



# **Voorkomen en verspreiding van Rabbit Haemorrhagic Disease en Myxomatose in Nederlandse konijnenpopulaties**

J.M.Drees, J.J.A. Dekker, A. Lavazza & L. Cappucci





# Voorkomen en verspreiding van Rabbit Haemorrhagic Disease en Myxomatose in Nederlandse konijnenpopulaties

|                 |                                                                                               |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| ISBN:           | 90-73162.85-8                                                                                 |
|                 | 978-90-73162-85-3                                                                             |
| Rapport nr.:    | 2007.17                                                                                       |
| Datum uitgave:  | 30 juli 2006                                                                                  |
| Auteur:         | JM Drees, JJA Dekker, A. Lavazza & L. Capucci                                                 |
| Illustraties:   | Jasja Dekker                                                                                  |
| Omslag:         | Een zeldzame vondst van een RHD slachtoffer<br>(aangepikt door een vogel). Foto: Jasja Dekker |
| Projectnummer:  | 490.003                                                                                       |
| Projectleiding: | Richard Witte, Jasja Dekker                                                                   |

Dit onderzoek is mede mogelijk gemaakt door het Prins Bernhard Cultuurfonds, het KN Fonds, het Jacob van Zijverden Fonds en het Barbara Eveline Keuning Fonds. Provinciaal Waterbedrijf Noord-Holland, Drinkwaterbedrijf Zuid-Holland, Waternet, Landschap Noord-Holland.



## Dit rapport kan geciteerd worden als:

Drees, JM, JJA Dekker, A/ Lavazza & L Cappucci , 2007. *Voorkomen en verspreiding van Rabbit Haemorrhagic Disease en Myxomatose in Nederlandse konijnenpopulaties*. VZZ rapport 2007.17. Zoogdiervereniging VZZ, Arnhem.

De Stichting VZZ, onderdeel van de Zoogdiervereniging VZZ is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van de VZZ; opdrachtgever vrijwaart de Stichting VZZ voor aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

© Zoogdiervereniging VZZ

Niets uit dit rapport mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt worden d.m.v. druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de Zoogdiervereniging VZZ, noch mag het zonder een dergelijke toestemming worden gebruikt voor enig ander werk dan waarvoor het is vervaardigd.





## INHOUD

|          |                                                             |           |
|----------|-------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>AANLEIDING .....</b>                                     | <b>7</b>  |
| <b>2</b> | <b>DOELSTELLING EN INDELING RAPPORT .....</b>               | <b>9</b>  |
| <b>3</b> | <b>LITERATUURONDERZOEK RABBIT HAEMORRHAGIC DISEASE.....</b> | <b>10</b> |
| 3.1      | Rabbit Haemorrhagic Disease .....                           | 10        |
| 3.2      | Eigenschappen van het virus .....                           | 10        |
| 3.3      | Verspreiding en theorieën over de herkomst .....            | 11        |
| 3.4      | Effecten op konijnenpopulaties.....                         | 12        |
| 3.5      | Vaccinatie .....                                            | 13        |
| 3.6      | RHD in Nederland .....                                      | 13        |
| 3.7      | Effect van RHD in Nederland.....                            | 13        |
| 3.8      | Onderzoek in 2005/2006 .....                                | 14        |
| <b>4</b> | <b>METHODIEK VELDONDERZOEK.....</b>                         | <b>16</b> |
| 4.1      | Verzamelen bloedmonsters.....                               | 16        |
| 4.2      | Gebiedsbeschrijvingen.....                                  | 17        |
| 4.3      | Schatting dichtheden .....                                  | 18        |
| 4.4      | Analyse bloedmonsters .....                                 | 18        |
| <b>5</b> | <b>RESULTATEN VELDONDERZOEK .....</b>                       | <b>19</b> |
| 5.1      | Aantallen bemonsterde dieren en dichtheden .....            | 19        |
| 5.2      | Resultaten analyses van antilichamen.....                   | 19        |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSIES.....</b>                                      | <b>22</b> |
| <b>7</b> | <b>AANBEVELINGEN.....</b>                                   | <b>23</b> |
| <b>8</b> | <b>LITERATUUR.....</b>                                      | <b>24</b> |



## DANKWOORD

De auteurs danken de volgende mensen voor hun bijdrage aan het onderzoek:

Dr. G. Koch en dr. A. Elbers van het CIDC hebben meegedacht in de eerste fasen van het project. De heren Brinkhuis, Moerman, Moerman, Dolman, Peeters, Heegh, Neeten, Geurts en Van Rijswijk verzamelden bloedmonsters. In een deelproject verzamelden Ranjana van Dijk en Marjolein Kelder, in het kader van een afstudeervak, bloedmonsters van gevangen konijnen. Hiervan werd een deel geanalyseerd door Marco van der Bildt. Hun onderzoek is begeleid door dr. Sjeng Lumeij (Universiteit Utrecht) en dr. Marijke Drees.

Het onderzoek is mede mogelijk gemaakt door het Prins Bernard Cultuurfonds, het KN Fonds, het Jacob van Zijverden Fonds en het Barbara Eveline Keuning Fonds, Provinciaal Waterbedrijf Noord-Holland, Drinkwaterbedrijf Zuid-Holland, Waternet, Landschap Noord-Holland.



## SAMENVATTING

De sterke achteruitgang van het konijn in Nederland sinds 1990 is waarschijnlijk vooral een gevolg van (meer)jaarlijks terugkerende epidemieën van Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD, in het Nederlands VHS genoemd) een dodelijke konijnenziekte, waaraan het dier heel plots sterft. Doordat het merendeel ondergronds doodgaat en er geen zieke dieren rondlopen, is het eerste optreden van RHD vaak onopgemerkt, maar de achteruitgang in de aantallen is overduidelijk.

Om meer informatie te verwerven over het voorkomen van RHD in Nederland heeft Zoogdierverseniging VZZ een oriënterend onderzoek gedaan met twee doelstellingen:

- het bijeen brengen en beschikbaar maken van de kennis over RHD, zoals beschreven in de internationale wetenschappelijke literatuur, inclusief recente Nederlandse artikelen die een beeld geven van de huidige stand van zaken in populatieontwikkeling van het konijn in Nederland; en
- het bepalen van de besmettingsgraad in verschillende konijnenpopulaties.

Daarnaast werd ook de besmettingsgraad door myxomatose bepaald.

Uit het literatuuronderzoek blijkt dat RHD wijd verbreid is over de wereld. In Spanje en Frankrijk maakt men zich zorgen dat de konijnenpopulaties zo gedecimeerd zijn en vervolgens het habitat zo veranderd dat de populaties zich niet meer lijken te kunnen herstellen. Elders ziet men wel weer een toename. Er zijn populatiemodellen gemaakt die laten zien hoe bij een populatie boven een bepaalde dichtheid RHD endemisch wordt en geen groot effect meer heeft op de populatie: het wordt niet meer epidemisch. In zo'n geval is een stabiele konijnenpopulatie weer mogelijk. Deze modellen zijn niet rechtstreeks op Nederland toe te passen, omdat wij een ander klimaat en een korter voortplantingsseizoen kennen. Maar het inzicht in de processen is bruikbaar om meer te begrijpen wat zich ook hier afspeelt.

Het tweede deel van het onderzoek is gericht op het voorkomen van RHD en myxomatose in Nederland door het bepalen van de antilichamen van konijnen tegen RHD en myxomatose. Het bestond uit een veldonderzoek aan levend gevangen konijnen door drs. R. van Dijk en het verzamelen van bloedmonsters door jagers. Deze zijn geanalyseerd door het team van Professor Lavazza van het 'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna' in Brescia, Italië, (IZSL) op voorkomen van antilichamen tegen RHD en myxomatose, volgens het protocol beschreven in Capucci *et al.* (1991) en Cooke *et al.* (2000). Hierbij wordt met cELISA de totale titer (concentratie) antilichamen (immunoglobulinen) bepaald en vervolgens antilichaam-isotypes IgG, IgA en IgM.

Het veldonderzoek geeft sterke aanwijzingen dat RHD bijna overal in Nederland voorkomt, maar plaatselijk (Zwanenwater, Kampina) steeds weer verdwijnt. Myxomatose is overal in Nederland geweest, maar inmiddels zijn er populaties die geen verworven immuniteit (antilichamen) tegen myxomatose meer hebben. Bij toename van de aantallen kan myxomatose dus onverwacht veel slachtoffers maken, maar dit is een tijdelijk proces.





