêtes bleek dat 3 van de 7 fokkers ratten uit het buitenland ontvingen, uit Tsjechië, Polen en Hongarije. Een vierde fokker ontving ratten van een groothandel. Van de drie commerciële fokkerijen die ratten uit het buitenland importeerden, was één positief voor seoulvirus. De andere seoulvirus positieve commerciële fokkerij importeerde geen ratten uit het buitenland. Omdat de genetische variabiliteit van het seoulvirus binnen Europa vrij laag lijkt (zie 4.3), is het lastig via sequentie-analyse verspreidingsroutes van seoulvirus naar en binnen Nederland te achterhalen.

Er zijn geen ratten uit dierenspecialzaken getest, maar enkele dierenspecialzaken zijn wel benaderd tijdens het onderzoek. Tijdens gesprekken met eigenaren en medewerkers van dierenspecialzaken bleek allereerst dat maar een beperkt deel van de dierenspecialzaken ratten aanbiedt. Als ratten worden aangeboden, kunnen deze zowel afkomstig zijn van een naburige rattery, of zijn ingekocht bij een grote fokker of handelaar. Hierbij werden ook grote fokkers/handelaren genoemd die in de inventarisatie van voederrattenfokkers naar voren kwamen. Er werd meerdere keren gesuggereerd dat bij de commerciële fokkers op basis van kleur ratten worden geselecteerd als voedseldier of al huisdier. Soms worden ratten door particulieren ook wel "teruggeleverd" als ze (ongewild)

nestjes hebben gekregen. Dierenspeciaalzaken verkopen over het algemeen jonge dieren, omdat daar de meeste vraag naar is. Bij natuurlijke infecties is de prevalentie bij oudere dieren hoger dan bij jonge dieren (Meyer & Schmaljohn, 2000) en daarom is besloten de jonge ratten uit de dierenspeciaalzaken niet te testen. Daarnaast werden via dierenartsen ook al ratten van particuliere bezitters getest, en verschillende grote fokkers en leveranciers van huisdierratten deden ook al mee aan het onderzoek.

Uit de enquêtes komt naar voren dat er qua hygiënische maatregelen nog verbeteringen mogelijk zijn. Handen wassen na contact met de ratten wordt weliswaar in commerciële bedrijven in 89% van de gevallen altijd/vaak gedaan, maar bij de particuliere bezitters is dit slechts 28%, en 24% van deze groep wast zelfs zelden/nooit hun handen na contact. Na het schoonmaken van de kooi geven bijna alle deelnemers aan hun handen te wassen. Het natmaken van de bodembedekking voor het schoonmaken van de kooi is een maatregel om het opwaaien van besmette stofdeeltjes te voorkomen. Dit wordt bijna door niemand gedaan.

4.5 Openstaande vragen

Initieel was het voornemen ook wilde ratten op bedrijven van rattenfokkers te vangen en testen, in samenwerking met de NVWA. Slechts twee commerciële bedrijven gaven in de vragenlijst aan dat contact met wilde ratten met hun gehouden ratten een mogelijkheid was. Gezien de grootschaligheid van sommige andere bedrijven, en de grote loodsen en/of schuren waarin de ratten soms worden gehouden, is het twijfelachtig of contact met wilde ratten daadwerkelijk is uitgesloten in andere gevallen. Omdat de overlast van wilde ratten echter beperkt leek te zijn, is er verder geen actie meer ondernomen door de NVWA, en is het testen van wilde ratten niet uitgevoerd. Dit zou voor de toekomst op de positieve bedrijven nog kunnen worden gedaan om zo eventuele verspreiding van het virus tussen wilde en gehouden ratten te kunnen onderzoeken.

Eén commercieel bedrijf dat in het verleden seoulvirus positief was, was in deze studie negatief. Navraag bij de eigenaar van het bedrijf leverde enkele maatregelen op die waren genomen naar aanleiding van de vondst van seoulvirus op het bedrijf:

- korter aanhouden van fokvrouwtjes (max. 3 fokrondes)
- vrouwtjes "per fokronde" als groep houden, dwz als ze twee nestjes hebben gehad, niet bij vrouwtjes zetten die nog maar één nestje hebben gehad
- beter drooghouden van de bakken
- vaker schoonmaken van de bakken (met een beetje bleek) waarin de ratten worden gehuisvest.

Het is verrassend dat deze beperkte maatregelen mogelijk hebben geleid tot het verdwijnen van het seoulvirus. Zeker omdat werd aangegeven dat in de winterperiode, als de vrouwtjes een rustperiode in gaan, er ook nog ratten (uit Oost-Europa) werden geïmporteerd. Het zou aan te raden zijn deze mogelijke interventie maatregelen verder te onderzoeken, door bijvoorbeeld andere bedrijven waar seoulvirus is gevonden, dezelfde maatregelen te laten implementeren.

