

Het usutuvirus in vogelvlucht

Door Nouk Geelen & Linde de Leeuw

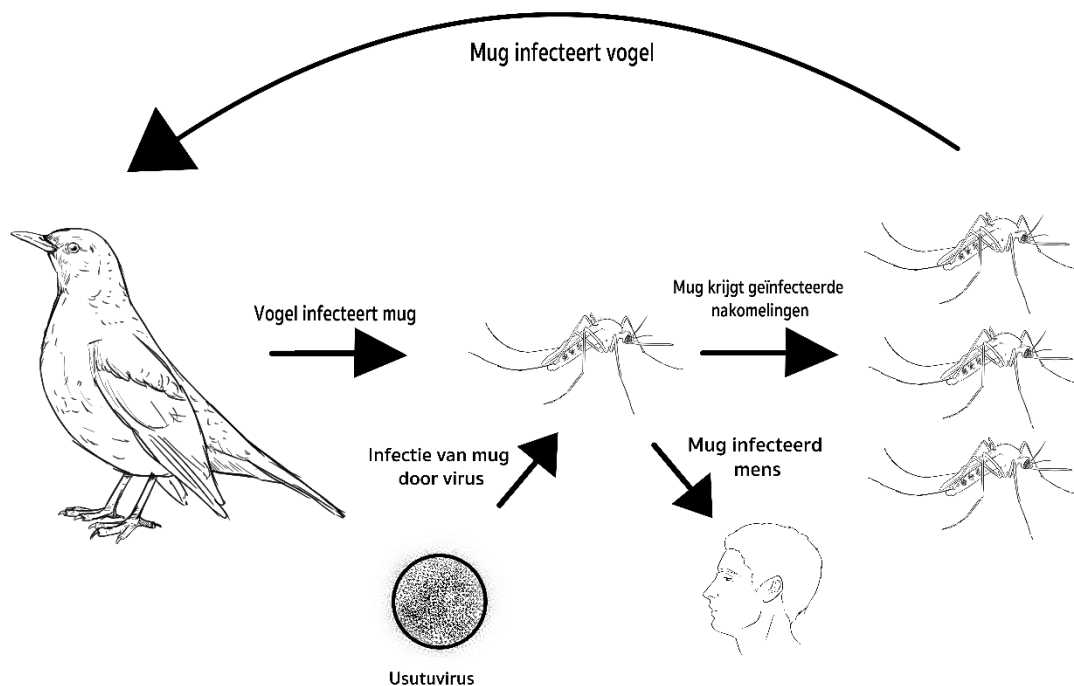
De afgelopen twee jaar hebben verscheidene krantenkoppen de revue gepasseerd die gingen over de uitbraak en verspreiding van “de merelziekte” in Nederland. Wat men doorgaans verstaat onder de merelziekte wordt veroorzaakt door het usutuvirus. Dit virus zorgt voornamelijk voor sterfte onder merels. Vanaf 2012 zijn er al veel meldingen geweest over dode merels. Hoewel er vermoedens waren van het virus als oorzaak, was het usutuvirus nog niet aangetroffen in onderzochte vogels. Wat wel de oorzaak was is onduidelijk. Er was in die tijd veel angst voor het virus doordat er in Duitsland al een hoge sterfte aan vogels (en voornamelijk merels) door het virus was. Deze angst was nog niet zo gek, want een paar jaar later, in 2016, is het usutuvirus voor het eerst gedetecteerd in Nederland (Dutch Wildlife Health Center, 2018).

Het usutuvirus verspreidt zich via muggen en komt van origine uit Zuid-Afrika (Vázquez et al., 2011). Het virus is meegenomen door besmette trekvogels die vanuit Afrika naar Europa trokken (Reusken et al., 2014). Onder deze trekvogels verstaan we onder andere zwaluwen (Helm, 2017). De eerste uitbraak in Europa was in 1996 in Italië, waarna het virus zich langzamerhand verder heeft verspreid over Europa. Tijdens deze verspreiding was er een uitbraak van het virus in 2001 in Oostenrijk (Dutch Wildlife Health Center, z.d.). Het usutuvirus behoort tot de familie van de Flavivirussen, oftewel de *Flaviviridae* (Usutu virus, 2018). Binnen deze familie valt het virus onder klasse IV en groep ssRNA(+) van de virussen, dit houdt in dat het virussen zijn waarin het genetische materiaal uit een enkele streng RNA bestaat en de replicatie in het cytoplasma plaatsvindt. De + die hoort bij deze groep zegt wat over de polariteit van het RNA én geeft aan dat het RNA direct leesbaar is voor ribosomen (ssRNA-virus, z.d.). De familie van de Flavivirussen bestaat uit vele soorten waarvan het usutuvirus er een van is. Andere verwante virussen die wellicht ook notoir zijn, zijn onder andere het westnijlvirus, het gelekoortsvirus, het zikavirus en het teken-encefalitisvirus (Cirad, 2018).

