

Aanzet tot een Risk Analysis m.b.t. introductie van Bluetongue virus en West Nile virus in Nederland

A.R.W. Elbers, P.A. van Rijn en E.M.A. van Rooij

CIDC-Rapport 2003-02

Aanzet tot een Risk Analysis met betrekking tot introductie van Bluetongue virus en West Nile virus in Nederland

3 November 2003

dr.ir. A.R.W. Elbers, dr. P.A. van Rijn en drs. E.M.A. van Rooij

Cluster Aangifteplichtige en Exotische Virusziekten
Centraal Instituut voor DierziekteControle – Lelystad (CIDC-Lelystad)

INHOUDSOPGAVE	pg
Samenvatting en aanbevelingen	3
1. Achtergrond	7
2. Bluetongue	7
2.1 Hazard Identification	7
2.1.1 Virus	7
2.1.2 Vector	7
2.1.3 Kliniek	8
2.1.4 Diagnostiek	8
2.2 Risk Assessment	8
2.2.1 Epidemiologie	8
2.2.2 Verdeling in de wereld	10
2.2.3 Epidemiologische situatie in 1998-2001	10
2.2.3.1 Griekenland, Bulgarije en Turkije	10
2.2.3.2 Noord-Afrika, Italië, Frankrijk en Spanje	10
2.2.4 Epidemiologische situatie in 2002 tot heden	11
2.3 Risk Management	11
2.3.1 Beheersmaatregelen ter voorkoming van introductie	11
2.3.2 Beheersmaatregelen in geval van uitbraken	11
2.3.3 Conclusies	12
3. West Nile virus	14
3.1 Hazard Identification	14
3.1.1 Virus	14
3.1.2 Vector	14
3.1.3 Kliniek	14
3.1.3.1 Kliniek Humaan	14
3.1.3.2 Kliniek Paard	15
3.1.3.3 Kliniek Vogels	15
3.1.3.4 Kliniek Hond	15
3.1.4 Diagnostiek	15
3.2 Risk Assessment	15
3.2.1 Epidemiologie	15
3.2.2 Surveillance in Noord en Centraal Amerika	16
3.2.3 Surveillance in Noord-Europa	17
3.2.3.1 Early-warning systeem in Nederland	17
3.3 Risk Management	18
3.3.1 Beheersmaatregelen ter voorkoming van introductie	18
3.3.2 Beheersmaatregelen in geval van uitbraken	18
3.3.3 Conclusies	18
Literatuur	20

Samenvatting

Recentelijk is er melding gemaakt van uitbraken van Bluetongue virus (BTV) op Sardinië in Italië (17 September j.l.) en op het Spaanse eiland Menorca (28 Oktober j.l.). Tevens is kort daarvoor op 10 September j.l. in de Engelse pers (The Guardian) een stuk verschenen waarin de mogelijkheid werd geopperd dat BTV ook Noord-Europa zou kunnen bereiken.

Op 21 Oktober j.l. is er melding gemaakt van een infectie met West Nile virus (WNV) van twee personen in Zuid-Oost Frankrijk, waarbij wordt aangenomen dat het gaat om een lokaal opgedane infectie. Daarnaast zijn er recentelijk antilichamen tegen WNV gevonden in vogels in het Verenigd Koninkrijk. Hoewel deze laatste bevindingen nog verder moeten worden bevestigd, is men tijdens een bijeenkomst van een werkgroep "Arbovirussen" van de Europese Commissie in Brussel tot de conclusie gekomen dat een introductie van WNV in (Noord)Europa ook mogelijk is.

Deze gebeurtenissen zijn aanleiding voor de directie VVA van het Ministerie LNV om een advies te vragen met betrekking tot een Risk Analysis voor de introductie van BTV en WNV in Nederland. In deze rapportage wordt een aanzet gemaakt tot een Risk Analysis met betrekking tot introductie van BTV en WNV in Nederland.

Bluetongue

Op basis van de in de recente literatuur beschreven BTV-uitbraken en de daarmee samenhangende verdeling van de voor BTV belangrijke vector *Culicoides spp.* (muggen) kan het volgende worden opgemerkt:

1) er moet rekening mee worden gehouden dat er zich een trend heeft ingezet naar een warmer klimaat in Noord-Europa in de afgelopen decennia; in een groter tijdsvenster (eeuwen) hoeft dat geen blijvende verandering te zijn, maar er zal waarschijnlijk in de komende tientallen jaren een warmer klimaat aanwezig zijn in Noord-Europa;

2) met de eerder omschreven veranderende klimatologische omstandigheden zal het gebied waarin de met BTV geassocieerde *Culicoides spp.* vectoren zich kunnen handhaven vanuit Zuid-Europa naar Noord-Europa worden vergroot;

3) dat als gevolg van de onder 1) en 2) genoemde veronderstellingen er een reële kans is dat er in Noord-Europa, en dan met name ook Nederland, BTV geïntroduceerd zou kunnen worden;

4) In de afgelopen jaren zien we een intensivering van diertransporten in algemene zin maar in het bijzonder in Noord-Zuid richting. Hiermee kan ook de vector en/of BTV zijn verspreidingsgebied uitbreiden;

5) voor een daadwerkelijke Risk Analysis is het nodig dat in Nederland informatie wordt verzameld dan wel ter beschikking komt over :

a) de frequentie en aanwezigheid van *Culicoides spp.* in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland (entomologische kenniscentra in Nederland zoals WUR - Alterra); Het is bekend dat er in Nederland ca. 50 *Culicoides spp.* voorkomen, maar er is weinig tot geen informatie over verdeling, dichtheid en seizoenscycli.

b) de vector competentie van al in Nederland aanwezige *Culicoides spp.* voor BTV-transmissie; In Nederland is er op dit punt momenteel geen informatie voorhanden.

Advies:

Entomologische kenniscentrum (WUR - Alterra) in samenwerking met CIDC-Lelystad opdracht geven tot een voorstudie, waarbij geïnventariseerd wordt wat er bekend is t.a.v.

- de frequentie en aanwezigheid van *Culicoides spp.* in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland ;
- de vector competentie van al in Nederland aanwezige *Culicoides spp.* voor BTV-transmissie.

en waarin tevens wordt aangegeven wat nodig is om witte vlekken in kennis op te vullen.

6) Er zijn serologische en virologische testen voor BTV aanwezig en operationeel bij CIDC-Lelystad, die voldoen aan de OIE-normen. De voorraad en expertise is echter beperkt evenals de direct beschikbare voorraad. Voor serologie is een voorraad voor ongeveer 10.000 testmonsters aanwezig. Aanvulling binnen 4 weken is mogelijk, echter indien er sprake is van een internationale uitbraak in bijvoorbeeld Noord-Europa kan verwacht worden dat de internationale aanvoer van testkits mogelijk zal stagneren. De virologische test (het aantonen van het BTV zelf) is een arbeidsintensief proces en een uitslag kan lang op zich laten wachten (tot 2 weken). Daarnaast is deze test zeer specialistisch en de mankracht die dit beheerst is dientengevolge niet gemakkelijk uit te breiden. Momenteel is onderzoek gaande om een snelle test (PCR diagnostiek) te ontwikkelen voor het aantonen van BTV. Naar verwachting zal een eerste concept in de loop van 2004 voorhanden zijn.

7) Bij introductie in Nederland, zal het controleren van een BTV uitbraak zich in eerste instantie moeten richten op het onderbreken van de belangrijkste transmissieroute van het virus (het uitschakelen van de vector en het reduceren van dierbewegingen etc.). Vaccinatie is handelseconomisch niet aantrekkelijk en bovendien een zeer complexe aangelegenheid. BTV bevat 24 verschillende serotypen. Het typeren van het uitbraakvirus (welke van de 24 serotypes) is dus een eerste vereiste. Het typeren kan op dit moment niet gedaan worden door het CIDC-Lelystad. Er is gekozen om de typering te laten uitvoeren door het OIE referentielaboratorium. Er ligt geen noodvaccin klaar tegen welk serotype BTV dan ook.

8) Het is aan te raden om crisisdraaiboeken voor de bestrijding van BTV te ontwikkelen opdat nu al overwegingen en keuzes gemaakt zullen worden m.b.t. eventueel gebruik van vaccin en vector controle methodes.

Advies : crisisdraaiboek voor bestrijding van BTV ontwikkelen

9) Bij een verdere toename van de dreiging zal er veel geïnvesteerd moeten worden in het ontwikkelen van gereedschap om een BTV-uitbraak adequaat en doeltreffend te kunnen bestrijden.

Advies :
Situatie van BTV in Zuid-Europa en mogelijk oprukken naar Noord-Europa nauwlettend blijven volgen. Indien BTV uitbraken zouden worden gemeld in Zuid-West Engeland en/of Frankrijk is de tijd daar om gereedschap te ontwikkelen om mogelijke BTV-uitbraken in Nederland adequaat en doeltreffend te kunnen bestrijden

Conclusie is dat Nederland op dit moment een gedoseerde respons met betrekking tot BTV zou moeten voorstaan. Daarbij hoort dat er nu een crisisdraaiboek voor bestrijding van BTV moet worden ontwikkeld. Dat er verder ondertussen onderzocht moet gaan worden wat de frequentie en aanwezigheid van *Culicoides spp.* is in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland, en wat de vector competentie van al in Nederland aanwezige *Culicoides spp.* voor BTV-transmissie is. Tevens moet de situatie van BTV in Zuid-Europa en mogelijk oprukken naar Noord-Europa nauwlettend worden gevolgd.

Indien BTV uitbraken zouden worden gemeld in Zuid-West Engeland en/of Noord-Frankrijk is de tijd daar om, in combinatie met de antwoorden op de eerder genoemde onderzoeksvragen over de vector, gereedschap te ontwikkelen om mogelijke BTV-uitbraken in Nederland adequaat en doeltreffend te kunnen bestrijden.

