

1 4 牛A群ロタウイルスによる搾乳牛の集団下痢症

倉吉家畜保健衛生所 増田恒幸

1 はじめに

A群ロタウイルス（RVA）はもっとも重要な新生仔牛の下痢症の原因の1つである（10, 35）。RVAは正20面体構造のエンベロープを保有しないウイルスでレオウイルス科に属する。ロタウイルスのゲノムは6つの構造タンパク（VP1~4, VP6, VP7）と6つの非構造タンパク（NSP1~6）をコードする11本の分節化したRNAから構成される（12）。RVAはVP7とVP4という2つの外殻タンパクにより定義された様々なG、P型に分類されている。この5年間に27種類のVP7遺伝子と35種類のVP4遺伝子が確認されている（26）。ロタウイルス分類研究会は、ロタウイルスの11RNA分節全ての遺伝子配列を用いた新しい分類方法を提唱しており、VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP4-NSP5をそれぞれG_x-P_[x]-I_x-R_x-C_x-M_x-A_x-N_x-T_x-E_x-H_xと表記している（26）。2種もしくはそれ以上のウイルスが重感染することにより、それらの元株と異なる表現型の特徴をもった遺伝子再集合を起こす。遺伝子再集合はオルソミクスウイルス科、ブニヤウイルス科、ロタウイルスを含むレオウイルス科など多くのウイルス属で確認されている（44）。

RVAは乳幼児の一般的な下痢の原因である（12）。偶蹄類宿主からの伝播が疑われるRVAによる成人の下痢症も数例報告されているが（21, 31）、その病原性は長い間解明されていない（4）。牛においても、RVAによる成牛の下痢症はほとんど報告がないため、その病原性も不明である（17, 34, 38）。

この度、県内で乳量減少を伴う水様性下痢を引き起こした搾乳牛からG15P[14]という未報告の遺伝子型のRVAが検出されたので、その概要を報告する。

2 材料及び方法

2.1. 発生状況及び一般検査

初発の翌日に発生農場に立ち入り、下痢を呈した5頭から糞便を採取すると共に、発生状況について調査を行った。事前検査として市販のRVA抗原検出キット（Dipstick 'Eiken' Rota, 栄研化学）を用いて、5頭の糞便のRVA検査を実施した。サルモネラ検査は常法により、毒素原生大腸菌線毛（K99）抗原は市販キット（Test strips for the detection of *E. coli* F5(K99) BIO K 154, Bio-X Diagnostics）により、寄生虫検査はシヨ糖浮遊法により実施した。

2.2. 遺伝子検査及び遺伝子解析

RVA、牛コロナウイルス（BCoV）、牛トロウイルス（BToV）、牛B群ロタウイルス（RVB）、牛C群ロタウイルス（RVC）、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）に対する特異遺伝子の検出は、下痢便10%乳剤を市販の無血清培地（GIT, 和光純薬）で作成し、その遠心上清を0.45 μmフィルター濾過したものを検体とし、市販キット（QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN）を用いてRNAを抽出後、RT-PCRにより実施した（QIAGEN OneStep RT-PCR Kit, QIAGEN）（15, 20, 41, 43）。また下痢便を（独）東京農工大学へ送付し、次世代シーケンサー

を用いたメタゲノム解析を依頼した。従来のサンガー法によらない次世代シーケンシングにより、1つのサンプルから何百万もの遺伝子配列を得る高性能配列解析を行うことが可能であり(40)、この方法では事前情報や分離ウイルス、特定のプライマーを必要とすることなく病原体の検出、同定が可能である(25)。

2.3. ウイルス分離

ウイルス分離は作成した下痢便10%乳剤をGITにて10倍希釈し、アセチルトリプシン(Sigma)を $10\mu\text{g/ml}$ となるよう添加し、 37°C で30分トリプシン処理したものを接種材料とした。単層に発育したアカゲザル腎由来株化細胞(MA104)細胞及びヒト直腸由来株化(HRT-18)細胞をGITで2回吸引洗浄後に材料を接種し、 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 下で回転培養を実施した。分離の有無は細胞変性効果(CPE)を指標にして行い、CPEが認められない場合は7日間隔で3代盲継代を実施した。またCPEが認められたMA104細胞の培養上清に対して市販のRVA抗原検出キットを用いて分離の有無を確認した。

