

# Zika, een intrigerende epidemie

## Zika, an intriguing epidemic

Dr. A.G.C. Voordouw<sup>1</sup>, R. van Grootveld<sup>1</sup>, A. van der Hoeven<sup>1</sup>, dr. M.J. van Hemert<sup>2</sup>, dr. M.C.W. Feltkamp<sup>3</sup>

### Samenvatting

Sinds 2015 zijn Zuid- en Midden-Amerika getroffen door een ongekend grote zika-epidemie. In dit artikel geven wij een indruk van wat er tot nu toe bekend is over zika en het zikavirus, en stippen daarbij diverse kennishiaten aan. Zo doet de epidemische golf waarmee het zikavirus zich nu verspreidt vermoeden dat de getroffen populatie immunologisch naïef is, maar immunologische data om dit te staven ontbreken dusver. Hebben er misschien veranderingen plaatsgevonden in het zikavirus of zijn vector waardoor zika zo'n vlucht heeft kunnen nemen, en welke rol spelen andere gastheren en andere, vectoronafhankelijke, transmissieroutes daarbij? Ook over het celtropisme, de pathogenese, en de epidemiologie van zika en zijn complicaties valt nog veel te leren. Gezien de snel opeenvolgende ontwikkelingen in dit veld is het een illusie om te veronderstellen dat deze publicatie een volledig en up-to-date beeld geeft. Desondanks hopen wij door te focussen op een aantal aspecten van virologische, epidemiologische en diagnostische aard een bijdrage te kunnen leveren aan de discussie rondom deze intrigerende epidemie.

(*Tijdschr Infect* 2016;11(3):81-91)

### Summary

As of 2015, a large zika epidemic is spreading through South and Middle America. In this review article we summarise the present knowledge about zika and the zika virus, and highlight some relevant knowledge gaps. The latter relate especially to the immunology and tropism of the zika virus, the pathogenesis of zika infection, and the role that non-human hosts and vector-independent transmission play in zika infection. Given the rapid developments in this field, we are aware of the shortcomings of this publication. Nevertheless, by focussing on a number of specific virological, epidemiological and diagnostic aspects of zika, we aim to contribute to the discussion about this intriguing epidemic.

### Ontdekking, verspreiding en ziekte

Het zikavirus (ZIKV) werd in 1947 voor het eerst beschreven als een 'filterable transmissible agent' geïsoleerd uit een koortsige resusaap in het Oegandese Zika-oerwoud.<sup>1,2</sup> Een jaar later werd ZIKV in het hetzelfde bos uit een *Aedes africanus*-mug geïsoleerd.<sup>2</sup> De eerste humane infecties werden in 1954 beschreven in Nigeria.<sup>3</sup> De eerste beschrijving uit Azië (Maleisië) dateert van 1969, waarbij ZIKV voor het eerst uit een *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*)-mug werd geïsoleerd.<sup>4</sup> In de tientallen jaren daarna werden ZIKV-infecties slechts sporadisch be-

schreven in Afrika en Azië. Dit veranderde met de zika-uitbraak in Micronesië (Yap) in 2007, en opvolgende uitbraken op andere eilanden in de Stille Oceaan, zoals op Tahiti, de Cookeilanden en Paaseiland.<sup>5</sup> De huidige epidemie lijkt evenwel niet het resultaat van deze oostwaartse beweging, aangezien die juist begon aan de Atlantische kust van Brazilië (Pernambuco). Sinds 2015 worden er ook diverse importgevallen gerapporteerd in westerse landen, waaronder enkele tientallen symptomatische gevallen in Nederland, waarbij reizen naar Suriname de belangrijkste bron van infectie bleek.<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>AIOS medische microbiologie <sup>2</sup>viroloog <sup>3</sup>arts-microbioloog (viroloog), afdeling Medische Microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden.

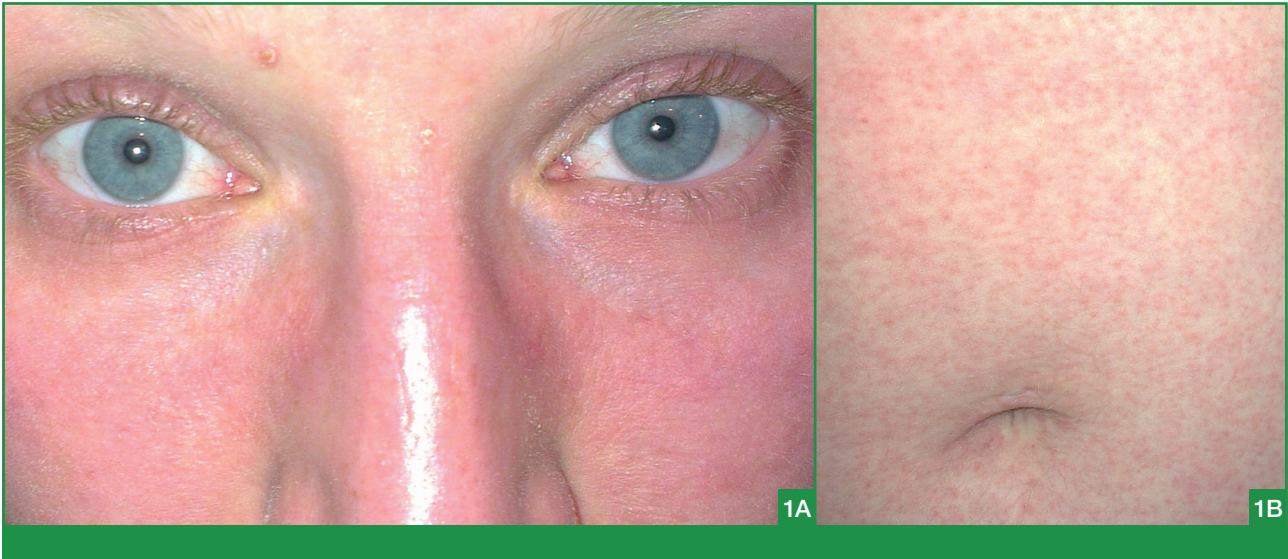
Correspondentie richten aan: mw. dr. M.C.W. Feltkamp, arts-microbioloog (viroloog), afdeling Medische Microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Postbus 9600, 2300 RC Leiden, tel.: 071-5261652, e-mailadres: m.c.w.feltkamp@lumc.nl.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** Aedes, diagnostiek, flavivirus, fylogenie, mug, pathogenese, preventie, serologie, transmissie, tropisme, zikavirus.

**Keywords:** Aedes, diagnostics, flavivirus, mosquito, pathogenesis, phylogeny, prevention, serology, transmission, tropism, zika virus.

Ontvangen 6 april 2016, geaccepteerd 2 mei 2016.



