

ールに従い塩基配列を決定し、ホモロジー・系統樹解析した。

C. 結果

アフリカからの輸入デング熱症例は、デングウイルス3型感染によるデング熱であった。遺伝子解析の結果も96~98%程度のホモロジーであり、アフリカでは現在ほぼ近縁なデングウイルス3型による流行が発生していることが示唆された。アフリカのデングウイルスに関するウイルス遺伝子情報は少なく、輸入症例から我々がコートジボアールとタンザニアからの輸入症例患者から分離したウイルスは2004年にサウジアラビアで分離されたデングウイルス3型とホモロジーが高く約98~99%であった。さらにホモロジー検索を実施すると、2003年から2004年のインド北部におけるデング熱流行時のデングウイルス3型と98%のホモロジーを有することが確認された(図1)。コートジボアールからの輸入症例は、出血傾向もあったため、ラッサ熱などを疑い行政を巻き込んで騒動となった。また、我々がタンザニアからの2症例をProMedに報告した(ProMed, archive no. 20100323.0922)後、タンザニア国内で17例のデング熱患者が確認された。

D. 考察

我が国へのデング熱、デング出血熱輸入症例の大部分は、東南アジア・南アジアからである。しかし、最近アフリカからの輸入症例4例を確認した。このことは、アフリカでもデング熱流行が拡大していることを示唆している。特にコートジボアールからの輸入症例は、出血傾向もあったためエボ

ラ出血熱、マールブルグ熱やラッサ熱なども疑われた。今後、アフリカのデング熱流行が拡大すると、アフリカからのデング出血熱輸入症例も考慮しなければならない。行政を巻き込んだ余計な騒動は、人的、経済的な損失を招くだけである。したがって、患者が急性期である場合は、デングウイルスNS1抗原検出迅速キットにより、血中デングウイルス抗原の検査を実施することが望ましい。

E. 結論

今後、アフリカからの出血熱患者は、デング出血熱の可能性を考え、デングウイルスNS1抗原検出迅速キットにより、血中デングウイルス抗原の検査を実施し、無用な混乱を防ぐことが望ましい。

F. 健康危機管理情報

2010年のデング熱輸入症例は243例と2009年までの100例前後と比較して急増した。その中で3例のアフリカからの輸入症例を確認した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. CK Lim, Kurane I, Takasaki T., Re-emergence of Chikungunya virus. *Animal viruses*. p1-22. Edited by Maeda A. printed by Transworld Research Network (2010)
2. Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Sakamoto M, Iwagoe H, Kobayashi K, Kurane I. Importation of dengue virus type 3 to Japan from Tanzania and Côte d'Ivoire. *Emerg Infect Dis*, 16 (11), 1770-1772 (2010)

3. Moi ML, Ujiiie M, Takasaki T, Kurane I. Dengue virus infection in travellers returning from Benin to France, July – August, 2010. *Eurosurveillance*, 15(39):pii=19674 (2010)
4. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Discrepancy in dengue neutralizing antibody titers between plaque reduction neutralizing tests using FcγR-negative and FcγR-expressing BHK cells. *Clin Vac Immunol*, 17: 402-407 (2010)
5. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Development of an antibody-dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expressing FcγRIIA. *J Virol Meth*, 163:205-209 (2010)
6. Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Involvement of the FcγRIIA receptor IIA cytoplasmic domain in antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. *J Gen Virol*, 91:103-111 (2010)
7. Yamamoto K, Matumoto K, Lim CK, Moi ML, Kotaki A, Takasaki T. Chikungunya fever from Malaysia. *Intern Med*, 49:501-505 (2010)
8. Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Omatsu T, Kurane I. Dengue importations into Japan from Bali. *ProMed*, promed archive no. 20100329.09 (2010).
9. Takasaki T, Moi ML, Kotaki A, Sakamoto M, Kobayashi K, Kurane I. Dengue importations into Japan from Tanzania. *ProMed*, promed archive no. 20100323.0922 (2010).
2. 学会等発表
1) 国際学会
1. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Titration of neutralizing antibody and viremia in dengue patients using FcγR-expressing BHK-21. 14th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, Kuala Lumpur, Malaysia, 2010年10月
2. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Dengue virus enhancing activity in serum samples from dengue patients determined using FcγRIIA-expressing BHK cells. 44th Joint Working Conference on Viral Diseases US-Japan Cooperative Medical Sciences Program, Hokkaido, Japan, 2010年6月
- 2) 国内学会
1. モイメンリン、林昌宏、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎：デング再感染患者血清中ウイルス力価の検討：感染性抗体－デングウイルス複合体は FcγR 発現細胞においてのみ検出された。第58回日本ウイルス学会学術集会（徳島）。平成22年11月
2. モイメンリン、大松勉、中村伸一郎、片貝裕子、高崎智彦、倉根一郎：Marmoset as a tool for dengue virus vaccine efficacy

