

# Diagnostiek van teken-encefalitis

## Diagnostics of tick-borne encephalitis

dr. V. Hira

### SAMENVATTING

Sinds 2016 is bekend dat het teken-encefalitisvirus endemisch is in Nederland. Bij klachten passend bij teken-encefalitisvirus behoort tekenencefalitis daarom te worden meegenomen in de differentiaal-diagnose. Het klinisch beloop van een infectie met het Europese type is vaak bifasisch, waarbij de patiënt eerst een periode doormaakt met specifieke klachten (zoals koorts en hoofdpijn), later gevolgd door een periode met neurologische symptomen. Aangezien moleculaire diagnostiek vaak foutnegatief is, omdat bij presentatie vaak geen sprake meer is van viremie, wordt de diagnose vooral gesteld met serologisch onderzoek van bloed en/of liquor. Hierbij dient rekening te worden gehouden met kruisreactiviteit met andere flavivirussen. Een goede anamnese is cruciaal voor een juiste interpretatie van de resultaten van het serologisch onderzoek.

(TIJDSCHR INFECT 2020;15(3):105-10)

### SUMMARY

Since 2016, it is known that tick-borne encephalitis virus is endemic in the Netherlands. In case of symptoms consistent with tick-borne encephalitis virus, tick-borne encephalitis should be taken into account in the differential diagnosis. The clinical course of an infection with the European type is usually biphasic. The patient first suffers from aspecific symptoms, such as fever and headache, followed by neurological symptoms. As molecular diagnostics tend to be false negative, because the patient is not viremic at the moment of presentation, the diagnosis is made primarily by serological testing of blood and/or liquor. Cross-reactivity with other flaviviruses should be taken into account. Good anamnesis is crucial for the correct interpretation of serology.

### INLEIDING

Teken-encefalitis ('tick-borne encephalitis', TBE) is een door het teken-encefalitisvirus (TBEV) veroorzaakte ziekte van het zenuwstelsel. Het virus behoort tot de familie van de flavivirussen (Flaviviridae), waar ook het westnijlvirus, gelekoortsvirus en het denguevirus toe behoren. In Noord-Amerika komt het sterk aan TBEV gerelateerde Powassanvirus voor, wat eveneens neuro-invasieve ziekte veroorzaakt en een identieke transmissie heeft.<sup>1</sup> TBEV wordt door teken op de mens overgedragen. Transmissie via ongepasteuriseerde melk van geïnfecteerde dieren is ook beschreven, maar zeldzaam.<sup>2</sup>

Van TBEV zijn 3 subtypen bekend, elk met eigen klinische kenmerken: het Europese subtype (TBEV-EU), het Siberische subtype (TBEV-Sib) en het 'Far Eastern' subtype (TBEV-FE). De laatste 2 typen worden op de mens overgedragen door de teek *Ixodus persulcatus*, die voorkomt van Oost-Europa tot aan Noord- en Oost-Azië. Het Europese subtype wordt overgedragen door de schapenteek (*I. ricinus*), de teek die in Europa het meest voorkomt.<sup>3,4</sup>

In Europa is TBEV al langer endemisch in Centraal- en Oost-Europa, en Scandinavië. Voor sommige bestemmingen, zoals Noorwegen, Duitsland, Zwitserland en Noord-Italië, geldt in bepaalde gevallen het advies om reizigers te

Correspondentie graag richten aan: dhr. dr. V. Hira, arts-microbioloog, Groene Hart Ziekenhuis, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Bleulandweg 10, 2803 HH Gouda, tel.: 0182 505 050, e-mailadres: vishal.hira@ghz.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** diagnostiek, TBEV, teken-encefalitis.

**Keywords:** diagnostics, TBEV, tick-borne encephalitis.

ONTVANGEN 9 SEPTEMBER 2018, GEACCEPTEERD 9 APRIL 2019.