**Figuur 1.** Zika-gerelateerd exantheem op buik en gelaat van een PCR-bevestigde patiënt. Een jonge vrouw van 29 jaar ontwikkelde drie dagen na terugkomst van een vakantie in Suriname koorts (niet gemeten), malaise en hoofdpijn met name retro-orbitaal bij oogbewegingen. Drie dagen later, zes dagen na terugkomst, constateerde zij roodheid in het gelaat (A) en een niet-jeukende maculopapuleuze uitslag op de romp (B) en extremiteiten. Tevens was er enige versterkte vaattekening in beide ogen (A). Daarnaast bemerkte zij in de loop van die dag stijfheid en oedemateuze zwelling op aan polsen, knieën en enkels. Gedurende alle ziektedagen was zij intolerant voor contactlenzen. Na zeven ziektedagen, waarin zij wel doorwerkte als AIOS Medische Microbiologie, waren de klachten verdwenen. PCR-onderzoek op urine afgenomen op de vijfde ziektedag toonde de aanwezigheid aan van ZIKV-RNA, maar plasma van dezelfde datum was bij herhaling negatief. Preliminair serologisch onderzoek toonde in de acute fase Zika-Ig-antistoffen aan. Drie weken later werd IgG-seroconversie geobserveerd. Bij navraag gaf zij aan diverse malen door muggen te zijn gestoken in Suriname, waar zij onder andere Paramaribo, het Brokopondomeer en de Commewijneregio bezocht.

De incubatietijd tussen muggenbeet en ziek worden is doorgaans een week (drie tot twaalf dagen).<sup>8</sup> Op basis van de beschrijving van de Yap-epidemie wordt verondersteld dat ongeveer driekwart van de ZIKV-infecties asymptomatisch verloopt.<sup>5</sup> Veel voorkomende symptomen zijn: koorts, conjunctivitis, hoofdpijn, retro-orbitale pijn, spier- en gewrichtspijnen soms met zwelling en oedeem van vooral handen en voeten, en daarnaast het typische maculopapuleus, fijnvlekkige, exantheem (zie *Figuur 1*). De symptomen kunnen daarmee lijken op die van dengue en chikungunya, infectieziekten die momenteel in ook in Zuid- en Midden-Amerika voorkomen.<sup>8</sup> De meeste patiënten herstellen restloos binnen één tot twee weken. Een korte beschrijving van een typisch zikageval gediagnosticeerd in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) is toegevoegd aan *Figuur 1*. Voor een uitgebreide beschrijving van het ziektebeeld verwijzen we naar een recente Klinische Les.<sup>9</sup> Momenteel bestaat er in Nederland nog geen officiële meldingsplicht, maar laboratoria worden geacht een ZIKV-infectie aan het centrum Landelijke Coördinatie Infectieziektebestrijding (LCI) te melden wanneer het een zwangere of neonat betreft, of als de infectie tot ziekenhuisopname of overlijden heeft geleid.

## Complicaties; microcefalie en het guillain-barrésyndroom

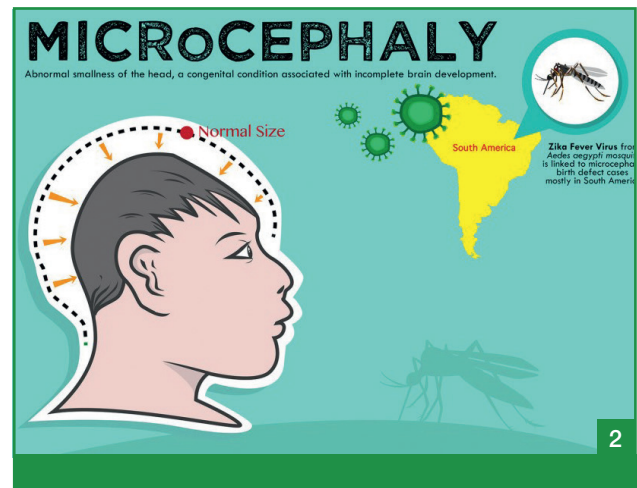
Voor zover ons bekend is er op dit moment maar één ZIKV-infectie met dodelijke afloop beschreven, bij een tiener met sikkelcelziekte.<sup>10</sup> Hemorragische koorts, een bekende complicatie van dengue, is tot nu toe niet beschreven; een matig verhoogde bloedingsneiging wel.<sup>11</sup> Complicaties die nu vooral gemeld worden zijn microcefalie bij de pasgeborene als gevolg van een congenitale ZIKV-infectie (zie *Figuur 2*), en het guillain-barré-syndroom (GBS) post-infectie. Zo signaleerde de Braziliaanse perinatale registratie in 2015 een toename van de microcefalie-incidentie van zo'n 5 naar 100 per 100.000 levendgeborenen in zika-getroffen gebieden.<sup>12,13</sup> En in een klein zwangerencohort bleek het percentage foetale afwijkingen gedetecteerd door middel van echo-onderzoek bij ZIKV-geïnfecteerde moeders hoog (29%), terwijl bij polymerasekettingreactie ('polymerase chain reaction', PCR)-negatieve zwangeren geen complicaties werden gezien.<sup>14</sup> Op grond van deze en andere kleine studies wordt momenteel een causaal verband met congenitale ZIKV-infectie zeer waarschijnlijk geacht.<sup>15</sup> Om begrijpelijke redenen wordt hierop vol geanticipeerd en raden instanties, zoals het Rijksinstituut voor Volks-

gezondheid en Milieu (RIVM) in Nederland, vrouwen met een zwangerschap(s) aan om zika-getroffen gebieden te mijden.<sup>16,17</sup> Inmiddels is in een klein aantal gevallen congenitale ZIKV-infectie bevestigd door het detecteren van ZIKV-RNA in vruchtwater en placenta-weefsel, en het aantonen van flavivirus-achtige partikels in microcefal hersenweefsel van overleden baby's.<sup>18,19</sup> Naast microcefalie zijn er ook aanwijzingen voor andere geboortedefecten die gecorreleerd kunnen zijn met congenitale zika, zoals chorioretinitis, intracerebrale verkalkingen en hydrops foetalis.<sup>20,21</sup> De langetermijn-effecten van deze congenitale afwijkingen laten zich voorlopig raden.

Opvallend genoeg is uit vorige, relatief kleine, zika-uitbraken een associatie met microcefalie niet direct naar voren gekomen. Retrospectief onderzoek op Tahiti wijst echter nu wel degelijk op een clustering van microcefaliegevallen na de zika-uitbraak, waarbij infecties in het eerste trimester van de zwangerschap het grootste risico vormden.<sup>22</sup> De incidentie wordt geschat op 1:100 geboortes uit ZIKV-geïnfecteerde moeders. Deze incidentie, die wellicht lager lijkt dan verwacht op grond van alle media-aandacht, zou kunnen verklaren waarom de associatie met zika in kleine getroffen populaties niet eerder opviel. Gezien de hoge 'attack rate' van zika (66% Tahiti, 73% Yap) lijkt het effect desondanks substantieel, zoals in Brazilië is gebleken.

Grootschalig observationeel epidemiologisch onderzoek zal uiteindelijk nodig zijn om de associatie tussen zika en microcefalie te bevestigen, waarbij laboratorium-bevestigde maternale blootstelling aan zika vergeleken wordt met het optreden van microcefalie en andere symptomen van congenitale infectie bij het kind. Een belangrijke reden dat dergelijk onderzoek nog niet heeft plaatsgevonden is, afgezien van logistieke en financiële redenen, gelegen in het feit dat er tot op heden geen makkelijk uitvoerbare (serologische) methode voorhanden was om ZIKV-blootstelling vast te stellen in een populatie die ook blootgesteld is aan gerelateerde ziekten zoals dengue.