evaluation. 第 17 回日トガ・フラビ・ペス
チウイルス研究会（東京）. 平成 22 年 12
月

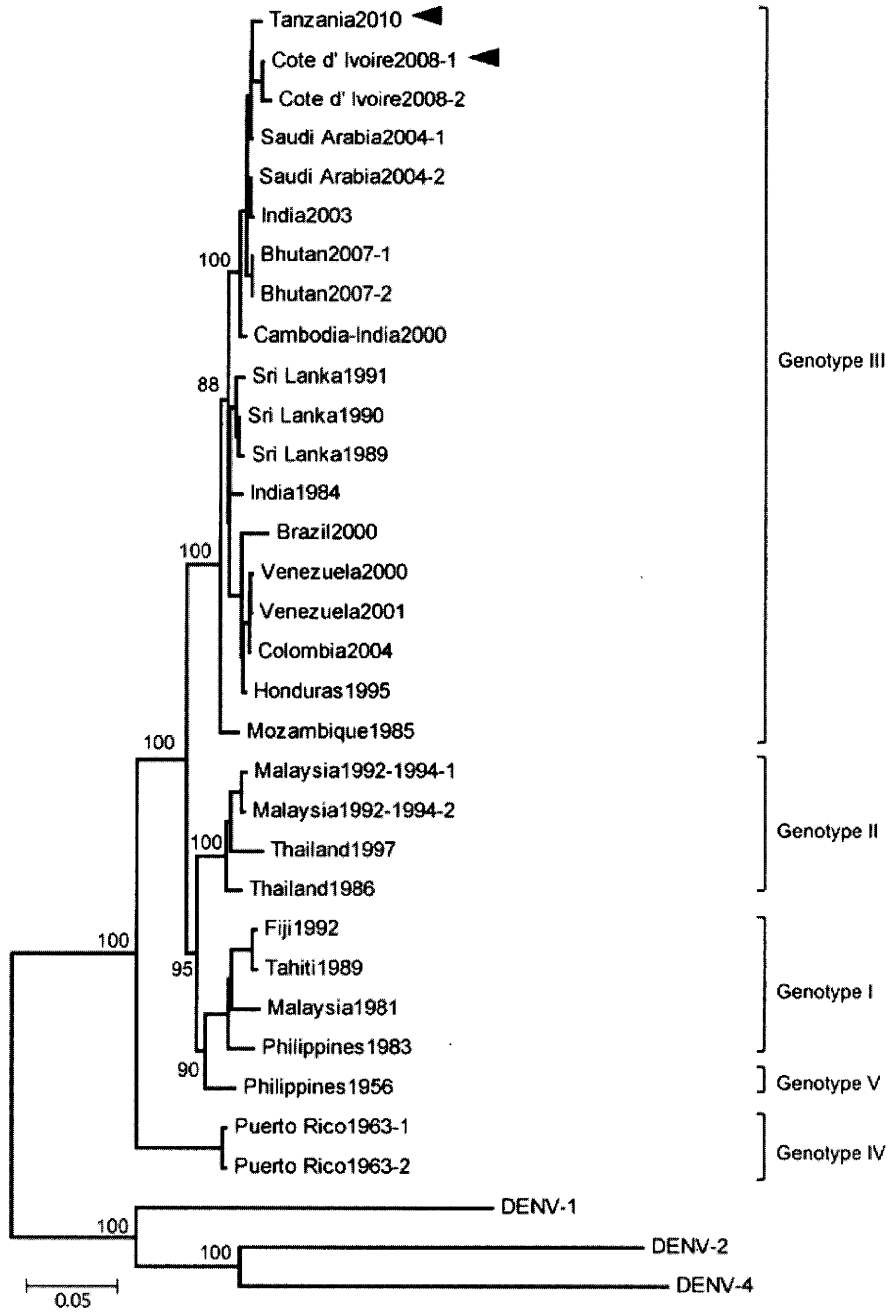
2. 実用新案登録
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