**TABEL 1.** Patiënten met een in Nederland opgelopen TBEV-infectie.

Patiënt	Leef-tijd	Vermoede-lijke maand infectie	Waarschijnlijke oorsprong TBEV	Klinisch beeld	Diagnose	Referentie
1	67	mei 2016	Utrechtse Heuvelrug	bifasisch beloop, vermoeidheid, spraak	serologie bevestigd met VNT, teek positief	De Graaf et al. <sup>6</sup>
2	44	juni 2016	Sallandse Heuvelrug	bifasisch beloop, tinnitus, braken, spierpijn, hoofdpijn	serologie, titerstijging in VNT	Westrate et al. <sup>7</sup>
3	51	juni 2017	Sallandse Heuvelrug	bifasisch beloop, hoofdpijn, spraakproblemen en fotofobie	serologie, seroconversie	Dekker et al. <sup>25</sup>
4	12	juni 2018	Midden- en Zuidoost-Twente	bifasisch beloop, progressieve hoofdpijn, verwardheid, een hemiparese en focale insulten	serologie, intrathecale antistoffen positief	Geeraedts et al. <sup>26</sup>
5	onbe-kend	juli 2018	Utrechtse Heuvelrug	geen bifasisch beloop, hoofdpijn, koorts, spierpijn en neurologische klachten (zoals verwardheid en afasie)	serologie, VNT-bevestigd	SO RIVM 2018, signaalnummer 3274
6	onbe-kend	1 <sup>e</sup> helft 2019	Twente	bifasisch beloop, griepachtig ziektebeeld, encefalitis	serologie	SO RIVM 2019, signaalnummer 3407
7	onbe-kend	1 <sup>e</sup> helft 2019	omgeving Hardenberg	bifasisch beloop, griepachtig ziektebeeld, encefalitis	serologie	SO RIVM 2019, signaalnummer 3407
8	onbe-kend	2 <sup>e</sup> helft 2019	Sallandse Heuvelrug	bifasisch beloop, neurologische klachten	serologie	SO RIVM 2019, signaalnummer 3452

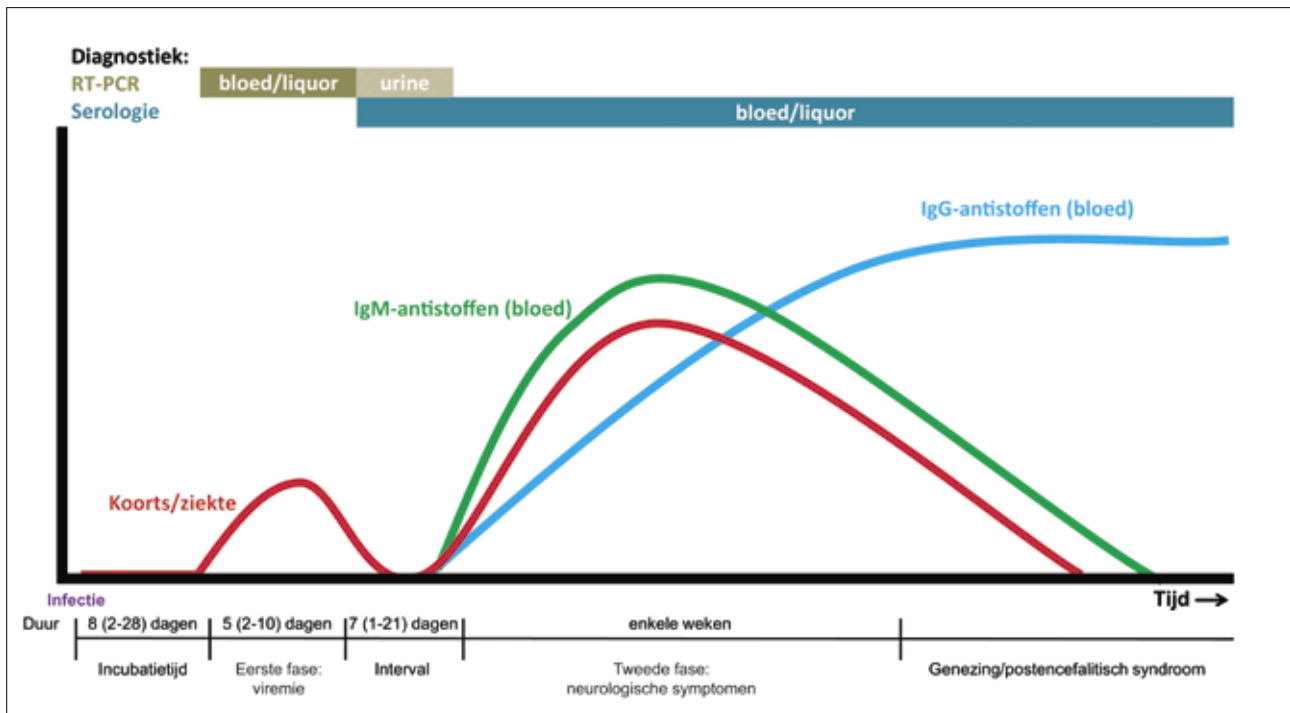
SO=Signaleringsoverleg, TBEV='tick-borne encephalitis'-virus, VNT=virusneutralisatietest.

