



Westnijlvirusinfectie Richtlijn



Samenvatting

Verwekker: westnijlvirus

Besmettingsweg: Vrijwel altijd door een beet van een volwassen vrouwelijke geïnfecteerde mug.

Incubatietijd: 2-14 dagen, meestal 2-6 dagen

Besmettelijke periode: Onbekend.

Maatregelen: In geval van recente bloeddonatie door de patiënt de bloedbank inlichten.

Symptomen: Asymptotisch, soms griepachtig ziektebeeld en in 1% neurologische verschijnselen zoals (meningo-)encefalitis, meningitis of westnijlpoliomyelitis.

Versiebeheer

Update van november 2015 vastgesteld LOI:

- zoönoseparagrafen door zoönosewerkgroep
- aanvullingen door Barry Rockx (IDS/Cib/RIVM) en Natalie Cleton (Erasmus MC) met name op het gebied van verspreiding (recente importgevallen en verspreiding in de wereld)

Wijzigingen daarna:

- Maart 2019: actualisatie cijfers en literatuur in paragraaf epidemiologie
- Januari 2017: actualisatie paragraaf Diagnostiek (vastgesteld door NVMM)

Ziekte & Besmettelijkheid

Verwekker

Het WNV behoort tot de familie der *Flaviviridae*, genus *Flavivirus* en wordt, op basis van serologische overeenkomsten, ingedeeld bij de groep van Japanse-encefalitisvirussen (samen met onder andere Japanse encefalitis, Murrey-Valley-encefalitis en St. Louis-encefalitisvirussen). Het zijn enkelstrengs-RNA-virussen en zij bezitten een envelop. Op basis van sequentiedata kunnen er vijf typen WNV worden onderscheiden, lineage 1 - 5. [6] WNV lineage 1 is beschreven bij epidemische verheffingen en komt in grote delen van de wereld voor, terwijl WNV lineage 2 zich vooral lijkt te beperken tot delen van Afrika, waaronder Madagascar, en Europa (zie § 6.2). [7] Overige lineages zijn minder sterk geassocieerd met uitbraken.

Pathogenese

Nadat het WNV door een muggenbeet het lichaam binnenkomt, vermenigvuldigt het zich in de huid en in de perifere lymfeklieren. Het vervolgens ontstaan van ziekte is waarschijnlijk afhankelijk van virusspecifieke factoren (het envelopeiwit en het niet-structureel eiwit 5 zijn waarschijnlijk belangrijke virulentiefactoren) en van gastheerspecifieke factoren: afhankelijk van onder andere de intensiteit van de secundaire viremie (groter bij ouderen en immuungecompromiteerden) infecteert het virus het centraal zenuwstelsel. Bij minder dan 1% van de infecties tast het virus het centrale zenuwstelsel aan. Ook kan het virus bij ouderen mogelijk makkelijker de bloed-hersenbarrière passeren door vasculaire schade, opgetreden door bijvoorbeeld hypertensie of cerebrovasculaire ziekte. [1,8]

Incubatieperiode

2-14 dagen, meestal 2-6 dagen. [1]

Paarden kunnen als sentinel ('verklikker') fungeren voor WNV. In dit kader kan voor paarden een incubatietijd worden aangehouden van 3 tot 15 dagen. Als het virus ineens bij paarden voorkomt in een niet-endemisch land, kan dat een teken zijn dat ook mensen via muggen kunnen worden geïnfecteerd. De paarden zijn geen besmettingsbron voor mensen (dead-end host).

Ziekteverschijnselen

Bij de mens verlopen de meeste infecties asymptomatisch, soms met een griepachtig ziektebeeld en in 1% kan de infectie leiden tot neurologische verschijnselen zoals (meningo-)encefalitis, meningitis of myelitis zich manifesterend als acute slappe verlamming.

Tabel 1. Ziekteverschijnselen.

Ziektebeeld	Voorkomen
Asymptomatisch	ongeveer 80%
Griepachtig beeld (westnijlkoorts): <ul style="list-style-type: none"> • plotseling opkomende koorts > 39°C; • hoofdpijn; • spierpijn; • gastro-intestinale symptomen. Deze zijn binnen 1 week verdwenen. Ook treedt hierbij bij 25-50% huiduitslag en lymfadenopathie op.	ongeveer 19%
Griepachtig beeld met ernstige neurologische verschijnselen. Op grond van het klinisch beeld: <ul style="list-style-type: none"> • 55-60% westnijlencefalitis (of meningo-encefalitis); • 35-40% als westnijlmeningitis • 5-10% als westnijlacute flaccid myelitis (AFP) 	ongeveer 1%

Westnijlmeningitis verloopt als een typische virale meningitis. Van de gevallen die geen progressie vertonen naar een meningo-encefalitis is de case fatality rate < 1%.