2.4. 抗体検査

立入時と3週間後の血清を採材し、BCoV、牛アデノウイルス7型(BAdV7)、BVDV1型及び2型に対するウイルス中和試験を実施した。攻撃ウイルスには、BCoVはMebus株、BAdV7型は袋井株、BVDV1型はNose株、BVDV2型はKZ-91CP株を用いた。

3 結果

3.1. 発生状況及び一般検査

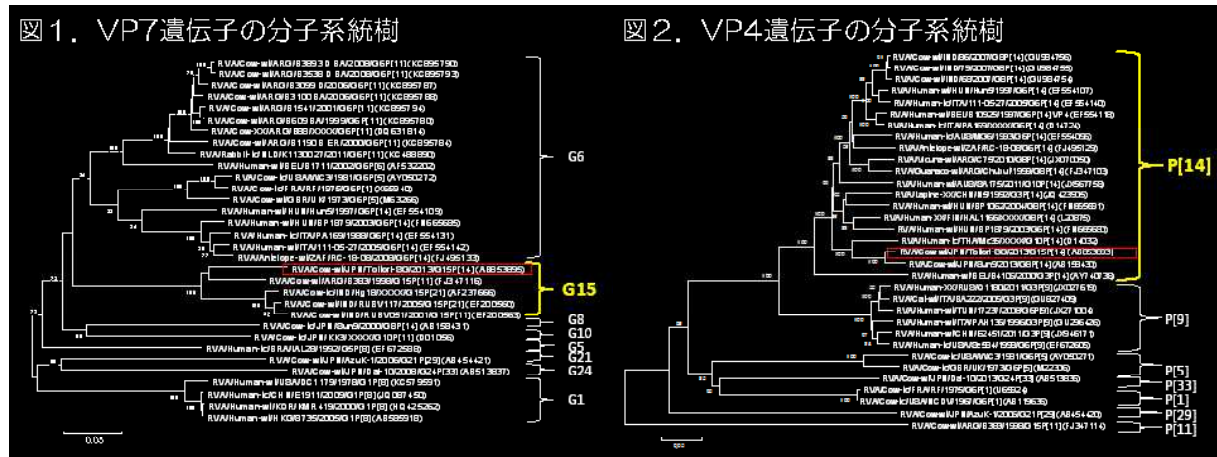
2013年2月、ホルスタイン種搾乳牛42頭を飼養する酪農家で、搾乳牛2頭が突然、元気消失、水様性の下痢を呈した。続いて隣接する3頭が同様の水様性下痢を呈し、1週間のうちに下痢は牛舎全体に蔓延し、搾乳牛全頭が同様の症状を示した。便の性状は緑黄色水様で、血便は呈していなかった。発症牛は全て約1週間で回復したが、農場では初発から約2週間乳量の減少が確認された。下痢の流行時に仔牛では下痢症の発生は見られなかった。この農場の飼養牛は全て自家産で外部からの牛の導入はなく、年2回実施しているバルク乳検査においてBVDV陰性が確認されている。市販のRVA抗原検出キットを用いた検査では下痢を呈していた5頭全てで陽性となった。また下痢症の原因となり得る細菌、原虫及び寄生虫は検出されなかった。

3.2. 遺伝子検査及び遺伝子解析

RT-PCRにおいても5頭全てからRVA特異遺伝子が検出され、BCoV、BToV、RVB、RVC、BVDV遺伝子は検出されなかった。

東京農工大学で実施したメタゲノム解析により5頭の糞便全てから、RVAの11本のゲノムRNAが得られ、それらは全て同一株であることが確認された。これらの株のVP7-VP4-VP6-V P1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP4-NSP5における遺伝子型はインターネット上のRotaC遺伝子型別ツールを用いて、それぞれG15-P[14]-I2-R2-C2-M3-A3-N2-T6-E2-H3と同定され(24)、RVA/Cow-wt/JPN/Tottori-SG/2013/G15P[14](Tottori-SG)と命名された。遺伝子配列はDNA Data Bankに登録され、11本の遺伝子分節に対する登録番号はそれぞれAB853890~AB853900となった。VP7遺伝子の塩基配列に基づく系統発生解析により、Tottori-SGはRVA/Cow-wt/ARGB383/1998/G15P[11](16, 29)及びインドで分離された遺伝子型G15P[11]、G15P[21]