West Nile virus

Het is aangetoond dat WNV aanwezig is in Noord-Europa, in ieder geval in wilde vogels. Tot kort geleden waren er geen aanwijzingen en observaties van humane West Nile Fever of encephalitis in Noord-Europa (met uitzondering van infecties opgedaan na bezoek aan het buitenland waaronder de Verenigde Staten). Zeer recent, 21 Oktober j.l., is er echter melding gemaakt van een WNV-infectie van twee personen in Zuid-Oost Frankrijk, waarbij wordt aangenomen dat het gaat om een lokaal opgedane infectie. Daarmee zouden geïnfecteerde vectoren tot in Zuid-Frankrijk zijn doorgedrongen. Daar was ca. een week eerder (11 oktober j.l.) ook al een aanwijzing voor omdat er een verdenking werd uitgesproken voor een WNV-besmetting van een paard in de buurt van de bovengenoemde regio in Zuid-Oost Frankrijk. Op dit moment zijn er geen rapportages van excessieve wilde vogelsterfte in Noord-Europa dat mogelijk zou kunnen wijzen op een WNV introductie. De instelling van een goed surveillance programma (gericht op mogelijke infectie in mensen, paarden, vogels en muggen) is daarom op dit moment een goede maatregel.

Advies :

Het door het RIVM ontwikkelde surveillance programma voor detectie van mogelijke WNV infectie bij mensen, paarden (in samenwerking met Fac. Diergeneeskunde), en vogels uitbreiden met een surveillance programma voor mogelijke WNV infectie bij in Nederland verblijvende muggen

Bij het RIVM is men doende om de flavivirus-diagnostiek t.a.v. WNV uit te breiden met het opzetten van RT-PCR diagnostiek. Acute problemen kunnen dan in ieder geval gediagnosticeerd worden, alleen is de capaciteit daarvan beperkt en zal onvoldoende zijn bij een grotere uitbraak. Het CIDC-Lelystad overweegt op termijn een eigen diagnostische capaciteit (PCR, commercieel verkrijgbare serologische assays) in stand te houden, zodat gezamenlijk met het RIVM diagnostiek-capaciteit wordt gecreëerd.

Voor een daadwerkelijke Risk Analysis met betrekking tot WNV is het nodig dat in Nederland informatie wordt verzameld dan wel ter beschikking komt over :

- a) de aanwezigheid en dichtheid van muggensoorten in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland (entomologische kenniscentra in Nederland zoals WUR - Alterra) die in staat zouden kunnen zijn om als vector op te treden;
- b) de vector competentie van de in Nederland aanwezige muggensoorten in relatie tot hun optreden voor WNV-transmissie;
- c) welke inheemse vogelsoorten gevoelig zijn voor WNV infecties en zodanig een rol kunnen spelen in de epidemiologie van WNV .Dergelijke vogelsoorten zouden dan ook mogelijk geschikte doelgroep zijn in surveillance activiteiten.
- d) er een inschatting gemaakt moet worden van de benodigde diagnostiekcapaciteit bij WNV-uitbraken in Nederland.

Advies :

Entomologische kenniscentrum (WUR - Alterra) in samenwerking met CIDC-Lelystad opdracht geven tot een voorstudie, waarbij geïnventariseerd wordt wat er bekend is t.a.v.

- de aanwezigheid en dichtheid van muggensoorten in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland die in staat zouden kunnen zijn om als vector op te treden voor WNV ;
- de vector competentie van de in Nederland aanwezige muggensoorten in relatie tot hun optreden voor WNV-transmissie.

en waarin tevens wordt aangegeven wat nodig is om witte vlekken in kennis op te vullen.

Advies :

Ornithologisch kenniscentrum (WUR – Alterra) in samenwerking met CIDC-Lelystad opdracht geven tot een voorstudie, waarbij geïnventariseerd wordt wat er bekend is over - welke inheemse vogelsoorten in Nederland gevoelig zijn voor WNV infecties en als zodanig een rol zouden kunnen spelen in de epidemiologie van WNV ? en waarin tevens wordt aangegeven wat nodig is om witte vlekken in kennis op te vullen.

Advies :

CIDC-Lelystad en RIVM gezamenlijk opdracht geven tot het maken van een inschatting van de benodigde diagnostiecapaciteit bij WNV-uitbraken in Nederland naar aanleiding van de ervaringen in de Verenigde Staten van Amerika

Tevens is het aan te raden om crisisdraaiboeken voor de bestrijding van WNV te ontwikkelen opdat nu al overwegingen en keuzes gemaakt zullen worden m.b.t. vector controle methodes.

Advies : crisisdraaiboek voor bestrijding van WNV ontwikkelen

Recent is duidelijk geworden dat WNV overgedragen kan worden door borstvoeding, bloedtransfusie, orgaantransplantatie, en transplacentale infectie. Deze aspecten zijn nog niet volledig bestudeerd en vragen om nader onderzoek dat in het buitenland wordt vervolgd. Het is zaak om de ontwikkelingen op dat gebied nauwlettend te volgen.

Advies :

Volg nauwlettend de ontwikkelingen op het gebied van onderzoek (in het buitenland) naar de overdracht van WNV door borstvoeding, bloedtransfusie, orgaantransplantatie en transplacentale infectie.

Omdat er zeer recent melding is gemaakt van lokale WNV infectie bij personen in Zuid-Frankrijk is het aan te bevelen om voorafgaande aan het komende toeristenseizoen Nederlandse vakantiegangers te wijzen op mogelijke risico's van WNV infectie (voor henzelf en meegenomen huisdieren zoals een hond) en de te nemen preventieve maatregelen middels een informatiecampagne.

Advies :

Voorbereiden van een informatiecampagne voorafgaande aan het zomerseizoen 2004 om vakantiegangers naar Zuid-Frankrijk te wijzen op de mogelijke risico's van WNV infectie en de te nemen preventieve maatregelen

Conclusie is dat Nederland op dit moment een gedoseerde respons met betrekking tot WNV zou moeten voorstaan. Daarbij hoort dat er nu een crisisdraaiboek voor bestrijding van WNV moet worden ontwikkeld. Dat er verder ondertussen onderzocht moet gaan worden wat de aanwezigheid en dichtheid is van muggensoorten in Nederland en de ons omringende landen die in staat zouden kunnen zijn om als vector op te treden voor WNV en wat de vector competentie is van de in Nederland aanwezige muggensoorten in relatie tot hun optreden voor WNV-transmissie. Daarnaast moet uitgezocht worden welke inheemse vogelsoorten in Nederland gevoelig zijn voor WNV infecties. Tevens moet de situatie van WNV in Zuid-Europa en mogelijk oprukken naar Noord-Europa nauwlettend worden gevolgd.

1. Achtergrond

Recentelijk is er melding gemaakt van uitbraken van Bluetongue virus (BTV) op Sardinië in Italië (17 September j.l.) en op het Spaanse eiland Menorca (28 Oktober j.l.). Tevens is kort daarvoor op 10 September j.l. in de Engelse pers (The Guardian) een stuk verschenen waarin de mogelijkheid werd geopperd dat BTV ook Noord-Europa zou kunnen bereiken.

Op 21 Oktober j.l. is er melding gemaakt van een infectie met West Nile virus (WNV) van twee personen in Zuid-Oost Frankrijk, waarbij wordt aangenomen dat het gaat om een lokaal opgedane infectie. Daarnaast zijn er recentelijk antilichamen tegen WNV gevonden in vogels in het Verenigd Koninkrijk. Hoewel deze laatste bevindingen nog verder moeten worden bevestigd, is men tijdens een bijeenkomst van een werkgroep "Arbovirussen" van de Europese Commissie in Brussel tot de conclusie gekomen dat een introductie van WNV in (Noord)Europa ook mogelijk is.

Deze gebeurtenissen zijn aanleiding voor de directie VVA van het Ministerie LNV om een advies te vragen met betrekking tot een Risk Analysis voor de introductie van BTV en WNV in Nederland.

2. Bluetongue (BT)

2.1 Hazard Identification

2.1.1 Virus

BTV is een RNA virus (genus: Orbivirus, familie: Reoviridae). Er zijn 24 verschillende serotypen bekend. BTV kan alle herkauwers infecteren, maar ernstige klinische ziekte komt met name voor bij enkele soorten schapen en sommige soorten herten.

2.1.2 Vector

BTV verspreidt zich voornamelijk via een vector (bepaalde muggensoorten) en is niet contagieus. De belangrijkste vector van BTV in de "oude wereld" is de mug *Culicoides imicola*. Dit is een Afrikaans-Aziatische soort, en is een van de wijd verspreide *Culicoides* soorten.

C. imicola werd voor het eerst gezien in Zuid-Europa in 1982, en is nu aanwezig in grote delen van Portugal en zuidwest Spanje. Daarnaast is *C. imicola* gerapporteerd op verschillende Griekse eilanden. *C. imicola* plant zich voort in vochtige en natte grond die verrijkt is met verse en gecomposteerde mest en voedt zich door bloedmaaltijden van grote gewervelde gastheren. Rondom veehouderijen is de situatie dus ideaal voor *C. imicola*, omdat daar vermeerderingsplaatsen en voedsel (bloedmalen van runderen, schapen en paarden) in ruime mate aanwezig is. Inderdaad neemt het aantal *C. imicola* muggen sterk af in de omgeving naarmate de afstand tot een veehouderijbedrijf groter wordt.