Het westnijlvirus is een virus dat nauw verwant is en net als het usutuvirus voornamelijk vogels gebruikt als reservoir. Deze vogels hebben echter in tegenstelling tot vogels die besmet zijn met usutu, weinig ziekteverschijnselen. Er kan wel een verhoogde sterfte optreden, maar dit is bijvoorbeeld wanneer het in een periode valt dat een hoog aantal muggen aanwezig is die zorgen voor de verspreiding van het virus (Westnijlvirus, z.d.). Het westnijlvirus is ook gevonden in zoogdieren (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, 2018). Een andere verwant is het gelekoortsvirus (Cirad, 2018), dit virus veroorzaakt de ziekte gele koorts dat wordt overgedragen door tropische muggen. Het is ziekmakend voor mensen, die kunnen namelijk last krijgen van griepverschijnselen, koorts en/of bloedingen (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, z.d.). Het zikavirus dat zikakoorts veroorzaakt bij mensen, zorgt daarentegen niet voor zulke ernstige symptomen als het gelekoortsvirus (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, z.d.), maar is natuurlijk niet aangenaam. Voor wat tot dusver bekend is lijkt het zikavirus alleen schadelijk te zijn voor mensen en niet voor andere dieren (Centers for disease control and prevention, z.d.). Tot slot is er nog het (japanse) teken-encefalitisvirus, dit is een virus waarbij niet muggen de vector zijn, maar teken. In Nederland komt dit tekenvirus gelukkig nog maar weinig voor, namelijk bij 1 op de 1000 teken. Het virus kan diverse klachten bij mensen veroorzaken, maar in een vergevorderd stadium kunnen heftigere verschijnselen optreden waaronder aantasting van het zenuwstelsel (Reusken & Gassner, 2018).

Vectoren & Verspreiding

Zoals eerder al benoemd is, spelen muggen een belangrijke rol als vector in de verspreiding van het usutuvirus. Het virus wordt voornamelijk overgedragen door muggen van het geslacht *Culex* (Dutch Wildlife Health Center, 2018). De eerste muggensoorten waarin het virus is aangetroffen is een Zuid-Afrikaanse soort met de naam *Culex neavei* (Cadar et al., 2017). Andere soorten waarvan het bekend is dat ze het virus kunnen dragen zijn de Aziatische tiggermug (*Aedes albopictus*), de Gewone steekmug (*Culex pipiens*), de *Anopheles maculipennis* (bekend als malariamug), de *Ochlerotatus caspius*, de *Mansonia africana* en de *Culex perexiguus* (Usutu virus, z.d.). Het usutuvirus wordt door deze muggen overgedragen en maakt met name slachtoffers onder merels (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, 2016). Het veroorzaakt ook sterfte bij andere zangvogels en gehouden uilen; vooral bij huismussen, boerenzwaluwen en laplanduilen (Erasmus MC, 2016). Sommige geïnfecteerde dieren vertonen wel ziekteverschijnselen maar sterven niet, terwijl de merel bijna altijd sterft aan de ziekte. De reden waarom juist merels slachtoffer vallen is tot nu toe nog onbekend (Nijland, 2012). Het is echter niet uniek dat specifiek één vogelsoort gevoelig is voor een soort van de *Flaviviridae*. Zo maakt het westnijlvirus bijvoorbeeld met name slachtoffers bij kraaien en blauwe gaaien (Weissenböck et al., 2002). Het usutuvirus kan ook infecties veroorzaken in zoogdieren en dus ook mensen, de levenscyclus van het virus met haar vectoren en reservoirs is weergegeven in figuur 1.