vaccineren tegen TBEV. In Oostenrijk is het TBEV-vaccin onderdeel van het rijksvaccinatieprogramma. TBE komt in Europa in alle leeftijdscategorieën voor, waarbij het aantal gevallen toeneemt naarmate de leeftijd vordert. Meer mannen dan vrouwen krijgen de diagnose TBE, mogelijk vanwege de gemiddeld hogere kans op tekenbeten bij specifieke beroepsgroepen, zoals boswachters, en buitenactiviteiten.<sup>3</sup> Tot enkele jaren geleden werd aangenomen dat TBEV niet voorkwam in Nederland. De Nederlandse TBE-gevallen betroffen tot dan toe vermoedelijk altijd importgevallen.<sup>5</sup> In 2016 werden echter de eerste 2 gevallen met in Nederland opgelopen TBE vastgesteld, vlak nadat het RIVM bekend had gemaakt dat op de Sallandse Heuvelrug TBEV-positieve teken waren gevonden.<sup>6-8</sup> Inmiddels zijn minimaal 8 patiënten bekend met autochtone TBE (zie Tabel 1), tevens zijn op de Utrechtse Heuvelrug TBEV-positieve teken gevonden (Signaleringsoverleg RIVM 2018, signaalnummer 3296). Daarnaast blijkt uit seroprevalentie-onderzoek dat reeën in Overijssel, Gelderland, Limburg en Noord-Brabant TBEV-neutraliserende antistoffen hebben. In 2010 gold dit nog alleen voor reeën in Overijssel (Signaleringsoverleg RIVM 2018, signaalnummer 3274). TBE dient daarom tegenwoordig ook te worden opgenomen in de differentiaal-

diagnose bij patiënten die niet in het buitenland zijn geweest, indien de klachten passen bij het ziektebeeld van TBE.

### KLINISCH BEELD EN AANVULLENDE DIAGNOSTIEK

Een infectie met TBEV-EU verloopt in 70-95% van de gevallen subklinisch.<sup>9</sup> Bij de patiënten die wel ziek worden, zijn de klinische symptomen zeer divers en aspecifiek. Het klinisch beloop van een infectie met TBEV-EU kenmerkt zich doorgaans wel door een typisch bifasisch beloop, na een incubatietijd van gemiddeld 8 dagen (spreiding 2-28 dagen, zie Figuur 1 op pagina 107). In de eerste fase van de ziekte heeft de patiënt voornamelijk griepachtige klachten, zoals koorts, vermoeidheid, en hoofd- en spierpijn. Deze fase duurt gemiddeld 5 dagen (spreiding 2-10 dagen). Bij ongeveer een kwart van de patiënten blijven de klachten beperkt tot deze eerste fase. Bij ongeveer 75% van de patiënten volgt daarna een asymptomatische periode van ongeveer 7 dagen (spreiding 1-21 dagen).<sup>10,11</sup> In de daaropvolgende tweede fase staan neurologische ziektebeelden centraal, zoals meningitis, meningo-encefalitis of een meningo-encefalomylitis. Dit is vaak het moment dat de patiënt medische hulp zoekt. De tweede fase kan enkele weken duren, waarna