5 Conclusie en aanbevelingen

Uit de studie is gebleken dat in alle onderzochte typen rattenhouderijen in Nederland seoulvirus voorkomt. Voor het verkrijgen van een prevalentie van seoulvirus in gehouden ratten in Nederland, moet het aantal en de omvang van de rattenhouderijen in Nederland bekend zijn. Vanwege de onbekende omvang van de sector in Nederland, zijn kwantitatieve analyses niet uit te voeren.

Er werden één positieve rattery en twee positieve commerciële bedrijven gevonden, waarvan op de commerciële bedrijven ongeveer de helft van de ratten het virus bij zich droeg. Mocht worden besloten om verder onderzoek te gaan doen, dan is dit gunstig, omdat relatief weinig dieren per bedrijf getest hoeven worden om de aanwezigheid van seoulvirus op het bedrijf vast te stellen. Naast het gebrek aan praktische interventie maatregelen zoals eerder genoemd, zijn er meerdere complicerende factoren die een rol kunnen spelen in de verspreiding van het seoulvirus, zowel via commerciële fokkerijen als hobbyfokkerijen:

- een deel van de bedrijven is niet geregistreerd en er is daarom geen compleet beeld van de sector,
- er vinden (vaak niet-geregistreerde) uitwisselingen van ratten tussen bedrijven onderling plaats, waardoor een seoulvirus makkelijk verspreid kan worden,
- er is bij sommige bedrijven import van (grote aantallen) ratten uit het buitenland, veelal Oost-Europa.
- Hoewel er een aantal aanknopingspunten zijn, is het onduidelijk welke interventies op positieve bedrijven effectief de verspreiding van seoulvirus kunnen beperken

In de publieksvoorlichting zouden de volgende onderdelen aan bod moeten komen:

- het vóórkomen van het seoulvirus
- risico's van het seoulvirus
- maatregelen om transmissie van seoulvirus te voorkomen
- hygiënische maatregelen ter preventie van infectie

Het RIVM kan het initiatief nemen bij het opstellen van deze voorlichting, en deze kan vervolgens worden verspreid door/via de volgende kanalen:

- Platform Verantwoord Huisdierenbezit
- DIBEVO/dierenwinkels
- de diverse platforms/fora van de rattenbezitters
- dierenartsen

Voor een effectieve aanpak van seoulvirus in Nederland, heeft het de voorkeur om naast voorlichting ook in te zetten op preventie en bestrijding bij de bedrijven. Daarvoor bestaan er nog verschillende kennislacunes, waarvan de belangrijkste gaan over de transmissie van seoulvirus en effectieve interventie maatregelen. De eerste zou door middel van experimenteel onderzoek verder kunnen worden onderzocht. De tweede kan door longitudinale studies op enkele positieve bedrijven, met bijvoorbeeld de implementatie van beheer maatregelen voor het fokken en het schoonmaken (zie 4.5). De contacten gelegd binnen dit onderzoek, de opgedane kennis met betrekking tot de diagnostiek, de

ervaring met interventie maatregelen bij één fokker en het gegeven dat er slechts een beperkt aantal ratten getest hoeft te worden om de status van een bedrijf te bepalen, bieden een goede basis voor dergelijk vervolgonderzoek.

6 Dankzegging

Wij bedanken alle ratteneigenaren, ratteryhouders, fokkers, handelaren en dierenartspraktijken voor hun vrijwillige deelname aan het onderzoek en voor het opsturen van ratten om te onderzoeken. Daarnaast zijn ook bij de start van het onderzoek verschillende personen betrokken geweest bij het meedenken over de onderzoeksopzet, in het bijzonder mevr. Anneke Vermeulen en mevr. Aly Bennink (beide Nederlandse Knaagdierenfokkers Vereniging), Drs. Gaby van den Berg (dierenarts bij Dierenkliniek Lunetten), Drs. Stijn Peters (dierenarts bij Dierenziekenhuis Eindhoven), mevr. Denise Grondman (beheerder website ratten.nl) en Dhr. Gerrit Hofstra (DIBEVO).

Het onderzoek is gefinancierd door het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn & Sport uit het Calamiteitenbudget van het Centrum Infectieziektenbestrijding van het RIVM.