Andere aanwijzingen voor een causaal verband tussen ZIKV-infectie en microcefalie moeten komen uit experimenteel pathogenetisch onderzoek, waarbij op gastheer-, cellulair en moleculair niveau wordt gekeken naar de uitwerking van een ZIKV-infectie. Eenzelfde aanpak zal moeten worden gevolgd ten aanzien van de veronderstelde associatie met het GBS, die overigens wel al eerder was gelegd, en niet uniek is voor zika.<sup>23,24</sup> Recent



**Figuur 2.** Microcefalie en zika. Op grond van coincidentie in tijd en plaats werd al snel een relatie gelegd tussen de zika-epidemie in het oosten van Brazilië en een lokale toename in microcefaliegevallen, getuige ook deze infographic.

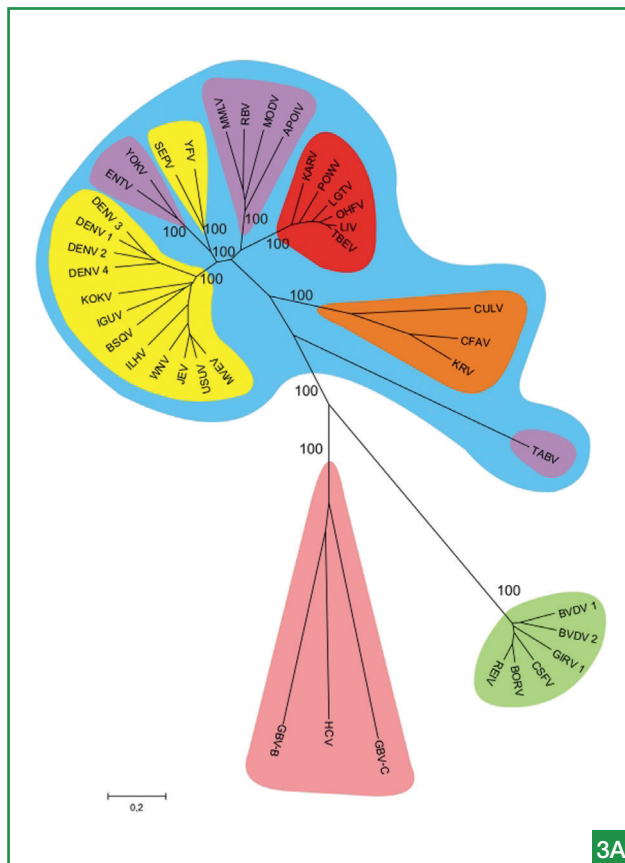
Bron: <http://inhabitat.com/who-the-zika-virus-is-officially-a-public-health-emergency-of-international-concern/>

is ook een geval van acute myelitis beschreven in het kader van een symptomatische ZIKV-infectie, waarbij viraal RNA werd aangetoond in de liquor.<sup>25</sup>

### Zikavirus, fylogenie en evolutie

ZIKV, een 'positive-sense' RNA-virus met een enkelstrengs lineair genoom van zo'n 10.000 nucleotiden, behoort tot de genus *Flavivirus* binnen de *Flaviviridae*-familie (zie *Figuur 3*, pagina 84). Flavivirussen worden door muggen of teken overgedragen en behoren daarom ook tot de Arbo ('artropod-borne')-virussen. Andere bekende Flavivirussen die net als ZIKV door muggen worden overgedragen zijn denguevirus (DENV), gele koortsvirus ('yellow fever virus', YFV), Japanse-encefalitisvirus (JEV) en westnijlvirus (WNV).<sup>26</sup> Chikungunyavirus (CHIKV), waarmee enige klinische en epidemiologische verwantschap bestaat, wordt ook overgedragen door deze muggen maar behoort niet tot de *Flaviviridae*. Hepatitis C-virus (HCV) behoort daar wel toe maar resideert in een ander genus.

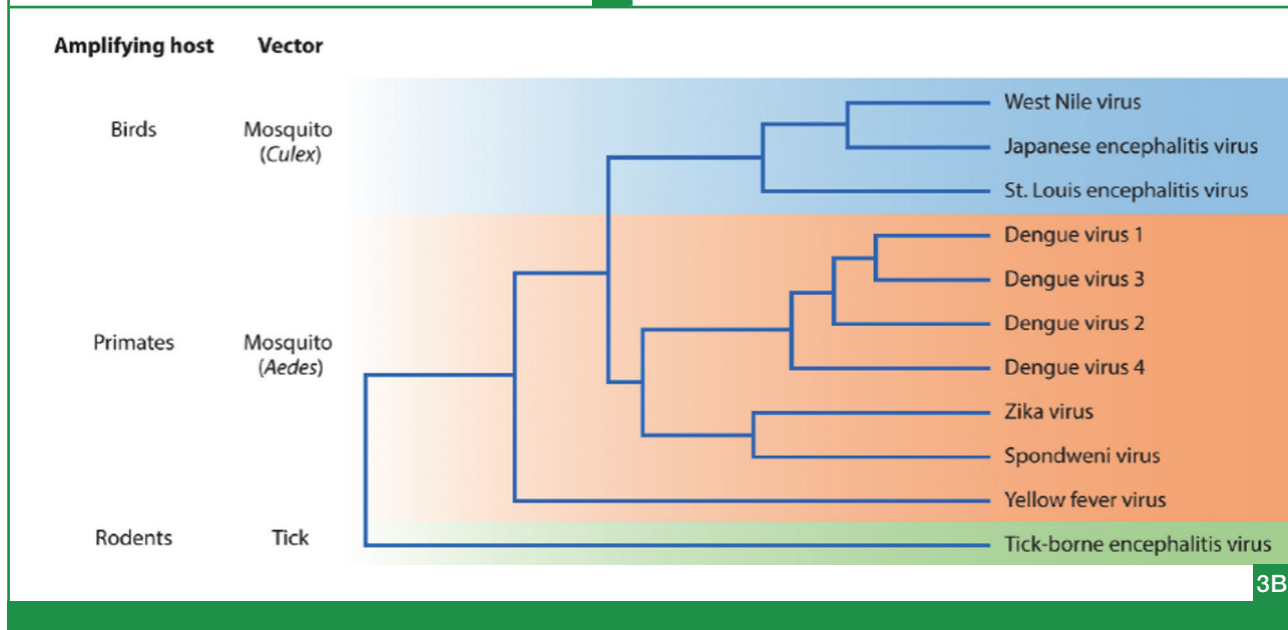
Over de diversiteit en evolutie van ZIKV is sinds haar ontdekking niet al teveel bekend. Uit vergelijkend onderzoek onder Afrikaanse ZIKV-stammen blijkt dat ZIKV in zijn huidige vorm waarschijnlijk aan het begin van de 20<sup>ste</sup> eeuw is ontstaan in Centraal-Afrika.<sup>1</sup> Vandaar uit zijn er waarschijnlijk twee onafhankelijke introducties geweest naar West-Afrika. Een derde cluster, ontstaan in Maleisië, vormt waarschijnlijk de basis voor de ZIKV-stam die in 2007 de uitbraak in Yap veroorzaakte.<sup>1</sup>



**Figuur 3.** Fylogenie van de *Flaviviridae*. De in (A) getoonde fylogenetische boom is een consensus 'neighbour-joining tree' van de familie van de *Flaviviridae* en is gebaseerd op sequenties van het gehele polyproteïne. Het *Flavivirus*-genus is weergegeven in blauw, *Pestivirus* in lichtgroen en *Hepacivirus* (waaronder hepatitis C-virus) in zalmroze. Het *Flavivirus*-genus is verder onderverdeeld naar vectorsoort, met 'mosquito-borne'-virussen in geel en de 'tick-borne'-virussen in rood. Zikavirus, dat zelf niet is aangegeven, bevindt zich in de gele lijn tezamen met onder andere denguevirus, westnijlvirus en Japanse-encefalitisvirus. In (B) wordt de relatie binnen het *Flavivirus*-genus getoond voor veelvoorkomende humane pathogene flavivirussen, inclusief zikavirus. Naast hun fylogenetische relatie gebaseerd op overeenkomsten tussen het gehele flavivirus-polyproteïne, worden hierin ook de belangrijkste gastheren en vectoren genoemd.