**FIGUUR 1.** Schematische weergave van het beloop van TBE met mogelijkheden voor diagnostiek in de verschillende fasen. De gemiddelde duur is weergegeven met daarbij de spreiding. De rode en blauwe lijn geven het verloop van antistoffen in het bloed weer. RT-PCR op bloed en liquor is alleen nuttig in de eerste fase, als de serologie nog negatief is. In de tweede fase dient serologie op bloed en liquor te worden verricht. In het begin van deze fase kan een RT-PCR op urine mogelijk ook nog positief zijn.

*TBE='tick-borne encephalitis'.*

ongeveer de helft van de patiënten neurologische restverschijnselen houdt. Deze restverschijnselen kunnen variëren van lichte hoofdpijn tot ernstig invaliderende klachten, zoals parese, doofheid en psychologische klachten. De mortaliteit is minder dan 2%.<sup>10,12</sup>

Net als het klinisch beeld is aanvullende diagnostiek niet specifiek. Radiologische beelden zijn vaak niet afwijkend en ook een elektro-encefalogram is bij een kwart van de gevallen niet afwijkend. Daar waar wel afwijkingen zijn, zijn deze aspecifiek.<sup>13</sup> In de liquor wordt op het moment van ziekenhuisopname altijd een (vaak matige) pleiocytose geconstateerd (100-300 cellen/ $\mu$ l), met bij 50% van de TBE-patiënten meer segmentkernige granulocyten (60-70%) dan lymfocyten (30-40%). Dit beeld is echter niet sensitief of specifiek genoeg om de diagnose TBE te kunnen stellen of verwerpen.<sup>14,15</sup>

## DIAGNOSTIEK

Door het aspecifieke karakter is het erg moeilijk om de diagnose TBE te stellen op basis van de symptomen en niet-microbiologisch aanvullend onderzoek. Een gedegen anamnese en microbiologisch onderzoek naar TBEV zijn daarom essentieel voor het stellen van de diagnose, zoals ook blijkt uit de in 2012 door de Europese Commissie opgestelde

Europese casusdefinitie (zie Tabel 2).<sup>16</sup> Deze casusdefinitie maakt gebruik van klinische, epidemiologische en laboratoriumcriteria om een onderscheid te maken tussen waarschijnlijke en bevestigde TBE-gevallen. Om aan de laboratoriumcriteria te voldoen, kunnen verschillende technieken worden gebruikt: viruskweek, moleculaire diagnostiek en serologie. Viruskweek is in Nederland vrijwel obsoleet voor diagnostiek van infectieziekten en vervangen door moleculaire diagnostiek door middel van RT-PCR.

## ANAMNESE

Een goede anamnese draagt niet alleen bij aan het meer of minder waarschijnlijk maken van een verdenking op TBE, het is tevens essentieel voor een goede interpretatie van de microbiologische diagnostiek. Het is belangrijk om te vragen of de patiënt in een gebied is geweest waar TBEV endemisch is. Hierbij kan gebruik worden gemaakt van de webpagina's over TBE van het European Centre for Disease Prevention and Control.<sup>17</sup> Verder is het belangrijk om uit te vragen wat de eerste ziektedag was en of de patiënt een tekenbeet heeft gehad in de 2 maanden daarvoor. Hierbij dient rekening te worden gehouden met het gegeven dat ongeveer de helft van de TBE-patiënten zich geen tekenbeet kan herinneren.<sup>14</sup> Een gedetailleerde beschrijving van het ziektebeloop kan helpen