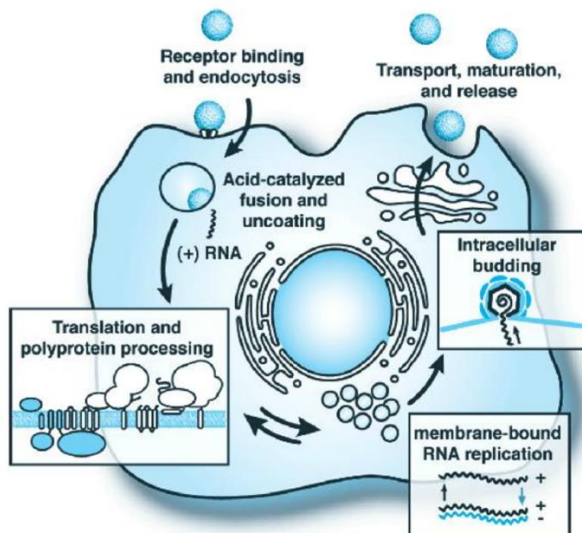
Figuur 1: Cyclus van het usutuvirus, inclusief de mens als incidentele gastheer (Eigen afbeelding)

Mensen die besmet zijn met het usutuvirus, hebben hier meestal weinig last van (Factsheet Usutu virus, z.d.), echter zijn er ook ernstigere gevallen bekend. Een heftig symptoom bij mensen kan bijvoorbeeld gezichtsverlamming zijn als gevolg van aantasting van de hersenen door het virus (Simonin et al., 2018). Zodoende wordt ondanks de kleine kans dat zoogdieren ziek worden van het usutuvirus, het virus toch als potentieel gevaar voor mensen bestempeld.

Naast de overdracht van het virus tussen dieren is het ook belangrijk hoe het virus zich verspreidt naar verschillende gebieden. Het usutuvirus kan zich over grote afstanden binnen

Europa verspreiden. Dit gebeurt wanneer vogels die het virus dragen, lange afstanden afleggen zonder ziek te worden van dit virus (Nijland, 2012). Voor de verspreiding van het virus is het ook belangrijk dat het kan overleven. Een virus plant zich voort door een gastheercel te infecteren en deze te gebruiken om zich te vermeerderen totdat de cel barst (Virus levenscyclus, z.d.). In 2001 heeft het usutuvirus veel sterfte onder merels veroorzaakt in Oostenrijk. In 2002 circuleerde het usutuvirus nog steeds in Oostenrijk, wat aantoont dat het virus heeft kunnen overwinteren in een lokale vogel-muggencyclus in Midden-Europa (Jöst et al., 2011). Door zich aan te passen aan deze cyclus was het virus in staat om na zijn introductie in het desbetreffende land aanwezig te blijven (Lammers, 2013). Wat wel opvallend is, is dat in tegenstelling tot het verspreidingsvermogen van het virus over grote afstanden, het virus zich voornamelijk gecentreerd heeft in het zuiden van Nederland, waar veel dode merels zijn gevonden als gevolg van het usutuvirus (Rijks et al., 2016). Dit zou het gevolg zijn van de verspreiding van het virus vanuit België richting de provincie Limburg (Lambrechts, 2017). Het verspreidingspatroon van het virus lijkt afhankelijk te zijn van de temperatuur en de incubatieperiode in de mug (Cadar et al., 2017). De kans op verspreiding is ook groter als er een grotere viremie is bij de mug. Viremie betekent dat er meer virussen verspreid zijn door de bloedbaan, waardoor de kans op infectie door het usutuvirus groter is (Lammers, 2013).

