

1 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^{1,2)}。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³⁾。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⁴⁾、さらに最外層を構成する2種類の中和抗原VP7(G型:Glyco protein)、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⁵⁾、GxP[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³⁾、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¹⁴⁾。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⁴⁹⁾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。このうち、山形県の馬渡ら²³⁾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。

材料と方法

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 μmのフィルターでろ過滅菌したものについて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

ウイルス (MRV) の特異遺伝子を対象とし、既報²⁵⁻²⁷⁾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^{25,28)}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 μ 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プラー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 RNA 4 検体について、市販のプレキャストゲル (E-T7.5L e・パジエル 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²⁹⁾とともに、Neighbor-joining method²²⁾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	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	初発牛
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由来のものと同様の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

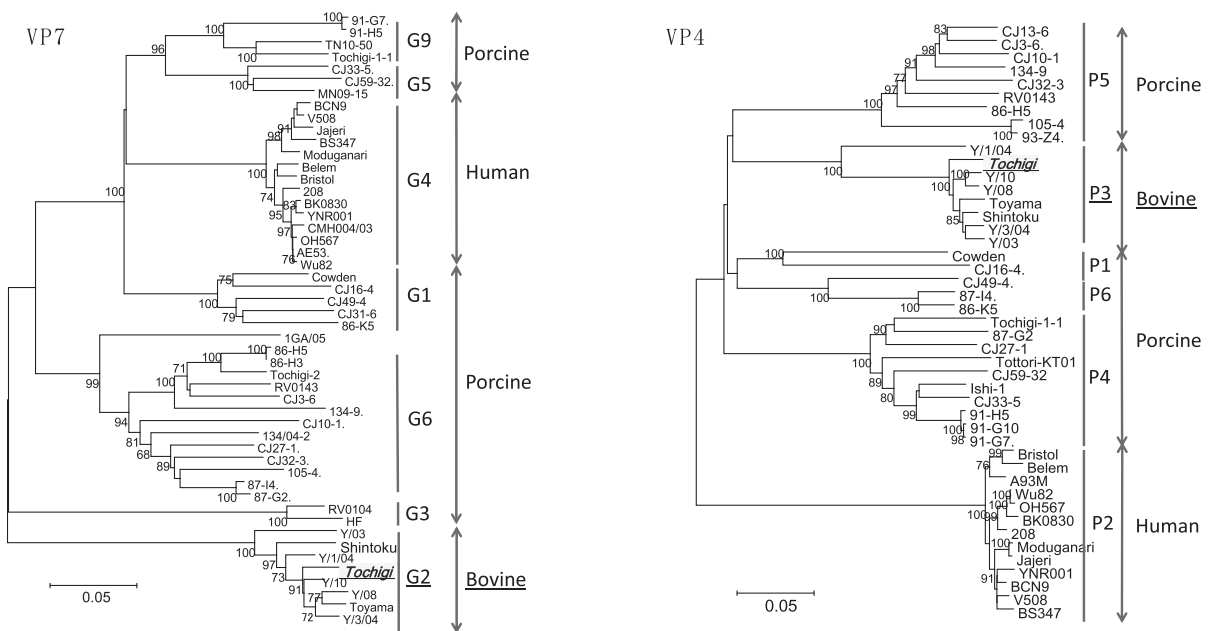


図1 GCRの分子系統樹 (VP7及びVP4領域)

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

(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 ($P < 0.01$) (図 2)。

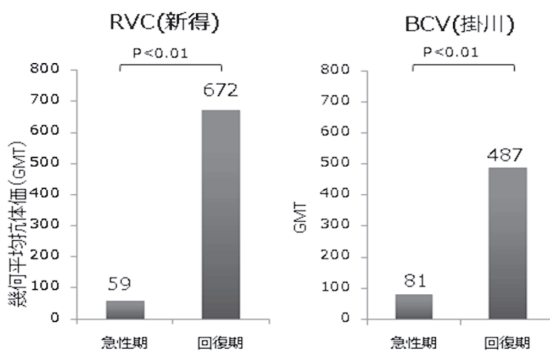


図2 幾何平均抗体価の推移 (GCR, BCV)

(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	22.6	21	
最低	7.4	4.1	2.7	4.5	4.6	5.4	6.3	6.6	8.1	
日較差	6.2	10.1	16.3	12.6	10.3	11.7	14.4	16	12.9	
5月最高: 22.6℃			5月最低: 2.7℃			(°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)。

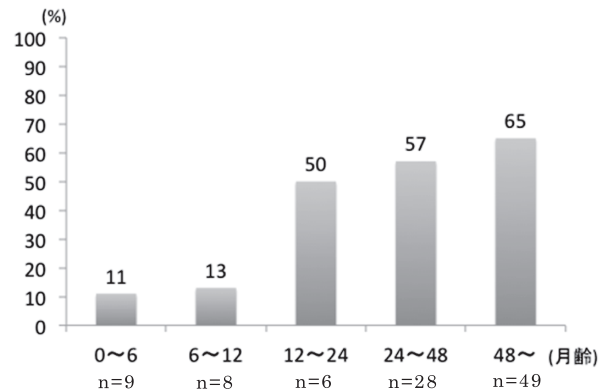


図3 月齢別 GCR 抗体保有率

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³⁷⁻³⁹⁾ 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こと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を認識し、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⁷⁾、人由来株と動物由来株とのリアソータント株⁸⁾や、小児、ウシ、ブタ、ウサギ等でリアレンジメント株⁹⁻¹²⁾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 ~ -5 の頻度で抵抗性の変異株が得られることから、他の RNA ウイ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⁶⁾、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²¹⁾、集団発生例が多く⁶⁾、胆道閉鎖症等の疾病への関与も報告されている²⁴⁾。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¹⁵⁻¹⁷⁾、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 κ B の活性化を阻害すること^{40,43,44)}、RNA ヘリカーゼである RIG-I (retinoic acid-inducible gene-I) への作用⁴⁵⁾、がん抑制蛋白 p53 への作用⁴⁶⁾、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⁴⁷⁾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⁴⁸⁾。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¹⁸⁾。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-グリコシルノイラミン酸やN-アセチルノイラミン酸等の関与が報告³⁰⁾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^{19,20)}、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³¹⁻³⁶⁾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る。

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) Matthijnssens 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.