**TABEL 2.** EU-criteria voor het indelen van TBE-gevallen.<sup>16</sup>

<b>Klinische criteria</b>
Elke persoon met symptomen van ontsteking van het centrale zenuwstelsel (zoals meningitis, meningo-encefalitis, encefalomyelitis, encefaloradiculitis).
<b>Laboratoriumcriteria*</b>
<b>Criteria voor de bevestiging van gevallen</b>
Ten minste 1 van de volgende 5: <ul style="list-style-type: none"> <li>• TBE-specifieke IgM- EN IgG-antistoffen in bloed;</li> <li>• TBE-specifieke IgM-antistoffen in liquor;</li> <li>• Seroconversie of verviervoudiging van TBE-specifieke antistoffen in gepaarde serummonsters;</li> <li>• Detectie van nucleïnezuur van TBEV in een klinisch monster;</li> <li>• Isolatie van TBEV uit een klinisch monster.</li> </ul>
<b>Criteria voor een waarschijnlijk geval</b>
Detectie van TBE-specifieke IgM-antistoffen in een uniek serummonster.
<b>Epidemiologische criteria</b>
Blootstelling aan een gemeenschappelijke bron (ongepasteuriseerde zuivelproducten).
<b>Indeling van gevallen</b>
Mogelijk geval (niet van toepassing) Waarschijnlijk geval: <ul style="list-style-type: none"> <li>• elke persoon die aan de klinische criteria en de laboratoriumcriteria voor een waarschijnlijk geval voldoet;</li> <li>• OF elke persoon die aan de klinische criteria voldoet, met een epidemiologisch verband.</li> </ul> Bevestigd geval: elke persoon die aan de klinische criteria en de laboratoriumcriteria voor de bevestiging van gevallen voldoet.
*Resultaten van serologie-onderzoek moeten worden geïnterpreteerd in het licht van de vaccinatiestatus of eerdere blootstelling aan andere infecties met flavivirussen. Bevestigde gevallen in dergelijke situaties moeten door middel van virusneutralisatietest of andere, soortgelijke 'assays' worden gevalideerd. TBE='tick-borne encephalitis', TBEV='tick-borne encephalitis'-virus.

bij het herkennen van een bifasisch beloop. Voor de interpretatie van de microbiologische diagnostiek is het belangrijk om een uitgebreide reisanamnese af te nemen, evenals de vaccinatieschiedenis van de patiënt te achterhalen.

**MOLECULAIRE DIAGNOSTIEK**

In de Europese casusdefinitie is een positieve RT-PCR voor TBEV op klinisch materiaal voldoende om aan de laboratoriumcriteria voor bevestiging van gevallen te voldoen. RT-PCR heeft een hoge sensitiviteit en specificiteit en kan

worden verricht op bloed, liquor en urine. Het is echter in de praktijk waarschijnlijk minder geschikt voor het stellen van de diagnose TBE, aangezien de meeste patiënten zich vermoedelijk pas in de tweede fase van de ziekte zullen melden in het ziekenhuis en van viremie alleen sprake is in de eerste fase (zie *Figuur 1*). TBEV-RNA is dan ook niet meer aantoonbaar in bloed en liquor in de tweede fase, waardoor de bruikbaarheid van RT-PCR voor de diagnostiek erg beperkt is.<sup>14,18</sup> Er zijn echter wel aanwijzingen dat TBEV-RNA kan worden aangetoond in urine van patiënten in de tweede fase.<sup>19</sup> Mogelijk heeft het onderzoeken van urinemonsters nog wel een plaats in TBE-diagnostiek, maar wat de waarde hiervan is, is nog niet bekend.