De volgende *Culicoides* muggensoorten zijn gevonden in relatie tot BT (bronnen: Meiswinkel et al., 1994; Mellor and Wittmann, 2002; Savini et al., 2003; Caracappa et al., 2003; Monteys and Saiz-Ardanaz, 2003; Miranda et al., 2003) :

Culicoides spp.	Land(en)
<i>C. tororoensis</i> , <i>C. imicola</i>	Afrika, Azië, Zuid-Europa
<i>C. bolitinos</i> , <i>C. gulbenkiani</i>	Afrika, Azië
<i>C. obsoletus</i>	Noord-Amerika, Italië, Cyprus, Spanje incl. Balerische eilanden
<i>C. insignis</i>	Midden-Zuid-Amerika
<i>C. milnei</i>	Afrika, Azië
<i>C. pycnosticus</i>	Afrika, Azië
<i>C. variipennis</i> (<i>sonorensis</i>)	Noord-Amerika
<i>C. pulicaris</i>	Zuid-Europa
<i>C. brevitarsis</i> , <i>C. actoni</i> , <i>C. fulvus</i> , <i>C. oxystoma</i> , <i>C. peregrinus</i> , <i>C. wadai</i>	Australië

De vector capaciteit van een *Culicoides* populatie (en dus de potentie voor virus transmissie) wordt beïnvloedt door :

a) het aantal volwassen muggen in de populatie; de ontwikkelingsnelheid van *Culicoides* van ei tot volwassene is direct gerelateerd aan de temperatuur;

b) proportie volwassen muggen dat in staat is tot virus transmissie, is afhankelijk van

- vector competentie (de geschiktheid van de vector om als virusreplicator op te treden);
- de ontwikkelingstijd van het virus in de vector;
- de geschiktheid van de vector om als virus vermenigvuldiger op te treden;
- overleven van volwassen muggen;
- lengte van bloedmaal interval;

Vector competentie wordt gedeeltelijk beïnvloedt door de temperatuur, zo is er geen Orbivirus (waartoe BTV behoort) replicatie mogelijk in *Culicoides* bij temperaturen beneden de 10-15 graden Celsius (afhankelijk van Orbivirus spp. en serotype). Binnen de temperatuur-range waarin Orbivirussen zich kunnen ontwikkelen, neemt algemeen gesproken de vector competentie lineair toe met het toenemen van de temperatuur.

Er zijn niet veel vector competentie onderzoeken uitgevoerd naar verschillen tussen muggensoorten binnen de *Culicoides* groep, maar de studies die zijn verricht geven aan dat er verschillen te verwachten zijn in vector competentie tussen verschillende *Culicoides* muggen soorten.

Zo is *C. imicola* zeer competent en is te verwachten dat b.v. *C. obsoletus* minder competent zal zijn in vergelijking met *C. imicola*, maar toch effectief genoeg voor virus transmissie.

2.1.3 Kliniek

Klinische signalen die kunnen worden gezien: koorts, depressie, excessief speekselen, neusuitvloeiing, oedeem in het gezicht, hyperaemie en ontsteking van het mondslijmvlies, coronitis, kreupelheid, spierzwakte, abortus en sterfte.

Het sterfte percentage en de ernst van klinische signalen kunnen variëren met ras en leeftijd van de geïnfecteerde dieren (oudere dieren meer vatbaar), de virulentie van het virus en omgevingsfactoren. Inheemse schapen, geiten en rundvee in derde wereldlanden zijn meestal sterk resistent (door aanwezige antilichamen en/of een genetische resistentie) tegen de klinische effecten van infectie en daarom wordt het merendeel van de BTV uitbraken over de gehele wereld niet zichtbaar. Deze verborgen aanwezigheid van BTV (aanwezigheid van (sub)klinische infecties zonder noemenswaardige kliniek) heeft een grote, negatieve invloed op de internationale handel in runderen, schapen en hun sperma en eicellen omdat landen de BT-vrije status willen behouden.

2.1.4 Diagnostiek

Er zijn verschillende virus isolatie systemen geschikt voor BTV, waaronder geembryoneerde kippeneieren, schapen en cel-cultuur (BHK-21, Vero of AA cellen). Na incubatie kan virus geïdentificeerd worden met behulp van een antigeen detectiemethoden. Daarnaast bestaat er de mogelijkheid van virusidentificatie via PCR-techniek, immunologische methoden (Immunofluorescence, antigeen-ELISA en immunoperoxidase test) waarmee serotypering mogelijk is. Omdat er kruisreactiviteit mogelijk is met Epizootic haemorrhagic disease virus (EHDV), moeten er BTV-groep-specifieke monoclonale antistoffen worden gebruikt. Daarnaast zijn er serologische methoden in gebruik (Complement fixatie test, agar gel immunodiffusie, en competitieve ELISA (OIE Diagnostics Manual).

2.2 Risk Assessment

2.2.1 Epidemiologie

BTV verspreidt zich voornamelijk via een vector (bepaalde muggensoorten) en is niet contagieus. Er wordt vrijwel geen virus gevonden in se- en excreta van geïnfecteerde dieren. Daarnaast is BTV ook in staat om zich zonder tussenkomst van deze vector te verspreiden (via sperma, eicellen, en via besmetting van de foetus). Echter voor de verspreiding van BTV is de route via de vector verreweg de belangrijkste.

In het veld wordt BTV vrijwel alleen overgebracht tussen gewervelde gastheren door verschillende soorten stekende arthropoden. De meest belangrijke van deze vectoren zijn verschillende soorten *Culicoides* muggen.

Via een bloedmaal wordt BTV opgenomen in de vector, waarna er virusrepliatie plaats vindt in de speekselklieren. Bij volgende bloedmalen door de vector op andere dieren kan het virus dan weer worden verspreid naar een andere gastheer. De verdeling van BTV is daarom voornamelijk direct gecorreleerd met de aanwezigheid van deze vectorsoorten. De vectoractiviteiten zijn weer afhankelijk van die gedeelten van het jaar waarin het klimaat gunstig is. Inderdaad treedt in BTV-uitbraakzones een piek in *Culicoides* populaties op in de late zomer en herfst en dit is ook de tijd waarin BT het meeste wordt gezien.

Indien de vector niet het gehele jaar kan overleven kunnen jaarlijkse uitbraken plaats vinden door nieuwe introducties vanuit nabijgelegen geïnfecteerde gebieden of het bewijs zijn van een laag niveau van persistentie van jaar tot jaar. Jaarlijkse herintroductie vanuit enzoötische foci van het virus is mogelijk over een afstand van meer dan 100 km (er zijn aanwijzingen voor overbrugging tot 700 km via de lucht) door transport met de wind van geïnfecteerde *Culicoides* muggen.

Conventionele modellen voor de levenscyclus en transmissie van BTV gaan er vanuit dat als er slechte (vectorvrije) wintercondities heersen gedurende meer dan 100 dagen (maximale viraemische periode bij runderen, bij schapen is dit ca. 50 dagen), het virus niet in staat zou moeten zijn om te overleven van het ene op het andere jaar. Echter, in sommige delen van de wereld heeft BTV aantoonbaar overleefd gedurende de winter, ondanks afwezigheid van de vector, zoals in Turkije tussen 1977 en 1981, in Corsica/Sardinië en in Calabria op het vasteland van Italië tussen 2000 en 2002, en in Servië en Kosovo.

Een mogelijk mechanisme zou een langdurige virus persistentie in de zoogdier gastheer kunnen zijn. Deze hypothese wordt ondersteund door de bevinding dat BTV schapen-T-cellen in vitro persistent kan infecteren (Takamatsu et al., 2003).

De spatiele en temporale incidentie van BTV wordt beïnvloed door de verdeling en de capaciteit van de *Culicoides* vector om virus over te brengen naar een gastheer. Deze worden op zich weer sterk beïnvloed door klimatologische factoren.

Zoals eerder vermeld wordt de vector competentie beïnvloedt door de temperatuur, zo is er geen Orbivirus replicatie mogelijk in *Culicoides* bij temperaturen beneden de 10-15 graden Celsius (afhankelijk van Orbivirus spp. en serotype). Binnen de temperatuur-range waarin Orbivirussen zich kunnen ontwikkelen, neemt algemeen gesproken de vector competentie lineair toe met het toenemen van de temperatuur. Het is daarom aannemelijk dat veranderingen in weer en klimaat zal leiden tot veranderingen in de mate van voorkomen van BTV :

1) Klimaatsverandering scenario : opwarming van de aarde, verhoging van frequentie van aantal warme dagen; het voorjaar begint vroeger en de herfst later; in Europa is het gemiddeld groeiseizoen in de landbouw met 11 dagen verhoogd sinds de 60-er jaren als gevolg van verhoogde temperaturen;

2) Warmere temperaturen zullen waarschijnlijk resulteren in een uitbreiding van het verspreidingsgebied van vectorsoorten (richting de polen of naar hoger gelegen delen); *C. imicola* zou zich daardoor langduriger of zelfs permanent kunnen vestigen in Oost-Spanje, Zuid-Frankrijk, Noord-Italië, Noord- en Zuid-Griekenland, en de kuststreken van Albanië, Montenegro, Bosnië-Herzegovina en Kroatië.

De implicaties zijn ingrijpend : de expansie van het bereik van *C.imicola* vergroot het gebied van Europa at risk voor BTV. Daarnaast, de uitgebreidere verdeling van *C. imicola* zou BTV vaker in het bereik van *C. obsoletus/pulicaris* muggen kunnen brengen die als nieuwe vectoren kunnen gaan optreden, en dit zou kunnen resulteren in grotere gebieden in Europa die worden getroffen door BTV;

3) Veranderingen in vector capaciteit : hogere temperaturen zal het aantal volwassen *Culicoides* doen vermeerderen, een vergroting van het aantal generaties per jaar, en de overwinteringscapaciteit zal toenemen (kortere en warmere winters); daarnaast is het aannemelijk dat de proportie van volwassen *Culicoides* die in staat is BTV over te brengen zal worden vergroot: grotere kans op ontwikkeling van BTV in vector.

