



## Westnijlvirus dichterbij dan gedacht

**Op 28 september 2023 bevestigde het nationale referentielaboratorium Wageningen Bioveterinary Research (WBVR) een acute infectie met het westnijlvirus (WNV) bij een paard. Het bloedmonster van dit paard was verzameld in het kader van syndroomsurveillance en vanuit Royal GD doorgestuurd naar WBVR.**

Syndroomsurveillance hield in dat tijdens het vectorseizoen (mei – november) van 2021, 2022 en 2023 paarden met neurologische verschijnselen bij Royal GD kosteloos serologisch getest konden worden op WNV in het kader van uitsluitingsdiagnostiek. Deze monitoring werd gefinancierd door het ministerie van VWS.

TEKST **HEATHER GRAHAM<sup>1</sup>, KIKI STRENG<sup>1</sup>, HÉLÈNE HENNEUSE<sup>2</sup>, LIDWIEN FABIUS<sup>2</sup>, MELLE HOLWERDA<sup>1</sup>, LINDA VAN DEN WOLLENBERG<sup>3</sup>, KEES VAN MAANEN<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> WAGENINGEN BIOVETERINARY RESEARCH, HOUTRIBWEG 39, 8221 RA, LELYSTAD

<sup>2</sup> DIERENKLINIEK DEN HAM, DAARLESEWEG 35A, 7683RC, DEN HAM

<sup>3</sup> ROYAL GD, ARNBERGSSTRAAT 7, 7418 EZ, DEVENTER

Het positieve paard uit de surveillance bleek na nader onderzoek door de NVWA net over de grens in Duitsland te staan, daarom werd de casus officieel overgedragen aan de Duitse autoriteiten. Aangezien dit paard dichtbij de grens stond en de infectie met behulp van Nederlandse dierenartsen en laboratoria via de monitoring aan het licht kwam, is deze casus echter zeer relevant voor Nederlandse praktici en daarnaast bewijs dat het WNV dichterbij is dan we denken.

### CASUS

De klinische verschijnselen van het betreffende paard begonnen halverwege september 2023 en bestonden uit: anorexie, weinig mesten, kramperigheid van de achterbenen, lethargie, maar ook ataxie, gekenmerkt door een scheve gang en omvallen, parese en een afhangende boven- en onderlip. De eigenaar vertelde ook spiertrillingen te hebben waargenomen, onder andere rondom de mond. De begeleidende dierenarts werd enkele dagen na de start van de symptomen bij het paard geroepen. Bij het klinisch onderzoek werden verder geen bijzonderheden gevonden, behalve dat het paard zeer suf uit de ogen keek en de lippen liet hangen. Verder had het paard een rustige regelmatige pols, roze mucosae met een capillaire refill tijd (CRT) van minder dan 2 seconden. Bij auscultatie

waren geen afwijkende longgeluiden en normale darmgeluiden te horen. Er waren geen opgezette lymfeknopen te voelen. De anusreflex was normaal. De eigenaar had eerder een temperatuur van 38,4 graden Celsius en 37,5 graden Celsius gemeten. Tijdens het klinisch onderzoek was de temperatuur 38,2 graden Celsius. Het bloedonderzoek gaf geen afwijkingen: het bloedbeeld was normaal en ook de lever-, nier- en spierfunctie waren binnen de normaalwaardes. De Serum Amyloid A (SAA)-waarde was 7 (referentiewaarde = 50 µg/mL). Bij rectaal onderzoek werd geen blaasovervulling gevonden, die zou kunnen wijzen op rhinopneumonie. Een neusswab voor diagnostiek voor rhinopneumonie werd afgenomen, waarbij het paard opvallend weinig reactie liet zien. Deze werd ingezonden naar Royal GD voor spoedonderzoek op EHV-1 met PCR. Een behandeling op basis van NSAID's en corticosteroïden werd gestart. Besloten werd de uitslag van de neusswab af te wachten, alvorens het paard eventueel te hospitaliseren. De differentiële diagnose op dat moment was de neurologische vorm van rhinopneumonie of letsel in het ruggenmergkanaal.

Aangezien het paard sneller verslechterde dan verwacht volgde twee dagen later een tweede dierenartsbezoek. Het paard was duidelijk atactisch en apathisch. De EHV-1

PCR bleek negatief. Omdat de neurologische verschijnselen ook konden passen bij een infectie met het westnijlvirus (WNV) werd een serumbloedmonster afgenomen voor onderzoek op antistoffen hiertegen. Tijdens het vectorseizoen (mei - november) in 2021, 2022 en 2023 financierde het ministerie van VWS het serologisch testen door Royal GD van paarden met neurologische verschijnselen.