という3株とクラスターを形成していたが (18, 37)、これは単独のG15クラスターであり、他のG遺伝子型の株とは異なっていた (図1)。他のG15株に対するTottori-SGの塩基及びアミノ酸配列の一致率はそれぞれ87.9~89.9%、91.7~92.9%であった。Tottori-SGのVP4遺伝子はRVA/Cow-tc/JPN/Sun9/2000G8P[14] (17) 及びRVA/Human-tc/THA/Mc35/XXXX/G10P[14] (42) とクラスターを形成していた (図2)。



Tottori-SGはSun9株と塩基及びアミノ酸配列の一致率はそれぞれ95.8%、97.2%と高く、Mc35株とは89.7%、95.6%であった。VP6遺伝子はG21P[29]、G24P[33]、RVA/Cow-wt/JPN/AzuK-1/2006/G21P[29] (2)、RVA/Cow-wt/JPN/Dai-10/2008/G24P[33] (1) という珍しい日本の株、またRVA/Simian-tc/ZAF/SA11-N5/1958/G3P[2]という南アフリカのサル由来株 (32) とクラスターを形成していた。Tottori-SGはAzuK-1株、Dai-10株、SA11-N5株と高い相同性を示し、一致率はそれぞれ96.0%、96.6%、95.2%であった。VP1、VP2、VP3、NSP2、NSP3、NSP4及びNSP5遺伝子は牛や牛に近い動物由来株とクラスターを形成していた。同様に、NSP1遺伝子は猿由来G8[1]株及び人由来G6P[14]株とクラスターを形成しており、これは反芻家畜から伝搬した結果だと考えられる (27, 29)。Tottori-SGの11本のゲノム分節の塩基配列は牛や牛に近い動物由来株と比較的相同性が高く (表1)、VP7遺伝子以外は日本の牛由来株と高い相同性があった (表2)。各遺伝子に対する一致率は以下のとおりであった。VP4 ; Sun9 (95.8%)、VP6 ; Dai-10 (96.6%)、VP1 ; RVA/Cow-tc/JPN/BRV105/1983/G6P[1] (11) (97.1%)、VP2 ; BRV105 (93.2%)、VP3 ; AzuK-1 (96.9%)、NSP1 ; BRV105 (92.9%)、NSP2 ; Dai-10 (96.7%)、NSP3 ; BRV105 (96.0%)、NSP4 ; RVB105 (96.8%)、NSP5 ; BRV105 (97.5%)。

またメタゲノム解析ではRVA以外の既知の病原体遺伝子は検出されなかった。

表1. 他の株との相同性

遺伝子	GeneBankに登録されている一致率が最も高い株			Tottori-SG 遺伝子型	
	株名/GP遺伝子型	動物種	地域		
VP7	ARGB383/G15P[11]	牛	アルゼンチン	89.9	G15
VP4	Sun9/G8P[14]	牛	日本	95.8	PI[14]
VP6	Azuk-1/G21P[29]	牛	日本	96.6	I2
VP1	RF/G6P[1]	牛	フランス	97.2	F2
VP2	NCDV/G6P6[1]	牛	アメリカ	93.2	C2
VP3	Azuk-1/G21P[29]	牛	日本	96.9	M2
NSP1	PIRV/G8P[1]	アカゲザル	アメリカ	97.0	A3
NSP2	Da-10/G24P[33]	牛	日本	96.7	N2
NSP3	Chubuv/G8P[14]	ラマ	アルゼンチン	97.0	T6
NSP4	RF/G6P[1]	牛	フランス	97.2	E2
NSP5	KJ19-2/G6P[7]	牛	韓国	98.9	H3

牛由来の株と高い相同性
➡ 牛に適応した株?