Bronnen: (A) Lobo FP, Mota BEF, Pena SDJ, Azevedo V, Macedo AM, Tauch A, et al. *Virus-Host Coevolution: Common Patterns of Nucleotide Motif Usage in Flaviviridae and Their Hosts*. *PLoS One*. 2009; 4(7): e6282. (B) Helen M. Lazear and Michael S. Diamond. *Zika Virus: New Clinical Syndromes and its Emergence in the Western Hemisphere*. *J Virol* 2016, Epub.

3A



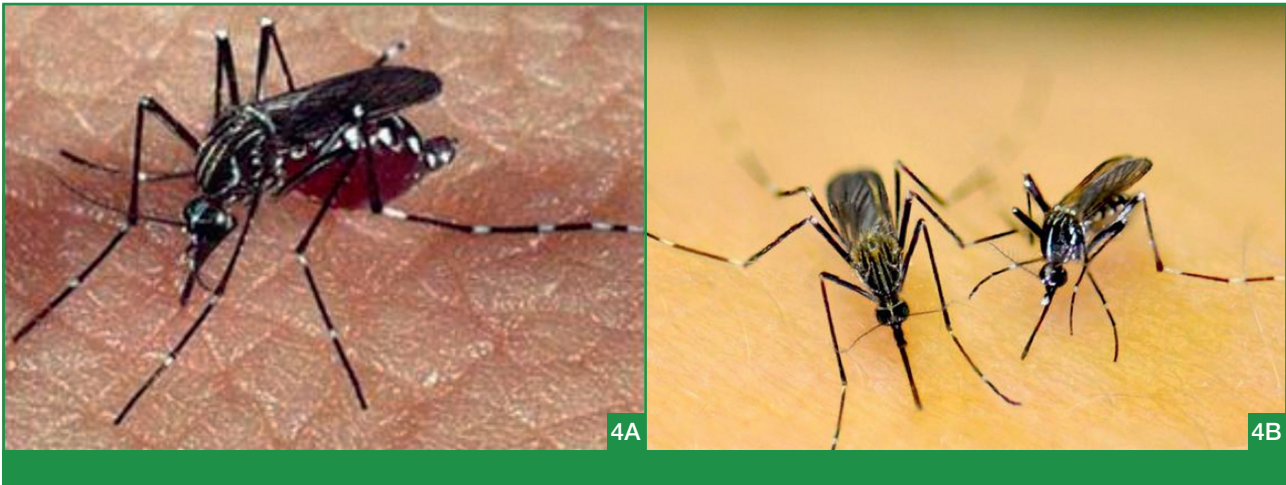
3B

Interessant is dat het virus zich daarbij waarschijnlijk exclusief via mensen is gaan verplaatsen, aangezien er op Yap geen apen zijn.<sup>5</sup> Recente fylogenetische analyses van een aantal geïsoleerde virussen uit Suriname en Brazilië laten zien dat deze ook behoren tot het Aziatische genotype, en vooral gerelateerd zijn aan de stam die in 2013 een uitbraak veroorzaakte in Tahiti.<sup>27,28</sup> De Braziliaanse data suggereren dat de ZIKV-introductie in Brazilië in 2013 plaatsvond, mogelijk ten tijde van een

groot internationaal voetbaltoernooi (Confederations Cup) waaraan ook Tahiti deelnam dat op dat moment getroffen werd door zika.<sup>27</sup> In tegenstelling tot DENV, zijn er bij ZIKV geen verschillende serotypen beschreven.

### Transmissie

ZIKV wordt overgedragen door geïnfecteerde, vrouwelijke *Aedes*-muggen (zie *Figuur 4A*) na bloedopname van een viremisch persoon. De meest relevante species,



**Figuur 4.** Bewezen en mogelijke vectoren van zikavirus. In (A) een foto van de bewezen zikavirus-vector, de *Aedes Aegypti*-mug. In (B) zijn de mogelijke zikavirus-vectoren *Aedes japonicus* (links) en *Aedes albopictus* (rechts) te zien terwijl zij tezamen een bloedmaaltijd nemen bij dezelfde gastheer. Het betreft alle drie zogenoemde tijgermuggen die afgezien van subtiele verschillen in lengte vooral onderscheiden kunnen worden door de witte streepjesteekening op hun kop.

Bronnen: (A) <http://www.cdc.gov/dengue/resources/30Jan2012/comparisonofdenguevectors.pdf>. (B) Photo by Ary Farajollahi <http://www.insectimages.org/browse/auththumb.cfm?aut=78449>

de *Ae. aegypti*, is dezelfde soort die dengue en gele koorts verspreidt. Tot voor kort werd verondersteld dat ZIKV via muggen in een transmissiecyclus met vooral apen onderhouden werd, waarbij de mens slechts als een incidentele gastheer functioneerde.<sup>1</sup> Dit scenario gaat waarschijnlijk nog steeds op voor het Afrikaanse ZIKV-genotype.<sup>15</sup> In gebieden zonder primaten, bij voldoende viremische personen, zou de mens echter ook het reservoir kunnen zijn, zoals waarschijnlijk het geval was tijdens de Yap-uitbraak. In Zuid-Amerika is ZIKV inmiddels wel weer aangetoond in apen.<sup>29</sup> Mogelijk dat veranderingen in de ZIKV-glycosylering binnen de mug een rol spelen bij de verspreiding onder verschillende gastheersorten.<sup>1</sup>

De *Ae. aegypti* komt voor in tropische en subtropische gebieden en kan niet overleven bij gematigde temperaturen. Hoewel de *Ae. aegypti* in Europa nauwelijks meer voorkomt, kon deze recent in Madeira wel aanleiding geven tot een grote dengue-epidemie; een scenario dat zich kan herhalen met zika.<sup>30,31</sup> Momenteel wordt er volop gespeculeerd of andere *Aedes*-soorten ook als ZIKV-vector zouden kunnen functioneren. Daarbij wordt vooral de *Ae. albopictus* (Aziatische tijgermug) genoemd, die zich de afgelopen jaren volop heeft gevestigd in Mediterraan Europa, en in mindere mate de *Ae. japonicus* (Aziatische bosmug) die lokaal ook in Nederland voorkomt (zie *Figuur 4B*).<sup>32-34</sup> Voor beide zijn er tot op heden weinig aanwijzingen dat ze ZIKV op enige schaal hebben overgedragen, en voor de Aziatische bosmug wordt deze kans zeer klein geacht. Zeer recent is wel ZIKV

aangetroffen in *Ae. albopictus* in Mexico.<sup>35,36</sup> Overigens zijn er geen klimatologische redenen waarom *Ae. aegypti* niet opnieuw in Zuid-Europa geïntroduceerd zou kunnen worden.<sup>37</sup>