3. その他
なし

☒ 1



厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）

研究分担者報告書

クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）患者から増幅された3分節遺伝子の塩基配列から解析する詳細な分子疫学的研究

研究分担者 西條政幸

国立感染症研究所ウイルス第1部・部長

研究要旨：クリミア・コンゴ出血熱（Crimean-Congo hemorrhagic fever、CCHF）は、CCHF ウイルスにより引き起されるウイルス性出血熱で、ダニ媒介性ウイルス感染症のひとつである。CCHF ウイルスは、核蛋白をコードする S-遺伝子、膜蛋白をコードする M-遺伝子、RNA ポリメラーゼをコードする L-遺伝子の3つの分節 RNA を有する。クリミア・コンゴ出血熱の致死率は5～40%と高い。ヒトへの感染経路は、感染ダニによる刺咬やウイルス血症を伴う家畜動物との直接的接触である。本研究では、CCHF 流行地のひとつである中国新疆ウイグル自治区の患者（2001年と2002年の流行時）の血清から S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子を nested RT-PCR 法により増幅してその塩基配列を決定した。また、これまで同流行地で患者やダニから分離された CCHF ウイルスの3分節の塩基配列を決定し、また流行地で採取されたダニから S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子の塩基配列を用いて、2001年と2002年の CCHF の流行に関する詳細な分子疫学的解析を試みた。一般的に S-遺伝子の塩基配列に基づいて分子疫学を明らかにされているが、3分節の塩基配列を用いることで CCHF の流行をより詳細に調査できることと同地域の CCHF ウイルスの進化の過程を推測することが可能である。

A. 研究目的

クリミア・コンゴ出血熱（Crimean-Congo hemorrhagic fever、CCHF）は、ブニヤウイルス科ナイロウイルス属に分類される陰性鎖一本鎖 RNA ウイルスである CCHF ウイルスによる比較的致死率が高い感染症である。*Hyalomma* 属ダニや *Ixodes* 属のダニに維持されており、ヒトは CCHF ウイルス感染ダニに咬まれたり、ウイルス血症を伴う哺乳動物（ヒツジ等）と接触したりして感染する。そ

の臨床症状は、発熱、多臓器不全、出血傾向、等である。CCHF の致死率は5～40%と高く、我が国の感染症法ではエボラ出血熱等とともに1類感染症に指定されている。

本研究では、昨年度開発された S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子を増幅する nested RT-PCR 法を用いて、中国新疆ウイグル自治区の2001年と2002年の流行時の3人の CCHF 患者から増幅された、それぞれ3分節遺伝子の塩基配列を決定した。さらに、同地域で過

去に分離されている CCHF ウイルスの 3 分節の遺伝子の塩基配列（当研究室で解析済み）やその他の国々で分離された CCHF ウイルスの 3 分節遺伝子塩基配列を用いて、CCHF 流行をより詳細に解析した。

