

### 3 県内公共牧場におけるC群ロタウイルスをはじめ複数の病原体が関与した牛の集団下痢症

県中央家畜保健衛生所

大竹 祥紘、米山 州二、大関 綾子、猿山 由美、戸崎 香織、小松 亜弥子

#### はじめに

ロタウイルスはレオウイルス科に属するウイルスで、11本に分節化した2本鎖 RNA をゲノムとして保有しており、冬季乳幼児嘔吐下痢症の原因ウイルスとして発見された<sup>1,2)</sup>。宿主域は広く、多数の哺乳類や鳥類が感受性を有している<sup>13)</sup>。ロタウイルスの抗原性はウイルス粒子の内殻蛋白質 VP6によって A～H の8血清型に分けられ<sup>4)</sup>、さらに最外層を構成する2種類の中和抗原 VP7(G型: Glycoprotein)、VP4(P型: Protease-sensitive protein)の遺伝子配列によっても区別され、この領域はロタウイルスの疫学的研究では数多く調査されており<sup>5)</sup>、Gx, P [x] (x は型別番号)のように表記される。

牛では、ヒトよりも先に Nebraska calf diarrhea virus (NCDV) として検出されており<sup>3)</sup>、後にロタウイルスに分類された。牛のロタウイルスは A 群 (GAR)、B 群 (GBR)、C 群 (GCR) に大別され、GAR は子牛の、GBR、GCR は成牛の下痢症の原因として知られている<sup>14)</sup>。GAR による下痢症は全国的に発生が確認されており、簡易検査キットも市販されているが、本キットでは GBR、GCR を検出することができない。これに対して、GCR が関与した下痢症はほとんど報告なく、1991年に下痢を呈している牛の糞便から国内初の分離株である新得株が分離<sup>49)</sup>されて以来、搾乳牛を中心に下痢症や搾乳量の減少等の症状が確認されたとの報告が数例あるのみである。こ

のう、山形県の馬渡ら<sup>23)</sup>による報告では詳細に調査がなされており、成牛での突然の下痢(褐色水様性で血便は認めず、3～5日で回復)、搾乳量の減少(最大で約10%が1週間継続)が認められたが、若齢牛では症状は認められなかったとされている。このように、ほとんどは成牛における症例で若齢牛の報告となるとさらに少なくなる。また、GCR は分離が極めて難しく、報告例のほとんどが PCR によるウイルス遺伝子の検出のみであり、未だに疫学的な情報に乏しい。

この度、本県で初めて GCR が関与した育成牛群の下痢症が発生したので、その概要を報告する。

#### 発生状況

発生が確認されたのは県内の公共牧場で、発生当時は乳用牛約100頭、育成牛約180頭が飼養されていた。本牧場では、平成28年4月25～26日にかけて約7か月齢の育成牛を20頭導入したが、同年5月22日から同群の2頭で下痢が確認され、5月25日までに9頭が水様性の下痢を発症した。さらにその1週間後、同一牛舎内の別枠で飼養している群の5頭(約10か月齢)でも泥状～水様性の下痢が確認されたため、病性鑑定を実施した。

#### 材料及び方法

下痢発症牛14頭の糞便(正常～水様)及びペア血清(急性期血清: 5月25日, 6月1日、

回復期血清：6月22日)を用いた。さらに、県内における GCR の抗体保有状況調査のため、臨床症状を認めない牛を由来とする保存血清100検体(12戸)を検査材料とした。

#### (1) PCR 法

糞便14検体について Eagle' s minimum essential medium (E-MEM)培地で10%乳剤とした後に、12,000g で10分間遠心し、その上清を0.45  $\mu$ m のフィルターでろ過滅菌したのについて Direct-zol RNA MiniPrep (Zymo Research Corp. Orange, CA. USA) で RNA を抽出後、GAR、GBR、GCR、牛トロウイルス (BToV)、牛コロナウイルス (BCV)、ほ乳類オルソレオウイルス (MRV) の特異遺伝子を対象とし、既報<sup>25-27)</sup>に基づいて実施した。また、急性期血清14検体についても同キットで RNA を抽出後、牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV)、GCR の特異遺伝子を対象とし、既報<sup>25, 28)</sup>に基づいて実施した。