De genoemde muggen en vogels spelen samen een rol in het voltooiën van de levenscyclus van het usutuvirus. De natuurlijke levenscyclus van het usutuvirus betreft een mug-vogel-mug cyclus, waarin de muggen als vectoren dienen en de vogels als gastheer. Meerdere onderzoeken hebben laten zien dat verscheidene mug- en vogelsoorten betrokken zijn bij het voortzetten van de levenscyclus van het virus. Muggen kunnen het virus naast vogels, ook overbrengen naar mensen, paarden en knaagdieren. Dit zijn normaliter niet de organismen die het usutuvirus gebruikt als gastheer, zodoende zijn deze dieren een incidentele gastheer geworden. Het virus is ook onttrokken uit vleermuizen. De detectie van het virus in vleermuizen roept verschillende vragen op, waaronder de mogelijke rol van de vleermuis als gastheer en daarmee de overdracht van het virus van vleermuizen naar de muggen in Afrika (Cadar et al., 2017). Voor het voltooiën van de levenscyclus van het virus, maakt het virus gebruik van een gastheer. Bij deze gastheer kan het usutuvirus profiteren van het autofage proces door zich te verbinden met componenten hiervan en zodoende te zorgen voor zijn eigen replicatie. (Ashraf et al., 2015) De replicatiecyclus van een flavivirus gaat als volgt: De virions (virale deeltjes) zijn omgeven door een eiwitmantel, ook wel de nucleocapside genoemd. Via endocytose komen de virions een gastheercel binnen. Deze endocytose vindt overigens gemakkelijker plaats bij omstandigheden met een lage pH-waarde. Nadat de virions de cel binnen zijn, komt het RNA vrij in het cytoplasma van de gastheercel. Dit RNA wordt gebruikt bij de translatie van virale eiwitten en zorgt zo voor een basiscode die ook gebruikt wordt om nieuwe virusdeeltjes van genetisch materiaal te voorzien. Deze virusdeeltjes worden getransporteerd door de cel en komen vrij aan het celoppervlak, waarna ze zich verder kunnen verspreiden (Lammers, 2013). Deze replicatiecyclus is ook weergegeven in figuur 2.



Copyright © 2007 by Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
Field's Virology, Fifth Edition, by David E. Knipe, Peter M. Howley, Diane E. Griffin,
 Malcom A. Martin, etc.

Figuur 2: replicatiecyclus *Flaviviridae* (Lammers, 2013)

Effecten & Gevolgen

Nadat het virus de gastheercel is binnengedrongen en de replicatiecyclus is voltooid, kan dit verschillende effecten hebben op het lichaam van de gastheer. Het usutuvirus kan bijvoorbeeld effect hebben op verschillende lichaamsdelen, waaronder de vleugels van vogels, spieren, ademhalingsorganen kunnen aangetast worden. Het evenwichtsorgaan kan ook aangetast worden. Bij merels wordt, bij ziekte door het virus, vaak sloomheid en spierzwakte waargenomen. De spierzwakte kan als gevolg hebben dat de ademhalingsorganen en vleugels minder goed functioneren, waardoor de vogel moeite heeft met ademen en vliegen (Sovon, 2017). Er kunnen dus verschillende symptomen optreden in diverse lichaamsonderdelen. Welke symptomen een dier heeft ontwikkeld hangt af van waar in het lichaam het virus schade heeft aangericht en wat voor dier het is. Het virus kan bijvoorbeeld in het hart, de hersenen of de zenuwbanen aanwezig zijn en daar schade aanrichten (Universitair Diergeneeskundig Centrum Utrecht, z.d.). De ziekteverschijnselen die het usutuvirus veroorzaakt bij merels zijn vergelijkbaar met de effecten van het eerdergenoemde teken-encefalitisvirus op de mens (Reusken & Gassner, 2018). De effecten van het usutuvirus zijn niet alleen waarneembaar in aangetaste individuen, maar ook op populatieniveau. Een groot gevolg van de introductie van het usutuvirus in Europa is de merelsterfte die het virus heeft veroorzaakt: zo vond er in 2012 massale sterfte van merels plaats in Duitsland als gevolg van het usutuvirus (Universitair Diergeneeskundig Centrum Utrecht, z.d.). Het virus had toen nog niet toegeslagen in Nederland. Het aantal meldingen van dode merels neemt naarmate de zomer komt toe, in dit seizoen zijn dan ook de meeste muggen aanwezig en is de kans op verspreiding dus groter. In de zomer van 2017 was er een piek van 225 meldingen van gestorven merels in 2018 zat de piek op ongeveer 140 (Dutch Wildlife Health Center, 2018).

Voorkomen & Genezen

Het usutuvirus kan dus flink wat schade veroorzaken op kleine en op grote schaal, maar de vraag is of er ook iets gedaan kan worden tegen de effecten van het usutuvirus? Een mogelijke oplossing om verspreiding van het virus door muggen tegen te gaan zou kunnen zijn om muggenvallen in de Oostvaardersplassen te plaatsen. Hoewel op het moment het virus het meeste in zuid-Nederland voorkomt, wordt de Oostvaardersplassen als een potentieel gevaar gezien. De reden hiervoor is dat dit gebied een grote broedplaats biedt voor muggen en een belangrijke rustplaats is voor de trekvogels die het virus bij zich kunnen