B. 研究方法

- 1) 中国新疆ウイグル自治区の CCHF 患者血清. 2001 年および 2002 年の 4 月に中国新疆ウイグル自治区を訪れ CCHF 患者（疑い患者を含む）から診断目的に血液の提供を受けた。
- 2) 中国新疆ウイグル自治区の CCHF 患者血清からの CCHF ウイルス 3 分節遺伝子増幅. 患者血清から RNA を精製し、さらにランダムプライマーを用いた reverse transcription 法で cDNA を作製した。
- 3) Nested RT-PCR. テンプレート（cDNA サンプル）およびデザインされたプライマーセット（表 1）を用いて、High Fidelity PCR（Roche Diagnostics 社）を用いた nested PCR 法で各 3 分節の部分遺伝子を増幅した。一回目の PCR および二回目の PCR 増幅条件は、ともに 94°C-2 分、30 サイクルの増幅ステップ（94°C-30 秒、52°C-30 秒、72°C-30 秒）、および、72°C-5 分である。
- 4) 新疆ウイグル自治区で分離されたウイルス. 1966 年から同地区の CCHF 患者やほ乳動物、ダニから分離されたウイルス（表 1）の 3 分節遺伝子の塩基配列を用いた。尚、この遺伝情報はこれまで当研究室で決定されたものである。
- 5) 系統樹解析. 得られた遺伝子塩基配列を

用いて、Neighbor-joining 法により解析した。

（倫理面からの配慮について）

特記事項なし。

C. 研究結果

- 1) 患者からの CCHF ウイルスの 3 分節遺伝子の増幅と塩基配列の決定. 計 18 人の患者からの 3 分節部分遺伝子増幅結果と表 2 にまとめた。3 人の患者（XJ01Pt08, XJ02Pt02, XJ01Pt11）からそれぞれ 3 分節部分遺伝子が増幅された。また、1 人の患者（XJ02Pt03）からは S-遺伝子と M-遺伝子が増幅された。
- 2) 系統樹解析. XJ01Pt08, XJ02Pt03, XJ01Pt11 から増幅された S-遺伝子は 66019 株と同じクラスター（遺伝子型）に分類され、XJ02Pt02 から増幅された S-遺伝子は 88166 株と同じ遺伝子型に分類された。また、XJ01Pt08 と XJ01Pt11 からの M-遺伝子は 88166 株と同じ遺伝子型に、XJ02Pt02 からの M-遺伝子は 7803 株と同じ遺伝子型に分類された。XJ01Pt08, XJ02Pt02, XJ01Pt11 からの L-遺伝子は 7803 株と同じ遺伝子型に分類された（図 1）。

D. 考察

これまで CCHF の流行に関する分子疫学は主に S-遺伝子の塩基配列だけに基づいて行われてきた。一人の患者から 3 分節の遺伝子を増幅させ、それを用いて疫学的解析を行う

研究はこれが初めてと思われる。

S-遺伝子の塩基配列に基づく分子疫学的解析によると、2001年の新疆ウイグル自治区（西部）のCCHFの流行はXJ01Pt08を含む3人の患者は66109株に近縁のCCHFウイルスによるものと考えられた。また、2002年の流行は66019株に近縁のCCHFウイルスと7803に近縁のウイルスによる流行であると考えられた。しかし、M-遺伝子の塩基配列による解析では、S-遺伝子の塩基配列で66019株に近縁のウイルスによると考えられた患者は、88166株に近縁のウイルスによると考えられた（XJ01Pt08とXJ02Pt11）。さらに、L-遺伝子の塩基配列で解析すると、患者XJ01Pt08、XJ02Pt02、XJ01Pt11はすべて7803株近縁のCCHFウイルスによる感染症であったことが明らかにされた。