Westnijl-encefalitis (westnijlmeningo-encefalitis) kan beginnen met een prodromale fase met koorts, maar kan ook plotseling ontstaan met hoofdpijn, neurologische verschijnselen en overgeven. In 15% van deze gevallen leidt dit tot cerebrale dysfunctie en coma, soms met verlaagde peesreflexen, diffuse spierzwakte, slappe parese (deze verschijnselen zijn zeldzaam bij andere oorzaken van encefalitis) en respiratoire dysfunctie. De geschatte case fatality rate van westnijlencefalitis is 20% [10].

Langetermijsymptomen (maanden tot jaren na de acute ziekte) kunnen voorkomen en deze uiten zich als extreme moeheid of persisterende loopstoornissen of cognitieve klachten [10].

WestnijlAFP uit zich als acute, vaak asymmetrische zwakte of paralyse van ledematen waarbij soms de ademhalingsspieren zijn betrokken. Het kan voorkomen zonder koorts of andere symptomen. De CFR wordt geschat op 10-50% [10].

Zeldzame niet-neurologische complicaties zijn myocarditis, pancreatitis en fulminante hepatitis. Zeldzame neurologische complicaties zijn neuritis optica, rhombencefalitis en polyradiculitis.

Natuurlijke immuniteit

Na het doormaken van een infectie wordt er een blijvende immuniteit tegen WNV opgebouwd. In endemische gebieden, zoals in de Nijldelta, zijn volwassenen meestal immuun tegen de ziekte en komen klinische symptomen vooral bij kinderen voor.

Reservoir: dierlijke bron

(Trek)vogels maken een hoge viremie door zonder ziekteverschijnselen en verspreiden het virus naar andere gebieden. WNV-infectie is serologisch aangetoond in meer dan 300 verschillende vogelsoorten. Sommige vogelsoorten, zoals kraaien en kauwen, kunnen acuut ziek worden en sterven, maar de meeste vogels overleven een infectie. Na blootstelling aan het virus volgt een viremische fase van 1-4 dagen waarna levenslange immuniteit ontstaat. WNV komt in ieder geval enzootisch voor in Afrika, de VS, Canada, Midden-Amerika en delen van Zuid-Amerika. In Europa is het virus waarschijnlijk aanwezig in vogels in gebieden rond de Middellandse Zee, en mogelijk in haarden in Midden-Europa zoals Hongarije en Bulgarije.

Eindgastheren, 'dead end hosts', zoals mensen, paarden en andere zoogdieren (honden [19], katten, wilde varkens) kunnen geïnficeerd worden, maar ontwikkelen een onvoldoende viremie om het virus verder effectief te kunnen verspreiden via muggen. Honden kunnen mogelijk net als paarden een indicator voor de verspreiding van WNV zijn. Deze zoogdieren vormen om bovenstaande reden geen besmettingsbron voor de mens.

Besmettingsweg

Infectie van de mens met het WNV komt vrijwel altijd tot stand door een beet van een volwassen vrouwelijke geïnficeerde mug. Daardoor is infectie bij de mens ook seizoensgebonden, namelijk gerelateerd aan activiteit van muggen.

Mensen kunnen worden geïnficeerd door contact met bloed of ingewanden van geïnficeerde dieren.

Overdracht door bloedtransfusie, orgaantransplantatie, prikaccidenten, intra-uteriene verticale transmissie en mogelijk transmissie via borstvoeding, zijn inmiddels ook beschreven [11,24,25,26,27].

[**Veterinair**] Vogels worden door muggen geïnfecteerd, roofvogels en aasetende vogels kunnen daarnaast door het eten van besmette vogels worden geïnfecteerd [28].

WNV vermenigvuldigt zich in bepaalde muggensoorten, die het virus vervolgens tijdens het voeden overdragen op andere dieren. Het WNV is tot op heden uit meer dan honderd verschillende soorten steekmuggen geïsoleerd, hoofdzakelijk behorend tot het geslacht *Culex* en in mindere mate het *Aedes*-geslacht [20,21,22,23].

De verschillende *Culex*-species komen voor in Afrika, het Midden-Oosten, Azië en Noord-Amerika. Ze broeden in stilstaand water en zijn vooral actief tussen schemering en zonsopgang. Verder is het virus ook uit harde (*Ixodidae*) en zachte (*Argasidae*) teken geïsoleerd en is uit laboratoriumstudies gebleken dat zij WNV kunnen overdragen, maar hun rol in de verspreiding van de ziekte is niet duidelijk [21].