2.2.2 Verdeling in de wereld

In het algemeen beperkt de verspreiding van de vector, en daarmee van BTV, zich tot een gebied tussen 35 ° Zuiderbreedte en 40 ° Noorderbreedte. Binnen deze gebieden heeft het bijna een wereldwijde verdeling, gevonden in Noord-, Midden- en Zuid-Amerika, Afrika, het Midden-Oosten, het Indiase subcontinent, China, zuid-oost Azië en Australië. Daarnaast blijkt het verspreidingsgebied zich te kunnen uitstrekken tot bijna 50 ° Noorderbreedte in sommige gedeelten in het westen Noord-Amerika en in China (Mellor et al., 2000).

BTV heeft ook enkele keren Europa aangedaan. In de 1956-1960 BTV-epidemie in Spanje en Portugal (serotype 10) zijn er 180.000 schapen gestorven. In 1979-1980 werd er een epidemie geconstateerd op de Griekse eilanden Rhodos en Lesbos. Het lijkt erop dat BTV zich heeft gevestigd in Zuid-Europa.

2.2.3 Epidemiologische situatie in 1998-2001

Tussen 1998 en 2001 traden er uitbraken van BT virus (BTV) op in minstens 10 landen rond de Middellandse zee die normaliter vrij zijn van de ziekte (Mellor and Wittmann, 2002).

2.2.3.1 Griekenland, Bulgarije en Turkije (Zuid-Oost Europa)

Na een afwezigheid van bijna 20 jaar werd in Oktober 1998 BTV op 4 verschillende Griekse eilanden gevonden (serotype 9). In Juni 1999 werden BTV-uitbraken gezien in zuid-oost Bulgarije (500 km van de Griekse uitbraken), waarna BTV zich snel verspreidde in westelijke richting door zuidelijk Bulgarije (ook serotype 9). De uitbraken in Zuid-Bulgarije hielden aan tot Oktober 1999. In Juli 1999 werden er BTV-uitbraken gemeld in Turkije, in twee provincies die grensden aan Bulgarije en het vasteland van Griekenland. Als reactie werden 60.000 schapen gevaccineerd met een levend vaccin (serotype 4) op een moment dat nog niet bekend was dat ook in Turkije BTV serotype 9 circuleerde. In Augustus 2000 was BTV weer terug in Turkije, maar nu werd serotype 16 geïsoleerd.

In Augustus 1999 werd BTV gerapporteerd op het vasteland van Griekenland, in het begin in het Noord-Oosten met de grens met Turkije, waarna het zich in westelijke richting verspreidde tot in December 1999. Na de winterperiode waren er nog enkele sporadische uitbraken in de zomer 2000. Daarnaast was er een aparte introductie van BTV op het eiland Lesbos, dat zich verspreidde naar verschillende kleine andere Griekse eilanden.

Een complicerende factor bij de Griekse uitbraken was dat er verschillende serotypen werden gedetecteerd, een indicatie voor verschillende, onafhankelijke introducties.

In September 2001 werd wederom BT gerapporteerd in Griekenland, het vierde jaar op rij, en dit keer in het Noordwesten, met de grens met Albanië. Tegelijkertijd werd er melding gemaakt van BT uitbraken in Servië, Montenegro, Kosovo, Macedonië, Bulgarije en verdenkingen in Kroatië. In de gebieden was BTV nog nooit eerder gerapporteerd.

Met de uitbraken in Servië op 44.30 °N, en detectie van antilichamen tegen BTV bij herkauwers in Kazachstan op 49.30°N (Lundervold et al., 2003), is BTV het meest noordelijk ooit in (Oost)Europa geweest.

Ten aanzien van de gevonden vectoren kon in deze regio het volgende worden geconstateerd:

- 1) *C. imicola* is bezig zich zowel in noordelijke als westelijke richting uit te breiden;
- 2) In Noord-Griekenland en Zuid-Bulgarije is er waarschijnlijk een nog niet eerder geïdentificeerde vector bijgekomen, waarschijnlijk *C. obsoletus* en/of *C. pulicaris*.

2.2.3.2 Noord-Afrika, Italië, Frankrijk en Spanje (Zuid-West Europa)

In Januari 2000 werd BTV-uitbraken voor het eerst gemeld in Noord-Tunesië (serotype 2). In Juli 2000 werden er BTV-uitbraken gemeld vanuit Oost-Algerije, grenzend aan Tunesië en tegen het einde van 2000 werden er antilichamen gevonden bij dieren in 18 verschillende provincies tot in Noord-Marokko.

In Augustus 2000 kwam er een dramatische ontwikkeling doordat BT (serotype 2) voor het eerst in Italië verscheen en zich verspreidde over de eilanden van Sardinië (4000 uitbraken en 90.000 gestorven en gedode schapen) en, in mindere mate, Sicilië. Vervolgens verspreidde BT zich in de zuidelijke regionen (Calabria) van Italië op het vaste land (4).

In de winter van 2000-2001 kwam er wat rust, waarschijnlijk vanwege de koelere temperaturen die de vector reduceerde of te ongunstig waren voor een effectieve biologische cyclus. Echter in oktober 2000 werden BTV-uitbraken op het Franse eiland Corsica gerapporteerd en op de Spaanse eilanden Menorca en Mallorca. Ook daar duurden de uitbraken tot in november en december 2000, waarna er

geen nieuwe uitbraken meer zijn gemeld. Echter in september 2001 werden er BTV-uitbraken gemeld op verschillende locaties op Corsica (serotype 2), meer dan 200 locaties op Sardinië (serotype 2) en Calabria (serotype 9, wellicht introductie vanuit Griekenland) en verschillende delen van Italië ten Noorden van Rome. Deze wijde verspreiding duidt erop dat het virus weinig last heeft gehad om te overwinteren, ondanks de behoorlijke noordelijke geografische positie van deze gebieden. Deze nieuwe "overwintering" kan mogelijk van groot belang zijn, omdat daarmee het gebied dat virus-risico loopt, sterk wordt opgerekt naar het Noorden.

2.2.4 Epidemiologische situatie in 2002 tot heden

In 2002 zijn er BTV-uitbraken gemeld in Bosnië-Herzegovina en Bulgarije en in 2003 zijn er BTV-uitbraken gemeld in Tunesië, Joegoslavië, en zeer recent (17 September 2003) in Italië (Sardinië), waar zowel serotype 2 als serotype 4 is geconstateerd. In Italië is een vaccinatie-campagne gestart, waarbij 3 vaccinatiegebieden zijn ingesteld: a) vaccinatie met een monovalent vaccin, b) vaccinatie met bivalent vaccin, c) vaccinatie met pentavalent vaccin. Bij een bijeenkomst van de Standing Committee on the Food Chain and Animal Health van de EU op 8 en 9 oktober j.l. werd aangegeven dat de vaccinatie-graad sterk verschilt per regio (0 tot 90% van de dieren), hetgeen verre van ideaal is. In gebieden waar een hoge vaccinatie-graad wordt gehaald zou door vaccinatie de besmetting uit te roeien zijn.

Frankrijk was bang dat BTV vanuit Sardinië (gegeven de zeer recente uitbraken daar) naar Corsica zou oversteken, en had zij het voornemen om de gehele schapenstapel te gaan vaccineren met een bivalent vaccin. Helaas bleek dit te laat, omdat op 31 Oktober j.l. een uitbraak van BTV is gemeld op Corsica bij schapen. Verder is er op 29 Oktober j.l. een uitbraak van BTV gemeld bij schapen op het eiland Spaanse eiland Menorca.

2.3 Risk Management

2.3.1 Beheersmaatregelen ter voorkoming van introductie

Landen in de Europese Unie, waaronder Nederland, eisen het testen op BTV-antilichamen of virus isolatie van rundvee en schapen en dierlijke producten zoals sperma, afkomstig uit (derde) landen die niet vrij zijn van BTV. Dit is nodig omdat geïnfecteerde schapen tot ca. 50 dagen viraemisch kunnen zijn en rundvee zelfs tot 100 dagen. Daarmee zouden geïmporteerde en geïnfecteerde schapen en runderen en sperma een risico kunnen vormen voor het importerend land.

2.3.2 Beheersmaatregelen in geval van uitbraken

BTV is niet-contagieus en verspreidt zich voornamelijk via vector species van *Culicoides* muggen. Incidenteel is verspreiding via bloed of sperma en eicellen mogelijk. Beheersing en preventie van BTV-uitbraken na introductie zou daarom op de volgende manieren kunnen worden bewerkstelligd:

- 1) introduceren van restrictie op dierbewegingen ter voorkoming van het ontstaan van nieuwe haarden door geïnfecteerde dieren;
- 2) Verbod op het vervoeren of gebruiken van sperma/eicellen ter preventie van virusverspreiding via deze route;
- 3) Slachten van viraemische dieren ter preventie van het vormen van een virusbron voor de vector;
- 4) Slachten van serologische positieve dieren op termijn;
- 5) Beheersing van de vector;
- 6) Huisvesting aanpassingen;
- 7) Vaccinatie.

De eerste vier maatregelen zijn zelfverklarend, de andere maatregelen worden nader uitgewerkt.

ad 5) Het is vrijwel onmogelijk om de vector populaties compleet te vernietigen. Het primaire doel is daarom het aantal potentieel infecterende beten van muggen bij de gastheer te reduceren tot een niveau waarbij de epidemie dood loopt (Reproductie getal $R < 1$).

Dit kan op verschillende manieren worden bewerkstelligd:

- a) vernietigen van de broedplaatsen van de vector (plaatsen met mest, nat gedurende 7-10 dagen) door irrigatie, stoppen van lekken etc.