#### (2) ウイルス分離

糞便乳剤14検体に10  $\mu$ g/ml となるようにトリプシンを添加し、37°Cで1時間処理したものを接種材料とした。これらを、MA104、Vero-T、HRT-18G、HRT-18Aichi 細胞に接種し37°Cで培養した。判定は CPE の確認により実施し、CPE が確認されない場合には7日間隔で3代継代した。CPE が確認された検体については疑われるウイルス抗血清を用いた間接蛍光抗体法 (IFA)により、同定を実施した。また、CPE が確認され、PCR 法で複数ウイルスの遺伝子が検出された検体についてはブランク法で単離を試みた。

#### (3) RNA-PAGE

PCR 法で GCR 遺伝子が検出された糞便乳剤2検体と、これら2検体をポリエチレングリコール6000、牛血清アルブミン及び NaCl を用いた水性2相分離によって濃縮したものについて、Direct-zol RNA MiniPrep で RNA を抽出した。これら抽出 RNA4検体について、市販のプレキャストゲル (E-T7.5L e・パジェル 7.5%, Atto Corp, Tokyo, Japan)を用いて、ポリアクリルアミドゲル電気泳動バッファー (25mM Tris, 192mM Glycine, 0.1% SDS) 中にて30mA で80分間電気泳動を実施後、EzStainSilver (Atto Corp)で染色し、泳動像を確認した。

#### (4) 分子系統解析

PCR 法で検出した GCR 遺伝子の VP7及びVP4領域について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列は MEGA7で整列化し、GenBank から収集した既知の GCR 株の塩基配列<sup>29)</sup>とともに、Neighbor-joining method<sup>22)</sup>によって系統樹を作成した。また、塩基配列の相同性は GENETYX ver. 6.1を用いて解析した。

#### (5) 抗体検査

ペア血清14検体について、IFA により GCR (新得株)抗体価を、中和試験により BCV (掛川株)、BVDV (Nose 株、KZ91-CP 株)、BToV (愛知株)、牛レオウイルス (BRV) 1 (Lang 株)、BRV2 (Jones 株)、BRV3 (Abney 株)及び今回の検査で分離されたウイルス株に対する抗体価を測定した。なお、急性期、回復期で4倍以上の抗体価の上昇が認められた場合に、有意な上昇とした。

また、GCR、BCV、今回の検査で分離され

たウイルスは、幾何平均抗体価 (GMT) についても求めた。

(6) 細菌学的検査及び寄生虫学的検査

糞便14検体について、常法により実施した。

(7) 外気温調査

当該牧場が位置する地域の発症日付近の外気温の推移について、気象庁ホームページ「過去の気象データ検索」(<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/>)を元に調査を実施した。

(8) 抗体保有状況調査

保存血清について、IFA によって GCR 抗体価を測定した。

結果

(1) PCR 法

糞便14検体中2検体で GCR、6検体で BCV、13検体で MRV の特異遺伝子が検出されたが、血清ではいずれも検出されなかった(表1)。

表1 PCR 検査結果

No.	糞便							血清		備考	
	GCR			BCoV	MRV	RVA	RVB	BTov	BVDV		GCR VP6
VP4	VP6	VP7									
1	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	初発牛
2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	
5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
6	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
7	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	
8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
9	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
10	-	-	-	-	+	-	-	-	-	NT	続発牛
11	-	-	-	+	+	-	-	-	-	NT	
12	-	-	-	+	+	-	-	-	-	NT	
13	-	-	-	+	+	-	-	-	-	NT	
14	-	-	-	+	+	-	-	-	-	NT	

(2) ウイルス分離

MA104細胞を用いたウイルス分離では2検体で、Vero-T 細胞を用いたウイルス分離では7検体で CPE が確認された。これらの培養細胞について BRV 抗血清を用いた IFA を実施したところ、全て BRV と同定された。

また、PCR 法で GCR 及び MRV の遺伝子が同時に検出された2検体についてプラーク法を実施したが、ウイルスの単離には至らなかった。

(3) RNA-PAGE

検査を実施した全ての検体において、ロタウイルス又は BRV 由来のものと推測されるバンドが混在しており、各々の判別は困難であった。

(4) 分子系統解析

相同性解析の結果、今回塩基配列を決定した野外2検体の VP7遺伝子は GCR Y10株、VP4遺伝子は GCR 新得株と最も近縁であることが判明した(表2)。また、系統樹解析の結果、今回検出した GCR は国内の牛由来 GCR が属する G2, P[3]に分類された(図1)。