## 1 AANLEIDING

Het aantal konijnen (*Oryctolagus cuniculus* L.) in Nederland vertoont sinds 1990 een zeer sterke daling. Er wordt een duidelijke relatie gezien tussen de massale sterfte van konijnen en de achteruitgang van wilde flora en fauna in terreinen waar konijnen voorkomen dan wel voorkwamen. Konijnen spelen een belangrijke rol in het behoud van variatie in de structuur van de vegetatie. Ze voorkomen dat bepaalde plantensoorten gaan domineren door ze kort te houden, en geven zo de kans aan andere soorten. Daarnaast scheppen ze door hun graafactiviteiten mogelijkheden voor planten om te kiemen en voor dieren om te broeden. Denk hierbij aan onder meer hondskruid, kruisbladgentiaan, parnassia, slanke gentiaan en steenanjer; zandhagedis, mierenleeuw, tapuit en bergeend.

De achteruitgang van het konijn is daarom een landelijk probleem voor de natuurbescherming: niet alleen voor de soort zelf, maar ook vanwege hun rol als 'ecologisch ingenieur' in ecosystemen, waar ze door directe en indirecte effecten van voedselzoeken en graven de biodiversiteit handhaven.

De sterke achteruitgang van de konijnen is waarschijnlijk een gevolg van (meer)jaarlijks terugkerende epidemieën van RHD (Rabbit Haemorrhagic Disease), een dodelijke konijnenziekte, waaraan het dier heel plots sterft. Doordat het merendeel ondergronds doodgaat en er geen zieke dieren rondlopen, is het eerste optreden van RHD vaak onopgemerkt, maar de achteruitgang in de aantallen is overduidelijk.

Naar aanleiding van een landelijke discussie rondom het konijn heeft de minister van LNV in 2004 opdracht gegeven tot een studie naar 'de situatie van het konijn in Nederland' (Drees & van Manen, 2004. Ongepubliceerd, maar te raadplegen op de website van Zoogdierverseniging VZZ). Hieruit blijkt dat landelijk gezien een zeer sterke achteruitgang optreedt tot 90% over de periode 1990-2003. Lokaal treedt een minder sterke achteruitgang op. Op bepaalde locaties komen nog steeds hoge dichtheden voor, met name aan de rand van bebouwing, op industrieterreinen, sportvelden, golfbanen en stadsparken (Siebenga, 2002). Drees & Van Manen (2004) geven drie mogelijke verklaringen voor het lokaal voorkomen van deze hogere dichtheden:

- een relatieve isolatie van andere populaties, waardoor RHD niet jaarlijks optreedt;
- aanwezigheid van een korte (pionier) vegetatie (eiwitrijk) die door menselijk handelen in stand wordt gehouden waardoor geen successie plaats vindt naar minder gunstige vegetatiestadia (in relatie tot voedingswaarde voor het konijn);
- een lagere predatiedruk door lagere dichtheid van roofdieren, met name de vos.

Daarnaast treden nog onbegrepen regionale verschillen op: Olf en Boersma (1998) tonen aan dat deze gecorreleerd zijn met initiële populatiedichtheden. Daarmee geven zij een mogelijke verklaring voor het feit dat op de zandgronden in de duinen van Nederland herstel van de aantallen optreedt, maar in andere delen van Nederland niet (gegevens van CBS, SOVON & Zoogdierverseniging VZZ, 2007).

Voor een effectief beheer gericht op het herstel van de konijnenpopulaties is het nodig meer inzicht te geven over het optreden van RHD. De bovengenoemde lokale en regionale verschillen bieden een aanknopingspunt. Houdt de eerste veronderstelling van Drees en van Manen stand, en is de hoge dichtheid een tijdelijk verschijnsel als gevolg van relatieve isolatie of hebben de populaties die nu hoge dichtheden vertonen immuniteit tegen RHD? Er is een dringende behoefte om de verspreiding van RHD in Nederland te onderzoeken en in kaart te brengen.

Er is in Nederland bijna niets bekend over de ziekte, het veroorzakende virus en de mate van de mortaliteit. Uit de buitenlandse literatuur is bekend dat het calicivirus dat RHD veroorzaakt in verschillende 'strains'



(stammen) voorkomt, waarvan sommigen apathogeen zijn. De antilichamen die bij contact daarmee worden gevormd geven de bezitter een zekere mate van immuniteit tegen infectie van het pathogene RHD-virus. Verschillen in de verspreiding van de apathogene stammen zou de reden kunnen zijn dat de konijnenstand in Groot-Brittannië minder is achteruitgegaan dan in Spanje. In dit oriënterend onderzoek zijn de antilichamen bepaald zoals ze in het bloed (serum) kunnen worden aangetroffen. Ook is gekeken naar de mate van specificiteit van deze antilichamen voor de pathogene stam van RHD.

Om iets te kunnen zeggen over de toekomst van het konijn in Nederland en de mogelijkheden voor herstel van de konijnenpopulaties is het nodig om het voorkomen van RHD en myxomatose in verschillende gebieden in Nederland te inventariseren. Kennis over de besmettingsgraad van verschillende deelpopulaties, is noodzakelijk om in te kunnen schatten hoe de aantalsontwikkeling van de verschillende deelpopulaties zou kunnen verlopen. Tevens is kennis over de landelijke verspreiding van de ziekte noodzakelijk om in beeld te kunnen krijgen waarom het in bepaalde terreinen beter met het konijn gaat dan in andere gebieden.

In het voorliggende onderzoek is gepoogd aan deze twee behoeftes, het beschikbaar maken van de wetenschappelijke achtergronden en kennis, en het verkrijgen van een beeld van verspreiding en voorkomen van RHD in Nederland, te voldoen. Het onderzoek is een samenwerking van de Zoogdiervereniging VZZ met het 'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna' in Brescia, Italië, (IZSL).



## 2 DOELSTELLING EN INDELING RAPPORT

Doel van dit onderzoek is meer inzicht krijgen in verspreiding en voorkomen van RHD, om zo beheer van de populaties, en de analyses van de populatiedynamiek van het konijn in Nederland beter aan te laten sluiten bij de huidige situatie. Dit is bereikt door de volgende twee deeldoelstellingen:

- het bijeen brengen en beschikbaar maken van de kennis over RHD, zoals beschreven in de internationale wetenschappelijke literatuur, inclusief recente Nederlandse artikelen die een beeld geven van de huidige stand van zaken in populatieontwikkeling van het konijn in Nederland.
- het bepalen van de besmettingsgraad in verschillende konijnenpopulaties.

Daarnaast werd ook de besmettingsgraad door myxomatose bepaald.

In hoofdstuk 3 wordt de literatuur besproken, in hoofdstukken 4 tot en met 6 wordt het veldonderzoek aan besmettingsgraad besproken. In hoofdstuk 7 komen we met enkele aanbevelingen ten aanzien van verder onderzoek en beheer.



### 3 LITERATUURONDERZOEK RABBIT HAEMORRHAGIC DISEASE

#### 3.1 Rabbit haemorrhagic disease

De ziekte Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) is een vaak dodelijke ziekte voor wilde of gedomesticeerde konijnen *Oryctolagus cuniculus* L.. RHD is in Nederland ook bekend onder de naam VHD (Viral Haemorrhagic Disease) of in het Nederlands VHS (Viraal Hemorragisch Syndroom)<sup>i</sup>. Hemorragie betekent bloeding en het virus veroorzaakt dan ook inwendige bloedingen. Dat leidt tot aantasting van de lever en milt en er komt ook bloed in de longen. Bij naïeve populaties kan RHD leiden tot 85-90% mortaliteit. RHD is samen met myxomatose waarschijnlijk de aanleiding voor de grote afname van het konijn in Nederland (Drees & van Manen, 2005; Lutz, 2004).

Bij naïeve konijnen leidt RHD tot 90% sterfte. Het dier sterft heel plots (binnen 48 uur) waarbij wat bloed uit de neus kan komen. Aan de buitenkant ziet men vrijwel niets, hooguit wat bloed aan neus of anus, omdat het verloop zo snel is. In de peracute fase, als een naïeve populatie voor het eerst met de ziekte in aanraking komt, is waargenomen dat konijnen plotseling dood neervallen, soms met het eten nog in de bek (Marsman & Siebenga, 2002). Als dieren al wat langer dood zijn komt er soms bloederig schuim uit de neusgaten (Lenghaus *et al.*, 2001).

Sterfte wordt veroorzaakt door bloedingen in lever, nieren, milt en longen. Het pathologische beeld van de lever is een lichte kleur met een gemarmerde tekening. De milt is vergroot en de longen en de longen vertonen veel kleine rode haardjes, die ontstaan zijn door kleine bloedpropjes.