Besmettelijke periode

Niet bekend is hoe lang het virus door bloed-bloedcontact van mens op mens overdraagbaar is. Het virus is in het bloed aantoonbaar van ongeveer 2 dagen voor tot ongeveer 4 dagen na de eerste symptomen [1].

Besmettelijke periode

Vogels zijn ten minste gedurende een week viremisch en daarmee infectieus voor muggen [29]. Sommige vogels kunnen via feces en speeksel een week lang virus uitscheiden. Roofvogels en aasetende vogels kunnen worden geïnfecteerd door het eten van besmette vogels [28].

Besmettelijkheid

Beschreven is incidentele overdracht van mens op mens door bloedtransfusie, orgaandonatie, prikaccidenten, intra-uteriene transmissie en via borstvoeding [29].

Diagnostiek

Met medewerking van de NVMM.

Zie ook het [Diagnostisch Vademecum West Nile-virus](#)

Specifieke, op WNV gerichte diagnostiek is in Nederland mogelijk bij:

- de WHO Reference and Research Centre for Arboviruses and Hemorrhagic Fever Viruses, Erasmus MC, Afdeling Viroscience in Rotterdam
- het RIVM (CIb/IDS).

Microbiologische diagnostiek

Directe diagnostiek

Met behulp van PCR kan tijdens de acute fase (meestal binnen 5 dagen na het ontstaan van koorts) het genoom van WNV worden aangetoond in bloed, liquor weefsel en eventueel urine. Door de korte viremie van WNV is de sensitiviteit van het uitvoeren van een PCR in een positief monster binnen 3 dagen na koorts symptomen, maar 50-55% in serum. Na aanvang van neurologische klachten heeft PCR op serum geen toegevoegde waarde, maar levert PCR op liquor nog in ongeveer 50% van de gevallen nog een positieve uitslag op. Het is daarom essentieel materiaal van patiënten met koorts, dat binnen 3 dagen na eerste ziektedag is afgenomen, zowel met PCR als serologie te testen.

Indirecte diagnostiek

Serologie

Acute infectie is aan te tonen door IgM-antistoffen in het serum of in liquor met behulp van een ELISA of een immunofluorescentie assay (IFA). WNV-specifieke IgM-antistoffen zijn bij de meeste patiënten vanaf 3-8 dagen na aanvang van de koorts detecteerbaar en blijven dat doorgaans tot 30-90 dagen na de eerste ziektedag. Echter, persisterende IgM is beschreven tot 1 jaar na infectie.

Aanwezigheid van IgM-antistoffen (die een intacte bloed-hersenbarrière niet kunnen passeren) in de liquor duidt op een infectie van het centraal zenuwstelsel. Bij 75% van de patiënten met een meningo-encefalitis zijn IgM-antistoffen binnen 8 dagen na de eerste neurologische klachten aanwezig. Deze antistoffen zijn minimaal 1-2 maanden aantoonbaar. IgG-antistoffen zijn bij nagenoeg alle patiënten na 3 weken aantoonbaar en blijven dit minimaal anderhalf jaar. De IgM- en IgG-ELISA's hebben een sensitiviteit van respectievelijk 95-100% en 98% en een specificiteit van respectievelijk 93-99% en 92% [13,14,15], wat betekent dat bij gebruik in laag-endemische gebieden de positief voorspellende waarde vrij laag is. Diagnostiek op basis van IgG-antistoffen vereist een acuut en convalescent serummonster om een minimaal viervoudige toename in IgG-antistoffen aan te kunnen tonen voor bevestiging van een infectie.

Kruisreacties met andere nauw verwante flavivirussen kunnen optreden waarbij rekening gehouden dient te worden met overeenkomend ziektebeeld van deze flavivirussen en de reisanamnese (WNV komt tot op heden niet voor in Nederland). Voor Noord- en Zuid-Amerika: Saint Louis encephalitis virus, dengue virus (DENV), gelekoorts virus (YFV), Zika virus (ZIKV), Powassan virus (POWV). Voor Azië: DENV, Japanse encephalitis virus (JEV), Tick-borne encephalitisvirus (TBEV) en ZIKV. Voor Europa: TBEV, DENV en Usutu virus (USUV) [50]. Mensen die recent gevaccineerd zijn tegen YFV, JEV of TBEV, kunnen een positieve IgM en IgG-antistoftest tegen WNV hebben wegens kruisreagerende antilichamen [16]. Het is daarom voor interpretatie van de resultaten belangrijk om een complete reisanamnese en vaccinatiesgeschiedenis te vragen.