dragen (Nijland, 2012). Door het plaatsen van muggenvallen zou de verspreiding kunnen worden beperkt. Een manier om besmetting met het virus te voorkomen is de blootstelling aan muggen te vermijden, dit zou dan vooral gericht zijn op gehouden vogels bij particulieren. Hier zouden mensen dan hun volière dusdanig moeten afschermen met bijvoorbeeld klamboes, om zo te voorkomen dat hun vogels gestoken worden door een mug die het usutuvirus bij zich draagt (Universiteit Utrecht, 2017). Deze maatregelen zijn echter preventief, er is (nog) geen vaccin ontwikkeld en beschikbaar tegen het usutuvirus (Vogelbescherming Vlaanderen, 2012). Momenteel kunnen alleen de symptomen worden bestreden (Universiteit Utrecht, 2017). Er is wel een behandeling mogelijk met rapamycin, een geneesmiddel dat de hoeveelheid aanwezige virusdeeltjes kan verminderen. Dit is het basisontwerp voor een nieuw anti-virus behandeling tegen het usutuvirus, maar is nog in ontwikkeling (Ashraf et al., 2015). Het zou wel kunnen dat er uiteindelijk immuniteit wordt ontwikkeld bij merels, omdat de overgebleven merels overlevende van het virus kunnen zijn (Factsheet Usutu virus, z.d.). Het is echter nog niet bekend of merels de ziekte kunnen overleven (Sovon, 2017).

Omdat het usutuvirus voornamelijk een gevaar vormt voor vogels zoals merels en uilen, is het voor veel mensen niet van groot belang om het virus te bestrijden, er is dus ook geen bestrijdingsdrempel. Bij het verwante westnijlvirus wordt echter wel gewerkt aan een vaccinatie en dan met name voor mensen. Dit heeft een hogere prioriteit, omdat er bij risicogroepen (hogere) kans is op een ernstig ziekteverloop (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, 2018). Voor paarden is al wel een vaccinatie voor het westnijlvirus ontwikkeld, eigenaren kunnen hun paard hiervoor laten inenten (Bakker & Bernard, 2018). Wat betreft het westnijlvirus zouden de paarden en mensen dan de bestrijdingsdrempel zijn.

Een mogelijke bestrijding voor het usutuvirus is het creëren van immuniteit voor het virus bij merels door een vaccin, dit vaccin is alleen nog niet beschikbaar. Indien er wel een vaccin beschikbaar komt, zou het realistischer zijn om dit toe te passen bij gehouden vogels dan om de gehele merelpopulatie in Nederland te vaccineren, de kosten die hierbij komen kijken dan nog buiten beschouwing gelaten. De symptomen kunnen wel bestreden worden, dit kan bijvoorbeeld uitgevoerd worden bij zieke merels die door de dierenambulance worden opgehaald en in een vogelopvangcentrum terecht komen of bij gehouden vogels. Het is alleen zoals eerder genoemd nog niet bekend of ze de ziekte kunnen overleven. Als het bestrijden van de symptomen van het dier nog steeds leidt tot de dood, heeft dit dus geen effect. Mocht de behandelde vogel het virus wel overleven, dan wordt het dier immuun (Sovon, 2017). Het is dus nog niet duidelijk of het usutuvirus bestreden kan worden. Ook is het vanaf de buitenkant moeilijk vast te stellen of het om het usutuvirus gaat, omdat de ziekteverschijnselen veel lijken op die van andere ziektes (Sovon, 2017). Er zijn echter wel al verschillende manieren waarop het virus gedetecteerd kan worden. Een voorbeeld hiervan is het detecteren van het RNA van het usutuvirus in muggen, vogels en mensen. Dit wordt uitgevoerd door middel van het testen van weefsel en speeksel. De aanwezigheid van het viraal RNA in het speeksel van twee muggensoorten (*Culex pipiens* & *Culex quinquefasciatus*), wijst erop dat beide soorten competent zijn in het verspreiden van het usutuvirus (Cook et al., 2018). Voor het aantonen van het usutuvirus kan gebruik worden gemaakt van testen om het virus zelf aan te tonen, of van serologische testen waarbij er gekeken wordt naar antistoffen. Het handigste is om te onderzoeken of het virus zelf gedetecteerd kan worden, omdat er bij serologische testen geen goed onderscheid gemaakt kan worden tussen het usutuvirus en zijn eerder benoemde verwant het encefalitisvirus. Er zijn drie testen die het meest gebruikt worden voor de detectie van het usutuvirus, dit zijn RT-PCR, immunohistochemie en in situ hybridisatie (Lammers, 2013).