Naast muggen zijn er nog een aantal andere manieren waarop ZIKV kan worden overgedragen (zie *Tabel 1*, pagina 86). Zo kan ZIKV in de viremische fase ook worden overgebracht via bloedtransfusie, en kan het percentage potentieel besmettelijke (asymptomatische) donoren tijdens een uitbraak flink oplopen.<sup>38-40</sup> Aangezien Sanquin een uitsteltermijn van donatie hanteert van vier weken na reizen in gebieden waar ZIKV voorkomt, is overdracht via bloedtransfusies in Nederland zeer onwaarschijnlijk. Er zijn voor zover wij weten geen case reports verschenen over ZIKV-overdracht via orgaan-donatie, maar dit is zeker niet ondenkbaar, aangezien dit ook voor WNV beschreven is.<sup>41</sup> Verticale ZIKV-transmissie was reeds aangetoond bij de uitbraak op Tahiti.<sup>42</sup>

Seksueel contact kan ook tot ZIKV-overdracht leiden. Dat blijkt uit diverse geïsoleerde vrouwelijke zika-gevallen zonder epidemische blootstelling, die partner zijn van mannelijke zikapatiënten.<sup>43,44</sup> Dit wordt ondersteund door een aanzienlijke virale load die detecteerbaar is in sperma.<sup>45</sup> Hoe lang sperma infectieus blijft is niet precies bekend, maar viraal RNA is tot twee maanden na de acute infectie nog aangetoond.<sup>46</sup> Deze bevindingen hebben dan ook geleid tot adviezen rondom condoomgebruik in de maanden na infectie, zeker bij stellen met een kinderswens. Zeer recent is ook de eerste man-

**Tabel 1. Alternatieve zikavirus-transmissieroutes.**

Transmissieroute*	Documentatie	Aanwijzingen
seksueel contact	case reports <sup>39-41</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• secundaire infecties bij seks-partners van viremische patiënten</li> <li>• ZIKV-RNA-detectie in sperma</li> <li>• persistentie van virus in sperma</li> </ul>
bloedtransfusie	case report <sup>34</sup> surveillance <sup>35</sup>	Infectie na bloedtransfusie bij niet-epidemisch blootgestelde ontvanger
pre- en perinatale transmissie	case reports en kleine series <sup>17,18, 38, 44</sup>	ZIKV-RNA en flavivirus-achtige partikels aantoonbaar in amnionvocht en foetaal hersenweefsel
orgaantransplantatie	–	analogie met andere flavivirus-infecties
borstvoeding	–	ZIKV-RNA detecteerbaar in moedermelk

\* Voor een up-to-date overzicht van alternatieve ZIKV-transmissieroutes, zie de CDC website.<sup>50</sup>

**Tabel 2. Diagnostische methoden en materialen om zika-infecties op te sporen.**

Methode	Materiaal	Diagnostische termijn	Gebaseerd op
ELISA/IIF	serum/plasma	vanaf vijf dagen na eerste ziektedag, (cave kruisreactiviteit)	aanbevelingen <sup>8,58</sup> case reports <sup>39,65</sup>
PRNT	serum	vanaf zeven dagen na eerste ziektedag, (cave kruisreactiviteit)	aanbevelingen <sup>8,58</sup> case reports <sup>39,57</sup>
PCR	bloed (serum/plasma) urine speeksel sperma vruchtwater	één tot vijf (tot tien) dagen na eerste ziektedag één tot twintig dagen na ontstaan uitslag tien tot twintig dagen, sensitiviteit >bloed tot 60 dagen, virale load >bloed >100 dagen	cohort <sup>43</sup> kinetiek <sup>54</sup> cohort <sup>43</sup> case report <sup>55</sup> case reports <sup>18,40,41</sup>

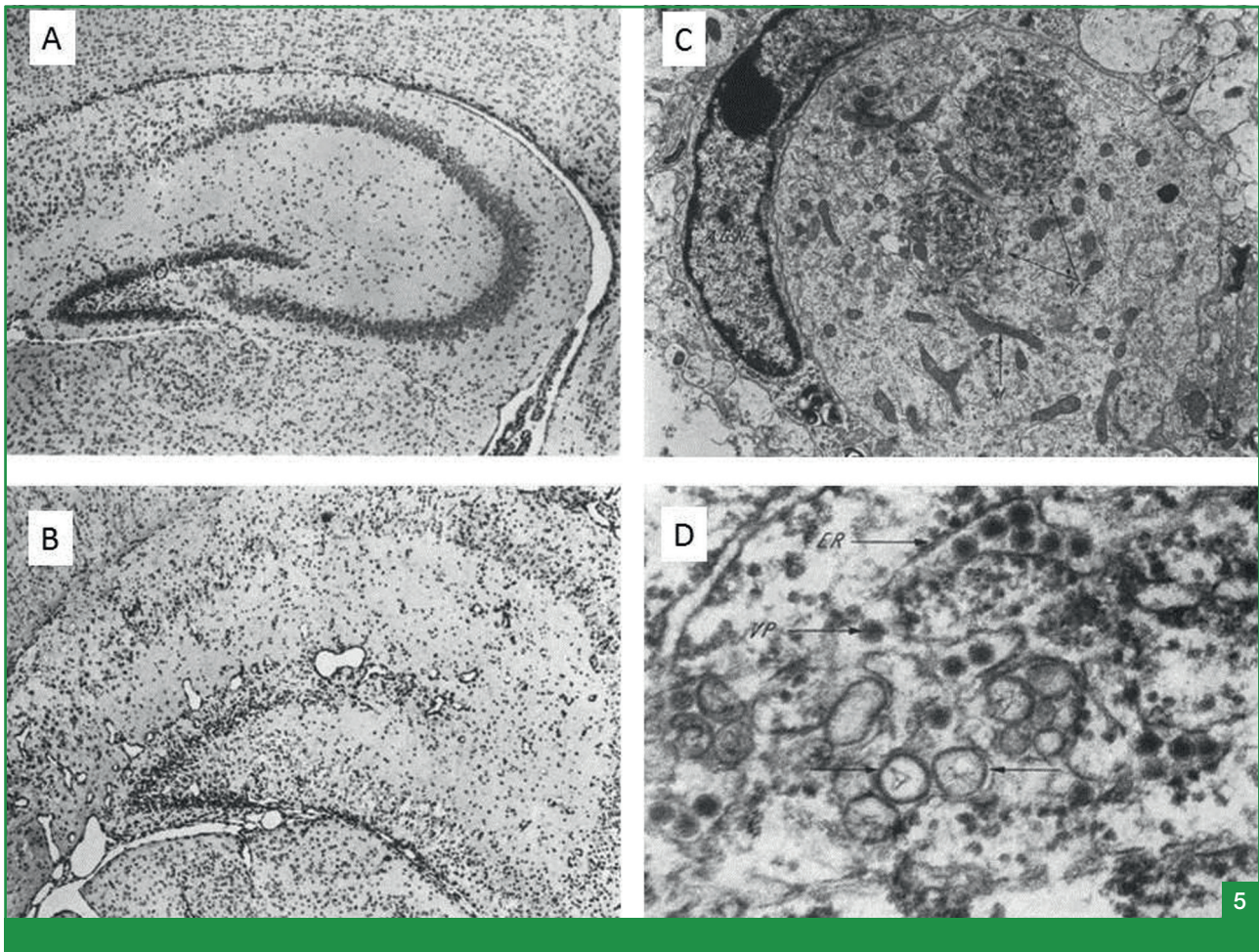
ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; IIF: indirecte immunofluorescentie; PRNT: plaque-reductie neutralisatietest; PCR: polymerasekettingreactie ('polymerase chain reaction')