7 Referenties

- Bedrijfsmatig huisdieren houden. (2019). Retrieved from <https://www.rvo.nl/onderwerpen/agrarisch-ondernemen/dierenhouden/huisdieren-houden-en-fokken/bedrijfsmatig-huisdierenhouden/bedrijfsmatig>
- Feiten & Cijfers Gezelschapsdierensector 2015*. (2015). Retrieved from <https://www.rijksoverheid.nl/documenten/rapporten/2015/11/03/feiten-cijfers-gezelschapsdierensector-2015>
- Kim, W. K., No, J. S., Lee, S. H., Song, D. H., Lee, D., Kim, J. A., . . . Song, J. W. (2018). Multiplex PCR-Based Next-Generation Sequencing and Global Diversity of Seoul Virus in Humans and Rats. *Emerg Infect Dis*, *24*(2), 249-257. doi:10.3201/eid2402.171216
- Kramski, M., Meisel, H., Klempa, B., Kruger, D. H., Pauli, G., & Nitsche, A. (2007). Detection and typing of human pathogenic hantaviruses by real-time reverse transcription-PCR and pyrosequencing. *Clin Chem*, *53*(11), 1899-1905. doi:10.1373/clinchem.2007.093245
- Ling, J., Verner-Carlsson, J., Eriksson, P., Plyusnina, A., Lohmus, M., Jarhult, J. D., . . . Sironen, T. (2019). Genetic analyses of Seoul hantavirus genome recovered from rats (*Rattus norvegicus*) in the Netherlands unveils diverse routes of spread into Europe. *J Med Virol*, *91*(5), 724-730. doi:10.1002/jmv.25390
- McElhinney, L. M., Marston, D. A., Pounder, K. C., Goharriz, H., Wise, E. L., Verner-Carlsson, J., . . . Fooks, A. R. (2017). High prevalence of Seoul hantavirus in a breeding colony of pet rats. *Epidemiol Infect*, *145*(15), 3115-3124. doi:10.1017/s0950268817001819
- Meyer, B. J., & Schmaljohn, C. S. (2000). Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms. *Trends in Microbiology*, *8*(2), 61-67. doi:[https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(99\)01658-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(99)01658-3)
- Murphy, E. G., Williams, N. J., Bennett, M., Jennings, D., Chantrey, J., & McElhinney, L. M. (2019). Detection of Seoul virus in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from pig farms in Northern England. *Vet Rec*. doi:10.1136/vr.105249
- Reynes, J. M., Carli, D., Bour, J. B., Boudjeltia, S., Dewilde, A., Gerbier, G., . . . Septfons, A. (2017). Seoul Virus Infection in Humans, France, 2014-2016. *Emerg Infect Dis*, *23*(6), 973-977. doi:10.3201/eid2306.160927
- Swanink, C., Reimerink, J., Gisolf, J., de Vries, A., Claassen, M., Martens, L., . . . Maas, M. (2018). Autochthonous Human Case of Seoul Virus Infection, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*, *24*(12). doi:10.3201/eid2412.180229
- Verner-Carlsson, J., Lohmus, M., Sundstrom, K., Strand, T. M., Verkerk, M., Reusken, C., . . . Lundkvist, A. (2015). First evidence of Seoul hantavirus in the wild rat population in the Netherlands. *Infect Ecol Epidemiol*, *5*, 27215. doi:10.3402/iee.v5.27215

Bijlage 1: Enquête voor particuliere bezitters

Onderzoeksnummer (zie sticker Nasco-zak):.....

Datum van invullen:

Vragenlijst seoulvirus-onderzoek - eigenaar tamme ratDoel vragenlijst

Deze vragenlijst is bedoeld om te bepalen welke factoren een verband hebben met het voorkomen van seoulvirus bij ratten en om meer inzicht te krijgen in mogelijke verspreidingsroutes.

Hoe vul ik de vragenlijst in?

Kruis aan welk antwoord op uw rat van toepassing is. Soms zijn meerdere antwoorden mogelijk. Als u de resultaten van het onderzoek op uw rat wilt ontvangen, dan verzoeken wij u de contactgegevens bij vraag 11 in te vullen. U kunt de lijst inleveren bij de dierenarts(assistente).

Vragen over uw rat

- 1.** Hoe oud is de rat waar deze vragenlijst voor wordt ingevuld? _____ maanden
- 2.** Wat is de herkomst van deze rat?
- Eigen fok
 - Dierenspeciaalzaak/dierenwinkel
 - Gekocht/overgenomen van particuliere eigenaar (geen rattery)
 - Uit een asiel of rattenopvang
 - Van een rattery in Nederland
 - Van een rattery in het buitenland (Europa)
 - Van een rattery buiten Europa
 - Anders, namelijk _____
 - Onbekend
- 3.** Hoeveel ratten heeft u in huis? _____ (aantal)
(inclusief deze rat, maar nestjes/jonge rittens die u niet wilt houden hoeft u niet mee te tellen)
- 4.** Wat is op uw ratten van toepassing?
- Mijn ratten zijn allemaal tegelijk aangeschaft
 - Mijn ratten zijn niet allemaal tegelijk aangeschaft
- 5.** Fokt u met uw ratten? Zo ja, hoeveel nestjes gemiddeld per jaar?
- Ik fok niet / Ja, minder dan 2 nestjes per jaar.
 - Ja, ongeveer 2 tot 10 nestjes per jaar

6. Indien u nestjes fokt, aan wie verkoopt u de rittens?

(als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag in procenten aangeven hoeveel van uw dieren naar welk type afnemer gaat)