Moleculaire diagnostiek kan ook een rol spelen bij de diagnose van TBE indien de patiënt de teek waardoor hij gebeten is, heeft bewaard. Dit was onder andere het geval bij de eerste Nederlandse autochtone TBE-casus, waarbij de teek positief werd bevonden met RT-PCR.<sup>6</sup> Lindblom et al. toonden echter aan dat een beet van een positieve teek niet altijd tot ziekte leidt, maar ook dat de testuitslag bij een teek negatief kan zijn, ook al duiden serologie en het klinisch beeld op TBEV-infectie.<sup>20</sup> Het resultaat van een RT-PCR op alleen een teek is daarom geen bewijs voor de diagnose TBE en kan alleen worden gebruikt ter ondersteuning van de diagnose.

**SEROLOGIE**

Vanwege de beperkte waarde van moleculaire diagnostiek moet in de meeste gevallen serologie worden toegepast voor de diagnose TBE. Ook serologische technieken hebben echter hun beperkingen. De commercieel verkrijgbare serologische 'assays' zijn gebaseerd op geïnactiveerd virus of het structurele E-eiwit van TBEV. De E-eiwitten van verschillende flavivirussen vertonen vaak veel overeenkomsten. Dit zorgt ervoor dat de sensitiviteit van deze testen hoog is, maar de specificiteit laag, vanwege kruisreactiviteit met andere flavivirussen.<sup>21</sup> Dit bemoeilijkt de interpretatie van serologische uitslagen aanzienlijk, met name wanneer klinische gegevens en een goede anamnese ontbreken.

Serologie kan worden uitgevoerd op bloed en liquor. IgM- en IgG-antistoffen tegen TBEV zijn in het bloed aantoonbaar vanaf de eerste week na het begin van de tweede fase. Na 1-2 weken hebben de IgM-antistoffen hun piek bereikt, maar deze kunnen nog enkele maanden aantoonbaar blijven. IgG-antistoffen blijven levenslang aanwezig.<sup>14,15</sup> In de liquor zijn de antistoffen bij de eerste presentatie slechts bij de helft van de patiënten aanwezig, maar 10 dagen na het begin van de tweede fase zijn ze bij bijna alle patiënten aantoonbaar.<sup>14</sup> Het aantonen van met name IgM-antistoffen in de liquor is belangrijk voor de diagnose TBE. Hoewel de afwezigheid van antistoffen in de liquor zeldzaam is, zeker na enige tijd,

## AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1** Het teken-encefalitisvirus (TBEV) is endemisch in Nederland.
- 2** Infecties met het Europese type TBEV hebben vaak een bifasisch beloop, waarbij in de eerste fase aspecifieke klachten optreden en in de tweede fase neurologische klachten.
- 3** Diagnostiek met moleculaire technieken is vaak foutnegatief, omdat bij de patiënt geen sprake meer is van viremie als hij neurologische klachten heeft.
- 4** De diagnose TBEV is voornamelijk gebaseerd op serologie, maar hierbij kan sprake zijn van kruisreactiviteit met andere flavivirussen.
- 5** Een goede anamnese is cruciaal voor een goede interpretatie van de microbiologische diagnostiek.

sluit dit een TBEV-infectie niet uit.<sup>15,22</sup> Bij het bepalen van antistoftiters in de liquor dient rekening te worden gehouden met lekkage uit het perifere bloed, wat kan leiden tot foutpositieve uitslagen. Antistoftiters in de liquor dienen daarom altijd te worden gerelateerd aan de titers in het serum, door middel van het bepalen van de indexserologie.<sup>23</sup> Een goede anamnese is essentieel voor het interpreteren van de serologische uitslagen. Positieve uitslagen dienen te worden geïnterpreteerd in het licht van eerdere vaccinaties tegen en blootstelling aan andere flavivirussen. Hierbij is het belangrijk om te weten dat IgM in het serum tot 8 maanden na infectie of vaccinatie positief kan blijven en IgG zelfs levenslang.<sup>12,24</sup> Met alleen IgG kan de diagnose dus alleen worden gesteld door een viervoudige titerstijging aan te tonen. Het tweede serum dient 10-14 dagen na het eerste serum te zijn afgenomen. Beide sera moeten gepaard worden getest om de testvariaties zoveel mogelijk te beperken. Het gebeurt zelden dat enkel IgM-antistoffen tegen TBEV in het bloed zijn te vinden, dus ook in die situatie moet vervolgs serum worden getest om een seroconversie voor IgG aan te tonen.<sup>14</sup> Indien wordt getwijfeld aan de specificiteit van aangetoonde positieve antistoffen, bijvoorbeeld vanwege vaccinatie tegen een ander flavivirus, dient bevestiging plaats te vinden met een virusneutralisatietest (VNT).<sup>14</sup> Ook wanneer anti-TBEV-antistoffen zijn aangetoond bij patiënten die in een niet- of laag-endemisch gebied zijn geweest, is een bevestiging met een VNT aan te raden.