表2 相同性解析結果

既知株	相同性 (%)						
	新得	富山	Y/03	Y/08	Y1/04	Y10	Y3/04
VP7	93.1	94.8	90.7	95.4	95.4	96.6	96.5
VP4	96.3	95.7	96.3	95.5	84.0	95.5	96.1

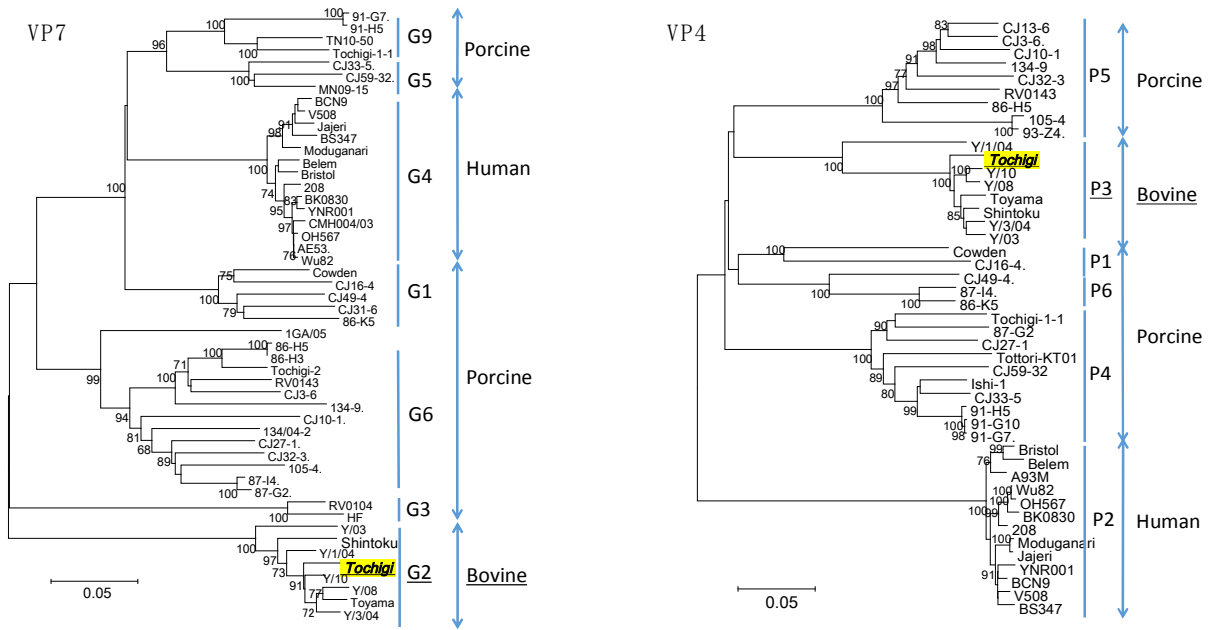


図1 GCR の分子系統樹 (VP7及び VP4領域)

表3 抗体検査結果 (GCR、BCV、BVDV、BToV、BRV)

No.	GCR(新得)		BCV(掛川)		BVDV(Nose)		BVDV(KZ-91)		BToV(愛知)		BRV(分離V)		BRV1(Lang)		BRV2(Jones)		BRV3(Abney)		備考
	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	
1	<20	320	128	256	8	8	4	4	1024	256	16	16	4	2	128	64	<2	<2	初発牛
2	<20	320	128	1024	32	32	64	32	4096	1024	64	32	16	8	128	32	<2	<2	
3	320	640	32	256	512	1024	128	256	256	128	32	32	2	2	32	16	<2	<2	
4	320	640	128	512	128	128	64	64	2048	256	64	64	8	8	128	64	<2	<2	
5	<20	40	128	512	512	128	256	256	2048	512	16	16	2	8	64	64	<2	<2	
6	<20	40	128	512	512	1024	32	64	2048	512	4	16	<2	4	16	32	<2	<2	
7	80	5120	16	256	512	1024	128	64	256	64	2	16	<2	4	<2	<2	<2	<2	
8	320	320	256	256	256	128	32	64	256	256	<2	16	<2	4	16	32	<2	<2	
9	640	640	128	512	256	128	32	64	256	128	<2	16	<2	2	<2	<2	<2	<2	
10	640	2560	256	512	128	128	256	256	128	256	4	4	<2	<2	8	2	<2	<2	続発牛
11	1280	5120	4	1024	512	256	256	512	128	128	16	8	<2	<2	4	8	<2	<2	
12	320	1280	64	128	512	256	128	256	64	64	16	16	8	2	8	8	<2	<2	
13	80	2560	64	1024	512	512	256	512	128	64	2	4	<2	2	32	16	<2	<2	
14	160	1280	256	2048	256	128	256	512	64	64	2	<2	<2	<2	2	8	<2	<2	

