

わが国におけるウエストナイルウイルス感染症のサーベイランスと防疫対策

| | |
|-------|----------|
| 誌名 | 鶏病研究会報 |
| ISSN | 0285709X |
| 著者 | 後藤, 義之 |
| 巻/号 | 39巻増刊号 |
| 掲載ページ | p. 7-12 |
| 発行年月 | 2003年9月 |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



わが国におけるウエストナイルウイルス感染症の サーベイランスと防疫対策

Guidelines for National West Nile Virus Infection Surveillance,
Prevention and Control in Japan

後藤義之

独立行政法人農業技術研究機構動物衛生研究所感染症研究部, 〒305-0856 つくば市観音台 3-1-5

Yoshiyuki Goto

National Institute of Animal Health, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-0856

キーワード: ウエストナイルウイルス感染症, アルボウイルス, サーベイランス, 防疫対策

はじめに

1999年、ニューヨークの中心部で発生したウエストナイルウイルス（以下 WNV と略）感染症は米国内の流行地が徐々に拡大し、そして昨年はさらに全米各地へと急速に広がり西海岸へ到達するに至った。さらにカナダ、メキシコなど近隣諸国にも波及し始め今年になり中米のエルサルバドルでも発生が確認されている。この間、人、馬、野鳥などさまざまな動物が発症し死亡する事例が多数報告されている（表1）。一方、わが国への侵入が危惧されている WNV の緊急対応として、「ウエストナイルウイルス感染症防疫技術検討会」が設置開催され、今後の防疫対策についての検討がなされるとともに WNV 感染症防疫マニュアルに基づき、この4月から蚊及び野鳥（死亡）サーベイランスがスタートしている。そこで、すでに WNV 流行にサーベイランスのデータが示されている米国での状況を解説するとともに、わが国における防疫対策について概説する。

1. 米国における WNV サーベイランス・システム

米国の CDC（疾病管理センター）では「The Epidemic/Epizootic West Nile Virus in the United States: Revised Guidelines for Surveillance, Prevention, and Control, 2001」に示された要領に基づきサーベイランス

2003年8月5日受付

鶏病研報 39 巻増刊号, 7~12 (2003)

が実施されている。データは毎週野鳥、おとり鶏群、人の発病、獣医学領域での発生、蚊のサーベイランスなどである（表2）。

1) 野外での自然感染の様相

1999年の発生当初、WNV 感染によりニューヨークの動物園で飼育されている鳥類の死亡が相次いだこと、さらにニューヨーク州におけるカラスの大量死亡が報告されたことからニューヨーク、ニュージャージー、コネチカット州では8月から12月までの死亡野鳥を徹底的に調査した¹⁾。自然界で観察された死亡野鳥では、アメリカカラスが最も多く、1999年には計111種類の鳥類が感染していることが示されている⁸⁾。また295羽の WNV 陽性死亡野鳥の、262羽(89%)がアメリカカラス (*Corvus brachyrhynchos*) であった。残りの鳥類は19種類で、ウオカラス (*Corvus ossifragus*) 7羽、チリーフラミンゴ (*Phoenicopiterus chilensis*) 4羽、アオカケス (*Cynocitta cristata*) 4羽、アカオノスリ (*Buteo jamaicensis*) 2羽、マガモ (*Anas platyrhynchos*) 2羽、カワラバト (*Columba livia*)、アメリカカワセミ (*Ceryle alcyon*)、ワライカモメ (*Larus atricilla*)、ニシンカモメ (*L. argentatus*)、ゴイサギ (*Nycticorax nycticorax*)、カナダヅル (*Grus canadensis*)、グアナインマジロヒメウ (*Phalacrocorax bouganinvillea*)、ハイバラジュケイ (*Tragopan blythi*)、ハクトウワシ (*Haliaeetus leucocephalus*)、アメリカハヤブサ (*Falco columbarius*)、ハネビロノスリ (*Buteo platypterus*)、ヒメオオタカ