4名の患者から増幅された各分節の遺伝子を系統樹上の分類を表2にまとめた。患者XJ02Pt03からはL-遺伝子が増幅されていないが、塩基配列の相同性から66019株と同一の株によるCCHFで、患者XJ01Pt08とXJ01Pt11はともに同一のウイルスによるCCHFで、XJ02Pt02は7803株や75024株に近縁のウイルスによるCCHFであることが明らかにされた。

E. 結論

新疆ウイグル自治区西部（Bachu地区）におけるCCHFの流行は、多彩な3分節の遺伝子の組み合わせからなるCCHFウイルスによる流行であることが明らかにされた。2001年と2002年の新疆ウイグル自治区（Bachu地区）におけるCCHFの流行は、少なくとも

系統樹解析上区別される3種類のCCHFウイルスによるCCHFの流行であったことが明らかにされた。

一般的にS-遺伝子の塩基配列で分子疫学的解析がなされることが多い。しかし、本研究成績はそれだけでは詳細な解析は不可能であることを示している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I.: Recent progress in the treatment for Crimean-Congo hemorrhagic fever and future perspectives. *Future Virology* 5:801-809, 2010
- 2) Nakayama, E., Yokoyama, A., Miyamoto, H., Igarashi, M., Kishida, N., Matuno, K., Marzi, A., Feldmann, H., Ito, K., Saijo, M., Takada, A.: Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of filovirus species-specific antibodies. *Clinical and Vaccine Immunology* 17:1723-1728, 2010
- 3) 西條政幸: アレナウイルス. *日本臨床* 68 (増刊号): 431-434, 2010
- 4) 西條政幸: 南米出血熱の診断法の概要. *日本医事新報* 4495: 83-84, 2010

2. 学会発表

- | | |
|--|--|
| <p>1) 木下一美, 酒井宏治, 永田典代, 王麗欣, 伊藤(高山)睦代, 中道一生, 森川茂, 倉根一郎, 西條政幸. リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス核蛋白の単クローン抗体を用いた診断法の開発. 第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島 (2010. 11)</p> <p>2) 伊波興一朗, 中内美奈, 谷口怜, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, 森川茂. アルゼンチン出血熱の実験室診断法の患者血清を用いた評価. 第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島 (2010. 11)</p> <p>3) 西條政幸, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川茂. 3分節RNAの塩基配列に基づく中国新疆ウイグル自治区におけるクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの分子疫学と進化. 第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島 (2010. 11)</p> <p>4) Saijo, M., Fukushi, S., Mizutani, T., Kurane, I., Morikawa, S. Evolutional events of Crimean-Congo hemorrhagic fever viruses in Xinjinag, China, assessed with 3 segmented RNA genes. 44th US-Japan Cooperative Medical Science, Viral Diseases Panel Meeting, Sapporo, Japan (2010. 06)</p> <p>5) Saijo, M. Molecular epidemiology on Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections based on the 3 segmented RNA genes. BIT's 1st World Congress of Virus and Infections-2010, Busan, Korea (2010. 07)</p> | <p>H. 知的財産権の出願・登録状況</p> <p>1. 特許取得
なし</p> <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|--|--|

表 1. 本研究で使用された CCHF ウイルス中国分離株

分離株	分離された年	分離された地域	分離元
66019	1966	Bachu	患者
7001	1970	Bachu	患者
75024	1975	Aksu	患者
7803	1978	Bachu	患者
79121	1979	Bachu	オオミトビネズミ
8402	1984	Bachu	ダニ
88016	1988	Bachu	患者

表 2. 新疆ウイグル自治区の 2001 年と 2002 年の CCHF 流行時の 4 人の患者から増幅された S-遺伝子, M-遺伝子, および, L-遺伝子の塩基配列の遺伝子型の組み合わせ