※網掛け部分は抗体価の有意な上昇を認めたもの

1) (図2)。

(5) 抗体検査

10頭で GCR 及び BCV、4頭で分離 BRV 及び BRV1 に対する抗体価の有意な上昇が認められたが、その他ウイルスに対する抗体価の上昇は認められなかった(表3)。このことから、今回分離された BRV は1型であると推測された。また、GCR、BCV 及び今回分離した BRV1 それぞれに対する GMT を求めたところ、GCR 及び BCV で有意な上昇が確認された(P<0.0

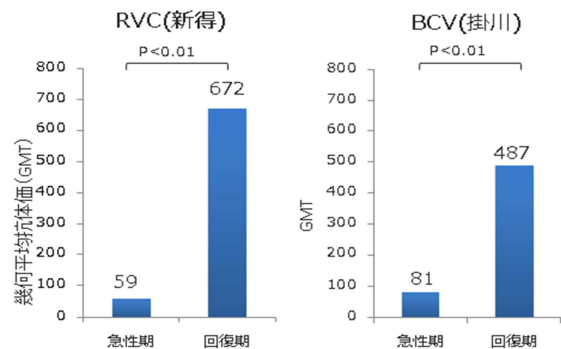


図2 幾何平均抗体価の推移 (GCR, BCV)

### (6) 細菌検査及び寄生虫検査

細菌検査では有意な所見は得られなかった。寄生虫検査では、糞便9検体でコクシジウムのオーシスト（200～4, 200 OPG）が確認された。

### (7) 外気温調査

当該牧場の周辺地域では、下痢発症日の5～6日前から外気温の日較差の値は10℃以上と大きく推移しており、発症日前後には5月の最高気温である22.6℃と、最低気温である2.7℃を記録した日も含まれていた(表4)。

表4 発生農場における外気温の推移

日	発 症 →										
	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2		
最高	13.6	14.2	19	17.1	14.9	17.1	20.7	<b>22.6</b>	21		
最低	7.4	4.1	<b>2.7</b>	4.5	4.6	5.4	6.3	6.6	8.1		
日較差	6.2	<b>10.1</b>	<b>16.3</b>	<b>12.6</b>	<b>10.3</b>	<b>11.7</b>	<b>14.4</b>	<b>16</b>	<b>12.9</b>		
5月最高： <b>22.6℃</b>			5月最低： <b>2.7℃</b>			(°C)					

### (8) 抗体保有状況調査

調査を実施した農場12戸中10戸(83%)でGCR抗体が確認され、全検体での陽性率は53%であった。また、月齢別では、12か月齢未満の牛では12%、12か月齢以上の牛では61%がGCR抗体を保有しており、12か月齢以降で抗体保有率が大きく上昇していた(図3)。