- b) gebruik van insecticide (synthetische pyrethroiden) met een lage zoogdiertoxiciteit rond dierstallen en op de gastheren zelf;
- c) toepassing van larvicide middelen op broedplaatsen om larvale stadia af te stoppen;

ad 6) Deze maatregel is gericht op het afschermen en reduceren van toegang van vector tot vatbare dieren. Daarbij moet gedacht worden aan het opstallen van vatbare dieren in de periode waarin de vector actief is, waardoor het aantal beten sterk wordt teruggedrongen en het risico van infectie wordt sterk verminderd; ramen van stallen voorzien van fijnmazig gaas.

ad 7) vaccinatie is een belangrijk wapen, er zijn echter problemen :

- a) de enige commercieel beschikbare BTV vaccins (met de correcte serotypen) worden gemaakt in Zuid-Afrika en zijn tot nu toe nog niet toegelaten in de EU;
- b) het produceren van vaccin dat specifiek van toepassing is op de lokale situatie in b.v. Europa zal resulteren in een vertraging in levertijd van minimaal 2-3 maanden, hetgeen betekent dat een vaccin niet gebruikt kan gaan worden als noodvaccinatie;
- c) deze vaccins maken gebruik van levend verzwakte virusstammen (standaard samenstelling van 5 verschillende serotypen) met de volgende risico's:
 - uitscheiding van vaccinvirus in sperma;
 - mogelijk teratogene effecten van deze levende vaccins, daartoe niet toe te passen bij drachtige dieren;
 - risico van re-assortment tussen levend vaccin virussen en veldvirus, waardoor nieuwe virus stammen kunnen ontstaan;
 - het mogelijk gaan circuleren van vaccinvirus in muggenpopulaties;
 - terugkeer van vaccinvirus naar virulent virus;
- d) de ontwikkelde vaccins beschermen tegen kliniek maar zijn niet getoetst op het voorkomen of sterk reduceren van transmissie;
- e) de stammen die worden gebruikt in deze vaccins zijn afkomstig uit Zuid-Afrika en Pakistan, en het is de vraag of deze toepasbaar zijn in een Europese context;

Vanwege bovenstaande items rond vaccineren werden deze vaccins door verschillende landen niet gebruikt in Zuid-Europa. Echter in een situatie waarin de vector zich snel en sterk uitbreidt, nieuwe vectoren een rol kunnen spelen en het virus nieuwe geografische gebieden binnentrekt, is de verwachting om effectief toekomstige BTV-introducties te bestrijden bij gebrek aan een solide bestrijdingsprogramma inclusief vaccinatie vrij klein.

2.3.3 Conclusies

Op basis van de in de recente literatuur beschreven BTV-uitbraken en de daarmee samenhangende verdeling van de vector *Culicoides spp.* kan het volgende worden opgemerkt:

- 1) er moet rekening mee worden gehouden dat er zich een trend heeft ingezet naar een warmer klimaat in Noord-Europa in de afgelopen decennia; in een groter tijdsvenster (eeuwen) hoeft dat geen blijvende verandering te zijn, maar er zal waarschijnlijk in de komende tientallen jaren een warmer klimaat aanwezig zijn in Noord-Europa;
- 2) met de eerder omschreven veranderende klimatologische omstandigheden zal het gebied waarin de met BTV geassocieerde *Culicoides spp.* vectoren zich kunnen handhaven vanuit Zuid-Europa naar Noord-Europa worden vergroot;
- 3) dat als gevolg van de onder 1) en 2) genoemde veronderstellingen er een reële kans is dat er in Noord-Europa, en dan met name ook Nederland, BTV geïntroduceerd zou kunnen worden;
- 4) In de afgelopen jaren zien we een intensivering van diertransporten in algemene zin maar in het bijzonder in Noord-Zuid richting. Hiermee kan ook de vector en/of BTV zijn verspreidingsgebied uitbreiden;
- 5) voor een daadwerkelijke Risk Analysis is het nodig dat in Nederland informatie wordt verzameld dan wel ter beschikking komt over :

a) de frequentie en aanwezigheid van *Culicoides spp.* in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland (entomologische kenniscentra in Nederland zoals WUR - Alterra); Het is bekend dat er in Nederland ca. 50 *Culicoides spp.* voorkomen, maar er is weinig tot geen informatie over verdeling, dichtheid en seizoenscycli.

b) de vector competentie van al in Nederland aanwezige *Culicoides spp.* voor BTV-transmissie; In Nederland is er op dit punt momenteel geen informatie voorhanden.

6) Bij introductie in Nederland:

- Diagnostiek: Er zijn serologische en virologische testen aanwezig en operationeel bij CIDC-Lelystad, die voldoen aan de OIE-normen. De voorraad en expertise is echter beperkt evenals de direct beschikbare voorraad. Voor serologie is een voorraad voor ongeveer 10.000 testmonsters aanwezig. Aanvulling binnen 4 weken is mogelijk, echter indien er sprake is van een internationale uitbraak in bijvoorbeeld Noord-Europa kan verwacht worden dat de internationale aanvoer van testkits mogelijk zal stagneren. De virologische test (het aantonen van het BTV zelf) is een arbeidsintensief proces (ei-isolatie) en een uitslag kan lang op zich laten wachten (tot 2 weken). Momenteel is onderzoek gaande om een snelle test (PCR diagnostiek) te ontwikkelen voor het aantonen van BTV. Naar verwachting zal een eerste concept in de loop van 2004 voorhanden zijn.
- Interventiemogelijkheden: Het controleren van een BTV uitbraak zal zich in eerste instantie moeten richten op het onderbreken van de belangrijkste transmissieroute van het virus (het uitschakelen van de vector en het reduceren van dierbewegingen etc.). Vaccinatie is handelseconomisch niet aantrekkelijk en bovendien een zeer complexe aangelegenheid. BTV bevat 24 verschillende serotypen. Het typeren van het uitbraakvirus (welke van de 24 serotypes) is dus een eerste vereiste. Het typeren kan op dit moment niet gedaan worden door het CIDC-Lelystad. Er is gekozen om de typering te laten uitvoeren door het OIE referentielaboratorium.
- Er ligt geen noodvaccin klaar tegen welk serotype BTV dan ook.

Bij een verdere toename van de dreiging zal er veel geïnvesteerd moeten worden in het ontwikkelen van gereedschap om een BTV-uitbraak adequaat en doeltreffend te kunnen bestrijden.

Tevens is het aan te raden om crisisdraaiboeken voor de bestrijding van BTV te ontwikkelen opdat nu al overwegingen en keuzes gemaakt zullen worden m.b.t. eventueel gebruik van vaccin en vector controle methodes.

Algemeen concluderend zou Nederland op dit moment een gedoseerde respons met betrekking tot BTV moeten voorstaan. Daarbij hoort dat er nu een crisisdraaiboek voor bestrijding van BTV moet worden ontwikkeld. Dat er verder ondertussen onderzocht moet gaan worden wat de frequentie en aanwezigheid van *Culicoides spp.* is in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland, en wat de vector competentie van al in Nederland aanwezige *Culicoides spp.* voor BTV-transmissie is. Tevens moet de situatie van BTV in Zuid-Europa en mogelijk oprukken naar Noord-Europa nauwlettend worden gevolgd. Indien BTV uitbraken zouden worden gemeld in Zuid-West Engeland en/of Frankrijk is de tijd daar om, in combinatie met de antwoorden op de eerder genoemde onderzoeksvragen over de vector, gereedschap te ontwikkelen om mogelijke BTV-uitbraken in Nederland adequaat en doeltreffend te kunnen bestrijden.

3. West Nile virus (WNV)

3.1 Hazard Identification

3.1.1 Virus

WNV is een lid van de Flavivirussen (familie: Flaviviridae), en wordt voornamelijk naar mensen, vogels, paarden en een aantal andere diersoorten, waaronder o.a. honden, katten, eekhoorns, zeehonden, vleermuizen, rendieren, alligators en kikkers, overgebracht door een vector (bepaalde arthropoden).

3.1.2 Vector

WNV wordt overgebracht door muggen van het genus *Culex*, waartoe een groot aantal species behoren. Daarnaast wordt WNV incidenteel gevonden in *Aedes*, *Anopheles* en *Mimomyia* spp. en in enkele tekensoorten. In de gematigde klimaatszones wordt de huismug *Culex pipiens* beschouwd als de belangrijkste virusoverdrager naar de mens. Deze mug voedt zich op zowel mensen als vogels.

Volwassen vrouwtjes kunnen overwinteren en leggen in het voorjaar hun eitjes op de oppervlakten van water waarin veel organisch materiaal aanwezig is, zoals greppels en slootjes met een slechte doorstroming.

Het is bewezen dat de efficiëntie van virus transmissie wordt beïnvloedt door de temperatuur, en dat dit een van de belangrijkste factoren zou kunnen zijn bij de vestiging en verspreiding van WNV. De dichtheid van muggen is namelijk sterk afhankelijk van warm weer en verhoogde neerslag. Met name 1999 was een uitzonderlijk warm jaar in Noord-Amerika (net als overigens 2003 dat was in Noord-Europa) en dit zou belangrijk hebben kunnen bijdragen aan de succesvolle vestiging van het virus in de wilde fauna in Noord-Amerika.

3.1.3 Kliniek

3.1.3.1 Kliniek humaan

Hoewel het virus endemisch is in Afrika, komen epidemieën met klinische symptomen in mensen en dieren nauwelijks voor. Serologisch onderzoek heeft aangetoond dat mensen, vogels en paarden antilichamen hebben tegen WNV, waarmee wordt aangegeven dat er een hoge prevalentie (ca. 80%) van subklinische infecties bestaat.

In z'n algemeenheid geldt dit ook voor grote delen van Centraal en West-Europa en Azië, hoewel er wel recente uitbraken zijn geweest in Israël, Roemenië en de Russische Federatie. Mogelijke verklaringen voor deze recente verhoging in humane uitbraken zijn de impact van klimaatsveranderingen of verandering in genetische karakteristieken van het virus.