Vanwege deze kruisreacties zijn ELISA en IFA alleen als een screeningstest bedoeld. Positieve monsters moeten daarom, indien wenselijk, bevestigd worden, door middel van een virusneutralisatietest.

Risicogroepen

Verhoogde kans op infectie

Risicogroepen zijn vooral terugkerende reizigers uit endemische gebieden of gebieden waar veel transmissie is beschreven, en mensen die zelf in deze gebieden wonen.

Verhoogde kans op een ernstig verloop

- personen ouder dan 50 jaar;
- immuungecompromiteerden.

Drie van de vier transplantatiepatiënten die besmet werden door dezelfde orgaandonor ontwikkelden een encefalitis. Waarschijnlijk werd het ernstige verloop bij deze patiënten veroorzaakt door immuniteit onderdrukkende medicatie [11].

[Veterinair] WNV-infectie verloopt bij de meeste wilde vogelsoorten zonder klinische verschijnselen. Soorten die behoren tot de familie corvidae (zoals kraaien en gaaien) hebben wel ziekteverschijnselen. Roofvogels kunnen overlijden als gevolg van infectie met WNV. Massale vogelsterfte komt in Europa minder vaak voor dan in Amerika.

Alleen in het kader van de functie als sentinel is het belangrijk om te weten welke ziekteverschijnselen bij paarden kunnen optreden. Bij paarden verloopt een groot deel van de WNV-infecties asymptomatisch. Ongeveer 10% van de infecties leidt tot neurologische verschijnselen, afhankelijk van weerstand, mate van besmetting en virulentie. De eerste symptomen zijn geringe koorts, anorexie, sloomheid met soms koliek. Neurologische verschijnselen zijn variabel: kreupelheid, veranderd gedrag en spierfasciculaties, die met name rond het hoofd kunnen optreden.

Epidemiologie

Verspreiding in de wereld

Zoals de naam aangeeft, is het WNV endemisch in het stroomgebied van de Nijl. WNV komt in ieder geval enzoötisch voor in Afrika, de VS, Canada, Midden-Amerika en delen van Zuid-Amerika.

Europa

WNV komt in Europa voor rond het middellandse zee gebied. Omdat het virus wordt overgedragen via geïnfecteerde muggen, komen humane gevallen in Europa voor wanneer muggen actief zijn (transmissie seizoenen tussen juni en november). Daarbij is het ook van belang dat de aantallen (van muggen) hoog genoeg zijn, en dat de temperatuur hoog genoeg is om binnen de gemiddelde levensduur van de mug voldoende virus de cyclus en migratie naar de speekselklieren te laten voltooien.

In 1996 is de eerste grote epidemie van WNV in Europa (Roemenië) beschreven met 393 bevestigde humane gevallen en 17 doden. [31].

Tussen 2010 en 2014 zijn 63 bevestigde gevallen van West Nijl Koorts vastgesteld die binnen de EU zijn opgelopen. Dit betreft gevallen uit Oostenrijk (1), Griekenland (13), Hongarije (3), Italië (24) en Roemenië (22). [51]

In 2018 zijn de meeste cases van West Nijl Koorts in Europa gerapporteerd sinds de start van Europese surveillance. [52] In de EU en naburige landen zijn in totaal 2083 cases gerapporteerd. Het aantal gevallen dat in dat jaar in juni en juli is gemeld, is groter dan het totaal in diezelfde maanden tussen 2014 en 2017. Het verschil in voorkomen van WNV zou onder anderen te maken kunnen hebben met klimatologische omstandigheden, maar hierover is nog weinig bekend. [53]

Er zijn de afgelopen 2 decennia West Nijl Koorts cases en uitbraken beschreven in Zuid-Frankrijk, Zuid-Rusland, Wit-Rusland, Spanje, Portugal, West-Oekraïne, Tsjechië, Roemenië, Hongarije, Oostenrijk, Italië, Servië, Kroatië, Bulgarije, Slovenië, Centraal-Macedonië, Noord-Griekenland, Cyprus, Turkije, Kosovo en Israël. [54]

Een overzicht van recente en huidige uitbraken binnen Europa is [hier](#) te vinden.

In het transmissie seizoen tussen juni en november publiceert het ECDC hierover wekelijkse epidemiologische updates.