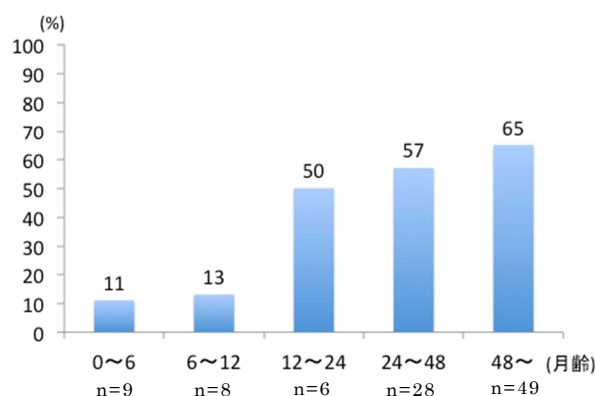


図3 月齢別 GCR 抗体保有率

### まとめ及び考察

病性鑑定では糞便を用いた PCR 法において、14検体中2検体で GCR、6検体で BCV、13検体で MRV の特異遺伝子が検出された。また、ペア血清を用いた抗体検査でも、10検体で GCR 及び BCV、4検体で BRV1に対する抗体価の有意上昇が認められ、GCR 及び BCV は GMT も有意に上昇していた ( $P < 0.01$ )。さらに、寄生虫学的検査からはコクシジウムの関与も疑われ、発症牛群はこれら複数の病原体の感染を受けていたことが推測された。それぞれの病原体の感染時期について言及することは困難であるが、急性期血清で既に GCR 及び BCV に対して高い抗体価を示す個体が散見され、その特異遺伝子も検出された個体は半数以下の少数に留まっていること、多数の検体から MRV の特異遺伝子が検出され、分離にまで至ったのは BRV1のみであることから、GCR、BCV が一次的に流行した後に、BRV1やコクシジウムに感染したものと考えられた。しかし、レオウイルスについては、牛の呼吸器病への関与の疑いや、豚流行性下痢との関連<sup>37-39)</sup>が報告されているものの、単独感染による病原性については不明な点が多く、今回の症例でも病勢を悪化させる等、間接的な関与であったと推測された。

発生地周辺の外気温調査では、初発日、続発日付近において日較差が大きく推移していたことが判明した。また、導入間もない群での発生であったことから、複数病原体の感染のみならず、気象条件や群の再編成等の環境ストレスによる免疫力の低下も発症の引き金となり、今回の集団下痢症の発生に至ったと推測された。今後、経営規模拡大や労働力軽減に役立てるため、需要が高まってくるものが想定される公共牧場や集合預託施設であるが、不特定多数の牛が集合するということ認識し、衛生管理の徹底や細やかな牛群観察をすることが非常に重要であるということが再確認された。

ロタウイルスのゲノムはリアソートメントやリアレンジメント等によって遺伝学的多様性を獲得しており<sup>7)</sup>、人由来株と動物由来株とのリアソータント株<sup>8)</sup>や、小児、ウシ、ブタ、ウサギ等でリアレンジメント株<sup>9-12)</sup>が多数報告されている。また、ロタウイルスは、中和単クローン抗体存在下で約 $10^{-4}$ ~ $10^{-5}$ の頻度で抵抗性の変異株が得られることから、他の RNA ウィルスと同程度の塩基置換が生じていると推測されており<sup>6)</sup>、牛由来 GCR においても同様の変異が発生することは十分に考えられる。しかし、今回検出した GCR の遺伝子型は G2, P[3]と判明し、既知株を含めて VP7及び VP4遺伝子の系統樹解析を実施したところ、国内の牛由来 GCR は全て G2, P[3]に分類され、今回の検出株も同様であることが判明した。また、既知株と比較したところ、ほとんどの株と90%台の高い相同性を示したことから、新得株の発見から実に25年もの間、大きな変異を生じることなく国内の牛群に定着していることが示された。

公衆衛生上では、GAR と比べると報告数

は少ないながらも、乳幼児や学童から GCR が検出され<sup>21)</sup>、集団発生例が多く<sup>6)</sup>、胆道閉鎖症等の疾病への関与も報告されている<sup>24)</sup>。一方、今回は育成牛の集団発生ではあったものの、胆道閉鎖を疑うような黄疸や灰白色便は認められず、下痢、発熱が認められたのみであった。また、小児では血液からロタウイルス抗原や遺伝子が検出されたとの報告があり、重症例との関連性が疑われているが<sup>15-17)</sup>、本症例では全ての血清から GCR の特異遺伝子は検出されなかった。今回、重症個体は存在せず、糞便性状が正常である検体も多く、下痢症極期の材料ではなかったことが要因と考えられ、今後も牛での重篤例におけるウイルス血症の有無や、下痢症以外の疾病への関与を検証する必要がある。