In 2006 werd voor het eerst in Catalonië het usutuvirus aangetoond door middel van RT-PCR in een zwerm van *Culex pipiens* muggen (Vázquez et al., 2011). Bij RT-PCR wordt er

voornamelijk gebruikt voor de detectie van viraal RNA, ook wanneer er weinig genetisch materiaal aanwezig is. De methode kan worden uitgevoerd door weefsels van muggen te verzamelen, bloed of cerebrospinaal vocht (hersenvloeistof) van vogels en zoogdieren die als reservoir dienen. Onder de juiste omstandigheden kan deze detectiemethode erg gevoelig zijn en kan het dan gebruikt worden voor de bepaling van het specifieke causale virus. De tweede methode is immunohistochemie, deze methode wordt toegepast om virale antigenen in geïnfecteerde cellen te tonen. Na een biopsie wordt het weefsel chemisch gefixeerd of in dunne plakjes gesneden en ingevroren. Antistoffen die kenmerkend zijn voor het virus worden vervolgens gebruikt om het virus op te kunnen sporen. De derde methode is in situ hybridisatie, deze test lijkt op immunohistochemie, maar in plaats van virale antigenen wordt viraal nucleïnezuur aangetoond met behulp van specifieke RNA probes. RNA probes zijn RNA strengen die een specifieke RNA sequentie kunnen lokaliseren in een weefsel (Lammers, 2013). Er zijn dus verschillende methoden om het usutuvirus te detecteren. Met een vroege diagnose kan de bestrijding van de symptomen eerder van start gaan en kunnen wellicht hiermee de ziekteverschijnselen worden gereduceerd. Als de ziekteverschijnselen minder ernstig zijn kan hiermee de overlevingskans worden vergroot. Indien het ziektebeeld niet wordt aangepakt, verzwakken de vogels en zijn ze hierdoor erg kwetsbaar, waardoor er meer kans is op predatie (Vogelbescherming Nederland, 2016). Angst voor besmetting van honden en katten met het virus door contact met zieke vogels is echter niet nodig, want het virus is niet ziekmakend voor deze dieren (Sovon, 2017).

Er is dus nog geen echte bestrijding van het virus mogelijk en gezien de relatief snelle verspreiding van het virus, baart dit zorgen. Er is om deze reden al onderzoek verricht naar de mogelijke vector rol van de mug in de verspreiding van het usutuvirus naar Noord-Amerika, waar het nog niet voorkomt. Bij dit onderzoek is gekeken naar de verspreiding van mogelijke muggensoorten die als vector werken buiten de endemische regio's van usutuvirus, in dit geval Noord-Amerika. Zoals bij andere verwanten al is waargenomen, is de aanwezigheid van vectorsoorten essentieel voor het voortzetten van de viruscyclus. Uit het onderzoek is gebleken dat, ondanks het genetisch verschil tussen muggen in Noord-Amerika en muggen in Europa en Afrika, de muggen in Noord-Amerika capabel zijn om als vector te dienen van het usutuvirus (Cook et al., 2018). Als zo'n mug dus als vector dient, kan het hiermee bijdragen aan de voltooiing van de levenscyclus van het virus en daarmee ook zorgen voor een verdere verspreiding buiten Europa.

Alles bij elkaar is het usutuvirus dus niet een virus wat onderschat moet worden, het is een virus wat zich op een slinkse manier verspreid, maar wel een grote impact kan hebben op verschillende diersoorten. Waakzaamheid is dus belangrijk om de verspreiding van het virus in de gaten te houden. Meldingen van dode of zieke vogels die mogelijk het virus bij zich dragen kunnen gedaan worden bij Sovon, de Vogelbescherming of het Dutch Wildlife Health Center (Universiteit Utrecht, 2012). Wellicht is er in de toekomst een bestrijding van het virus mogelijk.

Bronnenlijst

Ashraf, U., Ye, J., Ruan, X., Wan, S., Zhu, B., & Cao, S. (2015). Usutu virus: an emerging flavivirus in Europe. *Viruses*, 7(1), 219-238.