### WANNEER WELKE DIAGNOSTIEK

Aangezien TBE nog zeer zeldzaam is in Nederland, hoeft TBE-diagnostiek alleen te worden aangevraagd bij een gereede verdenking. Hierbij kan worden gedacht aan zaken zoals een bezoek aan een TBEV-endemisch gebied in de 2 maanden voor de start van de klachten, mogelijk contact met teken, een bifasisch ziektebeloop, een aspecifiek neurologisch beeld zonder afwijkingen op beeldvorming, en liquor

met een matige pleiocytose en overwegend segmentkernige granulocyten bij een klinisch viraal beeld. Omdat de incidentie van de ziekte van Lyme veel hoger ligt, kan het zinvol zijn om pas op TBE te testen als de diagnostiek naar *Borrelia* negatief is. Overigens kunnen teken gelijktijdig besmet zijn met TBEV en *B. burgdorferi*, waardoor een dubbelinfectie kan optreden.

De keuze voor testen hangt af van de fase waarin de patiënt zich bevindt. Aangezien de meeste patiënten zich waarschijnlijk in de tweede fase zullen presenteren, dient bloed en liquor voor serologie te worden afgenomen. Tevens kan het in deze fase nog zinvol zijn om urine in te sturen voor RT-PCR. Vaak zal het nodig zijn om de serologie 10-14 dagen na de eerste afname te herhalen om een definitieve diagnose te stellen. Dit is bijvoorbeeld het geval als het serum alleen positief is voor IgM of IgG, zodat een seroconversie, respectievelijk een viervoudige titerstijging kan worden aangetoond. Bloed en eventueel urine kunnen worden ingestuurd voor RT-PCR indien de patiënt zich in de eerste fase presenteert en er een verdenking is op TBE, bijvoorbeeld omdat de patiënt een teek uit endemisch gebied heeft verwijderd binnen de incubatieperiode en aspecifieke klachten heeft ontwikkeld.

### CONCLUSIE

In 2016 is TBEV voor het eerst in Nederlandse teken aangetoond en zijn ook de eerste 2 gevallen met een autochtone TBEV-infectie vastgesteld. Bij klachten passend bij TBE dient TBE daarom te worden meegenomen in de differentiaaldiagnose. De diagnostiek naar TBEV is moeilijk, omdat het neurologisch beeld vaak aspecifiek is, de moleculaire diagnostiek vaak foutnegatief is en de serologische test foutpositief kan zijn vanwege kruisreactiviteit met andere flavivirussen. Een goede anamnese, met nadruk op onder andere reisanamnese en vaccinatiegeschiedenis, is daarom cruciaal voor het juist interpreteren van de microbiologische diagnostiek.