Jongen tot 2 maanden vertonen geen klinische symptomen, zij kunnen niet ziek worden (age resilience). Het virus vermenigvuldigt zich bij hen wel enigszins (er zijn virale antilichamen<sup>ii</sup> op de levercellen gevonden), maar dit leidt niet tot bloedingen (Lenghaus & Munro 1994; Ferreira *et al.* 2004). Een doorgestane infectie op deze leeftijd geeft het konijn weerstand (antilichamen). Jongen die van een seropositieve<sup>iii</sup> moeder via de melk maternale antilichamen hebben gekregen, doorstaan in het algemeen een infectie (tot een leeftijd van 12 weken) en versterken zo hun immuniteit (Lenghaus *et al.*, 2001).

#### 3.2 Eigenschappen van het virus

##### *Alleen het konijn gevoelig*

Het virus behoort tot de familie van de Caliciviridae. Een calicivirus is een rond virus tussen 27 en 40 nm in diameter met 32 komvormige oppervlaktestructuren. Daaraan dankt de familie zijn naam: kom is calix in het Latijn. Het heeft een enkele streng RNA als erfelijk materiaal. Virussen met enkelstrengs RNA hebben een hoge mutatie ratio. Het virus kan nog niet worden geïsoleerd (Lenghaus *et al.*, 2001).

Het virus dat 'European Brown Hare Syndrome' veroorzaakt en het RHD-virus hebben waarschijnlijk een gezamenlijke voorouder (Lenghaus *et al.*, 2001). RHD is een ziekte die alleen bij het Europese wilde en tamme konijn (*Oryctolagus cuniculus*) voorkomt.

##### *Overdracht*

Overdracht kan op veel wijzen plaatsvinden. Besmetting door direct contact vindt plaats via de fecale-orale route. Als konijnen met voldoende antilichamen opnieuw in aanraking komen met RHD overleven ze de infectie, maar ze zijn meerdere weken ziek en vormen al die tijd een bron van besmetting voor de populatie (Calvete, 2006). Indirecte overdracht gebeurt onder andere via gras, mensen of stekende insecten.

Daarnaast is passief vervoer met insecten mogelijk. Handel in levende of dode konijnen is een bron van verspreiding over de wereld (Forrester *et al.*, 2006). Ook roofdieren die konijnen hebben gegeten kunnen



RHDV verspreiden via hun vacht of speeksel, hoewel ze er zelf niet ziek van worden (Henning *et al.*, 2006a). Hoewel er dus vele vectoren zijn, wordt contact van konijn op konijn toch het meest belangrijk geacht (Villafuerte *et al.*, 1995). Er zijn nog geen aanwijzingen voor de ontwikkeling van een zwakkere ('attenuated') vorm van het virus (Forrester *et al.*, 2006). Dit in tegenstelling tot de ontwikkeling van het myxomatosevirus. Wel is een (toenemend) deel van de populatie seropositief. De weerstand is afhankelijk van de concentratie van antilichamen in het bloed (titer). Bij een lage titer raakt het konijn wel geïnfecteerd, maar zal de infectie overleven. In Spanje werd in 1995 geconstateerd (Villafuerte *et al.*, 1995) dat de mortaliteit bij de jaarlijkse epidemie nu 30% is, tegen 55-75 % bij de eerste epidemie. Calvete (Calvete *et al.*, 2002) beschouwt RHD in Spanje als endemisch bij 80 tot 90 procent van de adulte konijnen met antilichamen en een jaarlijkse sterfte van 21,8 %.

Het virus is lang houdbaar en kan in dode konijnen lang besmettelijk blijven: tot 3 weken bij 22°C (McColl, 2002). Ook immune dieren kunnen een bron van infectie zijn (Cooke, 2002).

#### *Interactie met myxomatose*

Er is geen interactie van RHD-virus met het myxomatose virus. Wel leiden uitbraken van RHD tot het verschuiven van de myxomatose uitbraak naar een later tijdstip, wanneer er 'genoeg' naieve jongen in de populatie zijn (Mutze *et al.*, 2002; Cooke & Fenner, 2002).

### **3.3 Verspreiding en theorieën over de herkomst**

De ziekte is voor het eerst gerapporteerd in 1984 in China bij (uit Duitsland afkomstige) gekweekte Angora-konijnen. De ziekte verspreidde zich snel over grote delen van China en werd al in 1985 in Korea gesignaleerd. In 1986 trad de ziekte op bij commercieel gehouden konijnen in Italië (Westbury & Munro, 1994), in 1988 in Spanje (Arguëllo, 1991), in 1990 in Nederland (Siebenga, 1991) en in 1992 in Engeland (Forrester *et al.*, 2006). De ziekte is ook verspreid naar Rusland, het Midden-Oosten, delen van Africa, Cuba, Mexico en India, waarschijnlijk vooral door de handel in vlees en bont van tamme konijnen (Cooke, 2002).

Net als met myxomatose, heeft ook RHD geleid tot de gedachte de nieuwe ziekte in Australië en Nieuw-Zeeland in te zetten voor de bestrijding van konijnen. In Nieuw-Zeeland heeft de regering van introductie afgezien, maar in 1997 trad de ziekte er toch voor het eerst op, waarschijnlijk doordat boeren de infectie op eigen houtje hebben geïntroduceerd. In Australië werd na langdurige discussie besloten de besmettelijkheid van het virus te onderzoeken, eerst in het laboratorium, maar vanaf 1995 ook in een veldsituatie. Als locatie voor het onderzoek viel de keuze op een eiland (4 kilometer) voor de kust van 'South Australia': het Wardang Island. Ondanks alle voorzorgmaatregelen ontsnapte het virus toch uit het proefterrein en bereikte nog hetzelfde jaar het vaste land van Australië. Net als bij de myxomatose was het een onverwachte overbrenger die parten speelde: bush flies die door een sterke termiek en krachtige wind naar het vaste land werden getransporteerd en op meerdere plaatsen terechtkwamen (McColl *et al.*, 2002). Vanaf dat moment ging de verspreiding snel, zeker ook weer geholpen door andere insecten en landbouwers die graag van hun konijnen afwilden (Cooke, 2002).

In eerste instantie is gedacht dat het virus van China naar Europa is gebracht (bijvoorbeeld McColl *et al.*, 2002). Lenghaus *et al.* (2001) schrijven echter "It is difficult to trace the early spread of RHD from China to Europe. In 1986, it suddenly emerged in Italy, ...". De laatste jaren zijn andere theorieën over de herkomst ontstaan, samengevat door Forrester (Forrester *et al.*, 2006). Deze auteurs hebben een stamboom gemaakt van alle bekende RHD-virussen en van het avirulente RCV aan de hand van de (een deel van) de aminozuurvolgorde van (een deel van) de 'capsid' (wand). Daarbij blijkt dat de Chinese stam wijd verspreid is, maar dat er ook 'clades' van andere strains zijn die verwant zijn of overeenkomen met avirulente stammen in sera van konijnen, verzameld voor 1984. Ook bleken konijnen in Victoria (Australië) een zekere mate van



weerstand te hebben de eerste maal dat ze met het geïntroduceerde RHD in aanraking kwamen (Cooke & Fenner, 2002; Cooke *et al.*, 2002). Eerder was al ontdekt dat er een verwant apathogeen calicivirus is, waarvan de antilichamen ook enige bescherming tegen RHD verschaffen (Capucci *et al.*, 1996).

Tot dan toe was verondersteld dat het Chinese RHDV afstamde van een Europese strain die virulent is geworden. De bevindingen van Forrester en anderen lijken er op te wijzen dat dit 'virulent worden' meerdere malen heeft plaatsgevonden. Dat leidt tot de, voorlopig nog onbeantwoorde, vraag wat er in de jaren tachtig is gebeurd waardoor deze strains virulent werden of de konijnen gevoelig.

De aanwezigheid van de avirulente stammen zou kunnen verklaren waarom het effect van RHD zo wisselend is, met populatievermindering van 10 tot 95% binnen Engeland (figuur 1 in artikel Forrester *et al.*, 2006). Er zijn ook andere verklaringen mogelijk, die meer berusten op het populatiedynamische effect van het overleven van de jonge konijnen (Calvete, 2006).

### 3.4 Effecten op konijnenpopulaties

#### *Mortaliteit*

De sterfte onder konijnen die nog niet eerder in aanraking waren geweest met het virus is hoog. Chasey *et al.* (1997) berekenen een sterfte van naieve konijnen tussen 90% en 100%. Dat het virus nergens leidde tot 100% sterfte, komt doordat de jonge konijnen in de eerste twee levensmaanden nietziek worden.

De hoogste sterfte treedt op in de maanden van de hoogste populatiedichtheid (Mutze *et al.*, 2002), in West-Europa in augustus tot en met november (Lutz, 2004).