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Niet van toepassing | % |
| <input type="checkbox"/> Aan andere fokkers | % |
| <input type="checkbox"/> Aan individuele, niet-fokkende ratteneigenaren, via mijn eigen website/contacten | % |
| <input type="checkbox"/> Aan individuele, niet-fokkende ratteneigenaren, via bijvoorbeeld Marktplaats | % |
| <input type="checkbox"/> Aan dierenwinkels | % |
| <input type="checkbox"/> Aan groothandels | % |
| <input type="checkbox"/> Anders, namelijk | % |
-

7. Komen uw ratten, of een deel daarvan, in contact met ratten van buiten uw huis/rattery?

(meerdere antwoorden mogelijk)

- Nee
- Ja, ratten van kennissen/andere fokkers
 - dagelijks/wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, op beurzen/bijeenkomsten
 - dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, ratten van kennissen
 - dagelijks/wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, op beurzen/bijeenkomsten
 - dagelijks/wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, uitwisselingen voor de fok
 - dagelijks/wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch

8. Heeft u ratten uit het buitenland, of zijn uw ratten de afgelopen twee jaar in contact geweest met ratten uit het buitenland?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Nee
- Ja, ik heb ratten uit het buitenland, namelijk:

- Ja, mijn ratten zijn in contact geweest met ratten uit het buitenland, namelijk:

9. Kunnen uw ratten mogelijk in contact komen met wilde ratten (bv als ratten in een schuur worden gehouden)

- Ja
- Nee

10. Welke hygiënische maatregelen neemt u met betrekking tot uw ratten?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Handen wassen na contact
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Handen wassen na het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Kooi schoonmaken in een goed geventileerde ruimte
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Bodembedekking natmaken voor het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Anders, namelijk:

 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd

Bijlage 2: Enquête voor rattery-eigenaar

Vragenlijst seoulvirus-onderzoek - Algemeen

Eigenaar met meer dan 25 volwassen huisdierratten en/of meer dan 10 nestjes per jaar

Doel vragenlijst

Bij dit onderzoek horen **twee** vragenlijsten: een algemene vragenlijst, en een specifieke vragenlijst per dier. Dit is de algemene vragenlijst.

De vragenlijsten zijn bedoeld om te bepalen welke factoren een verband hebben met het voorkomen van seoulvirus bij ratten en om meer inzicht te krijgen in mogelijke verspreidingsroutes.

Hoe vult u de vragenlijst in?

Kruis aan welk antwoord op uw ratten van toepassing is. Soms zijn meerdere antwoorden mogelijk. Als u de resultaten van het onderzoek op uw ratten wilt ontvangen, dan verzoeken wij u de contactgegevens bij vraag 12 in te vullen. Wij waarderen het zeer als u alle vragen in zou willen vullen. U kunt de vragenlijst toevoegen aan de verzamelzak.

Vragen over uw ratten

- 1.** Hoeveel ratten heeft u in huis?
(*gemiddeld over het laatste jaar, alleen dieren ouder dan een half jaar*)
- Tot 10 ratten
- 10 tot 25 ratten
- 25 tot 100 ratten
- Meer dan 100 ratten
- 2a.** Worden de ratten in meerdere ruimtes gehouden?
- Nee, het is één grote ruimte
- Ja, namelijk _____ ruimtes
(*aantal*)
- 2b. Zo ja**, worden ratten tussen de verschillende ruimtes uitgewisseld?
- Nee
- Ja
- 3.** Hoeveel contact is er tussen uw ratten?
- Alle ratten komen met elkaar in contact
- Ratten hebben alleen contact met de ratten waarmee ze in een hok zitten, dit is een vaste groep ratten
- Ratten hebben alleen contact met de ratten waarmee ze in een hok zitten, maar er worden regelmatig ratten verplaatst
- Er zijn aparte ruimtes met ratten en die ratten komen niet met elkaar in contact

4a. Fokt u met uw ratten? **Zo ja**, hoeveel nestjes gemiddeld per jaar?

- Ik fok niet (*ga door naar vraag 5*)
- Ja, ik fok minder dan 2 nestjes per jaar.
- Ja, ongeveer 2 tot 10 nestjes per jaar
- Ja, ongeveer 10 tot 25 nestjes per jaar
- Ja, ongeveer 25-100 nestjes per jaar
- Ja, meer dan 100 nestjes per jaar

4b. Aan wie verkoopt u de rittens? (*als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag **in procenten** aangeven hoeveel van uw dieren naar welk type afnemer gaat*)

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Aan andere fokkers | % |
| <input type="checkbox"/> Aan individuele, niet-fokkende ratteneigenaren, via mijn eigen website/contacten | % |
| <input type="checkbox"/> Aan individuele, niet-fokkende ratteneigenaren, via bijvoorbeeld Marktplaats | % |
| <input type="checkbox"/> Aan dierenwinkels | % |
| <input type="checkbox"/> Aan groothandels | % |
| <input type="checkbox"/> Anders, namelijk _____ | % |

4c. Op welke leeftijd worden de rittens naar de nieuwe eigenaar verhuisd?