(*Accipiter cooperii*), コチョウゲンボウ (*Falco columbarius*), アメリカコマツグミ (*Turdus migratorius*) が各1羽で特定種に限定されず多種類にわたって感染することが示唆されている, このことは, カラスなど多くの死亡野鳥からの WNV 検出感度が高いことが明らかとなったため人に発生する以前に死亡野鳥を収集し WNV 検出のためのサーベイランスを実施することで流行を予測できる可能性を示唆している²⁾ (図1)。その後, 米国での流行が拡大するとともに, 死亡鳥類の種類も増加し 2002 年までに 162 種に達している。

2) 野鳥での WNV 感染試験とおとり鶏群

Komar らは³⁾ 25 種類の北米産の鳥類について WNV 感染蚊に吸血させることで感染させ, 臨床症状, ウイルス血漿の持続, ウイルスの排泄, 抗体応答, 臓器でのウイルスの分布, 同居感染の有無について調べたところ, スズメ目の鳥類 (アオカケス, カササギ, アメリカカラス, ウオカラス, アメリカコマツグミ, ヨーロッパムクドリ, ハゴロモカラス, オオクロムクドリモドキ, メキシコマシコ, イエズズメ) とチドリ目の鳥類 (フタオビチドリ, クロワカモメ) がウイルス血症の力価と持続からレゼルボア (ウイルス保有動物) としての能力が高く, その中でもアオカケス, オオクロムクドリモドキ, メキシコマシコ, アメリカカラス, イエズズメがレゼルボアとして能力がより高かったことを報告している。とくにスズメ目のウイルス血症の力価は高く, 最高で 10^{10} PFU/ml に達した。感染鳥類の死亡率は実験に供した鳥の数が少ないので比較はできないが, アメリカカラスの 100% (8/8), クロワカモメの 100% (2/2), カササギの 100% (3/3), メキシコマシコの 100% (2/2), アオカケスの 75% (3/4), イエズズメの 50% (3/6), ウオカラスの 55% (5/9), オオクロムクドリモドキの 33% (2/6) が死亡した。WNV は 24 種の鳥類のうち 17 種のクロアカ中に検出され, 14 種のうち 12 種で口腔内に検出された。クロアカ中に検出されたウイルス量は 10^6 PFU/ml, 口腔内では 10^5 PFU/ml のウイルス量が検出された。さらに 5 種の鳥類で同居感染を確認した。また, ロシアの Lvov¹⁴⁾ らは多数の野鳥で感染試験を実施し, キジ (*Phasianus colchicus*), ホシハジロ (*Ardea cinerina*), ハシボソガラス (*Corvus corone*), ミヤマガラス (*C. frugilegus*), オナガガモ (*Anas acuta*), ホシハジロ (*Aythya ferina*), カワラバト (*Columba livia*) が高い感受性を示すことを明らかにしている。このように WNV は多くの野鳥で高い感受性を示し, 生残した鳥類でも体内に WNV が持続し感染源となることも明らかである。一方, 鶏では自然感染しても発症することなく

耐過するものとみられており, WNV 流行の指標となる「おとり鶏」として利用の可能性を知る目的で鶏感染試験が実施されている, Langevin らは¹⁵⁾ 17-60 週齢の白色レグホン種で感染試験を実施したところ, 感染鶏はウイルス血症が検出されたものの, 蚊を感染させるほどの高さではなく, 接種された鶏 21 羽は総て無症状で耐過し抗体が上昇したことを報告している。一般に吸血昆虫媒介性ウイルス (アルボウイルス) の流行予測, 動態調査など疫学的サーベイランスには, 昔から野外に動物を配置しウイルスの動向を探る手法が用いられている。以上のような結果から WNV は鶏に感染するものの病原性は, ほとんど無いことが明らかとなった。わが国でも WNV 流行の指標として「おとり鶏群」を配置し定期的に採血することで WNV の動向を知る手がかりとして実施する必要があると思われる。