De afname van de aantallen echter, varieert sterk tussen landen en regio's. In verschillende delen van Australië is deze bijvoorbeeld 0% tot 80% in zuidelijke landbouwgebieden (aan de kust) met een gematigd klimaat en 80% tot 95% in de hete droge binnenlanden (Mutze *et al.*, 2004). In Coto Donana in Spanje is de afname 55% (Villafuerte *et al.*, 1994), in Frankrijk 88% (Ferreira *et al.* 2004).

In Spanje is beschreven (Villafuerte *et al.*, 1995) dat de epidemie bij zijn eerste verschijnen 2-15 km per maand aflegde, en daarnaast verspreid over het land op allerlei plekken opdook. Zij weten dat aan overdracht door de mens. Mensen kunnen zelf het virus overbrengen, maar in Spanje worden jaarlijks meer dan 200.000 konijnen verplaatst, waaronder tamme konijnen, om de populaties te versterken. Groepen die eerst zijn overgeslagen worden een volgend jaar wel aangestoken. Zes jaar na de eerste epidemie, in 1995, waren maar 7,5 % van de populaties weer op pre-RHD niveau. Dit waren vooral populaties met grotere dichtheden.

#### *Invloed habitat en populatiedichtheid*

Uit Spanje en Australië wordt gerapporteerd dat RHD grotere mortaliteit veroorzaakt in natte klimaten. Mogelijk door het voorkomen van muskieten als vectors (Osacar-Jimenez & Lucientes-Curdi 2001).

#### *Geschiktheid van het habitat: Invloed populatiedichtheid*

Gebieden met een geschikt habitat hebben een hoge dichtheid van konijnen. Uit veldonderzoeken naar de relatie tussen de populatiedichtheid en de afname van de aantallen komen verschillende resultaten. Villafuerte *et al.* (1994) vonden bij de eerste epidemie in Donana geen verschil in mortaliteit tussen populaties met hoge en lage dichtheid.

Story *et al.* (2004) vergeleek het effect van opzettelijk geïntroduceerde RHD in een aantal gebieden met verschillende dichtheden van konijnen in Queensland (noordoost Australië). Hierbij werd de achteruitgang gemeten ten opzichte van de verwachte dichtheid zonder RHD. De initiële achteruitgang in aantallen varieerde van 43-94%. De achteruitgang was het minste in het meest geschikte habitat.

Saunders *et al.*, (1999) hebben konijnen geteld in drie populaties in New South Wales (Australië), waar konijnen een plaag vormen. In een daarvan viel de aankomst van RHD samen met het voortplantingsseizoen. In deze populatie was er geen aantalsafname, integendeel. De andere twee leken zich



al na een seizoen hersteld te hebben, veel sneller dan elders gerapporteerd.

Calvete (2006) heeft een mathematisch model gemaakt om het lange termijn effect van vaccinatieprogramma's te berekenen met behulp van alle bekende parameters in Spanje. De invloed van populatiedichtheid op het lange-termijn verloop van een RHD-epidemie beschrijft hij als volgt. Bij toenemende dichtheid van de populatie neemt de kracht van de infectie toe (steeds meer konijnen worden geïnfecteerd) en daarom daalt de gemiddelde leeftijd waarop een konijn wordt geïnfecteerd. Dit leidt aanvankelijk tot een toename van de mortaliteit als gevolg van RHD. Als echter de gemiddelde leeftijd waarop een konijn wordt geïnfecteerd onder de 150 dagen komt daalt de mortaliteit. Dat komt door een combinatie van 'age-resilience' en jongen met maternale antilichamen. Bij een dichtheid van 8 konijnen per hectare is de mortaliteit het hoogste, bij een dichtheid van 12 konijnen per hectare is de jaarlijkse mortaliteit rond de 10% en zijn bijna alle adulte konijnen seropositief.

Henning (Henning *et al.*, 2006b) in Nieuw-Zeeland en Story (Story *et al.*, 2004) in Queensland, Australië, vonden ook dat bij een dichtheid lager dan 12 konijnen per km<sup>2</sup> RHD niet endemisch wordt. Het verdwijnt uit de populatie. Zo'n populatie met lage dichtheid blijft kwetsbaar voor een nieuwe infectie van RHD.

### 3.5 Vaccinatie

Vaccinatie geeft een tijdelijke bescherming (Twigg *et al.*, 1997). Vaccinatie is mogelijk, maar daarvoor moeten wilde konijnen wel eerst gevangen worden. Waarschijnlijk mede daardoor leidt vaccinatie van jonge en subadulte konijnen tot een verhoogde kans op sterfte door de ziekte (Calvete *et al.*, 2004). Calvete (2006) heeft daarna een model gemaakt om het lange termijn effect van vaccinatieprogramma's te berekenen. Hij veronderstelt dat vaccinatie geen effect heeft op konijnen met een hoge concentratie antilichamen in het bloed (titer). Hij komt echter tot de verrassende conclusie dat eenmalige vaccinatie bij een populatie waar om te beginnen weinig tot geen seropositieve konijnen zijn leidt tot afname van de aantallen. Dat komt doordat de verhoogde overleving van de gevaccineerde konijnen leidt tot een verhoogde populatiedichtheid en tot een grotere kracht van de infectie in het jaar volgend op de vaccinatiecampagne.

### 3.6 RHD in Nederland

In Nederland is het onderzoek aan RHD relatief laat gestart. De eerste waarnemingen van sterfte onder wilde konijnen staan in een artikel door Siebenga (1991). Dat is gebaseerd op het vinden van dode konijnen met de symptomen van de peracute fase. Incidenteel zijn dode konijnen pathologisch onderzocht bij de Vakgroep Bijzondere Dieren van de Universiteit Utrecht (schrift. med. H. Lucas, 1992). Dat betreft zowel tamme als wilde dieren. Van de resultaten van deze onderzoeken is geen overzicht beschikbaar. Na het eerste optreden is door de Vakgroep onderzoek gedaan aan tamme konijnen (landelijk) en wilde konijnen (op Texel) van november 1991-februari 1992. Bij 8% van de konijnen van sportfokkers, 1% van de konijnen van commerciële konijnenhouders en 12% van de wilde konijnen bleek (serologisch) dat ze een RHD infectie hadden doorgemaakt (Maanen *et al.*, 1996).

In 2005 is het voorkomen van RHD in Nederland voor het eerst bevestigd door een combinatie van pathologisch en virologisch onderzoek (van de Bildt *et al.*, 2006).

### 3.7 Effect van RHD in Nederland

De sterke achteruitgang van het konijn na 1990 is door ecologen wel toegeschreven aan epidemieën van



RHD (Bijlsma, 2005; Drees en van Manen, 2005). Veldwaarnemingen zijn schaars. Geïnterviewde beheerders melden soms waarnemingen van dode konijnen, of verbaasden zich juist over de onverklaarbaarheid van de achteruitgang (Drees en van Manen, 2004). Op grond van tellingen en afschotgegevens kan men concluderen dat RHD in Nederland heeft geleid tot een afname van de aantallen met 90% tussen 1990 en 2003, met lokale en regionale verschillen (Drees & van Manen, 2005).

Ook in Nederland vertoonde het eerste optreden van RHD een grillig verspreidingspatroon. In 1990 werd in Noordwijk een dood konijn gevonden (Siebenga, 1991), in 1992 in Meijendel (diagnostiek door vakgroep pathologie bijzondere dieren, Utrecht), en pas in 1995 in de Amsterdamse Waterleidingduinen (van Breukelen, 1999). In 1995 had RHD ook al Terschelling bereikt (Lautenbach, 2001). Olff heeft door analyse van de duintellingen aangetoond dat RHD waarschijnlijk in 1992 voor het eerst voorkwam en dat er grote verschillen tussen de duingebieden zijn in de mate waarin de aantallen zijn afgenomen (Olff & Boersma, 1998; Drees & Olff, 2001).

Drees en van Manen (2004, 2005) postuleren dat verschil in de initiële populatiedichtheid de oorzaak is dat sommige populaties zich na 2003 herstelden en andere niet. Dat stemt overeen met de internationale literatuur, waar een drempel van 12 konijnen per km<sup>2</sup> wordt gevonden voor het endemisch worden van RHD. Die drempel is echter doorgerekend voor situaties met een voor konijnen optimaal klimaat, waar het voortplantingsseizoen 8 maanden duurt. Hoewel dezelfde mechanismen werkzaam zullen zijn in Nederland, kan de uitkomst in ons klimaat met een kort voortplantingsseizoen anders zijn. Het zou interessant zijn deze modellen te parametriseren voor de Nederlandse situatie, en de bij beschikbare telreeksen van Nederlandse populaties te zoeken naar een dergelijke drempelwaarde.