しかしながら、今回の下痢症の主要因は、単独感染での病原性が証明されているBCVやコクシジウムであると推測され、GCRは宿主の自然免疫に影響を与え、下痢症を誘発あるいは悪化させていたことが疑われた。すなわち、ロタウイルスは、非構造タンパクであるNSP1がインターフェロンの産生に重要なIRF3(interferon regulatory factor3)の活性化を阻害することや、転写因子NF $\kappa$ Bの活性化を阻害すること<sup>40, 43, 44)</sup>、RNAヘリカーゼであるRIG-I(retinoic acid-inducible gene-1)への作用<sup>45)</sup>、がん抑制蛋白p53への作用<sup>46)</sup>、腫瘍壊死因子受容体関連因子であるTRAF2(TNF receptor associated factor 2)への作用<sup>47)</sup>等によって、宿主の免疫に対して抑制的に機能していると考えられている。また、コアを構成するタンパクの1つであるVP3も、RNase Lの活性化を阻害することで宿主の自然免疫に影響を与え、ウイルスの増殖に有利に機能するとの報告もある<sup>48)</sup>。こ

これらのことから、GCRにおいても下痢症をはじめとした疾病の誘発あるいは悪化させる要因として関与している可能性があり、今回の症例でもGCRの感染によりBCV等の病原体に感染、発症しやすくなっていたことも否定できない。

抗体保有状況調査では、本県の牛群にも広くGCRが定着していることが判明した。実際の発生報告のほとんどが成牛の下痢症や搾乳量の減少等で、若齢牛での報告はほとんど例がないGCRであるが、今回の発生は8～10か月齢の育成牛であり、月齢毎の抗体保有率は12か月齢未満の牛で低く(11～13%)、12か月齢以上の牛では半数以上の牛が感染を受けていることが明らかとなった。このことから、GCRの感染性は子牛で低く、育成牛(12か月齢頃)から高くなることが推測された。同様に、成牛の下痢症の原因となるGBRも、24か月齢以降に抗体保有率が急激に上昇するとの報告がある<sup>18)</sup>。一方GARは新生子牛に下痢症を引き起こす主要な病原体として認識されている。ロタウイルスがこのように年齢依存的に下痢症を引き起こす原因として、豚ではシアル酸分子種であるN-グリコリルノイラミン酸やN-アセチルノイラミン酸等の関与が報告<sup>30)</sup>されている。ロタウイルスはシアル酸依存性に細胞内に侵入する株も存在するため<sup>19, 20)</sup>、これらシアル酸誘導体によって量依存的に感染抑制が起きるものと思われるが、牛ではこのような報告はない。また、ロタウイルスの細胞侵入機構についてはインテグリンやheat shock cognate protein70、血液型抗原の関与が報告<sup>31-36)</sup>されているが、未だその詳細は判明しておらず、ロタウイルスによる下痢症が年齢依存的に発症する機序は不明なままである。いずれにせよ、牛GCR

に関しては各地域での流行状況を含めた調査も少ないため、抗体保有状況調査や抗原検査を継続していく必要があると思われた。

成牛に集団下痢症を引き起こすとされるGCRであるが、今回の調査から、若齢牛における下痢症、その他病原体による下痢症の誘発、悪化に関与している可能性が示された。また、GCRは本県の牛群に広くまん延していることが判明したため、子牛～育成牛の下痢症の場合にもGARだけでなく、GCRの関与を疑い、遺伝子検査及び抗体検査を実施することが必要であると考えられた。今後もGCRの流行状況調査や農場内での感染動態の解明等、継続して疫学情報を蓄積し、農場指導へ活用していきたい。

#### 謝辞

稿を終えるにあたり、GCRの遺伝子解析、抗体検査に使用するウイルスの分与をしていただきました、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門発病制御ユニットの鈴木亨先生に深謝いたします。

#### 参考文献

- 1) Bishop RF et al. 1973Dec8;2(7841):1281-1283.
- 2) Flewett TH et al. 1973Dec29;2(7844):1497-1497.
- 3) Mebus CA et al. Proc Annu Meet US Anim Health Assoc 73:97-99, 1969.
- 4) Matthijnsens J et al. Arch Virol. 157(6):1177-82. 2012.
- 5) Estes MK et al. Fields Virology. 6th ED. USA, 1347-1401. 2013.
- 6) 谷口ら. ウイルス 第52巻 1号 P141-146. 2002年