Het bloedmonster werd bij Royal GD getest op antistoffen tegen flavivirussen in een ELISA, die niet diersoortspecifiek is en zowel IgM- als IgG-antistoffen kan detecteren. Nadat het monster in deze ELISA positief bleek, werd het doorgestuurd naar Wageningen Bioveterinary Research (WBVR). Daar werd het positieve resultaat bevestigd en een tweede ELISA toonde IgM-antistoffen specifiek tegen het WNV aan. Dit bewijs van een acute infectie met het WNV leidde ertoe dat de NVWA werd geïnformeerd, waarop de NVWA de behandelende dierenarts contacteerde. Toen bleek dat het paard in Duitsland stond, informeerde de NVWA de Duitse autoriteiten.

### FLAVIVIRUSSEN

In Nederland komen naast WNV ook andere flavivirussen voor, zoals het Usutu-virus (USUV) en tekenencefalitisvirus (TBEV). Antistoffen tegen deze virussen kruisreageren

in diagnostische testen, zoals de eerder genoemde niet diersoort-specifieke ELISA. In dit geval betrof het een paard en was bepaling van WNV-specifieke IgM-antistoffen mogelijk. De gouden standaard voor WNV-diagnostiek is een bevestiging van neutraliserende antistoffen door middel van een virusneutralisatietest (VNT). Deze is ook voor dit paard uitgevoerd bij WBVR, parallel voor WNV, USUV en TBEV. Bij dit paard werden in de VNT alleen antistoffen tegen WNV gevonden en niet tegen USUV of TBEV.

Een tweede monster van twee weken later gaf dezelfde resultaten in beide ELISA's. Het is bekend dat IgM-antistoffen snel stijgen na infectie en tot zes weken na infectie detecteerbaar zijn. IgG-antistoffen kunnen tot jaren na infectie gedetecteerd worden. Er is aanvullend getest op aanwezigheid van het WNV in EDTA-bloed met behulp van PCR, maar deze test was negatief. Paarden zijn slechts kort (een paar dagen) viremisch na infectie met het WNV, waardoor de kans op het aantonen van virus in het bloed klein is. Omdat de piek van de viremie plaatsvindt enkele dagen voordat de symptomen aanvangen, is bij een verdenking op WNV het advies bloed in te sturen voor serologie. Het paard heeft uiteindelijk vijf dagen op corticosteroiden en NSAID's gestaan. Ook werd aspirine bijgegeven en een vitaminepreparaat toegediend. De eigenaar heeft vooral ondersteunende zorg geleverd. De symptomen verbeterden geleidelijk.

Anderhalve maand na het begin van de symptomen werd het paard weer gereden en intussen doet dit paard met succes weer mee aan wedstrijden.

### **OMGEVINGSANALYSE**

Nadat de Duitse autoriteiten op de hoogte waren gebracht namen deze eind september officiële monsters van het seropositieve paard en twee stalgenoten. Hierbij werden de verplaatsingen van het paard in kaart gebracht. Daarnaast werd de omgeving gecontroleerd op dode vogels. Het Duitse laboratorium bevestigde de positieve uitslagen van de serologie bij WBVR; de overige twee paarden werden seronegatief bevonden. Halverwege november ving de Duitse autoriteiten een honderdtal muggen in het gebied waar het paard met het WNV stond. Het is (nog) niet bekend of deze muggen WNV bij zich droegen. In het voorjaar zullen nogmaals muggen worden gevangen en geanalyseerd.

### **VERDENKING WNV**

Er geldt een Europese meldplicht voor WNV-infecties in paarden, vogels en mensen. Deze meldplicht is met name van belang om circulatie van WNV in kaart te brengen: op basis hiervan kan bijvoorbeeld gerichte screening van bloeddonoren opgezet worden om overdracht van WNV-infecties via bloed- of orgaan-donoren te voorkomen. Daarnaast draagt de meldplicht bij aan nationale en lokale communicatiecampagnes

voor bijvoorbeeld huisartsen, maar ook dierenartsen, ten behoeve van het stellen van diagnoses, maar ook het informeren van mensen over de risico's en het bestrijden van muggen.

### **PAARDEN**

Paarden zijn verdacht wanneer zij neurologische verschijnselen laten zien zoals spiertrillingen (rond de ogen, neus, schouders en flanken), incoördinatie en/of verlammingen. Van de geïnfecteerde paarden vertoont 90 procent echter geen of milde verschijnselen zoals milde koliek, sloomheid en/of koorts. Wanneer bij neurologische verschijnselen andere oorzaken (zoals rhinopneumonie) zijn uitgesloten staat WNV in de differentiële diagnose of als er bijvoorbeeld WNV is gevonden bij mensen, paarden of vogels in de regio gedurende het muggenseizoen. Bij neurologische verschijnselen kan in het kader van syndroomsurveillance in het vectorseizoen serum onderzocht worden op antistoffen tegen WNV in een samenwerking tussen de laboratoria van Royal GD en WBVR. Wanneer het paard specifiek verdacht wordt van een infectie met WNV, moet de NVWA geïnformeerd worden.