### 3.8 Onderzoek in 2005/2006

In 2005/2006 zijn een drietal veldonderzoeken verricht waarbij bloedmonsters zijn verzameld voor bepaling van RHD antilichamen.

#### De Veluwe

Najaar 2005 heeft de heer van Nie op de Veluwe enige konijnen gevangen met de fret en de havik. Doel van dat onderzoekje was het oefenen met methoden, ter voorbereiding op het onderzoek dat in dit rapport wordt besproken. Van 5 konijnen is het serum geanalyseerd met cELISA door de heer van den Bildt, afdeling virologie, Erasmus MC. Ze waren alle negatief. Die uitkomsten zullen worden betrokken bij de 'Conclusies' van dit rapport.

#### IJmuiden

In het kader van een opdracht van Rijkswaterstaat Noord-Holland heeft Drees in de winter van 2006 konijnen gevangen op het sluizencomplex van IJmuiden. Een ruderaal duinterrein met een hoge dichtheid aan konijnen (100 konijnen op 5,6 ha in de winter). Van 17 van deze konijnen zijn bloedmonsters verzameld. Deze zijn ook op dezelfde wijze geanalyseerd als die van de Veluwe 7 van de 17 waren positief.

#### Vergelijking tussen de Noordduinen en het Zwanenwater

Drs. Ranjana van Dijk en Marjolein Kelder hebben onder begeleiding van dr.S.Lumeij van de Vakgroep Bijzondere Dieren, Universiteit Utrecht, en J.M.Drees, VZZ, vergelijkend onderzoek gedaan bij jonge konijnen naar de relatie tussen populatiedichtheid en het voorkomen van maternale antilichamen tegen RHD. Hiervoor werden jonge konijnen gevangen in het Zwanenwater (lagere populatiedichtheid) en de Noordduinen (hoge populatiedichtheid). De analyses hiervoor zijn zowel op het Erasmusmc als op het IZSL lab uitgevoerd. Over



het onderzoek aan jonge konijnen wordt apart gerapporteerd in een wetenschappelijk artikel (Van Dijk, 2007, submitted). In dit rapport worden daarom alleen de gegevens van de adulte konijnen gerapporteerd.



## 4 METHODIEK VELDONDERZOEK

### 4.1 Verzamelen bloedmonsters

Op zes locaties zijn bloedmonsters verzameld.

Op twee locaties is door drs. R.van Dijk in het kader van dit project een onderzoek gedaan naar de immuniteit onder jonge konijnen, namelijk in het Zwanenwater en de Noordduinen. Over dit onderzoek wordt een apart artikel geschreven (Van Dijk, submitted). In het kader van dit onderzoek zijn in de Noordduinen sera van adulte konijnen verzameld, die worden bij onderstaand overzicht betrokken.

Op vier locaties zijn bloedmonsters verzameld door plaatselijke jagers. Zij namen van de door hen gedode dieren een bloedmonster door middel van een hartpunctie. Na 24 uur bezinken bij 5°C werd het serum afgegoten in eppendorf tubes, en bewaard (op 5° C) tot het door Zoogdiervereniging VZZ werd opgehaald. Van de geschoten dieren werd na het bloed afnemen het gewicht, achtervoetlengte en het geslacht bepaald.



Ligging van de bemonsteringslocaties.



De bloedmonsters werden op de volgende locaties verzameld (kaart):

- Noordduinen (duin)
- Spoortalud en industrieterrein bij Schiedam (urbaan).
- De Kampina (natuur, heide).
- Arcen-Velden-Lomm (halfnatuurlijk, agrarisch, urbaan<sup>1</sup>).
- Junner Koeland (natuur).

## 4.2 Gebiedsbeschrijvingen

Zwanenwater en Noordduinen (onderzoek aan levend gevangen konijnen door drs.R. van Dijk)

Beide duingebieden horen tot de kalkarme vastelandsduinen. De buitendünen zijn schaars begroeid met vooral helm. De Noordduinen zijn smal, met meestal maar twee parallel met de kust lopende zandruggeten. De binnendünen zijn daar afgegraven ten behoeve van de bollenteelt. De binnenste zandrug heeft een rijke duinroosvegetatie, die door konijnen kort gehouden wordt.

Het Zwanenwater is veel breder, en staat bekend om zijn natte duinvalleien. Het onderzoeksgebied, het Kiefteglob, is echter droog. Hier komt een vegetatie van de droge kalkarme duinen voor met kraaiheide en buntgras.

### Schiedam

Bij Schiedam ligt een industriegebied tegen het spoor aan. Hier wordt gefretteerd om schade door konijnen tegen te gaan. Het terrein wordt zeer regelmatig gemaaid, de vegetatie bestaat uit kort gras met wat braamruigtes.

### Kampina

Kampina bestaat uit een open heidegebied met vennen in het centrale deel, omgeven door naaldbossen en doorsneden door beken. De beken zijn recent hersteld en de beekdalen vernat.

### Noord-Limburg (Arcen/Velden/Lomm)

Een kleinschalig landbouwgebied met weilanden, bossen en landgoederen. Hoewel de populatiedichtheid van het konijn laag is, zijn er plaatselijk concentraties waar de weilanden aan dekking (bos) grenzen. Op een aantal van deze locaties is van geschoten dieren bloed verzameld.

### Junner Koeland

Een rivierduin langs een afgesneden meander van de Overijsselse Vecht. Zandige ondergrond. De historische beweiding (Koeland) wordt door Staatsbosbeheer voortgezet. Tot 1990 waren hier veel konijnen, die in de sleedoornbosjes goede dekking vonden. Na 1990 zijn de aantallen sterk gedaald, en nog niet hersteld. M.Gleichman (WUR) voert daar jaarlijks tellingen uit. De afschotgegevens vertonen dezelfde trend. Aangezien op het Junner Koeland niet wordt gejaagd, zijn de monsters verzameld op aanliggende, maar qua vegetatie gelijke terreinen

---

<sup>1</sup>De jagers van Arcen-Velden-Lomm hebben ook bloedmonsters verzameld op aanliggende urbane gebieden, zoals campings.



#### 4.3 Schatting dichtheden

Voor de schatting van de dichtheid is gebruik gemaakt van 'expert judgment' van de lokale jagers: zij schatten de dichtheden in als hoog, middel of laag.

#### 4.4 Analyse bloedmonsters

De monsters zijn geanalyseerd door het team van Professor Lavazza van het 'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna' in Brescia, Italië, (IZSL) op voorkomen van antilichamen tegen RHD en myxomatose, volgens het protocol beschreven in Capucci *et al.* (1991) en Cooke *et al.* (2000). Hierbij wordt met cELISA de totale titer (concentratie) antilichamen (immunoglobulinen) bepaald en vervolgens antilichaam-isotypes IgG, IgA en IgM.

Met cELISA wordt bepaald of dieren antilichamen hebben tegen RHD of myxomatose. Immunoglobuline G (IgG) wordt gevormd als reactie op een infectie met RHD-V. Dat kan zowel de pathogene stam als een non-pathogene stam zijn. De eerste reactie op een infectie wordt gegeven door IgM. Die neemt toe in concentratie totdat er voldoende IgG is. De concentratie van IgM in het bloed is dus een indicatie hoe recent de infectie is geweest. Het voorkomen van IgA is een indicatie van de wijze waarop het dier geïnfecteerd is geraakt. IgA wordt gevormd in slijmvliezen, zoals de slokdarm en longen, om de infectie daar tegen te houden. Als dieren zijn gevaccineerd worden geen IgA's gevormd.

Door de combinatie van de titers van de isotypen is het mogelijk om de geschiedenis van de infectie te achterhalen. Herhaald contact met het virus leidt tot hoge IgG en IgA. Een hoge IgM duidt op een recente infectie.



## 5. RESULTATEN VELDONDERZOEK

### 5.1 Aantallen bemonsterde dieren en dichtheden

In totaal werden 79 dieren op 5 locaties bemonsterd. De dichtheden zijn ingeschat door de jagers en onderzoekers (tabel 5.1).

Tabel 5.1. Aantallen monsters per deelgebied.

| Gebied                   | Aantal bemonsterde dieren | Geschatte dichtheid <sup>1</sup> |
|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| Noordduinen <sup>2</sup> | 5                         | ++                               |
| Schiedam                 | 23                        | ++                               |
| Kampina                  | 5                         | -                                |
| Arcen/Velden/Lomm        | 27                        | +                                |
| Junner Koeland           | 19                        | -                                |
| <i>Totaal</i>            | <i>79</i>                 |                                  |

<sup>1</sup> m.b.v. expert judgment: ++ hoge dichtheid; - lage dichtheid.