Op _____ weken

5. Komen uw ratten, of een deel daarvan, in contact met ratten van **buiten** uw rattery/huis? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Nee
- Ja, ratten van kennissen/andere fokkers
 - dagelijks/wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, op beurzen/bijeenkomsten
 - dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch

Vraag 5 gaat verder op volgende pagina.

Vervolg vraag 5

6a. Hoeveel ratten van anderen koopt (of ruilt/krijgt) u erbij per jaar?

- Ja, uitwisselingen voor de fok
- dagelijks/wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch

- Geen (*ga door naar vraag 7*)
- Minder dan 10
- 10 tot 100
- Meer dan 100

6b. Als u ratten ontvangt, waar komen deze vandaan?

(als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag **in procenten** aangeven hoeveel van uw dieren van welk type wordt afgenomen)

- Nederland – ratteries/particulieren %
- Nederland – anders, nl: _____ %
- Buitenland – ratteries/particulieren
Landen: _____ %
- Buitenland – anders, nl:
Landen: _____ %

7. Heeft u ratten uit het buitenland, of zijn uw ratten de afgelopen twee jaar in contact geweest met ratten uit het buitenland? (meerdere antwoorden mogelijk)

- Nee
- Ja, ik heb ratten uit het buitenland, namelijk: _____
- Ja, mijn ratten zijn in contact geweest met ratten uit het buitenland, namelijk: _____

8. Kunnen uw ratten mogelijk in contact komen met wilde ratten? (bv als ratten in de schuur worden gehouden)

- Ja
- Nee

9. Wat voor bodembedekking gebruikt u in de kooien?

- Oude kranten/papier
- Zaagsel
- Houtsnippen
- Anders, namelijk: _____

10. Hoe en hoe vaak worden de kooien verschoond?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Verwijderen van natte plekken in bodembedekking/ontlasting
 - dagelijks
 - wekelijks
 - maandelijks
 - minder vaak dan maandelijks
- Gehele bodembedekking vervangen
 - dagelijks
 - wekelijks
 - maandelijks
 - minder vaak dan maandelijks
- Schoonmaken met schoonmaakmiddel, namelijk: _____

- dagelijks
- wekelijks
- maandelijks
- minder vaak dan maandelijks

- Anders, namelijk: _____
 - dagelijks
 - wekelijks
 - maandelijks
 - minder vaak dan maandelijks

11. Welke hygiënische maatregelen neemt u met betrekking tot uw ratten?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Handen wassen na contact
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd

Vraag 11 gaat verder op volgende pagina.

Vervolg vraag 11

- Handen wassen na het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Kooi schoonmaken in een goed geventileerde ruimte
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Bodembedekking natmaken voor het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Anders, namelijk:

 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd

Vragenlijst seoulvirus-onderzoek - individuele rat

Rattenopvang

Doel vragenlijst

Bij dit onderzoek horen twee vragenlijst: een algemene vragenlijst, en een specifieke vragenlijst per individueel dier. Dit is de vragenlijst voor individuele ratten.

De vragenlijsten zijn bedoeld om te bepalen welke factoren een verband hebben met het voorkomen van seoulvirus bij ratten en om meer inzicht te krijgen in mogelijke verspreidingsroutes.

Hoe vult u de vragenlijst in?

Kruis aan welk antwoord op uw rat van toepassing is. Soms zijn meerdere antwoorden mogelijk.

1. Hoe oud is de rat waar deze vragenlijst voor wordt ingevuld? _____ maanden

2. Wat is de herkomst van deze rat?
 - Eigen fok
 - Dierenspeciaalzaak/dierenwinkel
 - Gekocht/overgenomen van particuliere eigenaar (geen rattery)
 - Uit een asiel of andere rattenopvang
 - Van een rattery in Nederland
 - Van een rattery in het buitenland (Europa)
 - Van een rattery buiten Europa
 - Onbekend

3. Is deze rat (nadat hij bij u in huis is gekomen) in contact geweest met ratten van **buiten** uw rattery? *(meerdere antwoorden mogelijk)*
 - Nee
 - Ja, ratten van kennissen
 - dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
 - Ja, op beurzen/bijeenkomsten
 - dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
 - Ja, uitwisselingen voor de fok
 - dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
 - Ja, wilde ratten
 - dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch

Bijlage 3: Enquête voor commerciële rattenfokkers

Onderzoeksnummer (zie sticker Nasco-zak):.....

Vragenlijst seoulvirus-onderzoek

Commerciële rattenfokkers

Doel vragenlijst

Deze vragenlijst is bedoeld om te bepalen welke factoren een verband hebben met het voorkomen van seoulvirus en om meer inzicht te krijgen in mogelijke verspreidingsroutes.

Hoe vult u de vragenlijst in?

Kruis aan welk antwoord op uw ratten van toepassing is. Soms zijn meerdere antwoorden mogelijk. Als u de resultaten van het onderzoek op uw ratten wilt ontvangen, dan verzoeken wij u de contactgegevens bij vraag 14 in te vullen. Voeg na het invullen de lijst in het plastic mapje toe aan de blauwe verzamelzak.