Verspreiding in de wereld bij dieren

Gedurende het transmissieseizoen van 2018 zijn er 285 uitbraken van West Nijl koorts onder paarden gerapporteerd in de EU: 149 in Italië, 91 in Hongarije, 15 in Griekenland, 13 in Frankrijk, 9 in Spanje, 2 in Oostenrijk, 2 in Roemenië, 1 in Slovenië en 1 in Portugal. [55]

WNV is ook geïsoleerd in zoogdieren, vogels of muggen in landen waar zich geen humane cases hebben voorgedaan. In 2018 is bij drie wilde vogels en drie vogels in gevangenschap WNV geïsoleerd in Oost en Zuid-Oost Duitsland. [56] In kader van de functie als sentinel is het belangrijk om te weten of WNV in het transmissie seizoen in een regio epizoötisch onder vogels en paarden voorkomt. Deze dieren vormen geen besmettingsbron voor mensen, maar aanwijzingen voor recente infecties bij deze diergroepen zijn wel een indicatie dat het WNV circuleert.

Voorkomen in Nederland

Tot op heden (2018) zijn er nog geen aanwijzingen dat het virus endemisch in Nederland voorkomt [42,43]. Wel kunnen in potentie negen muggensoorten optreden als WNV-vector in Nederland [44].

Er zijn tot op heden (2018) tien importgevallen beschreven, bij patiënten die gereisd hadden naar endemische en/of epidemische gebieden in de Verenigde Staten, Israël, Canada, Egypte, Servië en Frankrijk.

De muggensoorten die het virus mogelijk over kunnen dragen, komen in Nederland voor, maar WNV is tot dusverre niet in deze muggen aangetroffen [42,43].

Preventie

Immunisatie

Actieve immunisatie tegen het WNV is (nog) niet mogelijk. Wel wordt er aan de ontwikkeling van een vaccin gewerkt. [48] De werking hiervan bij mensen moet nog worden onderzocht.

Vaccinatie veterinair

Er is geen geregistreerd vaccin voor vogels beschikbaar. Voor paarden is in Europa en Amerika een geïnactiveerd vaccin geregistreerd dat beschermt tegen klinische verschijnselen. Muggen worden niet door paarden geïnfecteerd, vaccinatie van paarden speelt geen rol in de bestrijding van WNV.

Algemene preventieve maatregelen

Reizigers naar gebieden waar WNV voorkomt wordt geadviseerd muggenwerende maatregelen te nemen.

Zie de pagina '[Muggenwerende maatregelen](#)'.

Bloeddonoren terugkerend uit gebieden waar WNV voorkomt, dienen gedurende 28 dagen geen bloed of plasma te geven. Uitgebreidere adviezen voor reizigers zijn onder andere te verkrijgen via de reizigersspreekuren van de GGD.

Muggenbestrijding: voorkom stilstaand water, zorg voor goede drainage van het weiland, ververs water in waterbakken regelmatig. Draag handschoenen wanneer zieke of dode vogels moeten worden aangeraakt (Zie WHO factsheet).

Desinfectie

Conform de [richtlijn Reiniging, desinfectie en sterilisatie in de OGZ](#).

Maatregelen

Meldingsplicht

Westnijlvirusinfectie is een meldingsplichtige ziekte groep C. De behandelend arts en het laboratorium melden een geval van westnijlvirusinfectie binnen 1 werkdag na vaststelling van de diagnose aan de [GGD](#).

De GGD meldt anoniem conform de Wet publieke gezondheid aan het Clb (indien infectie in Nederland is opgelopen meldt de GGD binnen 24 uur) en levert gegevens voor de landelijke surveillance van meldingsplichtige ziekten.

Meldingscriteria:

Significante WNV-specifieke antilichaamrespons (eenmalige hoge titers of significante titerstijging) in serum in combinatie met

- koorts

en/of

- neurologische verschijnselen zoals meningitis of encefalitis

OF

ten minste één van de volgende twee laboratoriumbevestigingen:

- aantonen van WNV in bloed of liquor door middel van PCR;
- intrathecale WNV-specifieke antilichaamrespons.

Meldingsplicht veterinair

Voor dierenartsen en veehouders bestaat een meldingsplicht in geval van een mogelijke besmetting van dieren, voor paarden geldt een meldingsplicht voor virale encefalitis. Ook laboratoria die bloed van pluimvee onderzoeken, hebben een meldingsplicht.

Bronopsporing

Met betrekking tot Nederland is bronopsporing alleen noodzakelijk als het WNV in Nederland is opgelopen door mensen of dieren.

Contactonderzoek

Contactonderzoek is over het algemeen niet nodig. Omdat er wel overdracht is beschreven door bloedtransfusie, orgaantransplantatie, prikaccidenten, intra-uteriene verticale transmissie en mogelijk transmissie via borstvoeding. [11,23,24,25,26], moet hieraan in de anamnese wel aandacht besteed worden.