Slechts ca. 20% van de WNV-besmettingen resulteert in West Nile Fever, gekenmerkt door hoge koorts, algemene malaise, hoofdpijn, rugpijn, en retro-orbitale pijn die wordt verergert door oogbewegingen. Daarnaast worden non-specifieke symptomen gemeld als anorexia, misselijkheid, diarree, hoesten en keelpijn. Bij sommige patiënten wordt een rode kleur in het gezicht gezien, een conjunctivitis en een lymphadenopathie.

De symptomen van een West Nile encephalitis, dat wordt gezien in minder dan 0.1% van besmettingen, bestaan uit een meningitis, encephalitis, myelitis of een combinatie van deze drie.

Na 1-7 dagen van hoofdpijn, zwakte en gastro-intestinale verschijnselen worden de patiënten gedesoriënteerd, versuft en vergeetachtig. Symptomen van een meningitis infectie zoals een stijve nek worden dan ook vaak gezien. In sommige gevallen kan WNV een verlamming van de ledematen veroorzaken en van de ademhalingsspieren zodat beademd moet worden.

De meeste patiënten in de Verenigde Staten met een WN encephalitis of meningitis (WNME) waren oudere mensen (> 50 jaar). In the Verenigde Staten, tussen 1999-2001, was de mediane leeftijd bij 142 gerapporteerde WNME cases 68 jaar en in 2002, onder 2942 gerapporteerde WNME cases was de mediane leeftijd 59 jaar. Slechts 4% van de gerapporteerde cases was in personen jonger dan 18 jaar.

3.1.3.2 Kliniek Paard

Uit ervaring blijkt dat paarden in sommige regio's van de USA behoren tot de belangrijkste sentinels voor WNV infectie en humane risico. De klinische verschijnselen bij paarden kunnen sterk uiteenlopend zijn, maar concentreren zich met name op het disfunctioneren van het centrale en perifere zenuwstelsel: ataxie (incl. struikelen, zwaaiende gang of gebrek aan coördinatie) en in cirkels lopen, zwakte in de achterbenen, moeilijkheden met blijven staan, verlamming van verschillende ledematen, blindheid, verlamming van de lip, knarsen van de tanden, veranderingen van bewustzijnsniveau, en spiertrekkingen in het gelaat. Koorts werd niet in alle gevallen opgemerkt.

3.1.3.3 Kliniek Vogel

De WNV epidemie in de USA werd met name zichtbaar door massale sterfte van vogels die behoren tot de familie van de Corvidae (Amerikaanse kraai). In zuidelijke regio's van de USA kwam er grote sterfte voor bij geïnfecteerde Blue Jays. Daarentegen wordt bij kippen, duiven en fazanten (experimentele infectie studies bij CDC, Atlanta) vrijwel geen sterfte gezien na infectie, en worden deze vogels gezien als goede sentinels (vatbaar voor infectie, echter vrijwel geen sterfte, slechte virusreplicators dus weinig transmissie-risico, maar kunnen herhaaldelijk worden bemonsterd (bloed)). Experimentele infectie studies van in het wild levende vogels in de USA gaf aan dat met name vogels behorend tot de Corvidae (o.a. verschillende kraaien soorten en Blue Jay) en meeuwen hoge sterfte vertonen na infectie.

3.1.3.4 Kliniek Hond

In epidemiologische studies in het Midden-Oosten en Afrika zijn WNV-geïnfecteerde honden frequent gevonden in serologische surveys. In de Verenigde Staten zijn na 1999 in serologische surveys ook 10-20% seropositieve honden gevonden. Ernstige ziekte (neurologische verschijnselen) en sterfte door WNV bij honden komt nauwelijks voor, maar recent is een geval bekend geraakt van een fatale WNV-encephalitis-myocarditis bij een hond in de Verenigde Staten met nier- en neurologische problemen.

3.1.4 Diagnostiek

De meest betrouwbare indicator van een infectie met WNV is virus isolatie en vervolgens identificatie door met behulp van monoclonale antilichamen of door een reverse-transcription PCR (RT-PCR) sequencing. Beide testen hebben een hoge sensitiviteit en specificiteit.

Gebruik van serologische testen (met name ELISA en haemagglutinatie-inhibitie testen) heeft nadelen omdat de testen kruisreageren met antilichamen tegen gerelateerde Flavivirussen.

Bij het RIVM is men doende om de flavivirus-diagnostiek t.a.v. WNV uit te breiden met het opzetten van RT-PCR diagnostiek. Acute problemen kunnen dan in ieder geval gediagnosticeerd worden, alleen is de capaciteit daarvan beperkt en zal onvoldoende zijn bij een grotere uitbraak.

Het CIDC-Lelystad overweegt op termijn mogelijk een eigen diagnostische capaciteit (PCR, commercieel verkrijgbare serologische assays) in stand te houden, zodat gezamenlijk met het RIVM diagnostiek-capaciteit wordt gecreëerd.

3.2 Risk Assessment

3.2.1 Epidemiologie

In 1999 werd in New York in de Verenigde Staten (VS) bij in totaal 62 mensen met encephalitis WNV aangetoond, 7 patiënten overleden aan de gevolgen. In dezelfde periode werd een massale vogelsterfte opgemerkt in New York. De snelle verspreiding van WNV door Noord-Amerika en impact van de ziekte op mensen, vogels, paarden en een aantal andere diersoorten, heeft WNV hoog op de agenda gebracht van westerse overheden en de media (Gould, 2003; van der Poel, 2000). In het gehele oostelijke gedeelte van de VS werden in 2002 ruim 4100 mensen ernstig ziek, waarvan er 284 overleden. Ook enkele honderden Canadezen bleken besmet. Zeer waarschijnlijk vormen deze geregistreerde zieken slechts een fractie van het werkelijke aantal besmettingen.

Enkele duizenden mensen worden tijdelijk geveld door een infectie met WNV, maar wie jong is en in een goede conditie verkeert komt er meestal met griepachtige verschijnselen vanaf.

In een recent rapport van de Chief Medical Officer (CMO, 2002) in het Verenigd Koninkrijk (VK) wordt aandacht gevraagd voor het ontwikkelen van een draaiboek voor WNV in verband met de mogelijkheid dat WNV in het VK wordt geïntroduceerd. Daarbij werd aangegeven dat veranderingen in het milieu als gevolg van klimaatsveranderingen er toe kunnen leiden dat door temperatuursverhoging de populatiedichtheid van de vectormuggen zal worden vergroot. Van de 32 soorten muggen in het VK zijn er minstens 7 species (waaronder *Culex pipiens* en *Aedes cantans*) die in potentie transmissie van WNV kunnen bewerkstelligen.

Een potentieel zeer belangrijke, en nog niet volledig bestudeerd aspect van de spreiding van WNV binnen de humane populatie is de observatie van WNV-transmissie door bloedtransfusie, orgaan-transplantatie, borstvoeding en transplacentale infectie.

WNV infecties bij paarden zijn slechts enkele malen beschreven. Tot nu toe zijn er geen gebieden beschreven waar WNV endemisch voorkomt bij paarden, en zijn er tot nu toe geen aanwijzingen dat het paard een belangrijke rol zou kunnen spelen als bron van infectie naar de mens toe. In het wild levende vogels zijn het belangrijkste reservoir van WNV. Het virus is geïsoleerd bij een groot aantal verschillende vogelsoorten en vogels kunnen een langdurige viraemie ontwikkelen.

Uit experimentele infectie studies bij in het wild levende vogels is duidelijk geworden dat vogels behorend tot de Corvidae, en de huis-vink en huis-mus behoren tot competente vogels voor virustransmissie.

Trekvogels worden in verband gebracht met de introductie van WNV naar de USA en Europa. In New York was de infectie vooral voor kraaien in veel gevallen fataal. Opvallende vogelsterfte werd niet gezien bij eerdere uitbraken in Europa (in Frankrijk in de Camargue en in Roemenië in de zeventiger jaren). WNV kan in gezonde vogels aanwezig zijn als een persistente of latente infectie.

In Duitsland is er recent onderzoek gestart naar de aanwezigheid van WNV in vogels en muggen. Aanleiding hiervoor was het feit dat in Israël het WNV werd ontdekt in ooievaars die uit Duitsland afkomstig waren.

In epidemiologische studies in het Midden-Oosten en Afrika zijn WNV-geïnfecteerde honden frequent gevonden in serologische surveys. In de Verenigde Staten zijn na 1999 in serologische surveys ook 10-20% seropositieve honden gevonden, waarbij in een enkele geval ook een fatale WNV-encephalitis is gevonden.

Het wordt algemeen aangenomen dat het virus van origine enkele honderden jaren geleden is opgedoken in Afrika, en daarna wijd verspreid is door trekvogels in de Mediterrane regio (Camargue in Frankrijk en regio rond Pisa in Italië), West- en Centraal Europa en Azië en in laatste instantie naar Australië, waar het evolueerde naar een subtype van WNV, namelijk Kunjin virus. Bovendien bestaat de indruk dat er bij warm weer een verschuiving optreedt van vogels naar mensen voor wat betreft voedingsgedrag van de muggen.

3.2.2 Surveillance in Noord en Centraal Amerika

Vanaf de eerste uitbraken in New York in 1999 is er een surveillance van WNV gestart in Noord-Amerika en later ook uitgebreid naar Centraal-Amerika, waarbij men zich richt op het meten van WNV infecties in mensen, paarden, vogels en muggen.

Een recente update van WNV surveillance in **Mexico** laat zien dat in het jaar 2003 tot 6 Oktober j.l.

- 4 van 481 onderzochte mensen WNV-positief waren (PCR);
- 1453 van 4472 onderzochte paarden seropositief waren, allen zonder duidelijke kliniek op één uitzondering na waarin een paard is gestorven;
- 63 van 17168 onderzochte vogels seropositief waren (en 2 dode vogels), vrijwel allen zonder duidelijke kliniek.