Bakker, J., Bernard, F. (2018, oktober). West Nijl virus bij paarden. Geraadpleegd op 9 oktober 2018, van <https://www.paardenarts.nl/kennisbank/west-nijl-virus-bij-paarden/#vaccineren>

Cadar, D., Becker, N., de Mendonca Campos, R., Börstler, J., Jöst, H., & Schmidt-Chanasit, J. (2014). Usutu virus in bats, Germany, 2013. *Emerging infectious diseases*, 20(10), 1771.

Cadar, D., Lühken, R., van der Jeugd, H., Garigliany, M., Ziegler, U., Keller, M., ... & Munnink, B. B. O. (2017). Widespread activity of multiple lineages of Usutu virus, western Europe, 2016. *Eurosurveillance*, 22(4).

Centers for disease control and prevention. (z.d.). Zika and animals. Geraadpleegd op 11 oktober 2018, van <https://www.cdc.gov/zika/transmission/qa-animals.html>

Cirad. (2018, 22 juni). Usutu: an African virus under surveillance in Europe. Geraadpleegd op 20 september 2018, van <https://www.cirad.fr/en/news/all-news-items/press-releases/2018/usutu>

Cook, C. L., Huang, Y. J. S., Lyons, A. C., Alto, B. W., Unlu, I., Higgs, S., & Vanlandingham, D. L. (2018). North American *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus* are competent vectors for Usutu virus. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(8), e0006732.

Dutch Wildlife Health Center. (2018, 24 augustus). Vragen en antwoorden over usutuvirus. Geraadpleegd op 19 september 2018, van <https://www.dwhc.nl/vragen-usutuvirus-2018/>

Dutch Wildlife Health Center. (2018, 15 augustus). Voor het 3e jaar merelsterfte door usutuvirus. Geraadpleegd op 19 september 2018, van <https://www.dwhc.nl/3e-jaar-usutuvirus-nederland/>

Dutch Wildlife Health Center (z.d.). Ziekte: Usutu. Geraadpleegd op 19 september 2018, van <https://www.dwhc.nl/ziekten/usutu/>

Erasmus MC. (2016, September). Veel gestelde vragen over het Usutu-virus in merels. Geraadpleegd op 20 september 2018, van https://www.erasmusmc.nl/viroscience/research/Newsarchive_virology/2016-july-sept_virology/veel-gestelde-vragen-over-het-Usutuvirus-in-merels/

Factsheet Usutu virus. (z.d.). Geraadpleegd op 20 september 2018, van http://www.steenuil.nl/pdf/FACTSHEET_USUTUVIRUS.pdf

Helm, F. (2017, 29 september). Een beklemmende stilte zonder de merels. Geraadpleegd op 19 september 2018, van <https://www.nrc.nl/nieuws/2017/09/29/een-beklemmende-stilte-zonder-de-merels-13256861-a1575440>

Jöst, H., Bialonski, A., Maus, D., Sambri, V., Eiden, M., Groschup, M. H., ... & Schmidt-Chanasit, J. (2011). Isolation of Usutu virus in Germany. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 85(3), 551-553.

Lambrechts, T. (2017, 23 augustus). Q&A: Local blackbirds threatened by deadly African virus. Geraadpleegd op 11 oktober 2018, van <http://www.flanderstoday.eu/innovation/ga-local-blackbirds-threatened-deadly-african-virus>

Lammers, R. (2013). Belang van het usutu virus in Europa. Geraadpleegd op 9 oktober 2018, van https://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/062/823/RUG01-002062823_2013_0001_AC.pdf

Nijland, R. (2012, 9 oktober). De mug die de wereld velde. Geraadpleegd op 19 september 2018, van <https://www.volkskrant.nl/nieuws-achtergrond/de-mug-die-de-merel-velde~b2e836c2/>

Reusken, C., & Gassner, F. (2018, 18 april). Teken-encefalitis in Nederland. Geraadpleegd op 19 september 2018, van <https://www.biomaatschappij.nl/teken-encefalitis/>

Reusken, C., Zutta, I., Kik, M., Cletona, N., Rijks, J., Schmidt-Chanasit, J., . . . IJzer, J. (2014). Geen bewijs voor Usutuvirus als oorzaak van sterfte bij zangvogels in Nederland: herfst 2012. Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 3. Geraadpleegd op 19 september 2018, van https://www.researchgate.net/publication/261404404_No_evidence_for_usutu_virus_as_cause_of_mortality_in_songbirds_in_the_Netherlands_autumn_2012

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (z.d.). Gele koorts. Geraadpleegd op 11 oktober 2018, van https://www.rivm.nl/Onderwerpen/G/Gele_koorts