Maatregelen ten aanzien van patiënt en contacten

Het WNV is, behalve door bloed-bloedcontact, niet rechtstreeks van mens op mens

overdraagbaar. Er zijn dus geen extra beschermingsmaatregelen vereist. In geval van recente bloeddonaatie door de patiënt moet de bloedbank worden ingelicht om overdracht naar de ontvanger te voorkomen.

Veterinaire maatregelen

Alleen in geval van verhoogde sterfte van wilde vogels wordt onderzoek gedaan naar aanwezigheid van (onder andere) het West Nilevirus. Er is geen apart draaiboek voor bestrijding van WNV bij dieren. Verdachte paarden worden onderzocht vanuit het oogpunt van exportbeperkingen ingeval van WNV; er is geen infectierisico voor mensen.

Wering van werk, school, kinderdagverblijf en consultatiebureau

Het WNV is niet rechtstreeks van mens op mens overdraagbaar. Wering is niet van toepassing.

Profylaxe & Behandeling

Profylaxe

Geen.

Behandeling

Er bestaat geen specifieke antivirale behandeling tegen de ziekte veroorzaakt door het WNV. In het geval van encefalitis wordt ondersteunende behandeling toegepast waarbij vochttoediening, ondersteuning van de ademfunctie en het voorkomen van secundaire infecties op de voorgrond staan.

Historie

- In 1937 werd WNV voor het eerst geïsoleerd uit het bloed van een volwassen vrouw in de provincie West Nile in Oeganda.
- In 1957 werd het virus als oorzaak van meningo-encefalitis bij oudere personen herkend.
- Begin jaren '60 werd de ziekte voor het eerst bij paarden in Egypte en Frankrijk beschreven.
- In 1996 is de eerste grote Europese humane epidemie beschreven in Roemenië. Daarna zijn epidemieën herkend in 1999 in het Volgogradgebied in Rusland en in 2000 in Israël [1,2].
- In 1999 is een bepaalde variant van West Nile geïntroduceerd in de Verenigde Staten, waarna het zich met een lokale vector snel heeft verspreid in vogelpopulaties over het hele continent. In de VS hebben zich tussen 2002 en 2014 grote epidemieën met ruim 41.000 bekende humane gevallen voorgedaan, waarvan ruim 1.700 met dodelijke afloop, vooral door neurologische complicaties (zie paragraaf 2.3). De recente humane epidemieën gaan gepaard met epizootieën bij vogels (voor het eerst geobserveerd door McIntosh et al. 1976 [3]). In de Verenigde Staten kan sterfte bij vogels als indicator voor de circulatie van het virus worden beschouwd [4,5].

Literatuur

1. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ: West Nile virus. *Lancet Infect Dis.* 2002; vol 2, no 9.
2. Weinberger M, Pitlik SD, Gandacu D, Lang R, Nassar F, Ben David D, Rubinstein E, Izthaki A, Mishal J, Kitzes R, Siegman-Igra Y, Giladi M, Pick N, Mendelson E, Binn H, Shohat T, Chowers MY: West Nile Fever Outbreak, Israel 2000: Epidemiologic Aspects. *Emerg Infect Dis.* 2001; vol 7, no 4 Jul-Aug.