表2. 日本分離株との相同性

株名/ GP遺伝子型	各遺伝子とTottori-SGとの一致率 (%)											
	VP7	VP4	VP6	VP1	VP2	VP3	NSP1	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5	
Tottori-SG/ G15P[14]	G15 100	PI[14] 100	I2 100	F2 100	C2 100	M2 100	A3 100	N2 100	T6 100	E2 100	H3 100	
Sun9/ G8P[14]	G8 172.0	PI[14] 136.8	I2 138.4	F2 136.0	C2 132.2	M2 134.1	※塩基配列が一致していない					
Azuk-1/ G21P[29]	G21 171.6	PI[14] 164.7	I2 136.0	F2 136.4	C2 133.1	M2 136.9	A13 174.4	N2 133.4	T9 177.6	E2 134.3	H3 137.1	
Da-10/ G24P[33]	G24 170.6	PI[14] 167.6	I2 136.6	F2 134.9	C2 132.2	M2 132.7	A13 173.0	N2 136.7	T9 178.1	E2 136.2	H3 137.0	
BRV105/ G6P[1]	G6 171.8	PI[14] 167.7	I2 137.7	F2 137.7	C2 132.2	M2 132.6	A3 182.9	N2 136.4	T6 136.8	E2 136.8	H3 137.5	

日本の牛由来株と遺伝的背景が類似 (VP7以外)
➡ 日本で循環している株の遺伝子再集合体?

3.3. ウイルス分離

ウイルス分離ではMA104細胞に接種した3検体中全て接種2または3代目でCPEが観察された。CPEが観察された培養上清は市販のRVA抗原検出キットでいずれも陽性を示したため、RVA分離陽性とした (表3)。

表3. 病性鑑定成績

No.	RVA 抗原検出 キット			RT-PCR					
	HVA		RVB ^{a)}	HVC		BCoV ^{b)}	BToV ^{c)}	BVDV ^{d)}	
	VP7 ^{a)}	VP6 ^{b)}		VP7 ^{d)}	VP6 ^{e)}				
1	+	+	+	-	-	-	-	-	
2	+	+	+	-	-	-	-	-	
3	+	+	+	-	-	-	-	-	
4	+	+	+	-	-	-	-	-	
5	+	+	+	-	-	-	-	-	

a) Gouvea S.1990 b) Fukuda S.2012 c) Tsunemitsu S.1996 d) Vitek S.1994

市販抗原検出キット、RT-PCRでRVA陽性

- BVDV1及び2, BCoV, BAdV1に対する抗体上昇なし
- サルモネラ、大腸菌 (K99)、寄生虫卵は検出されず

3.4. 抗体検査

下痢を発症した5頭のペア血清を用いた中和抗体検査ではBCoV、BAdV7、BVDV1及び2型に対する有意な抗体上昇時は認められなかった。

4 考察

日本ではRVAはG6とG10遺伝子型が主に分布しており (23)、G15遺伝子型の株はこれまで分離されておらず、自然界においても大変珍しい。GeneBankデータベース中にさえ5株しか登録されておらず、全ての株は牛から分離されている。これらはHG18、RUBV51及びRUBV117というインドで分離されたG15P[21]遺伝子型の3株 (18, 37) と、アルゼンチン及びインドで分離されたB383、RUBV051というG15P[11]遺伝子型の2株でのみある (18, 27)。Tottori-SGは世界で6番目に分離されたG15株であり、G15P[14]という組み合わせの遺伝子型の株は世界で初めての報告となった。Tottori-SGのVP7遺伝子と他のG15株との塩基配列はそれほど相同性が高くなかったため、Tottori-SGは新しい遺伝子型の株であり、独自の起源をもっていたことが推察された。一方、RVAのP[14]遺伝子型はウサギ (6)、ヒト (5,