tot-man besmetting beschreven waarbij anale seks als belangrijkste transmissieroute werd genoemd.<sup>47</sup> De rol voor speeksel als ZIKV-vehikel, waarin ZIKV-RNA ook aantoonbaar is, lijkt niet groot aangezien vrouw-man transmissie (nog) niet is waargenomen.<sup>48</sup> Hoe groot het aandeel van seksuele ZIKV-transmissie is op het totaal aan overdrachten is onbekend, en is ook moeilijk vast te stellen in populaties waar de vector veel voorkomt. Hoewel de termijn van ZIKV-uitscheiding via sperma post-infectie nog onduidelijk is, ligt het niet voor de

hand dat seksuele transmissie tot grote zika-verheffingen zal leiden. Inmiddels is ZIKV-RNA ook aangetoond in borstvoeding, maar of deze potentiële transmissieroute tot infectie of zelfs (neurale) schade bij het jonge kind kan leiden is niet bekend.<sup>49</sup>

### Pathogenese, tropisme en immunologie

Ondanks de sterke toename in klinisch gerapporteerde ZIKV-infecties is er weinig bekend over de pathogenese. Vergelijkbaar met andere muggen-overdraagbare flavi-



**Figuur 5.** (Cyto)pathogeen effect van zikavirus-infectie op muizenhersenen. Analyse van het neuropathogeen effect op hersenen van pasgeboren muizen die één dag na de geboorte intracerebraal geïnoculeerd werden met zikavirus. De analyse vond plaats zeven dagen post-inoculatie. In de linkerpanelen is het verschil te zien tussen de ongeïnfecteerde (A) en geïnfecteerde muizen (B). Bij de laatsten werden diverse wittestofafwijkingen geobserveerd met name in de pyriforme cellagen zoals hier in de hippocampus. Detailopnames van aangedane cellen laten intracellulaire structuren zien die lijken op virale replicatiecomplexen (C), hier 'virus factories' genoemd (VF-pijlen). Daarnaast zijn in (D) binnen het endoplasmatisch reticulum (ER-pijl) flavivirus-achtige partikels zichtbaar (VP-pijl), suggestief voor actieve virusreproductie in deze muizen.

Bron: Bell TM, Field EJ, Narang HK. Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1971; 35:183-93.

virussen zou de initiële replicatie in dendritische cellen kunnen optreden, waarna verspreiding optreedt naar lymfeklieren en bloedbaan.<sup>51</sup> In vitro is inmiddels aangetoond dat ZIKV immature dendritische cellen (en fibroblasten en keratinocyten) kan infecteren waarna virusreproductie in deze cellen wordt waargenomen.<sup>52</sup> Dat ZIKV tropisme vertoont voor neurale cellen wordt ondersteund door in-vitro-infectie van neurale voorlopercellen die ZIKV-replicatie faciliteren.<sup>53</sup> Dit gaat gepaard met verminderde celgroei en een cytopathogeen effect. Deze observaties zouden de neurale pathologie bij congenitaal geïnfecteerde baby's wellicht (deels) kunnen verklaren. 'Molecular mimicry' tussen neuronale en ZIKV-antigenen zoals beschreven voor andere GBS-geassocieerde pathogenen, met name campylobacter, is

voor ZIKV (nog) niet beschreven.<sup>54</sup>

Opmerkelijk genoeg waren er al bij isolatie in de jaren vijftig van de vorige eeuw indicaties voor neurotropisme van ZIKV. Zo bleek het bloed van het index resusaapje pathogeen in muizen wanneer die er intracerebraal mee werden geïnoculeerd.<sup>2</sup> Als symptomen werden naast koorts ook motorische zwakte en paralyse gerapporteerd. Titratie-experimenten gaven aan dat het virus zich daadwerkelijk vermeerderde in de muizenhersenen.<sup>55</sup> Intracerebrale inoculatie van marmotten en konijnen leidde niet tot infectie, net zo min als bij de resusapen. Daarbij moet wel aangetekend worden dat sommige apen voorafgaand aan inoculatie al ZIKV-antistofreactiviteit vertoonden. Het neurotropisme van ZIKV bleek ook uit gestoorde cerebrale rijping in muizen,

waarbij EM-opnames van aangedane hersencellen in 1971 al evident flavivirus partikelvorming lieten zien (zie *Figuur 5*, pagina 87).<sup>56</sup> Deze waarnemingen suggereren dat muizen een geschikt proefdiermodel kunnen vormen om de neuropathogene effecten van ZIKV-infectie en mogelijke preventiestrategieën (antivirale middelen en vaccinatie) te bestuderen.

Weinig is bekend over immuniteit tegen ZIKV-infecties. Na de uitbraak in Yap werd de seroprevalentie en daarmee waarschijnlijk de 'attack rate' geschat op 73%.<sup>5</sup> Naast meetbare antistofresponsen komt er in het acute stadium ook een poly-functionele T-celstimulatie op gang.<sup>57</sup> Of ZIKV-immuniteit beschermend is tegen een volgende provocatie met ZIKV is onbekend maar is op grond van immunologische kennis over ander flavivirussen wel te verwachten. Immunologische en virologische vervolgstudies bijvoorbeeld in Yap zouden hier licht op kunnen werpen. Bij afwezigheid van andere ZIKV-serotypen ligt het niet voor de hand dat een secundaire infectie aanleiding zal geven tot hemorragische koorts.

Een algemeen probleem bij flavivirus-serologie is de aantoonbare kruisreactiviteit tussen heterologe flavivirussen. Bij personen die aan ZIKV zijn blootgesteld zonder eerder een andere flavivirus-infectie te hebben doorgemaakt komt dat nauwelijks voor. Zij hebben over het algemeen sterke ZIKV-specifieke IgM-, IgG- en neutraliserende antistofresponsen, die in de acute fase wel enige kruisreactiviteit met heterologe flavivirussen kunnen vertonen maar die in de convalescentieperiode doorgaans weer verliezen. Bij personen die daarentegen eerder zijn blootgesteld aan een ander flavivirus kunnen zowel in de acute als in de convalescentie fase IgG-, IgM- en neutraliserende antistoffen detecteerbaar zijn tegen ZIKV en tegen heterologe flavivirussen zoals DENV. Bij sommige secundaire patiënten is de heterologe respons zelfs sterker dan die tegen ZIKV, wat ook wel 'antigenic sin' wordt genoemd.<sup>58</sup> Op dit moment zijn er geen gepubliceerde data die humorale of cellulaire immuunresponsen correleren aan bescherming tegen infectie.