3. McIntosh BM, Jupp PG, Dos Santos I, Meenchan GM. 1976. Epidemics of West Nile and Sindbis viruses in South Africa with *Culex (culex) univittatus* Theobald as vector. *S Afr J Sci* 72:295-300.
4. Guptill SC, Julian KG, Campbell GL, Price SD, Marfin AA. 2003. Early-season avian deaths from West Nile virus as warnings of human infection. *Emerg Inf Dis* 9(4):483-484.
5. Mostashari F, Kulldorff M, Hartman JJ, Miller JR, Kulasekera V. 2003. Dead bird clusters as an early warning system for West Nile virus activity. *Emerg Inf Dis* 9(6):641-646.
6. Lanciotti R et al. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile Virus strains isolated from the United States, Europe and the Middle East. *Virology* 2002; 298:96-105.
7. Murgue B et al. The ecology and epidemiology of West Nile Virus in Africa, Europe and Asia. *Curr Topics Microbiol Immunol* 2002;267:195-221.
8. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses, *Lancet*.2008;371:500-09.
9. Gubler DJ: The continuous spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Clin Infect Dis*. 2007;47:1039-46.
10. Sejvar JJ: The longterm outcomes of human West Nile virus infection. *Clin Infect Dis*. 2007;44:1617-24.
11. Iwamoto M et al: Transmission of West Nile virus from an Organ Donor to Four Transplant Recipients. *NEJM* 2003;vol 348 (22):2196-2203. May 29,.
12. Tardei G, Ruta S, Chitu V, Rossi C, Tsai TF, Cernescu C. Evaluation of immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme immunoassays in serologic diagnosis of West Nile Virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 2000;38(6): 2232-9.
13. Malan AK, Martins TB, Hill HR, Litwin CM. Evaluations of commercial West Nile virus immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme immunoassays show the value of continuous validation. *J Clin Microbiol.* 2004;42(2):727-33.
14. Hogrefe WR, Moore R, Lape-Nixon M, Wagner M, Prince HE. Performance of immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays using a West Nile virus recombinant antigen (preM/E) for detection of West Nile virus- and other flavivirus-specific antibodies. *J Clin Microbiol.* 2004;42(10):4641-8.
15. Rawlins ML, Swenson EM, Hill HR, Litwin CM. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of immunoglobulin M antibodies to West Nile virus and the importance of background subtraction in detecting nonspecific reactivity. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14(6):665-8.
16. Petersen LR, Marfin AA, Gubler DJ: West Nile virus. *JAMA*. 2003;290(4):524-528.
17. Linke S, Ellerbrok H, Niedrig M, Nitsche A, Pauli G. Detection of West Nile virus lineages 1 and 2 by real-time PCR. *J Virol Methods.* 2007;146(1-2):355-8.
18. Tyler et al: West Nile virus Encephalitis in America. *NEJM*. 2001; vol 344:1858-59 .
19. Lan D, Ji W, Yu D, Chu J, Wang C, Yang Z, Hua X. Serological evidence of West Nile virus in dogs and cats in China. *Arch Virol.* 2011 May;156(5):893-5. doi: 10.1007/s00705-010-0913-8. Epub 2011 Jan 8.
20. Scholte EJ, Reusken CBEM, Takken W, Jongejan F, Giessen JWB van der. Het toenemend belang van infectieziekten die worden overgebracht door vectoren. *Infectieziekten Bulletin.* 2008;10:311-16.
21. Rahamat-Langendoen JC, Vliet JA van, Reusken CBEM. Klimaatverandering beïnvloed het vóórkomen in Nederland van ziekten overgebracht door teken, muggen en zandvliegen. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2008;152:863-8.
22. Reusken CBEM. Samenstelling vectorenbestand in Nederland in relatie tot West Nijlkoorts verspreiding. RIVM briefrapport 330020002/2009.
23. Orshan L, Bin H, Kaufman A, Valinsky A. Mosquito vectores of WNV in Israel. *J. Med Entomol.* 2008;45:939-47.
24. CDC. Laboratory-Acquired West Nile virus Infections - United States, 2002a. *MMWR Weekly*, December 20, 2002;51(50):1133-1135.