9, 17, 27, 28, 33, 42)、ヤギ、カモシカ (19)、ヒツジ (7)、ラマ (36) 及びウシ (8, 13) から検出されており、最近の研究ではヒト由来RVAのP[14]株と偶蹄類由来株との関連性が示唆されている (27)。日本においてRVAのP[14]遺伝子型は、仔牛から分離されたSun9株という1株のみが報告されており (13)、ヒトを含むその他の動物種での分離例はない。Tottori-SGはVP4遺伝子においてSun9株と高い相同性が確認された。Sun9株は唯一の国内分離株であるが、国内飼養牛に対する流行状況調査は非常に興味深いと思われる。VP7とVP4遺伝子以外の解析の結果、Tottori-SGの構造または非構造タンパク遺伝子は牛及び牛に近い動物由来のRVAと高い相同性を示していたため、Tottori-SGは牛に適応した株であるのかもしれない (表1)。またTottori-SGは日本の牛由来RVAと遺伝的背景が類似していた (表3)。興味深いことにTottori-SGのVP6遺伝子はインドで分離された牛由来RUBV51 (G15P[21])、南アフリカのサル由来株と同様に、日本で分離された珍しい牛由来株のDai-10 (G24P[33]) 及びAzuK-1 (G21P[29]) と近縁であった。このことからTottori-SGは日本で循環しているRVAが複数の遺伝子再集合を起こし発生した株と考えられた。

成牛の流行性下痢の主要な要因はBCoVや (39)、BToVであり、RVBやRVCなどが原因による成牛の下痢症も日本を含む世界中で散発的に報告されている (3, 22, 30)。しかし、RVAが関与した成牛の下痢症は稀である。本症例では、急性期の下痢便から下痢症の原因となり得るウイルス、細菌及び原虫などの病原体は検出されずにRVAのみが検出されたこと、また回復期の糞便からRVAは検出されなかったことから、Tottori-SGが成牛の流行性下痢の発生に関与していたと考えられた。日本での成牛のRVAが関与した流行性下痢は過去に少なくとも3例の報告がある (14, 34, 38)。3例中2例で、G8P[1]という遺伝子型のBRV16及びG21P[29]遺伝子型と思われるTak2という珍しい株が下痢を呈した牛の糞便から分離された (14, 38)。成牛のRVA感染症の発生要因の1つには、このような珍しい遺伝子型に対する免疫応答が不十分であったことも考えられる。また過去に報告された成牛の下痢症と本症例には、全て酪農家での発生、仔牛で臨床症状が認められなかったことなどの類似点があったが、過去の3例全て搾乳牛における限局的な発生であったのに対し、本症例は搾乳牛全頭が1週間のうちに下痢を呈したという相違点もあった。下痢発生前後で特に飼養管理の変更などは確認されておらず、RVAの病原性の違いが考えられるが詳細は不明である。本症例では下痢の発生に伴い、一過性の乳量減少も確認された。下痢は約1週間で終息したが、乳量減少は発生から約2週間続いたため農場の経済的被害は大きく、約170,000円の損失となった。今後、このような珍しい遺伝子型のRVAに起因する成牛の流行性下痢の発生機序を解明するために、さらなる血清学的研究及び病原性研究が必要である。

本症例では発症牛の糞便から下痢症関連の寄生虫及び細菌は検出されず、RVA遺伝子及びRVAが分離された。発症牛5頭のペア血清を用いた中和抗体検査においてもBCoV、BAV7、BVDV1及び2型に対する有意な抗体上昇は確認されなかった。また次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によりRVA全遺伝子配列の大部分が得られ、その他、既知の病原性ウイルスは検出されなかった。これらの結果から本症例をRVA単独による成牛の流行性下痢症と診断した。

本研究により、成牛の下痢から検出されたTottori-SGはG15P[14]という未報告の遺伝子型であることが明らかになった。全遺伝子解析の結果、Tottori-SGは日本の牛で循環しているRVAが複数の遺伝子再集合を起こして発生した株である可能性が示唆された。RVAは仔

牛の下痢症の主要要因であり、成牛の下痢症としての認識は低い。しかし、本事例のようにRVAは成牛においても集団下痢及び乳量減少を引き起こし、農場に大きな経済的被害を与える病原体となり得る。今後、地域ごとのRVA遺伝子配列を集積していくことで家畜産業におけるRVA感染症について明らかになってくるであろう。

なお本研究は平成24年度厚生労働科学研究費（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）により実施された。