Vragen over uw ratten

- 1.** Hoeveel ratten (alleen ouderdieren) heeft u gemiddeld op uw bedrijf?
- Minder dan 100
 100-250
 250-500
 500-1000
 Meer dan 1000
- 2a.** Worden de ratten in meerdere ruimtes gehouden?
- Nee, het is één grote ruimte
 Ja, namelijk _____ ruimtes
 (aantal)
- 2b. Zo ja,** worden ratten tussen de verschillende ruimtes uitgewisseld?
- Nee
 Ja

3a. Worden de volgende categorieën ratten gezamenlijk of apart gehuisvest?

(Bij huisvesting doorkruisen wat niet van toepassing is. Indien een groep gezamenlijk wordt gehouden, dan het groepsnummer aangeven waar de groep mee samen wordt gehouden)

nr.	categorie	huisvesting	gemiddelde verblijfsduur (weken)	gemiddeld aantal dieren per kooi/bak
1	fokmannetjes	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		
2	fokvrouwjes	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		

Vraag 3a gaat verder op de volgende pagina.

nr.	categorie	huisvesting	gemiddelde verblijfsduur (weken)	gemiddeld aantal dieren per kooi/bak
3	gedekte vrouwtjes	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		
4	moederdier met rittens	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		
5	rittens voor verkoop	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		
6	rittens voor eigen opfok	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		
7	anders, nl. _____	apart/gezamenlijk met _____ (groep nr.)		

3b. Worden fokvrouwtjes teruggeplaatst in een vaste groep of wisselt de samenstelling van de groepen?

- Altijd in een vaste groep
 Een wisselende groep

4. Welke categorieën ratten verkoopt u, en in welke mate?

(Graag aangeven van klein naar groot (met gewicht of leeftijd), en voor zowel levend als dood aangeven hoeveel procent van het totaal deze groep beslaat)

categorie	gewicht/leeftijd	percentage dood	percentage levend
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%

5. Indien rittens worden gehouden tot na de speenleeftijd: wat is de speenleeftijd (leeftijd dat ze worden weggehaald bij de moeder)?

- Niet van toepassing (altijd weggehaald voor de speenleeftijd)
- _____ weken

6. Aan wie verkoopt u de rittens/ratten? (als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag **in procenten** aangeven hoeveel van uw dieren naar welk type afnemer gaat)

- Direct aan eindgebruikers

%
%
- als voederrat
- als huisdierrat
- Via tussenhandelaar(s) en winkels

%
%
%
- als voederrat
- als huisdierrat
- onbekend
- Aan fokkers van voederratten en/of huisdierratten

%

- Anders, namelijk:

%

- _____

7a. Exporteert u ratten naar het buitenland?

- Ja
- Nee (ga door naar vraag 8)

7b. Zo ja, naar welk(e) land(en)?

7c. Betreft dit voederratten of huisdierratten? (meerdere antwoorden mogelijk, graag **percentage van totaal invullen**)

- Voederratten

%

- Huisdierratten

%

- Onbekend

%

8. Wat voor bodembedekking gebruikt u in de kooien?

- Oude kranten/papier
- Zaagsel
- Houtsnippers
- Anders, namelijk:
- _____

9. Hoe en hoe vaak worden de kooien verschoond? (meerdere antwoorden mogelijk)

- Verwijderen van natte plekken in bodembedekking/ontlasting
- dagelijks
- wekelijks
- maandelijks
- minder vaak dan maandelijks

- Gehele bodembedekking vervangen
 - dagelijks
 - wekelijks
 - maandelijks
 - minder vaak dan maandelijks
- Schoonmaken met schoonmaakmiddel, namelijk: _____
 - dagelijks
 - wekelijks
 - maandelijks
 - minder vaak dan maandelijks
- Anders, namelijk: _____
 - dagelijks
 - wekelijks
 - maandelijks
 - minder vaak dan maandelijks

10. Welke hygiënische maatregelen neemt u /adviseert u personeel met betrekking tot uw ratten?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Handen wassen na contact
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Handen wassen na het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Kooi schoonmaken in een goed geventileerde ruimte
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Bodembedekking natmaken voor het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Het dragen van een mondmasker bij algemene verzorging
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd

Vervolg vraag 10

11. Komen uw ratten, of een deel daarvan, in contact met **tamme ratten** van **buiten** uw fokkerij? *(meerdere antwoorden mogelijk)*

- Het dragen van een mondmasker bij schoonmaken van de kooien
- nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Anders, namelijk:
-
- nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd

12a. Hoeveel ratten van anderen koopt (of ruilt/krijgt) u erbij per jaar?