## Diagnostiek, behandeling en preventie

De huidige zika-diagnostiek is primair gericht op detectie van viraal RNA middels RT-PCR in de acute fase. Patiëntmateriaal geschikt voor aantonen van viraal RNA is bloed (plasma of serum), urine, speeksel en sperma (zie *Tabel 2*, pagina 86). Met name bloed dient bij voorkeur binnen vijf dagen na optreden van eerste

symptomen afgenomen te worden, in de viremische fase. Incidenteel is viraal RNA in bloed nog aantoonbaar tot tien dagen na de eerste ziektedag. Verder zijn er aanwijzingen dat urine en vooral speeksel in het subacute stadium hogere concentraties RNA bevatten dan bloed en daarmee waardevol diagnostisch materiaal kunnen zijn.<sup>43,59,60</sup>

Bij een geïnfecteerde zwangere is langdurige viremie aangetoond, waarschijnlijk als gevolg van (massale) virale replicatie in de foetus of placenta, aangezien deze verdween na het afbreken van de zwangerschap.<sup>61</sup> In zijn algemeenheid lijkt vooral PCR op vruchtwater geschikt om congenitale zika aan te tonen.<sup>18</sup> Postnataal zijn er bij een hoog percentage microcefale neonaten zowel in bloed als liquor IgM-antistoffen gemeten tegen ZIKV. Opmerkelijk genoeg waren in die studie alle PCR-onderzoeken op dezelfde materialen, die ongeveer een week na geboorte waren afgenomen, negatief.<sup>62</sup> In zijn algemeenheid, bij het uitvoeren en interpreteren van ZIKV-PCR resultaten is het belangrijk te realiseren dat er nogal wat verschillende ZIKV PCR-protocollen in omloop zijn met variërende sensitiviteit.<sup>63</sup>

PCR-diagnostiek wordt op dit moment in Nederland uitgevoerd bij het Rijksinstituut voor Milieu en Volksgezondheid (RIVM), het Erasmus Medisch Centrum (EMC), Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU), Academisch Medisch Centrum (AMC) en Sanquin. Gezien het toenemend aantal (verdachte) importgevallen ligt het voor de hand dat meerdere laboratoria ZIKV-diagnostiek, veelal PCR, zullen gaan aanbieden. Gezien de onduidelijkheid over de precieze eigenschappen van ZIKV is er door de Commissie Genetische Modificatie (COGEM) op basis van het voorzichtigheidsbeginsel voorlopig voor gekozen om ZIKV in pathogeniciteits-klasse 3 in te delen, vergelijkbaar met bijvoorbeeld DENV. Derhalve wordt het kweken van infectieus ZIKV en het vervaardigen van autonoom replicerend genetisch gemodificeerd ZIKV geacht op BSL3/ML-III niveau plaats te vinden.<sup>64</sup>

Inmiddels komen de eerste commerciële serologische assays beschikbaar, bijvoorbeeld de Euroimmun ZIKV ELISA die door het EMC en RIVM recent geïmplementeerd is voor detectie van ZIKV-specifiek IgM en IgG.<sup>66</sup> Vooral voor gebruik bij terugkerende reizigers waaronder zwangeren lijkt deze test voldoende specifiek, en sluit een negatieve blootstelling aan ZIKV uit. Vanwege de eerder geschetste kruisreactiviteit, die zowel na natuurlijke infectie met een heteroloog flavivirus



## Aanwijzingen voor de praktijk

1. Er bestaat nauwelijks twijfel meer dat zika tijdens de zwangerschap microcefalie kan veroorzaken.
2. Naast bloed kunnen ook urine, speeksel, sperma en vruchtwater geschikte materialen zijn voor zika-diagnostiek.
3. Negatieve zikavirus-serologie lijkt zika uit te sluiten.
4. Positieve zikavirus-serologie kan soms verklaard worden door een heterologe flavivirus-infectie, bijvoorbeeld met het gerelateerde denguevirus.

kan optreden als na vaccinatie, bestaat de mogelijkheid om positieve serologie te bevestigen met een plaque-reductie neutralisatietest (PRNT).<sup>8,67</sup> Soms biedt ook de PRNT echter onvoldoende uitsluitsel over een ZIKV-infectie in het (recente) verleden. Het ontwikkelen van een ZIKV-antigeentest zoals we die bijvoorbeeld kennen voor dengue zal dit hiaat niet opvullen aangezien verwacht kan worden dat deze vooral in het acute stadium positief zal zijn. Om de verdere ontwikkeling en validatie van specifieke ZIKV-serologie te faciliteren worden behandelaren opgeroepen om zika-verdachte sera gepaard in te sturen voor diagnostiek. Uiteraard zijn er naast de genoemde methoden momenteel meerdere serologische en moleculaire diagnostica in diverse fasen van ontwikkeling.<sup>68</sup>

Op dit moment is er geen antivirale therapie voor zika voorhanden, hoewel ook hier ontwikkelingen gaande zijn.<sup>59</sup> Aangezien de meeste ZIKV-infecties mild verlopen en self-limiting zijn lijkt de behoefte aan antivirale behandeling ook niet groot. Als daarmee echter de viremische periode bekort kan worden en transmissie bemoeilijkt, is er wel iets voor te zeggen. Een relevante en reeds geregistreerde ‘antiviral’ in dit kader zou ribavirine kunnen zijn, dat we van de behandeling van hepatitis C-virus (HCV) kennen en ook een aange-toond antiviraal effect heeft op DENV-geïnfecteerde *Ae. Aegypti*-muggen.<sup>69</sup> Helaas is ribavirine bekend teratogeen en derhalve van geen betekenis voor de behandeling van geïnfecteerde zwangeren bij wie de vraag naar antivirale behandeling het grootst is. De potentiële bruikbaarheid van nieuwere middelen moet blijken uit antivirale screens die nu worden opgezet.

In zijn algemeenheid moet de grote stap voorwaarts komen van preventie, zowel van het voorkomen van

transmissie als van infectie. Naast muggenbestrijding en gebruik van klamboes en insectenwerende middelen, ligt vaccinatie als persoonlijke bescherming het meest voor de hand. Uiteraard kost vaccinontwikkeling tijd, doorgaans vele jaren, maar ‘proof-of-principle’ is al wel geleverd voor andere flavivirussen zoals YFV, JEV en recentelijk DENV. Of de bevolking in de huidige epidemische gebieden daar nog profijt van zal hebben is echter de vraag. Tegen de tijd van beschikbaar komen van een ZIKV-vaccin zal de ziekte wellicht of endemisch zijn geworden, waardoor de meesten zika zonder veel problemen op de kinderleeftijd zullen doormaken, of zelfs helemaal verdreven zijn bij gebrek aan vatbare gastheren. Voor reizigers uit niet-epidemische of endemische gebieden, en dan met name vrouwen in de vruchtbare leeftijd, lijkt vaccinatie in de toekomst evenwel een uitgelezen mogelijkheid tot bescherming tegen deze ‘emerging’ infectie.

## Referenties

1. Faye O, et al. Molecular Evolution of Zika Virus during Its Emergence in the 20th Century. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(1): e2636.
2. Dick GW, et al. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952; 46(5):509-20.
3. MacNamara FN. ZIKA virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1954; 48:139-45.
4. Marchette NL, et al. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18:411-5.
5. Duffy MR, et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 2009; 360:2536-43.
6. Maria AT, et al. Zika virus infections in three travellers returning from South America and the Caribbean respectively, to Montpellier, France, December 2015 to January 2016. *Euro Surveill* 2016;21; 6.
7. <http://www.rivm.nl/Onderwerpen/Z/Zikavirus>.
8. [http://www.rivm.nl/Documenten\\_en\\_publicaties/Professioneel\\_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI\\_richtlijnen/LCI\\_richtlijn\\_Zikavirusinfectie](http://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/LCI_richtlijn_Zikavirusinfectie).