### **WNV IN NEDERLAND**

Vogels zijn verdacht van een infectie met het WNV als ze neurologische verschijnselen vertonen, met name tijdens de warmere periodes van het jaar waarin muggen actief zijn. WNV is in 2020 in Nederland (middels serologisch en/of moleculair

onderzoek) aangetoond bij een grasmus, koolmees, tjiftjaf, zanglijster, huismus, en kip. In 2022 is het virus aangetroffen in een blauwe reiger. Deze vogels hadden voor zover bekend geen klinische verschijnselen, maar werden getest in het kader van monitoring. Deze resultaten laten zien dat WNV in Nederland circuleert.

#### MELDEN

Dierenartsen of eigenaren kunnen een WNV-verdenking melden via het Landelijk meldpunt dierziekten (045-5463188) van de NVWA. Met hen kan worden overlegd over de vervolgstappen. Informatie over het vaccinatieverleden of een verblijf in het buitenland is daarvoor belangrijk: gevaccineerde paarden kunnen positief testen op antilichamen. Wanneer geïndiceerd, zal de NVWA de opdracht geven een serumbloedmonster van het paard in kwestie in te sturen voor laboratoriumonderzoek. Dit onderzoek bestaat uit de eerder genoemde ELISA's voor de bepaling van antistoffen en wordt uitgevoerd op kosten van de NVWA. Wanneer sprake is van een acute infectie met het WNV (IgM-antistoffen aangetoond), kan de NVWA besluiten de omgeving te controleren op muggen en/of dode vogels en dierenartsen en diereigenaren in de omgeving te informeren. Deze dieren kunnen nader onderzocht worden om inzicht te krijgen in de aanwezigheid van virus in de omgeving. Voor het paard en de eigenaar zijn geen consequenties verbonden aan een positieve uitslag: het paard is eindgastheer en

zal het virus niet verder verspreiden. In overleg met de eigen dierenarts kan het paard (symptomatisch) behandeld worden en kunnen stalgenoten gevaccineerd worden (idealiter zijn paarden eerder in het jaar al preventief gevaccineerd). Voor verdenkingen van WNV bij vogels geldt ook dat contact opgenomen moet worden met de NVWA. De NVWA kan besluiten gehouden vogels te bemonsteren. In het geval van wilde vogels verloopt dit via het Dutch Wildlife Health Centre (DWHC). Bij vogels kan het

virus aangetoond worden met behulp van een PCR of serologie. Net als bij paarden, kan de NVWA in geval van positief geteste vogels besluiten de omgeving te controleren, bijvoorbeeld door klinische inspectie van paarden in de omgeving of het plaatsen van muggenvallen.

#### DANKWOORD

Met dank aan Marcel Spierenburg en Vanessa Visser van de NVWA voor het controleren en aanvullen van de tekst onder 'Verdenking WNV'. 🙏

#### WESTNIJLVIRUS

Westnijlvirus (WNV) is een virus dat behoort tot de Flaviviridae. Verwante virussen zijn Usutuivirus (USUV) en tekenencefalitisvirus (TBEV), maar ook de verwekkers van gele koorts en dengue. De meeste flavivirussen hebben een teek of mug nodig om het virus over te brengen naar de (eind)gastheer, zoals vogels, mensen of paarden. Wanneer een met WNV geïnfecteerde mug een bloedmaal bij een vogel neemt, wordt het virus aan de gastheer overgedragen met een viremie tot gevolg. Deze viremie is bij een aantal vogelsoorten (zoals kraaiachtigen) voldoende hoog en lang aanwezig om het virus door te geven aan muggen die zich voeden tijdens deze fase. Mensen en paarden raken ook besmet met WNV door middel van een bloedmaal van een geïnfecteerde mug, maar de viremie die volgt is niet voldoende om het virus door te geven. Zij worden daarom eindgastheren of 'dead-end hosts' genoemd. Toch kunnen er klinische symptomen optreden bij eindgastheren zoals koorts en zeer sporadisch neurologische symptomen. Sinds het WNV in 2020 voor het eerst in Nederland is aangetoond in mensen en vogels, is het daarna alleen nog in een klein aantal vogels gevonden. Op de in dit artikel beschreven casus na, bleken de paarden die bij WBVR en de Royal GD seropositief zijn getest, achteraf of gevaccineerd te zijn, een buitenlandsgeschiedenis te hebben of een infectie met een kruisreagerend flavivirus door te maken.