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. (2016, 21 juni). Vragen en antwoorden Usutuvirus. Geraadpleegd 20 september 2018, van https://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Algemeen_Actueel/Veelgestelde_vragen/Infectieziekten/Vragen_en_antwoorden_usutuvirus

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. (2018, 3 oktober). Westnijlvirusinfectie. Geraadpleegd op 9 oktober 2018, van <https://ci.rivm.nl/richtlijnen/westnilevirusinfectie>

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. (z.d.). Zikavirus. Geraadpleegd op 11 oktober 2018, van <https://www.rivm.nl/Onderwerpen/Z/Zikavirus>

Rijks, J. M., Kik, M. L., Slaterus, R., Foppen, R. P. B., Stroo, A., IJzer, J., ... & Reusken, C. B. E. M. (2016). Widespread Usutu virus outbreak in birds in the Netherlands, 2016. *Eurosurveillance*, 21(45).

Simonin, Y., Sillam, O., Carles, M. J., Gutierrez, S., Gil, P., Constant, O., ... & Leparco-Goffart, I. (2018). Human Usutu Virus Infection with Atypical Neurologic Presentation, Montpellier, France, 2016. *Emerging infectious diseases*, 24(5), 875.

Sovon (2017, 29 augustus). Vragen en antwoorden over Merels en Usutu. Geraadpleegd op 20 september 2018, van <https://www.sovon.nl/nl/actueel/nieuws/vragen-en-antwoorden-over-merels-en-usutu>

ssRNA-virus (z.d.). Geraadpleegd op 9 oktober 2018, van https://www.biology-online.org/dictionary/SsRNA_virus

Universitair Diergeneeskundig Centrum Utrecht. (z.d.). Usutuvirus. Geraadpleegd op 20 september 2018, van https://www.diergeneeskunde.nl/ziektebeeld/gezondheidsproblemen_vogels/usutu/

Universiteit Utrecht. (2012, 18 december). Merels en Usutu-virus. Geraadpleegd op 20 september 2018, van <https://www.dwhc.nl/merels-usutu-virus/>

Universiteit Utrecht. (2017). Vragen en antwoorden over het Usutuvirus, versie 2017.1. Geraadpleegd op 19 september 2018, van https://www.uu.nl/sites/default/files/2017_-_vragen_en_antwoorden_over_het_usutuvirus_web_v2.pdf

Usutu virus (z.d.). Geraadpleegd op 20 september 2018, van <https://www.genome.jp/virushostdb/64286>

Vazquez, A., Jiménez-Clavero, M. A., Franco, L., Donoso-Mantke, O., Sambri, V., Niedrig, M., ... & Tenorio, A. (2011). Usutu virus–potential risk of human disease in Europe. *Eurosurveillance*, 16 (31), 19935.

Vázquez A., Ruiz S., Herrero L., Moreno J., Molero F., Magallanes A., . . . Tenorio, A. (2011). Short Report: West Nile and Usutu Viruses in Mosquitoes in Spain, 2008-2009. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 85(1), 178-181.

Virus levenscyclus. (z.d.). Geraadpleegd op 20 september 2018, van <https://biologielessen.nl/index.php/a-17/1915-virus-levenscyclus>

Vogelbescherming Nederland. (2016, 20 september). Usutu-virus, de ‘merelziekte’ bereikt Nederland. Geraadpleegd op 19 september 2018, van

https://www.vogelbescherming.nl/actueel/bericht/usutu-virus-de-merel-ziekte-bereikt-nederland?qclid=CjwKCAjw54fdBRBbEiwAW28S9uPKJViZTggHceXBD2GS2-lyovqBkxdAHeZHU3bUgAk4GulzXtS4tBoCBt4QAvD_BwE

Vogelbescherming Vlaanderen. (2012, 11 oktober). Merel bedreigd door Usutu-virus? Geraadpleegd op 20 september 2018, van <https://www.naturetoday.com/intl/nl/nature-reports/message/?msg=18822>

Weissenböck, H., Kolodziejek, J., Url, A., Lussy, H., Rebel-Bauder, B., & Nowotny, N. (2002). Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 8(7), 652.

Westnijlvirus (z.d.). Geraadpleegd op 10 oktober 2018, van <https://www.gddiergezondheid.nl/diergezondheid/dierziekten/westnijlvirus>