3) WNV 感染症における蚊のサーベイランス

WNV など吸血昆虫媒介性ウイルスの伝播様式では蚊と動物間で感染サイクルを形成しながら流行すること³⁾ から蚊が大きな役割を担っていることは周知の事実であるが, 蚊の生態学となると未だに解明されていない点も多い。表3に 2002 年までに米国で WNV 陽性となった蚊を示している。過去, ヒトスジシマカの WNV に対する感受性が確認されているが。その後, ネットアイエカ, コガタアカイエカ, シロハシエカ, オビナシエカなど, わが国にも分布する蚊にも感受性が認められている。さらに近年, 米国では WNV の蚊における感染試験でヒトスジシマカ, ヤマトヤブカ, キンイロヤブカなどヤブカ属の蚊が高い感受性をもつことが示されている。WNV は増幅動物の鳥類と流行に関与するイエカ類 (*Culex*) の蚊 (*Culex pipiens*; アカイエカ, *C. restuans*, *C. quinquefasciatus*) の間に感染環を形成する。WNV は 36 種の蚊から分離されているが, これらの種の多くは媒介蚊としての疫学的役割についてまだ明らかにされていない。

4) 米国における蚊の越冬

蚊のなかでイエカ類のアカイエカやチカイエカは住宅周辺的环境下で生息し都市にも多く生息していることから WNV 感染蚊がどのように越冬するのか明らかになっていなかったが Nasci らは¹⁶⁾, 2000 年の 1 月と 2 月にニューヨーク市の下水道でイエカ類を 91 プール 2,383 匹採集し, WNV の検出を試みたところ, 3 検体 (0.3%) から TaqMan RT-PCR で, WNV 遺伝子が検出され¹⁵⁾, WNV が Vero 細胞で 1 検体 (0.1%) から分離された¹⁴⁾。これらのことから WNV は確かにイエカの体内で越冬し 2002 年末までに米国の広大な地域に流行が拡大して行ったものと推察されている。

表 1. 米国におけるウエストナイルウイルス感染症の発生 (1999~2002 年)

| | 馬での発生 | 人での発生 | 備考 |
|--------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1999 年 | NY 州 25 頭が 発症し 8 頭死亡 | NY 州 62 人が発症 7 人死亡 | NY 州 550 羽以上 の野鳥が感染 |
| 2000 年 | 7 州 60 頭が発症 23 頭死亡 | 3 州 21 人発症 2 人死亡 | 12 州 4,323 羽の野 鳥が感染 |
| 2001 年 | 20 州 738 頭が発症 156 頭死亡 | 10 州の 66 人発症 9 人死亡 | 27 州の 7,000 羽以 上の野鳥が感染 |
| 2002 年 | 40 州 14,717 頭 が発症 | 44 州 4,156 人発症 284 人死亡 | 43 州の 15,745 羽 の野鳥が感染 |

表 2. 米国における WNV サーベ
イランスの様式

- ・死亡野鳥（とくにカラス）の調査
- ・蚊
- ・野鳥の捕獲調査
- ・おとり鶏群配置による動向調査
- ・獣医学領域でのサーベイランス
- ・人での発生のサーベイランス

5) WNV 感染症の疫学情報管理システム

米国の CDC では、各州で発生している WNV 感染症全般に関する膨大な情報の管理を「ArboNET」の名称で呼ばれている情報管理システムで構築され人での発生情報、蚊・死亡野鳥サーベイランス、おとり鶏、獣医学領域（農務省関連情報も含む）の発生まで WNV 感染症の幅広い情報の一元化がなされ流行状況の把握により行政対応も速やかに行われている。

2. わが国における WNV 感染症の対応

1) 鳥類の輸入検疫強化

米国における WNV 感染症の発生状況からわが国へ侵入する可能性として航空機によって輸送される人に対する空港での検疫強化、航空機内の蚊の収集など厚労省側の監視体制が継続されている。一方、輸入鳥類（とくに指定外鳥類）を介して感染することも充分考えられるため、平成 15 年 3 月 19 日付けで農水省生産局畜産部衛生課は下記に示すような通達をもとに動物検疫の強化が実施されている。