患者	CCHF ウイルス中国分離株の各分節遺伝子型		
	S-遺伝子	M-遺伝子	L-遺伝子
XJG01Pt08	66019	8402, 88166	7803, 75024
XJG02Pt02	7803, 75024, (88166)	7803, 75024	7803, 75024
XJG02Pt03	66019	66019	増幅されなかった
XJG02Pt11	66019	8402, 88166	7803, 75024

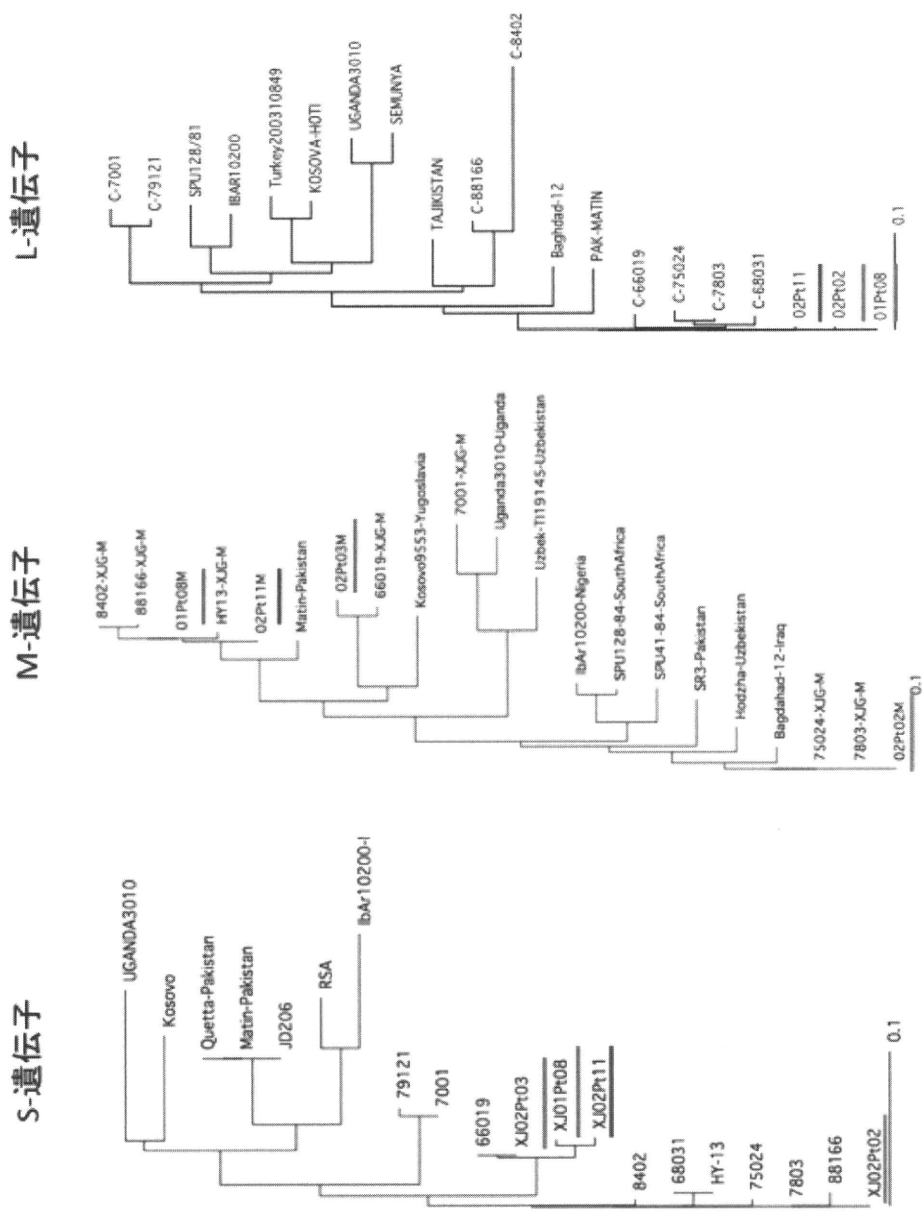


図 1. CCHF ウイルス中国分離株と患者から増幅された 3 分節の塩基配列, および, GenBank に報告されている代表的な CCHF ウイルスの 3 分節の塩基配列に基づく系統樹解析 (左から, S-遺伝子, M-遺伝子, および, L-遺伝子による系統樹解析成績).