Een recente update van WNV surveillance in **Canada** laat zien dat in het jaar 2003 tot 6 Oktober j.l.

- 1130 mogelijke of geconfirmeerde humane besmettingen zijn en 7 doden; de meeste gevallen werden gezien in de prairie-staten in de Mid-West (Saskatchewan, Alberta, Manitoba) maar ook in de Yukon en British Colombia. In 2002 waren er in nog totaal 416 mogelijke of geconfirmeerde humane besmettingen en in totaal 21 doden (vnl. in Ontario en Quebec), hetgeen aangeeft dat de besmetting zich sterk verspreidt naar het Westen.
- 406 mogelijke of geconfirmeerde besmettingen bij paarden zijn, vnl. in Quebec, Ontario, Manitoba, Saskatchewan en Alberta; er zijn aanwijzingen voor een vergroting van het risico-gebied;
- 1519 van de 11038 onderzochte wilde vogels seropositief waren;

Een recente update van WNV surveillance in de **Verenigde Staten (VS)** laat zien dat in het jaar 2003 tot 6 Oktober j.l.:

- ca. 2000 humane gevallen zijn in Colorado, ca. 1000 humane gevallen zijn in Nebraska en meer dan 800 humane gevallen zijn in South Dakota;

De verwachting is dat het aantal besmettingen in 2003 vergelijkbaar zal zijn met het jaar 2002 toen er in totaal 4156 humane gevallen waren en 284 doden te betreuren waren;

De ontwikkeling van WNV is wel anders in 2003 in vergelijking met 2002 omdat vooral het platteland wordt aangedaan. De eerdere uitbaken werden veroorzaakt door muggen die dicht bij huizen en gebouwen leefden. Maar in 2003 wordt WNV voornamelijk verspreid in de Westerse staten van de VS door muggen van de soort *Culex tarsalis* die leven rond boerderijen, en zich ver kunnen verplaatsen en de meest efficiënte vector van WNV wordt genoemd tot dusver.

De WNV uitbraken in 2002 heeft de VS in totaal US\$ 200 miljoen gekost aan medische voorzieningen. Er wordt voorspeld dat het episch centrum voor WNV besmettingen in de humane populatie in 2004 in Californië zal liggen, een van de dichtstbevolkte staten van de VS.

3.2.3 Surveillance in Noord-Europa

Zowel in Frankrijk als het Verenigd Koninkrijk wordt er een surveillance systeem uitgevoerd m.b.t. mensen, vogels, paarden en muggen, terwijl in Zweden een dergelijk systeem wordt uitgevoerd voor mensen. Binnen het Europese MedVetNet project, waarin het CIDC participeert, wordt er kennis m.b.t. WNV uitgewisseld op het gebied van diagnostiek en het uitwisselen van monsters, primers, antigeen en test-protocollen en wordt een databank van WNV stammen aangelegd.

3.2.3.1 Early-Warning Systeem (EWS) in Nederland

Recentelijk zijn er antilichamen tegen West-Nile virus (WNV) gevonden in vogels in het Verenigd Koninkrijk. Hoewel deze laatste bevindingen nog verder moeten worden bevestigd, is men tijdens een bijeenkomst van een werkgroep "Arbovirussen" van de Europese Commissie in Brussel tot de conclusie gekomen dat een introductie van WNV in Noord-Europa ook mogelijk zou kunnen zijn.

Het Ministerie van Volksgezondheid en Sport (VWS) heeft daarom opdracht gegeven aan het RIVM om een EWS voor WNV te ontwikkelen.

Als een van de componenten van het EWS wordt gedacht aan het onderzoeken op de aanwezigheid van virussen/of antilichamen tegen WNV van humane patiënten, paarden en eventueel vogels die vanwege klinische symptomen mogelijk verdacht zijn van een infectie met WNV, een kopie van wat in Noord- en Centraal-Amerika is opgezet.

Het onderzoek bij paarden wordt uitgevoerd bij dieren met (neurologische) verschijnselen die passen bij WNV en die worden aangeboden bij de Kliniek voor Inwendige Ziekten van de hoofdafdeling Gezondheidszorg Paard. Daarbij worden de paardenpractici in Nederland opgeroepen om mee te doen aan het EWS. De klinische verschijnselen van paarden bij WNV kunnen zeer uiteenlopend zijn: ataxie, dysmetrie, veranderingen van bewustzijnsniveau, hyperesthesie en spiertrekkingen in het gelaat. Bij verdachte gevallen in het veld wordt gevraagd een serummonster of gepaarde sera op te sturen.

Door het RIVM is een retrospectieve onderzoek uitgevoerd van humane encephalitis patiënten waarbij een virologisch beeld bestond, maar geen diagnose werd gesteld. Er zijn enkele honderden sera gescreend maar geen WNV infecties gevonden. Wel is inmiddels bij 3 personen in Nederland een

WNV infectie vastgesteld na een bezoek aan de VS. Er zijn plannen om een prospectieve onderzoek uit te voeren bij mensen met een viraal encephalitis-beeld.

3.3 Risk Management

3.3.1 *Beheersmaatregelen ter voorkoming van introductie*

Hiervoor zijn geen mogelijkheden voorhanden.

3.3.2 *Beheersmaatregelen in geval van uitbraken*

Er is geen specifieke antivirale behandeling voor infectie met WNV. Een hoge kwaliteit aan ondersteunende medicijnen voor het verminderen en beheersen van de bijeffecten van de ziekte is effectief. Er worden momenteel verschillende antivirale middelen getest en zouden op termijn zinvol kunnen zijn, het duurt echter nog vele jaren voor het zover is.

Er wordt tevens onderzoek verricht naar een chimaerisch vaccin (gebaseerd op het zeer succesvolle gele koorts (YFV) 17D vaccin, waarbij de immunologisch belangrijke component (envelop) van YFV is vervangen door die van WNV), waarbij in recente trials goede resultaten werden gevonden. Indien het publiek dit zal accepteren zou dit de preventieve methode kunnen zijn die in de toekomst infectie met WNV kan voorkomen. Voordat een dergelijk vaccin op de markt is zijn we echter wel weer enkele jaren verder.

De meest effectieve en economische methode van preventie is het veranderen en elimineren van de broedplaatsen van muggen. Daarbij moet men o.a. denken aan de verwijdering van afgedankte autobanden, het schoonmaken van regentonnen, vogelbaden, en ongebruikte zwembaden bij particulieren etc. Verder kan regionaal water management door muggenbestrijdingsorganisaties zorgen voor reductie van broedplaatsen. Verder kan er chemische bestrijding plaatsvinden door het inzetten van pesticiden (verspreiding via verneveling op een rijdende auto etc.).

De meest simpele en praktische vorm van beheersing is het voorkomen van een steek door een geïnfecteerde mug. Dit kan worden bewerkstelligd door binnenshuis te blijven op dat deel van de dag (ochtendgluren en bij invallende duisternis) waarop de muggen zich voeden.

Verder zal men huizen moeten voorzien van muggengaas, zodat muggen geen toegang hebben tot huizen. Toepassing van antimuggen middelen en het dragen van kleren die een groot deel van de huid bedekken wordt aanbevolen in gebieden waar een bekend risico is van blootstelling aan muggen.

Recent is duidelijk geworden dat WNV overgedragen kan worden door borstvoeding, bloedtransfusie, orgaantransplantatie, en transplacentale infectie. Deze aspecten zijn nog niet volledig bestudeerd en vragen om nader onderzoek.

De preventieve methoden die eerder genoemd zijn, zijn ook veterinair van belang zoals het veranderen en elimineren van de broedplaatsen van muggen.

Men kan steken van een geïnfecteerde mug voorkomen door (landbouw)huisdieren binnenshuis te laten of op te stallen op dat deel van de dag (ochtendgluren en bij invallende duisternis) waarop de muggen zich voeden. Verder zal men huizen en stallen moeten voorzien van muggengaas, zodat muggen geen toegang hebben tot huizen en gebouwen waar dieren worden gestald.

Redelijk recent is er een USDA-goedgekeurd geïnactiveerd WNV vaccin op de markt gekomen voor het vaccineren van paarden. Daarmee zou men klinische verschijnselen en mortaliteit bij paarden kunnen voorkomen.

3.3.3 *Conclusies*

Het is duidelijk dat er bewijs is dat WNV aanwezig is in Noord-Europa, in ieder geval in wilde vogels. Tot kort geleden waren er geen aanwijzingen en observaties van humane West Nile Fever of encephalitis in Noord-Europa Europa (met uitzondering van infecties opgedaan na bezoek aan het buitenland waaronder de Verenigde Staten). Nadat er de afgelopen weken melding is gemaakt van minstens 20 humane gevallen van WNV infectie in Tunesië, is er zeer recent, 21 Oktober j.l., via promedmail melding gemaakt van een WNV-infectie van twee personen in Zuid-Oost Frankrijk, waarbij wordt aangenomen dat het gaat om een lokaal opgedane infectie. Daarmee zouden geïnfecteerde vectoren tot in Zuid-Frankrijk zijn doorgedrongen. Daar was ca. een week eerder (11 oktober j.l.) ook

al een aanwijzing voor omdat er een verdenking werd uitgesproken voor een WNV-besmetting van een paard in de buurt van de bovengenoemde regio in Zuid-Oost Frankrijk.

Op dit moment zijn er geen rapportages van excessieve wilde vogelsterfte in Noord-Europa dat mogelijk zou kunnen wijzen op een WNV introductie.

De instelling van een goed surveillance programma (gericht op mogelijke infectie in mensen, paarden, vogels en muggen) is daarom op dit moment een goede maatregel.

Bij het RIVM is men doende om de flavivirus-diagnostiek t.a.v. WNV uit te breiden met het opzetten van RT-PCR diagnostiek. Acute problemen kunnen dan in ieder geval gediagnosticeerd worden, alleen is de capaciteit daarvan beperkt en zal onvoldoende zijn bij een grotere uitbraak.