「ウエストナイルウイルス感染症に対する 輸入検疫の強化について」

1 ウエストナイルウイルス感染症（WNF）については、昨年北米における発生状況にかんがみ、馬及び家きん（鶏、あひる、七面鳥、うずら、がちょう及びそれら

の初生ひな）について輸入検疫の強化を行ったところである。

2 また、これまで家きん以外の鳥類については、家きんの伝染性疾病の侵入防止の観点から、輸入時に動物検疫所において臨床検査を実施してきたところである。

3 今般、厚生労働省より、わが国への WNF の侵入防止の観点から、家きん以外の鳥類の輸入検疫の強化について協力依頼があり、農林水産省として以下の措置を講ずることとした。

(1) 米国及びカナダについて

両国は本病の流行地であることから、両国政府に対し、家きん以外の鳥類の輸出に当たり、輸出前 2 週間の係留、蚊に吸血されない環境で飼育されていたこと等についての証明を要求する。これら条件を満たさないものについては、本年 4 月 1 日以降動物検疫所による指定場所において係留検査を実施。

(2) その他の国について

厚生労働省による輸入者に対する指導への協力。

同様に厚労省健康局結核感染症課ではさらに輸入鳥類のウエストナイル熱対策として「ウエストナイル熱対策のための輸入される鳥類の取扱い指針」を定め以下のような指針を関係機関に通知している。その内容は、動物由来感染症の一つである WNV 感染症については、昨年米国で多数の患者・死者が発生したことから、わが国でも報道され、平成 14 年 10 月 18 日に開催された厚生労働省の審議会（感染症分科会）において、その対策が協議され国内での患者発生報告の義務付けについて意見がとりまとめられ、輸入鳥類についても、ウエストナイル熱発生地域を対象に一定の監視を実施すべきであるとの意見が出された。この意見を踏まえ、厚生労働省では、ウエストナイル熱対策の一つとして、わが国へ輸入される鳥類（鶏、アヒル、七面鳥、うずら及びがちょうを除く）に対する措置を講ずべく、「ウエストナイル熱対策の