25. CDC. Intrauterine West Nile virus Infection - New York, 2002b.MMWR Weekly, December 20, 2002;51(50):1135-1136.
26. CDC Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding--Michigan, 2002c.JAMA. 2002 Oct 23-30;288(16):1976-7.
27. CDC Detection of West Nile virus in Blood Donations - United States, 2003.MMWR Weekly, August 15, 2003; 52(32):769-772.
28. Colpitts T.M, Conway MJ, Montgomery R, Fikrig E. West Nile Virus: biology, transmission, and human infection.Review. Clin. Microbiolo. Rev 2012, 25 (4):635
29. Komar, N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America.Adv Virus Res. 2003;61:185-234. 2003
30. Capobianchi MR et al. Retrospective screening of solid organ donors in Italy, 2009, reveals unpredicted circulation of West Nile virus.Euro Surveill 2010; 15(34):pii=19648
31. Cernescu C, Nedelcu NI, Tardei G, Ruta S, Tsai TF: Continued transmission of West Nile virus to humans in south-eastern Romania, 1997-1998.J Infect Dis 2000;181:710-712.
32. Durand B. et al: West Nile virus Outbreak in Horses, Southern France, 2000: Results of a Serosurvey.Emerg Infect Dis. 2002; Aug 8(8):777-82.
33. Hubalek Z, Halouzka J: West Nile Fever - a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe.Emerg Infect Dis 1999b. Sep-Oct;5(5):643-650.
34. Linke S, Niedrig M, Kaiser A, Ellerbrok H, Müller K, Müller T, et al.Serologic evidence of West Nile virus infections in wild birds captured in Germany.Am J Trop Med Hyg. 2007 Aug;77(2):358-64.
35. Bakonyi T, Ivanics E, Erdélyi K, Ursu K, Ferenczi E, Weissenböck H, Nowotny N. Emerg Inf Dis 2006;12(4):618-23.
36. Weissenböck H, Hubálek Z, Bakonyi T, Nowotny N. Vet Microbiol. 2010 Jan 27;140(3-4):271-80
37. Papa A et al. Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece, July – August 2010.Euro Surveill 2010;15(34):pii=19644.
38. Zeller H et al. West Nile virus: the need to strengthen preparedness in Europe. Euro Surveill 2010; 15(34):pii=19647.
39. Platonov AE. West Nile encephalitis in Russia 1999-2001: were we ready?Are we ready? Ann N Y Acad Sci. 2001 Dec;951:102-16.
40. Huang C, Slater B, Rudd R, Parchuri N, Hull R, Dupuis M, Hindenburg A: First Isolation of West Nile virus from a Patient with Encephalitis in the United States.Emerg Infect Dis. 2002. vol 8 no 12.
41. Nash D et al: The Outbreak of West Nile virus Infection in the New York City Area in 1999. NEJM. vol 344:1807-14. June 14, 2001.
42. Rockx B, Asten L van, Wijngaard C van den, Godeke GJ, Goehring L, Vennema H, Avoort H van der, Pelt W van, Koopmans M. Syndromic surveillance in the Netherlands for the early detection of West Nile virus epidemics. Vector Borne Zoonotic Dis. 2006;6(2):161-9.
43. Reusken CBEM, Vries A de, Hartog W den, Braks M, Scholte EJ.A study of the circulation of West Nile virus in mosquitoes in a potential high-risk area for arbovirus circulation in the Netherlands, "De Oostvaardersplassen".European Mosquito Bulletin 2010. in press.
44. Reusken CBEM. Samenstelling vectorenbestand van West Nile virus; literatuurreview. RIVM-briefrapport 164/06 MGB CR. Bilthoven: RIVM; 2006.
45. Meeuse JJ, Ter Borg F, Lohmann HJJ, Groen J. Een patiënte met West-Nijlkoorts in Nederland. Ned Tijdschr Geneesk. 2001 27 oktober;145(43):2084-86.
46. Aoutaleb N et al. Case report: West-Nile virus infection in two Dutch travellers returning from Israel.Euro Surveill. 2010;15(34):pii=19649.
47. Prick JJ, Kuipers S, Kuipers HD, Vliegen JH, van Doornum GJ. Opnieuw West-Nijlvirus in Nederland: een man met encefalitis na een reis in Canada. Ned Tijdschr Geneesk. 2003 17 mei;147(20):978-80.
48. McDonald WF et al. A West Nile virus recombinant protein vaccine that coactivates innate and adaptive immunity.J Infect Dis 2007;195(11):1607-17.

49. Montemarano AD, Gupta RK, Burge JR, Klein K. Insect repellents and the efficacy of sunscreens. *Lancet* 1997;349:1670-1671.
50. Cleton NB, Godeke G-J, Reimerink J, Beersma MF, Doorn HRv, Franco L, et al. (2015) Spot the Difference—Development of a Syndrome Based Protein Microarray for Specific Serological Detection of Multiple Flavivirus Infections in Travelers. *PLoS Negl Trop Dis* 9(3): e0003580. doi:10.1371/journal.pntd.0003580
51. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – West Nile fever. [Internet]. Stockholm: ECDC? 2016 [cited 2018 02 15]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/WestNile/Pages/Annualedpidemiologicalreport2016.aspx>
52. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological update: West Nile virus transmission season in Europe, 2018. [Internet]. Stockholm: ECDC? 2018 [cited 2018 02 15]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2018>
53. Haussig Joana M., Young Johanna J., Gossner Ce?line M., Mezei Eszter, Bella Antonino, Sirbu Anca, Pervanidou Danai, Drakulovic Mitra B., Sudre Bertrand. Early start of the West Nile fever transmission season 2018 in Europe. *Euro Surveill.* 2018;23(32):pii=1800428. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.32.1800428>
54. European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC Surveillance Atlas of infectious, West Nile virus infection, Diseases. . [Internet]. Stockholm: ECDC? 2018 [cited 2018 02 15]. Available from: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?dataset=27&fixdataset=1>
55. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological update: West Nile virus transmission season in Europe, 2018. [Internet]. Stockholm: ECDC? 2018 [cited 2018 02 15]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2018>
56. Ziegler U. et.al. West Nile Virus epizootic in Germany , 2018. *Antiviral Research.* 2019;162:39-43.