5 謝辞

遺伝子解析の実施ならびに多くのご指導、ご助言をいただいた国立大学法人東京農工大学の長井誠先生に深謝いたします。

6 引用文献

- (1) Abe, M., Ito, N., Masatani, T., Nakagawa, K., Yamaoka, S., Kanamaru, Y., Suzuki, H., Shibano, K., Arashi, Y., Sugiyama, M., 2011. Whole genome characterization of new bovine rotavirus G21P[29] and G24P[33] strains provides evidence for interspecies transmission. *J. Gen. Virol.* 92, 952-960.
- (2) Abe, M., Ito, N., Morikawa, S., Takasu, M., Murase, T., Kawashima, T., Kawai, Y., Kohara, J., Sugiyama, M., 2009. Molecular epidemiology of rotaviruses among healthy calves in Japan: isolation of a novel bovine rotavirus bearing new P and G genotypes. *Virus. Res.* 144, 250-257.
- (3) Aita, T., Kuwabara, M., Murayama, K., Sasagawa, Y., Yabe, S., Higuchi, R., Tamura, T., Miyazaki, A., Tsunemitsu, H., 2012. Characterization of epidemic diarrhea outbreaks associated with bovine rotavirus in adult cows. *Arch Virol.* 157, 423-431.
- (4) Anderson, E.J., Weber, S.G., 2004. Rotavirus infection in adults. *Lancet. Infect. Dis.* 4, 91-99.
- (5) Arista, S., Vizzi, E., Alaimo, C., Palermo, D., Cascio, A., 1999. Identification of human rotavirus strains with the P[14] genotype by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2706-2708.
- (6) Ciarlet, M., Estes, M.K., Conner, M.E., 1997. Comparative amino acid sequence analysis of the outer capsid protein VP4 from four lapine rotavirus strains reveals identity with genotype P[14] human rotaviruses. *Arch. Virol.* 142, 1059-1069.
- (7) Ciarlet, M., Hoffmann, C., Lorusso, E., Baselga, R., Cafiero, M.A., Banyai, K., Matthijssens, J., Parreño, V., de Grazia, S., Buonavoglia, C., Martella, V., 2008. Genomic characterization of a novel group A lamb rotavirus isolated in Zaragoza, Spain. *Virus. Genes.* 37, 250-265.
- (8) Chitambar, S.D., Arora, R., Kolpe, A.B., Yadav, M.M., Raut, C.G., 2011. Molecular characterization of unusual bovine group A rotavirus G8P[14] strains

- identified in western India: emergence of P[14] genotype. *Vet. Microbiol.* 148, 384-388.
- (9) Cowley, D., Donato, C.M., Roczo-Farkas, S., Kirkwood, C.D., 2013. Novel G10 P[14] Rotavirus Strain, Northern Territory, Australia. *Emerg. Infect. Dis.* 19, 1324-1327.
- (10) Dhama, K., Chauhan, R.S., Mahendran, M., Malik, S.V., 2009. Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Vet. Res. Commun.* 33, 1-33.
- (11) Doan, Y.H., Nakagomi, T., Aboudy, Y., Silberstein, I., Behar-Novat, E., Nakagomi, O., Shulman, L.M., 2013. Identification by full-genome analysis of a bovine rotavirus transmitted directly to and causing diarrhea in a human child. *J. Clin. Microbiol.* 51, 182-189.
- (12) Estes, M.K., Kapikian, A.Z., 2007. Rotaviruses and their replication. In: Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Lamb, R.A., Martin, M.A., Roizman, B., Straus, S.E. (eds.), *Fields Virology*. 5th edn. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 1917-1974.
- (13) Fukai, K., Saito, T., Inoue, K., Sato, M., 2004. Molecular characterization of novel P[14], G8 bovine group A rotavirus, Sun9, isolated in Japan. *Virus Res.* 105, 101-106.
- (14) Fukai, K., Takahashi, T., Tajima, K., Koike, S., Iwane, K., Inoue, K., 2007. Molecular characterization of a novel bovine group A rotavirus. *Vet. Microbiol.* 123, 217-224.
- (15) Fukuda, M., Kuga, K., Miyazaki, A., Suzuki, T., Tasei, K., Aita, T., Mase, M., 2012. Development and application of one-step multiplex reverse transcription PCR for simultaneous detection of five diarrheal viruses in adult cattle. *Arch. Virol.* 157(6), 1063-1069.
- (16) Garaicoechea, L., Bok, K., Jones, L.R., Combessies, G., Odeón, A., Fernandez, F., Parreño, V., 2006. Molecular characterization of bovine rotavirus circulating in beef and dairy herds in Argentina during a 10-year period (1994-2003). *Vet. Microbiol.* 118, 1-11.
- (17) Gerna, G., Sears, J., Hoshino, Y., Steele, A.D., Nakagomi, O., Sarasini, A., Flores, J., 1994. Identification of a new VP4 serotype of human rotaviruses. *Virology.* 200, 66-71.
- (18) Ghosh, S., Samajdar, S., Sinha, M., Kobayashi, N., Taniguchi, K., Naik, T.N., 2008. Molecular characterization of rare bovine group A rotavirus G15P[11] and G15P[21] strains from eastern India: identification of simian SA11-like VP6 genes in G15P[21] strains. *Virus. Genes.* 37, 241-249.
- (19) Ghosh, S., Varghese, V., Samajdar, S., Sinha, M., Naik, T.N., Kobayashi, N., 2007. Evidence for bovine origin of VP4 and VP7 genes of human group A rotavirus G6P[14] and G10P[14] strains. *J. Clin. Microbiol.* 452, 751-753.
- (20) Gouvea, Y., Glass, R.I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H.F., Forrester,