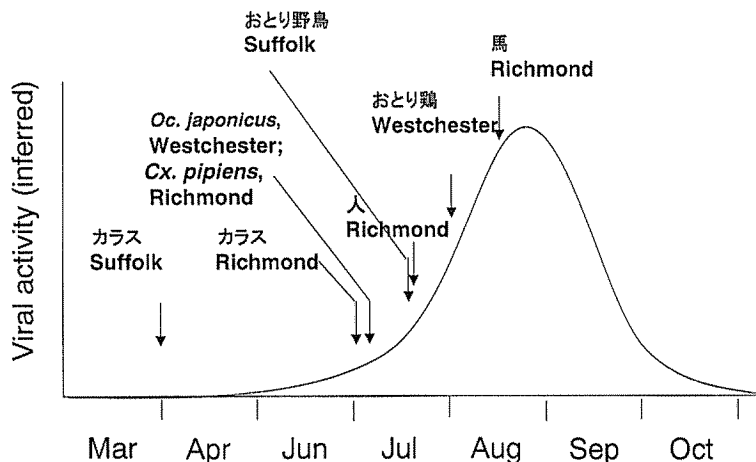


図 1. ニューヨーク周辺における WNV サーベイランス 2000

表 3. 米国での WNV-陽性蚊の種類
1999-2002

| <i>Culex</i> | <i>Aedes</i> | <i>Ochlerotatus</i> | <i>Anopheles</i> | Other |
|--------------------|-------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------------|
| <i>pipiens</i> | <i>albopictus</i> | <i>atlanticus</i> | <i>atropos</i> | <i>Cs. melanura</i> |
| <i>quinq.</i> | <i>aegypti</i> | <i>atropalpus</i> | <i>barberi</i> | <i>Cs. inornata</i> |
| <i>tarsalis</i> | <i>cinereus</i> | <i>canadensis</i> | <i>crucians</i> | <i>Cq. perturbans</i> |
| <i>restuans</i> | <i>vexans</i> | <i>cantator</i> | <i>punctipennis</i> | <i>Deinocerites cancer</i> |
| <i>salinarius</i> | | <i>japonicus</i> | <i>quadrifasc.</i> | <i>Ps. columbiae</i> |
| <i>nigripalpus</i> | | <i>sollicitans</i> | <i>walkeri</i> | <i>Ps. ciliata</i> |
| <i>erraticus</i> | | <i>taeniorhynchus</i> | | <i>Ps. ferox</i> |
| <i>territans</i> | | <i>triseriatus</i> | | <i>Orthopodomyia signifera</i> |
| | | <i>trivittatus</i> | | <i>Uranotaenia sapphirina</i> |

ための輸入される鳥類の取扱指針」を策定し、対応することとしている。

この輸入鳥類対策の概要は、次のとおりである。

1 現在流行が報告されている米国・カナダからの輸入鳥類

厚生労働省から農林水産省に依頼し、輸出国政府機関発行の衛生証明書の添付を義務付けること。

2 その他のウエストナイル熱発生地域からの輸入鳥類

厚生労働省から輸入者に依頼し、輸入者が自主的に輸出国における衛生管理状況を証明した書類を取得して衛生状態を確認することとし、確認できない場合には、輸入者の責任において、国内で当該鳥を蚊の侵入がない飼養施設において2週間保留すること。

3 国内で輸入鳥類を保管する動物取扱業者の飼養施設での衛生確保

厚生労働省から自治体に依頼し、自治体の担当者により飼養施設が、「動物の愛護及び管理に関する法律に基づく基準（蚊の害虫の侵入を防止するとともに、必要に応じて駆除すること）」に合致することを確認し、併せて、従業員の健康管理等を指導すること。

4 「指針」については、平成15年4月21日から適用すること

そこで農水省生産局衛生課では都道府県に対し蚊及び野鳥のサーベイランスを実施するとともに万一WNVがわが国に侵入した場合を想定し今後の対応について

3. 蚊及び野鳥のサーベイランス

先に農水省生産局衛生課から発出された「ウエストナイル感染症防疫マニュアル」では以下のような内容のサーベイランス実施要領が示されている。

1) 調査計画の作成

① 調査対象地域：環境部局、衛生部局と連携し、馬の飼養状況、野鳥の種類及び生息状況、蚊の種類、発生源、季節的な消長を把握した上で、調査対象地域を設定する。

② 調査対象期間：調査対象地域における蚊及びその幼虫の生息状況並びに発生時期を確認した上で調査対象期間を設定する。

2) サーベイランスの実施

① 雌蚊の捕集及び記録

雌蚊（少なくとも 10 匹以上）を捕虫網、ライトトラップ、ドライアイス・トラップ等を用いて捕集する（吸血する雌蚊を効率的に採取するため、ドライアイス・トラップを用いることが好ましい）。

② 捕集した際には、捕獲日、主な種類、捕集数及び捕集場所のほか、天候、気温、付近で確認された野鳥の種類等を記録する。なお、記録に基づき必要に応じて調査計画を見直すこと。

3) 死亡野鳥の採取及び記録

① 状態の良い死亡野鳥（明白な変質又は腐敗がないもの）を採取する。

② 採取した採には、採取日、採取羽数、種類、採取場所、採取時の状態等を記録する。なお、記録に基づき必要に応じて調査計画を見直すこと。

またサーベイランス材料の検査を担当する動衛研では、同時に以下のような補足資料として蚊の生態学的調査とくに発生状況調査、蚊の採集方法、採集場所の選定、種類の分類法等を参考にして頂きたい。