<sup>2</sup> Verzameld door R. Van Dijk

### 5.2 Resultaten analyses van antilichamen

#### 5.2.1 RHD en myxomatose algemeen

Een volledige tabel van de analyseresultaten van het IZSL is als bijlage bij dit rapport gevoegd. Tabel 5.2 geeft een samenvatting.

Van alle monsters bleken slechts 5 sera geen RHD-V antilichamen te bevatten of twijfelachtig te zijn, in alle andere monsters waren antilichamen van RHD aanwezig (Positief met RHD, tabel 5.2). De titers (concentraties) gevonden in cELISA worden door Lavazza beschouwd als opgewekt (geïnduceerd) door een pathogene stam van RHD-virus. In sommige gevallen is een hoog getal gevonden voor de verhouding IgGELISA titer / cELISA titer. Dat zou een gevolg kunnen zijn van de hogere gevoeligheid van de IgGELISA voor de aanwezigheid van antilichamen van andere RHD-V stammen.

Een cELISA titer hoger dan 40 en IgA titer hoger dan 160 duidt op herhaaldelijk contact met het virus (Henning *et al.*, 2006b). Dan is RHD endemisch in de populatie.

Voor bepaling van voorkomen van myxomatose is de aan- of afwezigheid van antilichamen gemeten. De genetische immuniteit is niet gemeten.



Tabel 5.2. Percentages van dieren per terrein geïnfecteerd geweest met RHD en Myxomatose. % positief voor RHD: titer cELISA hoger dan 40. % meermaals: percentage van de bemonsterde dieren dat meermaals in aanraking geweest met RHD: titer cELISA is hoger dan 40 en IgA titer is hoger dan 160. % positief voor myxomatose: percentage van de bemonsterde dieren dat een positieve titer op antilichamen myxomatose. n: aantal geanalyseerde monsters. Enkele van de verzamelde monsters konden niet worden geanalyseerd.

| Gebied            | % positief met RHD (n) | % meermaals (n) | % positief myxomatose (n) |
|-------------------|------------------------|-----------------|---------------------------|
| Noordduinen       | 60(5)                  | 60(5)           | -- <sup>2</sup>           |
| Schiedam          | 65 (20)                | 15 (20)         | 90 (20)                   |
| Kampina           | 100 (5)                | 0 (5)           | 0 (5)                     |
| Arcen/Velden/Lomm | 70 (27)                | 52 (27)         | 88 (24)                   |
| Junner Koeland    | 68 (19)                | 11 (19)         | 29 (14)                   |

<sup>1</sup> Verzameld door R. Van Dijk

<sup>2</sup> Niet bepaald

Alle dieren, ook die geen antilichamen (cELISA) hebben tegen RHD virus, hadden een hoge titer van antilichamen tegen RHD-gelijkende stammen (IgG). De infectiegraad lijkt niet te verschillen tussen de gebieden met verschillende (geschatte) populatiedichtheden.

### 5.2.2 Resultaten per gebied

#### Noordduinen (5 sera)

In dit gebied werden 5 adulte dieren bemonsterd binnen het kader van een onderzoek naar antilichamen bij jonge dieren. Van deze dieren bleken er 3 meermaals met RHD in contact te zijn geweest. RHD lijkt dus endemisch in deze populatie.

#### Schiedam (20 sera)

65% van de konijnen zijn positief, dat wil zeggen hebben antilichamen tegen RHD-Virus. RHD is endemisch in deze populatie. Een aantal konijnen met IgA duidt op een oud contact met de pathogene vorm van RHD- virus. 90% van de konijnen heeft immuniteit tegen myxomatose.

#### Kampina (5 sera)

Hoewel alle 5 konijnen immuniteit hebben, lijkt er geen situatie te bestaan waarin RHD-Virus endemisch is. De 5 bemonsterde konijnen hebben geen immuniteit tegen myxomatose.

#### Arcen/Velden/Lomm (27 sera)

In Noord-Limburg is 70% van de konijnen positief voor RHD-Virus en 88% voor myxomatose. RHD-Virus lijkt hier endemisch. Arcen 1 is het enige deel gebied waar sommige konijnen IgM positief zijn, het geen betekent dat RHD infectie daar recenter is opgetreden dan elders.

#### Junner Koeland (19 sera)

Alle bemonsterde konijnen zijn adulten. De immuniteit tegen RHD (68% positief) is verkregen tijdens een



infectie van enige tijd geleden. Er zijn een aantal konijnen met lage IgG en hoge IgA, hetgeen veroorzaakt kan zijn door een niet-pathogeen RHD-Virus of een daaraan verwant virus. De immuniteit tegen myxomatose lijkt verdwenen.



## 6. CONCLUSIES

RHD blijkt in Nederland heel algemeen voor te komen. Dit is interessant, omdat zieke of dode dieren nog maar zeer weinig worden gevonden. De ziekte grijpt dus ongemerkt om zich heen. In elke onderzochte populatie komen dieren voor met verworven immuniteit: antilichamen tegen RHD als gevolg van een doorstane infectie. Het percentage immune dieren verschilt niet significant per populatie.

Drees en van Manen (2004) beschreven op grond van interviews met beheerders al dat in elke populatie vroeger of later een keer een RHD epidemie was geweest. Zij vermoedden echter dat de hoge dichtheden in urbane situaties een gevolg waren van de relatieve isolatie. Ook werd het slechte herstel van de populaties in zuid- en oost Nederland geweten aan het niet-endemisch zijn van RHD door de lage dichtheden in de regio (Drees, 2007).

Dat RHD nog steeds zo wijd verbreid is, is dus een verrassend resultaat.

### *Andere stammen*

Alle dieren, ook die geen antilichamen (cELISA) hebben tegen RHD virus, hadden een hoge titer van antilichamen tegen RHD-gelijkende stammen (IgG). Dit duidt op een de aanwezigheid van andere calici-virussen dan RHD-V, dan wel op aanwezigheid van een non-pathogene RHD-stam.

### *Endemisch?*

Onder endemisch verstaan wij het regelmatig terugkeren of permanent aanwezig zijn van het virus in de populatie. Volgens deze definitie is RHD alleen niet endemisch in de Kampina.

### *Myxomatose*

Door de lage dichtheden van de konijnen na 1990 is myxomatose in sommige regio's verdwenen. Dat geldt met name in de Kampina en Junner Koeland. Dat maakt deze gebieden kwetsbaar voor uitbraken van deze ziekte.

### *Samenvattend*

Zowel het onderzoek van Van Dijk (2007) als dit onderzoek met door jagers verzamelde bloedmonsters geven sterke aanwijzingen dat RHD bijna overal in Nederland voorkomt, maar plaatselijk (Zwanenwater, Kampina) steeds weer verdwijnt. Myxomatose is overal in Nederland geweest, maar inmiddels zijn er populaties die geen verworven immuniteit (antilichamen) tegen myxomatose meer hebben. Dat belemmert het herstel van de aantallen.



## 7. AANBEVELINGEN

Wat voor aanbevelingen zijn uit deze studie te trekken voor natuurbeheerders die de stand van het konijn in hun gebied willen bevorderen?

- 1) De voornaamste waarschuwing is dat er bij een lage dichtheid mogelijk weinig weerstand tegen RHD en myxomatose op kan bouwen: bij lage dichtheden zijn de percentages dieren met antilichamen klein. Bij lage dichtheden kan de populatie moeilijk uit het dal komen. Hoge dichtheden zijn de beste remedie tegen het optreden van epidemieën.
- 2) Bij toename van de aantallen is er een grote kans is dat daarin toch infecties optreden. Dat zal tot teleurstellingen leiden.
- 3) Het advies is: geduld en volhouden totdat deze ziekten endemisch zijngeworden.
- 4) Een wijze om meer inzicht te krijgen in de Nederlandse situatie is om de in het buitenland ontwikkelde mathematische modellen van de interactie tussen konijn en RHD te parametriseren voor Nederland. Hiervoor kunnen de gegevens uit deze studie een basis vormen.

Als een beheerder wil begrijpen wat er gebeurd, is Zoogdiervereniging VZZ (met het ISZL) bereid om te helpen door de populatie te bemonsteren.



## 8 LITERATUUR

Arguëllo, J.L., 1991. Viral haemorrhagic disease of rabbits: vaccination and immune response. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International de Epizooties* 10:459-480.

Breukelen, L. van, 1999. Bsmetting van konijnen in de Amsterdamse Waterleidingduinen met het Viraal Haemorrhagisch Syndroom (VHS). Publ. Gemeentewaterleidingen Amsterdam, sector Ecologie.

Bijlsma, R.G., 2004. Long-term trends of rabbits *Oryctolagus cuniculus* on Pleistocene sands in the central and northern Netherlands. *Lutra* 47, 3-20.