研究成果の刊行に関する一覧表（平成22年度）

書籍

1)Lim, C.K., Kurane, I., and Takasaki, T.
Re-emergence of chikungunya virus, pp. 1-22. In Maeda, A. (ed), Animal Viruses. Transworld Research Network., Kerala, India.
2010.

雑誌

2)Tsuda, Y. and Kim, K.S.
Prediapause migration and overwintering of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) observed in a park in urban Tokyo during 2007 to 2009.
Med. Entomol. Zool.,
61: 69-78, 2010.

3)Kim, K.S. and Tsuda, Y. 2010.
Seasonal changes in the feeding pattern of *Culex pipiens pallens* govern the transmission dynamics of multiple lineages of avian malaria parasites in Japanese wild bird community.
Molecular Ecology
19: 5545-5554, 2010.

4)Yamauchi, T., Obara, M. and Yuasa, S.
A new host record for *Nycteribia pleuralis*(Diptera:Nycteribiidae).
Biogeography,
12: 141-142, 2010.

5)Eiji Konishi, Yoko Kitai, Yukiko Tabei, Kouichi Nishimura, Seiya Harada:
Natural Japanese encephalitis virus infection among humans in west and east Japan shows the need to continue a vaccination program.
Vaccine.
28, 2664-2670, 2010.

6)Yoko Kitai, Takashi Kondo, Eiji Konishi.:
Complement-dependent cytotoxicity assay for differentiating West Nile virus from Japanese encephalitis virus infections in horses.
Clinical and Vaccine Immunology
17, 875-878, 2010.

7) Eiji Konishi, Yoko Kitai, Kouichi Nishimura, Seiya Harada

Antibodies to bovine serum albumin in human sera: problems and solutions with casein-based ELISA in the detection of natural Japanese encephalitis virus infections.

Japanese Journal of Infectious Diseases.

63, 296-298, 2010.

8) Miwa Kuwahara, Eiji Konishi

Evaluation of extracellular subviral particles of dengue virus type 2 and Japanese encephalitis virus produced by *Spodoptera frugiperda* cells for use as vaccine and diagnostic antigens.

Clin Vaccine Immunol.

17, 1560-1566, 2010.

9) Jun-ichi Imoto, Tomohiro Ishikawa, Atsushi Yamanaka, Misako Konishi, Kenji Murakami, Tomoyuki Shibahara, Masanori Kubo, Chang Kweng Lim, Masataka Hamano, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Haruhide Udagawa, Yoshihiro Mukuta, Eiji Konishi

Needle-free jet injection of Japanese encephalitis DNA and inactivated vaccine mixture induces neutralizing antibodies in miniature pigs and protects against fetal death and mummification in pregnant sows.

Vaccine.

28, 7373-7380, 2010.

10) Tomohiro Ishikawa and Eiji Konishi

Combating Japanese encephalitis: Vero-cell derived inactivated vaccines and the situation in Japan.

Future Virol.

5, 785-799, 2010.

11) Yoko Kitai, Takashi Kondo and Eiji Konishi

Non-structural protein 1 (NS1) antibody-based assays to differentiate West Nile (WN) virus from Japanese encephalitis virus infections in horses: Effects of WN virus NS1 antibodies induced by inactivated WN vaccine.

J Virol Meth.

171, 123-128, 2011.

12)Yoko Kitai, Hiroaki Shirafuji, Katsushi Kanehira, Tsugihiko Kamio, Takashi Kondo and Eiji Konishi
Specific Antibody Responses to West Nile Virus Infections in Horses Preimmunized with Inactivated
Japanese Encephalitis Vaccine: Evaluation of Blocking ELISA and Complement-Dependent Cytotoxicity
Assay.