- Nee
- Ja, ratten van kennissen/andere fokkers
- dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, op beurzen/bijeenkomsten
- dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch
- Ja, uitwisselingen voor de fok
- dagelijks of wekelijks
 - maandelijks/meerdere keren per jaar
 - sporadisch

- Geen *(ga door naar vraag 13)*
- Minder dan 100
- 100 tot 1000
- Meer dan 1000

12b. Als u ratten ontvangt, waar komen deze vandaan? *(als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag **in procenten** aangeven hoeveel van uw dieren naar van welk type wordt afgenomen)*

- Nederland – (commerciële) rattenfokkers
- Nederland – ratteries/particulieren
- Nederland – anders, nl:
-
- Buitenland – (commerciële) rattenfokkers Landen:
-

Buitenland – ratteries/particulieren
Landen: _____

%

Buitenland – anders, nl:

%

Landen: _____

13. Kunnen uw ratten mogelijk in contact komen met **wilde ratten** (bv als ratten in de schuur worden gehouden)?

Ja

Nee

Bijlage 4: Enquête voor handelaren

Vragenlijst seoulvirus-onderzoek

In- en verkoop van levende voederratten

Doel vragenlijst

Deze vragenlijst is bedoeld om te bepalen welke factoren een verband hebben met het voorkomen van seoulvirus en om meer inzicht te krijgen in mogelijke verspreidingsroutes.

Hoe vult u de vragenlijst in?

Kruis aan welk antwoord op uw ratten van toepassing is. Soms zijn meerdere antwoorden mogelijk. Als u de resultaten van het onderzoek op uw ratten wilt ontvangen, dan verzoeken wij u de contactgegevens bij vraag 11 in te vullen. Voeg na het invullen de lijst toe aan de verzamelzak.

Vragen over uw ratten

- 1.** Hoeveel **levende, volwassen** ratten koopt u per jaar in?
- Minder dan 10.000
- 10.000-100.000
- 100.000-1.000.000
- Meer dan 1.000.000
- 2.** Hoelang verblijven de ratten gemiddeld op uw bedrijf tussen inkoop en verkoop?
- Minder dan 2 dagen
- 2-4 dagen
- 5-7 dagen
- Langer dan 7 dagen
- 3.** Waar komen de ratten die u inkoop van? *(als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag **in procenten** aangeven hoeveel van uw dieren van welk type leverancier komt)*
- Nederland – voederrattenfokkers
- Nederland – ratteries/particulieren
- Nederland – anders, nl: _____
- Buitenland – (voeder)rattenfokkers Land(en): _____
- Buitenland – ratteries/particulieren Landen: _____
- Buitenland – anders, nl: _____
- Landen: _____

4. Hoe/aan wie verkoopt u de ratten?
(als meerdere antwoorden van toepassing zijn, dan graag **in procenten** aangeven hoeveel van uw dieren naar welk type afnemer gaat)

- Direct via mijn eigen winkel/contacten/ Marktplaats (als voederrat)
- Via tussenhandelaar(s)/winkels (als voederrat)
- Aan fokkers van voederratten
- (Via tussenhandelaar(s)/winkels) als tamme huisdierrat, of met onbekende bestemming
- Anders, namelijk:

%

%

%

%

%

5. Welke categorieën ratten verkoopt u, en in welke mate?

(Graag aangeven van klein naar groot (met gewicht of leeftijd), en voor zowel levend als dood aangeven hoeveel procent van het totaal deze groep beslaat)

categorie	gewicht/leeftijd	percentage dood	percentage levend
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%
		%	%

6a. Worden de ratten in meerdere ruimtes gehouden?

- Nee, het is één grote ruimte
- Ja, namelijk _____ ruimtes
(aantal)

6b. Zo ja, worden ratten tussen de verschillende ruimtes uitgewisseld?

- Nee
- Ja

7. Worden de ratten overgeplaatst in andere bakken tijdens het verblijf op uw bedrijf?

- Nee
- Ja
- Soms
 - Afhankelijk van leverancier
 - Bij verblijfsduur langer dan _____ dagen
 - Anders, namelijk _____

8a. Verschoont u de kooien in de tijd dat de dieren bij u op het bedrijf verblijven?

- Nee (*Ga door naar vraag 9*)
- Ja

8b. Wat voor bodembedekking gebruikt u in de kooien?

- Oude kranten/papier
- Zaagsel
- Houtsnippen
- Anders, namelijk: _____

8c. Hoe en hoe vaak worden de kooien verschoond?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Verwijderen van natte plekken in bodembedekking/ontlasting
 - dagelijks
 - wekelijks
 - minder vaak dan wekelijks
- Gehele bodembedekking vervangen
 - dagelijks
 - wekelijks
 - minder vaak dan wekelijks
- Schoonmaken met schoonmaakmiddel, namelijk: _____
 - dagelijks
 - wekelijks
 - minder vaak dan wekelijks
- Anders, namelijk: _____
 - dagelijks
 - wekelijks
 - minder vaak dan wekelijks

9. Welke hygiënische maatregelen neemt u/adviseert u werknemers met betrekking tot de ratten?
(meerdere antwoorden mogelijk)