なお蚊の捕虫法にはさまざまな方法¹⁰⁾が用いられており、ライト・トラップ、ドライアイス・トラップ、動物おとりトラップなど目的に合わせて蚊の採集法もさまざまであるが、一般的にはライト・トラップとドライアイス法を併用して捕集している。

4) 採集場所

蚊は種類によって発生する場所、吸血時間が異なるので採集場所の選定は、景観、植生、吸血源、水源など多くの複雑な要因を考慮して選定する必要があり、経験が大きく関与する。経験を積んだ専門家の意見を参考にするのも一策である。

5) 蚊の分類

蚊の種類は国、地域により異なるため米国の分類基準を日本の蚊に当てはめることはできない。かつて人に日本脳炎が流行していた時代は、日本の蚊についての専門家が地方の衛生研究所にも多数おられ、蚊の分類同定も容易に行われていた。また家畜衛生関係においても日本

脳炎と蚊の生態学を中心に研究される専門家もおられ分類・同定に困ることはなかった。しかし、環境の改善から吸血昆虫媒介性ウイルス疾病が著しく減少した今日、蚊の生態を主体的に研究する研究者も少なく、専門書も古い時代の書物しか残っていない（「蚊の科学」は絶版）。一方、近年地球の温暖化とともに WNV 感染症のような吸血昆虫媒介性の新興・再興ウイルス感染症が世界の各地で流行している現状から媒介昆虫の専門家養成は急務であり、あらかじめ専門家の育成とともに、地方の家畜衛生担当者研修を実施できる体制を構築する必要がある。

6) ウイルス分離のための注意

ウイルスは蚊が死亡すると常温で速やかに不活化されるので、ウイルス分離のためには生きた蚊を同定後速やかに -80°C 以下に保存することが望まれる。

7) サーベイランスの飼育鳥、野鳥、蚊に関する検査手法

米国でのウエストナイルウイルス感染症については、以下の基本的な血清学的診断としてまず① IgM capture ELISA^{4,18)}で抗体サーベイを行い、臨床所見から感染の疑いがある症例については、② 90% Plaque reduction による中和試験⁶⁾を実施する。さらに発症死亡馬及び死亡野鳥は脳を採材し③ ウイルス分離と RT-PCR (nested-PCR)⁷⁾を行っている。

8) 鳥類におけるウエストナイルウイルスの抗体サーベイ新技術

鳥類におけるウエストナイルウイルス感染症の抗体サーベイは、多種類の鳥類に及ぶことから人や馬で利用されている IgM capture ELISA 法が使えず、新しい技術の開発が急務であったが、コロラド州立大学 Arthropod-borne Infectious Diseases Laboratory の Beaty 教授らにより Blocking ELISA 法による抗査法が開発された¹⁾。

今後の展望と課題

そこで本年度の対応として米国における WNV 感染症は、2002 年の流行でほぼ米国全土へ拡大したため、発生そのものは局所的あるいは地域に限定するものと推察されている。しかし、これまで西海岸のオレゴン、ネバダ、ユタ、アリゾナの 4 州は全く流行がなく、今後これらの地域での流行が予測されるため、飼養馬に対してのワクチネーションを呼びかけている。また西部地域における流行初期の指標となる *Culex tarsalis* の採集、検査を徹底することで馬での発生を予測するよう指示している。さらにこれら未発症州に対しては WNV 感染の手が

かりとなる各種検査施設の強化充実を図ることを義務付けている。また WNV の流行がカナダ、メキシコでさらに拡大し、南米まで波及するの否が注目するところである。CDC ではカナダからアラスカ州に及ぶことを懸念している、この地はアジア、シベリア地域から飛来する渡り鳥の繁殖地となっており、ひとたび流行すると渡り鳥を介してアジア地域に拡大する可能性が高いからである。確かに米国では、WNV の遺伝子型からみると I 型に属するウイルスのみが流行している¹²⁾。ただ、わが国を含む東南アジアでは疾病の発生こそ明らかでないが、I 型のみならずアフリカ型に近い II 型がマレーシア（サラワク州）で分離され、オーストラリアを中心に WNV のサブタイプといわれているクンジンウイルスが流行⁵⁾しているため疫学的には複雑な様相も示唆されている。