Vector-Borne and Zoonotic Diseases. (in press) 2011

13)Eiji Konishi and Yamato Takizawa

Effect of pre-existing immunity to flaviviruses on balanced induction of neutralizing antibodies by a
dengue tetravalent DNA vaccine in mice.

J Vaccin Vaccinat.(in press) 2011

14)Eiji Konishi:

Issues Related to Recent Dengue Vaccine Development.

Tropical Medicine and Health. (in press) 2011.

15)Aoyama, I., Uno, K., Yumisashi, T., Takasaki, T., Lim, C.K., Kurane, I., Kase, T., Takahashi, K.

A Case of Chikungunya Fever Imported from India to Japan, Follow-Up of Specific IgM and IgG
Antibodies over a 6-Month Period.

Jpn. J. Infect. Dis., .

63(1):65-66, 2010.

16)Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I.

Recent progress in the treatment for Crimean-Congo hemorrhagic fever and future perspectives.

Future Virology

5:801-809, 2010.

17)Nakayama, E., Yokoyama, A., Miyamoto, H., Igarashi, M., Kishida, N., Matuno, K., Marzi, A.,
Feldmann, H., Ito, K., Saijo, M., Takada, A.

Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of filovirus species-specific antibodies. Clinical and
Vaccine Immunology

17:1723-1728, 2010.

18)Aoyama, I., Uno, K., Yumisashi, T., Takasaki, T., Lim, C.K., Kurane, I., Kase, T., Takahashi, K.

A Case of Chikungunya Fever Imported from India to Japan, Follow-Up of Specific IgM and IgG
Antibodies over a 6-Month Period.

Jpn. J. Infect. Dis., .

63(1):65-66, 2010.

<p>19) Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Sakamoto M, Iwagoe H, Kobayashi K, Kurane I. Importation of dengue virus type 3 to Japan from Tanzania and Côte d'Ivoire. <i>Emerg Infect Dis</i> 16 (11), 1770-1772, 2010.</p>
<p>20) Moi ML, Ujiie M, Takasaki T, Kurane I. Dengue virus infection in travellers returning from Benin to France, July – August, 2010. <i>Eurosurveillance</i>, 15(39):pii=19674, 2010.</p>
<p>21) Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Discrepancy in dengue neutralizing antibody titers between plaque reduction neutralizing tests using FcγR-negative and FcγR-expressing BHK cells. <i>Clin Vac Immunol</i>, 17: 402-407, 2010.</p>
<p>22) Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Development of an antibody- dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expressing FcγRIIA. <i>J Virol Meth</i>, 163:205-209, 2010.</p>
<p>23). Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Involvement of the FcγRIIA receptor IIA cytoplasmic domain in antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. <i>J Gen Virol</i>, 91:103-111, 2010.</p>
<p>24) Yamamoto K, Matumoto K, Lim CK, Moi ML, Kotaki A, Takasaki T. Chikungunya fever from Malaysia. <i>Intern Med</i>, 49:501-505, 2010.</p>
<p>25) Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Omatsu T, Kurane I. Dengue importations into Japan from Bali.. <i>ProMed</i>, promed archive no. 20100329. 09 ,2010.</p>

26) Takasaki T, Moi ML, Kotaki A, Sakamoto M, Kobayashi K, Kurane I.

Dengue importations into Japan from Tanzania.

ProMed, promed archive no.

20100323.0922 , 2010.

27) Sawabe K, Hoshino K, Isawa H, Sasaki T, Kim S K, Hayashi T, Tsuda Y, Kurahashi H, Kobayashi M.

Blow flies were one of the possible candidates for transmission of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus during the 2004 outbreaks in Japan.

Influenza Research and Treatment,

Vol. 2011, Article ID 652652, doi:10.1155/2011/652652, 2011.