Calvete, C., 2006. The use of immunization programs in wild populations: Modelling effectiveness of vaccination campaigns against rabbit haemorrhagic disease. *Biological Conservation* 130: 290–300.

Calvete, C., R. Estrada, R. Villafuerte, J.J. Osácar & J. Lucientes, 2002. Epidemiology of viral haemorrhagic disease and myxomatosis in a free-living population of wild rabbits. *The Veterinary Record* 150:776-782.

Calvete, C., R. Estrada, J. Lucientes, J. & R. Villafuerte, 2004. Short-term effects of vaccination campaigns against myxomatosis and viral haemorrhagic disease (VHD) on the survival of European wild rabbits. *Journal of Wildlife Management* 68:198-205.

Capucci, L., A. Lavazza, 1991. Diagnosis of viral haemorrhagic disease of rabbits and the European brown hare syndrome. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties* 10:347-370.

Capucci, L., P. Fusi, A. Lavazza, M.L. Pacciarini & C. Rossi, 1996. Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to Rabbit Hemorrhagic Disease Virus but nonpathogenic. *Journal of Virology* 70(12): 8614-8623.

Chasey, D., R.C. Trout, S. Edwards, 1997. Susceptibility of wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in the United Kingdom to rabbit haemorrhagic disease (RHD). *Veterinary Research* 28(3): 271-276.

Cooke, B.D., 2002. Rabbit haemorrhagic disease: field epidemiology and the management of wild rabbit populations. *Revue scientifique et technique d'Office international de l'Epizootie* 21: 347-358.

Cooke, B.D., A.J. Robinson, J.C. Merchant, A. Nardin & L. Capucci, 2000. Use of ELISAs in field studies of rabbit haemorrhagic diseases (RHD) in Australia. *Epidemiology and Infection* 124: 563-576.

Cooke, B. & F. Fenner, 2002. Rabbit haemorrhagic disease and the biological control of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in Australia and New Zealand. *Wildlife Research* 29: 689-706.

Cooke, B.D., S. McPhee, A.J. Robinson & L. Capucci, 2002. Rabbit haemorrhagic disease: does a pre-existing RHDV-like virus reduce the effectiveness of RHD as a biological control in Australia? *Wildlife Research* 29: 673-682.



Drees, J.M. & H. Olff. 2001. Rabbit grazing and rabbit counting. In: Coastal dune management. Eds. J.A. Houston, S.E. Edmonson and P.J. Rooney. Liverpool University Press. pp.86-95.

Drees, J.M. & Y.J. van Manen, 2004. De situatie van het konijn in Nederland in relatie tot RHD. Rapport in opdracht van ministerie van LNV. Niet gepubliceerd. Te raadplegen op: [www.marijkdrees.nl](http://www.marijkdrees.nl).

Drees, J.M. & Y. van Manen, 2005. Hoe gaat het met het konijn? SOVON Nieuws 18(1):12.

Ferreira, P., A. Costa-E-Silva, E. Monteiro, A.P. Águas, 2004, Rabbit haemorrhagic disease (RHD): Liver ultrastructure of rabbits that are resistant or susceptible to calicivirus infection, 2nd World Lagomorph Conference Abstract Book, pp. 192.

Forrester, N.L., R.C. Trout, S.L. Turner, D. Kelly, B. Boag, S. Moss & E.A. Gould, 2006. Unravelling the paradox of rabbit haemorrhagic disease virus emergence, using phylogenetic analysis ; possible implications for rabbit conservation strategies. *Biological Conservation* 131 :296 - 306.

Henning, J., P.R. Davies & J. Meers, 2006a. Seropositivity to rabbit haemorrhagic disease virus in non-target mammals during periods of viral activity in a population of wild rabbits in New Zealand. *Wildlife Research* 33:305-311.

Henning, J., D.U. Pfeiffer, P. R. Davies, J. Meers & R. S. Morris, 2006b. Temporal dynamics of rabbit haemorrhagic disease virus infection in a low-density population of wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in New Zealand. *Wildlife Research* 33:293-303.

Lautenbach, P., 2001. Het Eilandkonijn. Uitg. van Gorcum, Assen.

Lenghaus, C., M.J. Studdert & D. Gavier-Widén, 2001. Calicivirus infection. In: *Infectious Diseases of Wild Mammals*, 3rd. ed. Eds. I. Barker & E. Williams, p.280-291.

Lenghaus, C. & R.K. Munro, 1994. The RHD project in Australia In: *Rabbit Haemorrhagic Disease: Issues in Assessment of Biological Control* (Eds. R.K. Munro & R.T. Williams): 108-125.

Lutz, W., 2004. Zur Naturgeschichte des Wildkaninchens. *LÖBF-Mitteilungen* (1): 12-16.

Maanen, C. van, N.H.M.T. Peperkamp, S.G.Th. Zuithoff, G.H.M. van Logtestijn, D.R. Mekkes, H.W.A. van de Sande & M.H. van der Hage, 1996. Viral haemorrhagic disease: een overzicht en eigen bevindingen. *Tijdschrift Diergeneeskunde* 121:184-188.

Marsman, G.J.P. & S. Siebenga, 2002. Mysterieuze konijnenziekte VHS, snel en dodelijk. *De Nederlandse Jager* 107 (2):8-10.

McColl, K.A., J.C. Merchant, J. Hardy, B.D. Cooke, A. Robinson, & H.A., Westbury, 2002. Evidence for insect transmission of rabbit haemorrhagic disease virus, *Epidemiology and Infection*, 129 (3) 655-663.

Mutze, G., P. Bird, J. Kovaliski, D. Paacock, S. Jennings & B. Cooke, 2002. Emerging epidemiological patterns



in rabbits haemorrhagic disease, its interaction with myxomatosis, and their effects on rabbit populations in South Australia. *Wildlife Research* 29:577-590.

Olf, H. & S.F. Boersma, 1998. Lange termijn veranderingen in de konijnenstand van de Nederlandse duingebieden. Oorzaken, en gevolgen voor de vegetatie. Leerstoelgroep Natuurbeheer en Plantenecologie, Wageningen Universiteit.

Osacar-Jimenez J.J., J. Lucientes-Curdi, C. Calvete-Margolles, 2001, Abiotic factors influencing the ecology of wild rabbit fleas in north-eastern Spain. *Medical and Veterinary Entomology* 15 (2): 157-166.

Saunders, G., D. Choquenot, J. McIlroy, R. Packwood, 1999. Initial effects of rabbit haemorrhagic disease on free-living rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) populations in Central- Western New South Wales. *Wildlife Research* 26 (1) 69-74.

Siebenga, S., 1991. Virusziekte bij hazen (EHBS) en konijnen (VHS) nu ook in Nederland. *De Nederlandse Jager* 96: 4-6.

Siebenga, S., 2002. Konijnen. Een schaars goed maar ook talrijk.. *De Nederlandse Jager* 107 (18): 12-14.

Story, G., D. Berman, R. Palmer, J. Scanlan, 2004. The impact of rabbit haemorrhagic disease on wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) population in Queensland. *Wildlife Research* 31: 183-193.

Twigg, L.E., A.G. Wheeler, & J. Parkinson, 1997. Adverse reactions in wild, free-ranging European rabbits vaccinated against rabbit haemorrhagic virus. *Australian Veterinary Journal* 75: 448-449.

Van de Bildt, M. W. G., G. H. van Bolhuis, F. van Zijderveld, D. van Riel, J. M. Drees, A. D. M. E. Osterhaus, & T. Kuiken, 2006. Confirmation and phylogenetic analysis of Rabbit Hemorrhagic Disease virus in free-living rabbits from the Netherlands. *Journal of Wildlife diseases* 42 (4): 808-812.

R. K. van Dijk en J. T. Lumeij (in prep.) RHD antibodies in relation to rabbit density The Netherlands. The relationship between the prevalence of antibodies against Rabbit Haemorrhagic Disease and the population density of wild rabbits in the Netherlands province Noord-Holland.

Villafuerte, R., C. Calvete, C. Gortazar & S. Moreno, 1994. First epizootic of rabbit haemorrhagic disease in free living populations of *Oryctolagus cuniculus* at Donana National Park, Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 30(2): 176-179.

Villafuerte, R., C. Calvete, J.C. Blanco en J. Lucientes, 1995. Incidence of viral hemorrhagic disease in wild rabbit populations in Spain. *Mammalia* 59: 651-659.

Westbury, H. & R.K. Munro, 1994. A review of the scientific literature relating to RHD. In: *Rabbit Haemorrhagic Disease: Issues in Assessment of Biological Control* (Eds. R.K. Munro & R.T. Williams), pp. 96-105.