ま と め

すでに都道府県から蚊・死亡野鳥の材料が送付され検査が実施されている、現時点では WNV 陽性例は確認されておらず、わが国へは侵入していないものと推察されるが、晩夏から秋にかけては吸血昆虫の活動が一段と盛んになる季節でもあり都道府県の担当者の方々とともに今後も慎重かつ注意深いサーベイランスによる WNV の動向調査を継続していかなければならない。

文 献

- 1) Blitvich, B.J. *et al.* : Epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies to west nile virus in multiple avian species. *J. Clin Microbiol.* 41, 1041-7 (2003)
- 2) Campbell G.L. *et al.* : West Nile virus. *The Lancet Infect. Dis.* 2, 519-529 (2002)
- 3) Eidson M. *et al.* : Crow Deaths as a Sentinel Surveillance System for West Nile Virus in the Northeastern United States, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 1-3 (2001)
- 4) Gubler D. : West Nile Virus in the United States : Guidelines for Detection, Prevention and Control. *Viral Immunol.* 13, 469-475 (2000)
- 5) Hall, R.A. *et al.* : The Ecology and Epidemiology of Kunjin Virus. *Curr Top in Microbiol and Immunol.* 267, 253-269 (2002)
- 6) Hunt, A. *et al.* : Detection of West Nile Virus Antigen in Mosquitoes and Avian Tissues by a Monoclonal Antibody-Based Capture Enzyme Immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* 40, 2023-2030 (2002)
- 7) Johnson D.J. *et al.* : Detection of North American West Nile virus in animal tissue by a reverse transcription-nested polymerase chain reaction assay. *Emerg Infect Dis.* 7, 739-41 (2001)
- 8) Komar N. *et al.* : Exposure of Domestic Mammals to West Nile Virus during an Outbreak of Human Encephalitis, New York City, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 736-738 (2002)
- 9) Komar N. *et al.* : Experimental Infection of North American Birds with the New York 1999 Strain of West Nile Virus. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 311-322 (2003)
- 10) Lanciotti R.S. *et al.* : Origin of the West Nile Virus Responsible for an Outbreak of Encephalitis in the Northeastern United States. *Science* 286, 233-2337 (1999)
- 11) Lanciotti R.S. *et al.* : Rapid Detection of West Nile Virus from Human Clinical Specimens, Field-Collected Mosquitoes and Avian Samples by a TaqMan Reverse Transcriptase-PCR Assay. *J. Clin. Microbiol.* 38, 4066-4071 (2000)
- 12) Lanciotti, R.S. *et al.* : Complete Genome Sequences and Phylogenetic Analysis of West Nile Virus Strains Isolated from United States, Europe, and the Middle East. *Virology.* 298, 96-105 (2002)
- 13) Langevin S. *et al.* : Experimental Infection of Chickens as Candidate Sentinels for West Nile Virus. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 726-729 (2001)
- 14) Lvov D.K. : Arboviral zoonoses of Northern Eurasia. *Handbook of Zoonoses : Viral.* 237-260 (1994)
- 15) Nasci R. *et al.* : Detection of West Nile Virus Infected Mosquitoes and Seropositive Juvenile Birds in the Vicinity of Virus-Positive dead Birds. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 67 492-496 (2002)
- 16) Nasci R. *et al.* : West Nile Virus in Overwintering Culex Mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 1-3 (2001)
- 17) Marfin A.A. and Gubler D. : West Nile Encephalitis : An Emerging Disease in United States. *Emerg. Infect. Dis.* 33, 1713-1719 (2001)
- 18) Martin D. *et al.* : Standardization of Immunoglobulin M Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Routine Diagnosis of Arboviral Infections. *J. Clin. Microbiol.* 38, 1823-1826 (2000)