- Handen wassen na contact
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Handen wassen na het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Kooi schoonmaken in een goed geventileerde ruimte
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Bodembedekking natmaken voor het schoonmaken van de kooi
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Het dragen van een mondmasker bij algemene verzorging
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Het dragen van een mondmasker bij schoonmaken van de kooien
 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd
- Anders, namelijk:

 - nooit/zelden
 - soms
 - vaak/altijd

10. Kunnen uw ratten mogelijk in contact komen met **wilde ratten** (bv als ratten in de schuur worden gehouden)?

- Ja
- Nee

Bijlage 5: Deelnemerssamenvatting

Achtergrond Seoulvirus is een virus dat ratten bij zich kunnen dragen. Dit virus kan naar mensen worden overgedragen als zij in contact komen met urine, keutels of speeksel van besmette ratten. Een klein deel van de mensen die besmet raken met seoulvirus wordt ziek. Meestal krijgen ze milde klachten zoals griepigheid. Soms ontstaan klachten zoals koorts, braken, diarree, algehele malaise, spierzwakte in de benen en lage rugpijn. Heel soms ontstaan er ernstige klachten zoals leverontsteking, nierfalen of interne bloedingen en is ziekenhuisopname noodzakelijk. Ratten zelf worden niet ziek van seoulvirus.

Aanleiding Sinds 2016 is seoulvirus-infectie bij vijf ernstig zieke patiënten in Nederland aangetoond. Deze patiënten hadden allemaal contact gehad met tamme huisdierratten of voederratten. Bij deze ratten is ook seoulvirus gevonden. Over de mate waarin het seoulvirus voorkomt bij gehouden ratten in Nederland is weinig bekend. Daarom is het RIVM in 2018 een onderzoek gestart naar de mate waarin het seoulvirus voorkomt bij gehouden ratten in Nederland.

Onderzoeksoepzet Van drie typen houderijen zijn ratten getest: huishoudens met één of enkele huisdierratten, ratteries² en opvangen, en commerciële (voeder)rattenfokkers- of handelaren. Alle deelnemers is gevraagd om overleden ratten op te sturen voor onderzoek, en een vragenlijst in te vullen over o.a. de herkomst van de rat.

Resultaten In totaal zijn 175 ratten onderzocht. Van huishoudens met één of enkele huisdierratten zijn 29 ratten onderzocht. Hiervan was één rat positief voor seoulvirus. Van 5 ratteries zijn 41 ratten ontvangen en van 2 rattenopvangen zijn 15 ratten ontvangen. Eén rattery was positief, waarbij 2 van de 8 ingestuurde ratten positief waren. Van 9 commerciële (voeder)rattenfokkers of -handelaren werden 90 ratten getest. Twee fokkers waren positief voor seoulvirus. Bij deze bedrijven waren 6 van de 10 en 5 van de 10 ratten besmet. Eén van deze twee bedrijven was eerder ook positief getest voor seoulvirus.

Bovenstaande aantallen zijn in onderstaande tabel samengevat.

	Aantal geteste ratten (aantal locaties)	Aantal SEOV positieve ratten (aantal positieve locaties)
Particuliere bezitters	29 (29)	1 (1)
ratteries/opvangen	56 (7)	2 (1)
commerciële fokkers/handelaren	90 (9)	11 (2)

² Bij een rattery (hobbyfokker) worden ratten gefokt op een klein- tot middelgrootschalige manier, zonder commercieel doeleinde.

Uit de enquêtes blijkt dat de hygiënemaatregelen kunnen worden verbeterd. Hierbij kan worden gedacht aan handen wassen na contact met ratten en de bodembedekking natmaken bij het schoonmaken van de kooi.

Conclusie Seoulvirus komt in Nederland voor bij zowel ratten van particuliere bezitters en ratteries, als bij commerciële fokkers van (voeder)ratten. Hoeveel ratten precies besmet zijn, is moeilijk te bepalen doordat niet bekend is hoeveel ratten er in Nederland worden gehouden en gefokt. Vanwege het beperkte inzicht in de rattenhouderij in Nederland, is bestrijding van het seoulvirus zeer lastig. Daarnaast blijken ratten te worden uitgewisseld tussen bedrijven en worden veel ratten uit het buitenland geïmporteerd, die het seoulvirus kunnen meebrengen. Verder is het onduidelijk welke effectieve maatregelen op positieve bedrijven genomen zouden kunnen worden. Om nieuwe besmettingen van mensen en ratten te voorkomen, is het daarom zinvol de voorlichting te verbeteren. Bijvoorbeeld over de mate waarin seoulvirus voorkomt, over ziekteverschijnselen en over hygiënemaatregelen.

Vervolgonderzoek gericht op de verspreiding van seoulvirus en op goed werkende maatregelen om seoulvirus te bestrijden kan mogelijk bijdragen aan het voorkomen van verspreiding van seoulvirus.

RIVM

De zorg voor morgen begint vandaag