Het CIDC-Lelystad overweegt op termijn een eigen diagnostische capaciteit (PCR, commercieel verkrijgbare serologische assays) in stand te houden, zodat gezamenlijk met het RIVM diagnostiekcapaciteit wordt gecreëerd.

Voor een daadwerkelijke Risk Analysis met betrekking tot WNV is het nodig dat in Nederland informatie wordt verzameld dan wel ter beschikking komt over :

a) de aanwezigheid en dichtheid van muggensoorten in Nederland en de ons omringende landen zoals België en Duitsland (entomologische kenniscentra in Nederland zoals WUR - Alterra) die in staat zouden kunnen zijn om als vector op te treden;

b) de vector competentie van de in Nederland aanwezige muggensoorten in relatie tot hun optreden voor WNV-transmissie;

c) welke inheemse vogelsoorten gevoelig zijn voor WNV infecties en zodanig een rol kunnen spelen in de epidemiologie van WNV .Dergelijke vogelsoorten zouden dan ook mogelijk geschikte doelgroep zijn in surveillance activiteiten.

d) er een inschatting gemaakt moet worden van de benodigde diagnostiekcapaciteit bij WNV-uitbraken in Nederland.

Recent is duidelijk geworden dat WNV overgedragen kan worden door borstvoeding, bloedtransfusie, orgaantransplantatie, en transplacentale infectie. Deze aspecten zijn nog niet volledig bestudeerd en vragen om nader onderzoek dat in het buitenland wordt vervolgd. Het is zaak om de ontwikkelingen op dat gebied nauwlettend te volgen.

Omdat er zeer recent melding is gemaakt van lokale WNV infectie bij personen in Zuid-Frankrijk is het aan te bevelen om voorafgaande aan het komende toeristenseizoen Nederlandse vakantiegangers te wijzen op mogelijke risico's van WNV infectie (voor hen zelf en hun eventuele huisdieren zoals een hond) en de te nemen preventieve maatregelen middels een informatiecampagne.

Tevens is het aan te raden om crisisdraaiboeken voor de bestrijding van WNV te ontwikkelen opdat nu al overwegingen en keuzes gemaakt zullen worden m.b.t. vector controle methodes.

Conclusie is dat Nederland op dit moment een gedoseerde respons met betrekking tot WNV zou moeten voorstaan. Daarbij hoort dat er nu een crisisdraaiboek voor bestrijding van WNV moet worden ontwikkeld. Dat er verder ondertussen onderzocht moet gaan worden wat de aanwezigheid en dichtheid is van muggensoorten in Nederland en de ons omringende landen die in staat zouden kunnen zijn om als vector op te treden voor WNV en wat de vector competentie is van de in Nederland aanwezige muggensoorten in relatie tot hun optreden voor WNV-transmissie. Daarnaast moet uitgezocht worden welke inheemse vogelsoorten in Nederland gevoelig zijn voor WNV infecties. Tevens moet de situatie van WNV in Zuid-Europa en mogelijk oprukken naar Noord-Europa nauwlettend worden gevolgd.

Literatuur

- Bram, R.A., George, J.E., Reichard, R.E., Tabachnick, W.J. Threat of foreign Arthropod-borne pathogens to livestock in the United States. *J. Med. Entomol.* 2002; 39: 405-416.
- Blackburn, N.K., Reyers, F., Berry, W.L., Shepard, A.J. Susceptibility of dogs to West Nile virus: a survey and pathogenicity trial. *J. Comp. Pathol.* 1989; 100: 59-66.
- Buckweitz, S., Kleiboeker, S., Marioni, K., Ramos-Vara, J., Rottinghaus, A., Schwabenton, B., Johnson, G. Serological, reverse transcriptase-polymerase chain reaction, and immunohistochemical detection of West Nile virus in a clinically affected dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003; 15: 324-329.
- Caracappa, S., Torina, A., Guercio, A., Vitale, F., Calabro, A., Purpari, G., Ferrantelli, V., Vitale, M., Mellor, P.S. Identification of a novel bluetongue virus vector species of *Culicoides* in Sicily. *Vet. Rec.* 2003; 153: 71-74.
- Epidemic/Epizootic West Nile Virus in the United States: Guidelines for surveillance, prevention and control. US Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease control and prevention, National Center for infectious Diseases, Division of Vector-borne infectious Diseases, Fort Collins, Colorado, 3rd revision, 2003. 75 pp.
- Chief Medical Officers' annual report for 2002. www.doh.gov.uk/cmo/annualreport2002/index.htm. In *Veterinary Record* 2003; 153 (3) : 70.
- Eidson, M., Kramer, L., Stone, W., Hagiwara, Y., Schmidt, K, New York State West Nile Virus Avian Surveillance Team. Dead bird surveillance as an early warning system for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7: 631-635.
- Goehring, L., Sloet, M., Rottier, P., Koopmans, M., Godeke, G-J., Vennema, H. West Nile virus ook in Nederland ? *Tijdschr. Diergeneeskd.* 2003; 128: 491-492.
- Gould, E.A. Implications for Northern Europe of the emergence of west Nile virus in the USA. *Epidemiol. Infect.* 2003; 131: 583-589.
- Komar, N., Panella, N.A., Boyce, E. Exposure of domestic mammals to West Nile virus during an outbreak of Human Encephalitis, New York City, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7: 736-738.
- Konmar, N., Langevin, S., Hinten, S., Nemeth, N., Edwards, E., Hettler, D. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9: 311-322.
- Lundervold, M., Milner-Gulland, E.J., O'Callaghan, C.J., Hamblin, C. First evidence of bluetongue virus in Kazakhstan. *Vet. Microbiol.* 2003; 92: 281-287.
- Mellor, P.S., Wittmann, E.J. Bluetongue virus in the Mediteranean Basin 1998-2002. *Vet. J.* 2002; 164: 20-37.
- Mellor, P.S., Boorman, J., Baylis, M. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Ann. Rev. Entomol.* 2000; 45: 307-340.
- Meiswinkel, R., Nevill, E.M., Venter, G.J. Vectors: *Culicoides* spp. In: *Infectious Diseases of Livestock with special reference to southern Africa (68-89 pp.)*. Eds. J.A.W. Coetzer, G.R.Thomson, R.C. Tustin. Oxford University Press, 1994.
- Miranda, M.A., Borrás, D., Rincon, C., Alemany, A. Presence in the Balearic Islands (Spain) of the midges *Culicoides imicola* and *Culicoides obsoletus* group. *Med. Vet. Entomol.* 2003; 17: 52-54.
- Nijland, R. Het West-Nijl-virus rukt op. *Intermezzo-bijlage van de Volkskrant*, 12 juli 2003 . p. 17.

- Ostlund, E.N., Crom, R.L., Pedersen, D.D., Johnson, D.J., Williams, W.O., Schmitt, B.J. Equine West Nile Encephalitis, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7: 665-669.
- Poel, W.H.M. van der. De verspreiding van West Nile virus, voorbij New York 2000. *Tijdschr. diergeneeskd.* 2000; 125: 526-527.
- Promedmail1. Bluetongue, sheep – Italy (Sardinia). archive number 20030918.2361.
- Promedmail2. Bluetongue, sheep – europe: alert. archive number 20030910.2279.
- Promedmail 3. Bluetongue – Yugoslavia: OIE. archive number 20030203.0297.
- Promedmail 4. Bluetongue, sheep - Tunisia: OIE. archive number 20030111.0091.
- Promedmail 5. Bluetongue, ruminants – Bosnia & Herzegovina, Bulgaria. archive number 20020906.5244.
- Promedmail 6. West Nile virus, human – Netherlands: imported. archive number 2003.1018.2624.
- Promedmail 7. West Nile virus, human – France. archive number 2003.1021.2643.
- Promedmail 8. West Nile virus, human, equine – France: suspect. archive number 20031011.2559.
- Promedmail 9. Bluetongue, sheep-Spain (Balearic islands): OIE. archive number 20031029.2692.
- Promedmail10. Bluetongue, sheep – France (Corisica). archive number 20031031.2708.
- Radford T. Sheep face 'invading' tropical virus. *The Guardian*, Wednesday September 10, 2003.
- Sarto I Monteys, V., Saiz-Ardanaz, M. Culicoides midges in Catalonia (Spain), with special reference to likely bluetongue virus vectors. *Med. Vet. Entomol.* 2003; 17: 288-293.
- Savini, G., Goffredo, M., Monaco, F., de Santis, P., Meiswinkel, R. Transmission of bluetongue virus in Italy. *Vet. Rec.* 2003; 152: 119.
- Sellers, R.F., Pedgley, D.E., Tucker, M.R. Possible windborne spread of bluetongue to Portugal, June-July 1956. *J. Hygiene (Cambridge)* 1979; 81: 189-196.
- Takamatsu, H., Mellor, P.S., Mertens, P.P.C., Kirkham, P.A., Burroughs, J.N., Parkhouse, R.M.E. A possible overwintering mechanism for bluetongue virus in the absence of the insect vector. *J. Gen. Virol.* 2003; 84: 227-235.
- Verwoerd, D.W., Erasmus, B.J. Bluetongue. In: *Infectious Diseases of Livestock with special reference to southern Africa* (443-459 pp.). Eds. J.A.W. Coetzer, G.R. Thomson, R.C. Tustin. Oxford University Press, 1994.
- Wittmann, E.J., Mellor, P.S., Baylis, M. Effect of temperature on the transmission of orbiviruses by the biting midge, *Culicoides sonorensis*. *Med. Vet. Entomol.* 2002; 16: 147-156.
- Wittmann, E.J., Mellor, P.S., Baylis, M. Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* in Europe. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 2001; 20: 731-740.