- B., Fang, Z., 1990. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 28, 276-282.
- (21) Griffin, D.D., Fletcher, M., Levy, M.E., Ching-Lee, M., Nogami, R., Edwards, L., Peters, H., Montague, L., Gentsch, J.R., Glass, R.I., 2002. Outbreaks of adult gastroenteritis traced to a single genotype of rotavirus. *J. Infect. Dis.* 185, 1502-1505.
- (22) Hayashi, M., Nagai, M., Hayakawa, Y., Takeuchi, K., Tsunemitsu, H., 2001. Outbreak of diarrhoea and milk drop in cows infected with bovine group B rotavirus. *Vet. Rec.* 149, 331-332.
- (23) Ishizaki, H., Sakai, T., Shirahata, T., Taniguchi, K., Urasawa, T., Urasawa, S., Goto, H., 1996. The distribution of G and P types within isolates of bovine rotavirus in Japan. *Vet. Microbiol.* 48, 367-372.
- (24) Maes, P., Matthijnsens, J., Rahman, M., Van Ranst, M., 2009. RotaC: a web-based tool for the complete genome classification of group A rotaviruses. *MBC Microbiol.* 9, 238.
- (25) Marston, D.A., McElhinney, L.M., Ellis, R.J., Horton, D.L., Wise, E.L., Leech, S.L., David, D., de Lamballerie, X., Fooks, A.R., 2013. Next generation sequencing of viral RNA genomes. *BMC Genomics.* 14, 444.
- (26) Matthijnsens, J., Ciarlet, M., McDonald, S.M., Attoui, H., Banyai, K., Brister, J.R., Buesa, J., Esona, M.D., Estes, M.K., Gentsch, J.R., Iturriza-Gomara, M., Johne, R., Rahman, M., Ruggeri, F.M., Saif, L.J., Santos, N., Steyer, A., Taniguchi, K., Patton, J.T., Desselberger, U., Van Ranst, M., 2011. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch. Virol.* 156, 1397-1413.
- (27) Matthijnsens, J., Potgieter, C.A., Ciarlet, M., Parreño, V., Martella, V., Banyai, K., Garaicoechea, L., Palombo, E.A., Novo, L., Zeller, M., Arista, S., Gerna, G., Rahman, M., Van Ranst, M., 2009. Are human P[14] rotavirus strains the result of interspecies transmissions from sheep or other ungulates that belong to the mammalian order Artiodactyla? *J. Virol.* 83, 2917-2929.
- (28) Matthijnsens, J., Rahman, M., Martella, V., Xuelei, Y., De Vos, S., De Leener, K., Ciarlet, M., Buonavoglia, C., Van Ranst, M., 2006. Full genomic analysis of human rotavirus strain B4106 and lapine rotavirus strain 30/96 provides evidence for interspecies transmission. *J. Virol.* 80, 3801-3810.
- (29) Matthijnsens, J., Taraporewala, Z.F., Yang, H., Rao, S., Yuan, L., Cao, D., Hoshino, Y., Mertens, P.P., Carner, G.R., McNeal, M., Sestak, K., Van Ranst, M., Patton, J.T., 2010. Simian rotaviruses possess divergent gene constellations that originated from interspecies transmission and reassortment. *J. Virol.* 84, 2013-2026.
- (30) Mawatari, T., Taneichi, A., Kawagoe, T., Hosokawa, M., Togashi, K., Tsunemitsu, H., 2004. detection of a bovine group C rotavirus from adult cows with