9. Von Eije KJ, et al. Import van zikavirus-infectie in Nederland. Klinische les Import van zikavirus-infectie in Nederland. *Ned Tijdschr Geneesk* 2016;160:D153.
10. Arzuza-Ortega L, et al. Fatal Zika virus infection in girl with sickle cell disease, Colombia. *Emerg Infect Dis* 2016;22(5):925-7.
11. Karimi O, et al. Thrombocytopenia and subcutaneous bleedings in a patient with Zika virus infection. *Lancet* 2016;38:939-40.
12. Soares de Araújo JS, et al. Microcephaly in northeast Brazil: a review of 16 208 births between 2012 and 2015. *Bull World Health Organ.* 2016. [http://www.who.int/bulletin/online\\_first/16-170639.pdf](http://www.who.int/bulletin/online_first/16-170639.pdf).
13. Kleber de Oliveira W, et al. Increase in Reported Prevalence of Microcephaly in Infants Born to Women Living in Areas with Confirmed Zika Virus Transmission During the First Trimester of Pregnancy — Brazil, 2015. *Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65:242-7.
14. Brasil P, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro — Preliminary Report, *New Eng J Med* 2016. Epub ahead of print.
15. Petersen LR, et al. Zika Virus. *N Engl J Med* 2016; 374:1552-63.
16. <http://www.cdc.gov/zika/pregnancy/index.html>.
17. [http://www.rivm.nl/Onderwerpen/Z/Zikavirus/Zikavirus\\_en\\_zwangerschap](http://www.rivm.nl/Onderwerpen/Z/Zikavirus/Zikavirus_en_zwangerschap).
18. Mlakar J, et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med* 2016; 374(10):951-8.
19. Calvet G, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis* 2016. pii: S1473-3099(16)00095-5. Epub ahead of print.
20. Schuler-Faccini L, et al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly — Brazil, 2015. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:59-62.
21. Sarno M, et al. Zika virus infection and stillbirths: a case of hydrops fetalis, hydranencephaly and fetal demise. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10(2): e0004517.
22. Cauchemez S, et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–15: a retrospective study. *Lancet* 2016; pii: S0140-6736(16)00651-6. Epub ahead of print.
23. Cao-Lormeau VM, et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet* 2016; 387(10027):1531-9.
24. Oehler E, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome — case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill* 2014;19(9).
25. Mécharles S, et al. Acute myelitis due to Zika virus infection. *Lancet.* 2016; 387(10026):1481.
26. Cao-Lormeau VM, et al. Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 2014;20; 6:1085-6.
27. Enfissi A, et al. Zika virus genome from the Americas. *Lancet* 2016;387:227-8.
28. Faria NR, et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science* 2016; 352(6283):345-9.
29. Favoretto S, et al. First detection of Zika virus in neo-tropical primates in Brazil: a possible new reservoir. *BioRxiv.* <http://biorxiv.org/content/early/2016/04/20/049395>.
30. <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-aegypti.aspx>
31. J Lourenço, et al. The 2012 Madeira Dengue Outbreak: Epidemiological Determinants and Future Epidemic Potential. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8(8): e3083.
32. [http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBOR-NET\\_maps.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBOR-NET_maps.aspx),
33. <https://www.nvwa.nl/onderwerpen/plantenziekten-en-plagen/dossier/aziatische-bosmug>
34. <http://www.rivm.nl/Onderwerpen/M/Muggen>
35. Grard G, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa) — 2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8(2):e2681.
36. [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=34243&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=34243&lang=en)
37. <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-aegypti.aspx>
38. Cunha MS, et al. First complete genome sequence of Zika virus (Flaviviridae, Flavivirus) from an autochthonous transmission in Brazil. *Genome Announc* 2016;4(2):e00032-16.
39. Aubry M, et al. Seroprevalence of arboviruses among blood donors in French Polynesia, 2011-2013. *Int J Infect Dis* 2015; 41:11-2.
40. Musso D, et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill* 2014;19(14): pii: 20761.
41. Iwamoto M1, et al. Transmission of West Nile Virus from an Organ Donor to Four Transplant Recipients. *N Engl J Med* 2014;348:2196-203.
42. Besnard M, et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill* 2014;19(13): pii: 20751.
43. Venturi G, Zammarchi L, Fortuna C, et al. An autochthonous case of Zika due to possible sexual transmission, Florence, Italy, 2014. *Euro Surveill* 2016; 21(8). In process.
44. Hills SL, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission - Continental United States, 2016; *Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65:215-6.
45. Mansuy JM, et al. Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *Lancet Infect Dis* 2016;16(4):405.
46. Atkinson B, et al. Detection of Zika virus in semen. *Emerg Infect Dis* 2016;22(5):940.
47. Deckard DT, et al. Male-to-Male sexual transmission of Zika virus — Texas, January 2016. *Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:372-4.
48. Musso D, et al. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol* 2015; 68:53-5.
49. Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, et al. Infectious Zika viral particles in breastmilk. *Lancet* 2016; 387(10023):1051.
50. <http://www.cdc.gov/zika/transmission/>
51. Hayes EB. Zika Virus Outside Africa. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:1347-50.
52. Hamel R, et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells. *J Virol* 2015;89:8880-96.
53. Tang H, et al. Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth. *Cell Stem Cell* 2016; pii: S1934-5909(16)00106-5. Epub ahead of print.
54. Ang CW, et al. The Guillain-Barré syndrome: a true case of molecular mimicry. *Trends Immunol* 2004; 25:61–6.
55. Dick GW. Zika virus (II). Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952;46(5):509-20.
56. Bell TM, et al. Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Arch Gesamte Virusforsch* 1971; 35:183-93.
57. Tappe D, et al. Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to

- reconvalescent phase. *Med Microbiol Immunol* 2015. Epub ahead of print.
58. Lanciotti RS, et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1232-9.
59. Gourinat AC, et al. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis* 2015;21:84-6.
60. Barzon L1, et al. Isolation of infectious zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. *Euro Surveill.* 2016;21(10). In process.
61. Driggers RW, et al. Zika Virus Infection with Prolonged Maternal Viremia and Fetal Brain Abnormalities. *N Engl J Med* 2016. Epub ahead of print.
62. Tenorio Cordeiroa M, et al. Positive IgM for Zika virus in the cerebrospinal fluid of 30 neonates with microcephaly in Brazil. *Lancet* 2016. Epub ahead of print.
63. Corman VM, et al. Clinical comparison, standardization and optimization of Zika virus molecular detection. [Submitted]. *Bull World Health Organ* E-pub: 19 Apr 2016. 64. <http://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/publicatie/classificatie-van-en-inschaling-werkzaamheden-met-genetisch-gemodificeerd-em-zika-virus-em>.
65. Zammarchi L, et al. Zika virus infections imported to Italy: Clinical, immunological and virological findings, and public health implications. *J Clin Virol* 2015; 63:32-5.
66. Huzly D, et al. High specificity of a novel Zika virus ELISA in European patients after exposure to different flaviviruses. *Euro Surveill* 2016;21(16). In process.
67. <http://www.cdc.gov/zika/pdfs/denvchikvzikk-testing-algorithm.pdf> .
68. <http://www.who.int/csr/research-and-development/zika-rd-pipeline.pdf>.
69. Lee HL, et al. Effects of ribavirin and hydroxyurea on oral infection of *Aedes aegypti* (L.) with dengue virus. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2012; 43:1358-64.