## BIJLAGE 1

Volledige lijst van analyse-resultaten.

| Hoofd-<br>gebied | Deelgebied | Gewicht | Geslacht | RHDV<br>cELISA | RHDV<br>IgA | RHDV<br>IgG | RHDV<br>IgM | Myx  |
|------------------|------------|---------|----------|----------------|-------------|-------------|-------------|------|
| Limburg          | Velden2_1  | 1150    | F        | 80             | 640         | 20580       | N           | D    |
| Limburg          | Velden2_2  | 1750    | F        | 320            | 160         | >40960      | N           | 160  |
| Limburg          | Velden2_3  | 1550    | M        | 80             | 10240       | 40960       | N           | 320  |
| Limburg          | Velden2_4  | 1300    | M        | 20             | 160         | 40960       | N           | N    |
| Limburg          | Velden2_5  | 1450    | F        | 80             | 80          | 20580       | N           | 320  |
| Limburg          | Velden3_1  | 1200    | F        | 10             | 40          | 1280        | N           | 320  |
| Limburg          | Velden3_2  | 900     | F        | 80             | 1280        | 10240       | N           | 80   |
| Limburg          | Velden3_3  | 1410    | M        | 80             | 160         | 10240       | N           | D    |
| Limburg          | Velden3_4  | 1700    | F        | 40             | 40          | 5120        | N           | 80   |
| Limburg          | Velden3_5  | 1750    | F        | 160            | 160         | 40960       | N           | 320  |
| Limburg          | Arcen2_1   | 1700    | M        | 20             | 160         | 10240       | N           | 320  |
| Limburg          | Arcen2_2   | 1700    | F        | 20             | 160         | 20580       | N           | 1280 |
| Limburg          | Arcen2_3   | 1750    | F        | 10             | 40          | 40960       | N           | 320  |
| Limburg          | Arcen2_4   | 1600    | F        | 160            | 80          | 40960       | N           | 320  |
| Limburg          | Arcen2_5   | 900     | F        | D              | N           | 160         | N           | 80   |
| Limburg          | Arcen1_1   | 1550    | F        | 40             | 40          | 40960       | N           | N    |
| Limburg          | Arcen1_2   | 1100    | F        | 160            | 2560        | 40960       | 320         | 320  |
| Limburg          | Arcen1_3   | 1500    | M        | 320            | 10240       | >40960      | 40          | N    |
| Limburg          | Arcen1_4   | 1800    | M        | 40             | 160         | 5120        | N           | 20   |
| Limburg          | Arcen1_5   | 1650    | F        | 40             | 640         | 40960       | N           | 160  |
| Limburg          | Arcen1_6   | 1700    | F        | 160            | 320         | >40960      | N           | 640  |
| Limburg          | Arcen1_7   | 1650    | M        | 80             | 5120        | 5120        | N           | 5120 |
| Limburg          | Arcen1_8   | 1800    | M        | 40             | 40          | >40960      | 40          | 320  |
| Limburg          | Arcen1_9   | 1700    | F        | 20             | 1280        | 20580       | N           | 320  |
| Limburg          | Arcen1_10  | 1700    | M        | 640            | 1280        | >40960      | 40          | 320  |
| Limburg          | Lomm-1     | 1050    | F        | D              | N           | 5120        | N           | D    |
| Limburg          | Lomm-2     | 1600    | M        | 80             | 320         | 40960       | N           | 640  |
| Junner           | J1         | 1700    | F        | P              | N           | 5120        | N           | N    |
| Junner           | J2         | 1700    | M        | P              | 40          | 2560        | N           | N    |
| Junner           | J3         | 1500    | F        | 160            | 40          | 20580       | N           | D    |
| Junner           | J4         | 1700    | M        | 40             | 40          | 20580       | N           | D    |
| Junner           | J5         | 1500    | F        | 20             | 640         | 2560        | N           | D    |
| Junner           | J6         | 1500    | M        | 40             | 160         | 20580       | N           | N    |
| Junner           | J7         | 1400    | F        | D              | N           | 2560        | N           | N    |
| Junner           | J8         | 1500    | F        | 20             | 40          | 40960       | N           | D    |
| Junner           | J9         | 1500    | F        | 80             | 640         | >40960      | N           | N    |
| Junner           | J10        | 1500    | M        | 80             | 40          | 20580       | N           | N    |
| Junner           | J11        | 1400    | M        | 80             | 40          | 10240       | N           | N    |



| Hoofd-<br>gebied | Deelgebied /<br>monster-code | Gewicht | Geslacht | RHDV<br>cELISA | RHDV<br>IgA | RHDV IgG | RHDV<br>IgM | Myx   |
|------------------|------------------------------|---------|----------|----------------|-------------|----------|-------------|-------|
| Junner           | J12                          | 1600    | F        | 80             | 40          | 20580    | N           | 640   |
| Junner           | J13                          | 1400    | F        | 80             | N           | 5120     | N           | N     |
| Junner           | J14                          | 1500    | M        | 20             | 40          | 10240    | N           | N     |
| Junner           | J15                          | 1550    | F        | P              | N           | 5120     | N           | N     |
| Junner           | J16                          | 1450    | F        | 20             | N           | 2560     | N           | 20    |
| Junner           | J17                          | 1500    | M        | P              | N           | 2560     | N           | N     |
| Junner           | J18                          | 1500    | F        | 10             | 40          | 20580    | N           | 160   |
| Junner           | J19                          | 1550    | F        | P              | N           | 20580    | N           | D     |
| Kampina          | K1                           | 1510    | M        | 80             | 40          | 40960    | N           | N     |
| Kampina          | K2                           | 1700    | F        | 80             | 40          | >40960   | N           | N     |
| Kampina          | K3                           | 1520    | F        | P              | N           | 5120     | N           | N     |
| Kampina          | K4                           | 1520    | M        | 160            | 40          | 20580    | N           | N     |
| Kampina          | K5                           | 1600    | F        | 320            | 80          | 40960    | N           | N     |
| Schiedam         | NS4                          | 1750    | v        | 40             | 40          | 20580    | N           | 640   |
| Schiedam         | NS5                          | 1700    | v        | 80             | N           | 2560     | N           | 2560  |
| Schiedam         | NS6                          | 1700    | v        | 20             | N           | 2560     | N           | 640   |
| Schiedam         | NS7                          | 1500    | v        | 80             | N           | 20580    | N           | 5120  |
| Schiedam         | NS8                          | 1750    | m        | 80             | N           | 10240    | N           | 80    |
| Schiedam         | NS9                          | 1800    | m        | N              | N           | 320      | N           | 320   |
| Schiedam         | NS10                         | 1750    | m        | 40             | N           | 5120     | N           | 160   |
| Schiedam         | NS11                         | 1450    | m        | P              | N           | 5120     | N           | 640   |
| Schiedam         | NS12                         | 900     | v        | N              | N           | 640      | N           | 10240 |
| Schiedam         | NS13                         | 1750    | m        | 20             | 40          | 2560     | N           | N     |
| Schiedam         | NS14                         | 1700    | m        | 20             | N           | 5120     | N           | 320   |
| Schiedam         | NS17                         | 1700    | v        | 40             | 40          | 20580    | N           | 160   |
| Schiedam         | NS18                         | 1450    | v        | 80             | N           | >40960   | N           | N     |
| Schiedam         | NS19                         | 1700    | m        | 160            | 40          | 10240    | N           | 80    |
| Schiedam         | NS20                         | 1700    | v        | 80             | 40          | 20580    | N           | 320   |
| Schiedam         | NS21                         | 1600    | m        | 20             | N           | 5120     | N           | 160   |
| Schiedam         | NS22                         | 1500    | v        | 320            | 640         | 40960    | N           | 320   |
| Schiedam         | NS23                         | 1700    | v        | 40             | N           | 10240    | N           | 160   |
| Schiedam         | NS24                         | 1500    | v        | 80             | 40          | 20580    | N           | 320   |
| Schiedam         | NS25                         | 1700    | m        | 20             | 80          | 10240    | N           | 640   |
| Noorduinen       | 10                           | 1500    |          | 160            | 640         |          | 400         | -     |
| Noorduinen       | 12                           | 1800    |          | 640            | N           | N        | 1600        | -     |
| Noorduinen       | 14                           | 1800    |          | 160            | N           | N        | 2000        | -     |
| Noorduinen       | 28                           | 1520    |          | N              | N           | N        | 400         | -     |
| Noorduinen       | 29                           | 1020    |          | N              | N           | N        | N           | -     |

**Legenda**

N Negatief bij 1/10 verdunning van serum

D Niet bepaalbaar

P Positief

Als andere waarden worden aangegeven, slaat dit op een verdunning van 1/(dat getal).