**REFERENTIES**

1. Hermance ME, Thangamani S. Powassan virus: an emerging arbovirus of public health concern in North America. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2017;17:453-62.
2. Brockmann SO, Oehme R, Buckenmaier T, et al. A cluster of two human cases of tick-borne encephalitis (TBE) transmitted by unpasteurised goat milk and cheese in Germany, May 2016. *Euro Surveill* 2018;23:doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.15.17-00336.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological situation of tick-borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries. Beschikbaar via: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/epidemiological-situation-tick-borne-encephalitis-european-union-and-european> .
4. Imhoff M, Hagedorn P, Schulze Y, et al. Review: sentinels of tick-borne encephalitis risk. *Ticks Tick Borne Dis* 2015;6:592-600.
5. Reusken C, Reimerink J, Verduin C, et al. Case report: Tick-borne encephalitis in two Dutch travellers returning from Austria, Netherlands, July and August 2011. *Euro Surveill* 2011;16:1-3.
6. De Graaf JA, Reimerink JH, Voorn GP, et al. First human case of tick-borne encephalitis virus infection acquired in the Netherlands, July 2016. *Euro Surveill* 2016;21:30318.
7. Weststrate AC, Knapen D, Laverman GD, et al. Increasing evidence of tick-borne encephalitis (TBE) virus transmission, the Netherlands, June 2016. *Euro Surveill* 2017;22:pii: 30482.
8. Jahfari S, De Vries A, Rijks JM, et al. Tick-borne encephalitis virus in ticks and roe deer, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2017;23:1028-30.
9. Dumpis U, Crook D, Oksi J. Tick-borne encephalitis. *Clin Infect Dis* 1999;28:882-90.
10. Haglund M, Günther G. Tick-borne encephalitis - Pathogenesis, clinical course and long-term follow-up. *Vaccine* 2003;21:S11-8.
11. Kunze U. Tick-borne encephalitis-still on the map: Report of the 18<sup>th</sup> annual meeting of the international scientific working group on tick-borne encephalitis (ISW-TBE). *Ticks Tick Borne Dis* 2016;7:911-4.
12. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases* 2015;3:430-41.
13. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet* 2008;371:1861-71.
14. Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine* 2003;21:S36-40.
15. Kaiser R, Holzmann H. Laboratory findings in tick-borne encephalitis--correlation with clinical outcome. *Infection* 2000;28:78-84.
16. Europese Commissie. 2012/506/EU: Commission Implementing Decision of 8 August 2012 amending Decision 2002/253/EC laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council (notified under document C(2012) 5538). Text with EEA relevance. Beschikbaar via: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32012D0506>.
17. European Centre for Disease Prevention and Control. Tick-borne encephalitis. Beschikbaar via: <https://www.ecdc.europa.eu/en/tick-borne-encephalitis>.
18. Schwaiger M, Cassinotti P. Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *J Clin Virol* 2003;27:136-45.
19. Veje M, Studahl M, Norberg P, et al. Detection of tick-borne encephalitis virus RNA in urine. *J Clin Microbiol* 2014;52:4111-2.
20. Lindblom P, Wilhelmsson P, Fryland L, et al. Tick-borne encephalitis virus in ticks detached from humans and follow-up of serological and clinical response. *Ticks Tick Borne Dis* 2014;5:21-8.
21. Mansfield KL, Horton DL, Johnson N, et al. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. *J Gen Virol* 2011;92:2821-9.
22. Hira V, Rockx B. Human tick-borne encephalitis, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2017;23:169.
23. De Groot-Mijnes JD, Wensing AM. Indexserologie: "A tale of two compartments." *Ned Tijdschr Med Microbiol* 2013;21:113-8.
24. Hofmann H, Kunz C, Heinz FX, et al. Detectability of IgM antibodies against TBE virus after natural infection and after vaccination. *Infection* 1983;11:164-6.
25. Dekker M, Laverman GD, De Vries A, et al. Emergence of tick-borne encephalitis (TBE) in the Netherlands. *Ticks Tick Borne Dis* 2019;10:176-9.
26. Geeraedts F, Van der Kroft E, Reimerink J. First paediatric case of autochthonous tick-borne encephalitis in the Netherlands, 2018. *New Microbes New Infect.* 2019;32:100603.