- 7) Iturriza-Gómara M et al. *J Virol* 75:3696-3705, 2001.
- 8) Martella V et al. *Vet Microbiol.* 27:140(3-4):246-55. 2010.
- 9) Gorziglia, M et al. 170(2):587-90. 1989.
- 10) Hundley, F et al. *Virology.* 1985 May;143(1):88-103.
- 11) Hundley, F et al. *J Virol.* 61(11): 3365-3372. 1987.
- 12) Mattion, N et al. *Gen Virol.* 69 (Pt 3):695-8. 1988.
- 13) D. Scott McVey et al. *veterinary microbiology* 3rd edition.
- 14) 明石 博臣ら. 動物の感染症〈第三版〉.
- 15) Hemming M et al. *Pediatr Infect Dis J.* 2014 Apr;33(4):366-71.
- 16) Blutt SE et al. *PLoS Med.* 4(4) 2007.
- 17) Fischer TK et al. *J Infect Dis.* 192(5):913-9. 2005.
- 18) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門ホームページ(<http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/niah/2002/niah02-02.html>).
- 19) Ciarlet M et al. *J Gen Virol.* 1999 Apr; 80 ( Pt 4):943-8.
- 20) Fukudome K et al. *Virology.* 1989 Sep; 172(1):196-205.
- 21) Kuzuya M et al. *J Clin Microbiol.* 1998 Jan;36(1):6-10.
- 22) Saitou N et al. *Mol Biol Evol.* 1987 Jul;4(4):406-25.
- 23) Mawatari T et al. *J Vet Med Sci.* 2004 Jul;66(7):887-90.
- 24) Riepenhoff-Talty M et al. *J Infect Dis.* 1996 Jul;174(1):8-15.
- 25) Fukuda M et al. *Arch Virol.* 2012 Jun; 157(6):1063-9.
- 26) Kuzuya M et al. *J Clin Microbiol.* 1996 Dec;34(12):3185-9.
- 27) Leary TP et al. *J Clin Microbiol.* 2002 Apr;40(4):1368-75.
- 28) Š. Vilček et al. *Arch Virol.* 1994;136(3-4):309-23.
- 29) Suzuki T et al. *Virus Res.* 2015 Feb 2; 197:26-34.
- 30) Rolsma MD et al. *J Virol.* 1998 Nov;72(11):9079-91.
- 31) Barbara S. Coulson et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 May 13; 94(10): 5389-5394.
- 32) Graham KL et al. *J Virol.* 2003 Sep; 77(18): 9969-9978.
- 33) Zárate S et al. *J Virol.* 2004 Oct;78(20):10839-47.
- 34) Gutiérrez M et al. *J Virol.* 2010 Sep; 84(18):9161-9.
- 35) Guerrero CA et al. *J Virol* 76:4096-4102, 2002.
- 36) Zárate S et al. *J Virol.* 2003 Jul;77(13):7254-60.
- 37) 矢後 啓司ら. 日本獣医師会雑誌 Vol. 60 (2007) No. 1 P 43-46.
- 38) 山下 秀之ら. 広島県獣医学会雑誌 No.20 (2005)
- 39) Thimmasandra Narayanappa A et al. *MBio.* 2015 May 19;6(3):e00593-15.
- 40) Graff JW et al. *J Virol.* 2002 Sep; 76(18):9545-50.
- 41) Graff JW et al. *J Gen Virol* 88:613-620, 2007.
- 42) Barro M et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:4114-4119, 2005.



- 43) Sen A et al. J Virol 85:3717-3732, 2011.
- 44) Graff JW et al. PLoS Pathog. 2009 Jan;5
- 45) Qin L et al. J Virol 8:526, 2011
- 46) Bhowmick R et al. J Virol 87:6840-6850,  
2013.
- 47) Bagchi P et al. Virology 444:41-44,  
2013.
- 48) Zhang R et al. Proc Natl Acad Sci USA  
110:13114-13119, 2013.
- 49) Tsunemitsu H et al. J Clin Microbiol.  
1991 Nov; 29(11): 2609-2613.