- diarrhea and reduced milk production. *J. Vet. Med. Sci.* 66, 887-890.
- (31) Midgley, S.E., Hjulsager, C.K., Larsen, L.E., Falkenhorst, G., Böttiger, B., 2012. Suspected zoonotic transmission of rotavirus group A in Danish adults. *Epidemiol Infect.* 140, 1013-1017.
- (32) Mlera, L., O'Neill, H.G., Jere, K.C., van Dijk, A.A., 2013. Whole-genome consensus sequence analysis of a South African rotavirus SA11 sample reveals a mixed infection with two close derivatives of the SA11-H96 strain. *Arch Virol.* 158, 1021-1030.
- (33) Mphahlele, M.J., Peenze, I., Steele, A.D., 1999. Rotavirus strains bearing the VP4P[14] genotype recovered from South African children with diarrhoea. *Arch. Virol.* 144, 1027-1034.
- (34) Onuma, N., Kudo, K., Ogawa, S., Sakurada, M., Sunahara, E., Mawatari, T., Tsunemitsu, H., 2003. The role of the group A rotavirus in adult-cow diarrhea. *J. Jpn. Vet. Assoc.* 56, 245-248. (In Japanese)
- (35) Papp, H., László, B., Jakab, F., Ganesh, B., De Grazia, S., Matthijssens, J., Ciarlet, M., Martella, V., Bányai, K., 2013. Review of group A rotavirus strains reported in swine and cattle. *Vet. Microbiol.* 165, 190-199.
- (36) Parreño, V., Bok, K., Fernandez, F., Gomez, J., 2004. Molecular characterization of the first isolation of rotavirus in guanacos (*Lama guanicoe*). *Arch. Virol.* 149, 2465-2471.
- (37) Rao, C.D., Gowda, K., Reddy, B.S., 2000. Sequence analysis of VP4 and VP7 genes of nontypeable strains identifies a new pair of outer capsid proteins representing novel P and G genotypes in bovine rotaviruses. *Virology.* 276, 104-113.
- (38) Sato, M., Nakagomi, T., Tajima, K., Ezura, K., Akashi, H., Nakagomi, O., 1997. Isolation of serotype G8, P[1] bovine rotavirus from adult cattle with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 35, 1266-1268.
- (39) Saif, L.J., Brock, K.V., Redman, D.R., Kohler, E.M., 1991. Winter dysentery in dairy herds: electron microscopic and serological evidence for an association with coronavirus infection. *Vet. Rec.* 128, 447-449.
- (40) Schuster, S.C., 2008. Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nat. Methods.* 5, 16-18.
- (41) Tsunemitsu, H., Jiang, B., Saif, L.J., 1996. Sequence comparison of the VP7 gene encoding the outer capsid glycoprotein among animal and human group C rotaviruses. *Arch. Virol.* 141, 705-713.
- (42) Urasawa, T., Taniguchi, K., Kobayashi, N., Mise, K., Hasegawa, A., Yamazi, Y., Urasawa, S., 1993. Nucleotide sequence of VP4 and VP7 genes of a unique human rotavirus strain Mc35 with subgroup I and serotype 10 specificity. *Virology.* 195, 766-771.
- (43) Vilcek, S., Herring, A.J., Herring, J.A., Nettleton, P.F., Lowings, J.P.,

Paton, D.J., 1994. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.* 136, 309-323

(44) Watanabe, M., Nakagomi, T., Koshimura, Y., Nakagomi, O., 2001. Direct evidence for genome segment reassortment between concurrently-circulating human rotavirus strains. *Arch. Virol.* 146, 557-570.