

Survey of Seroconversion Rates against Hantavirus in Laboratory Rodents

Young-Dae Woo^{1†}, Sang-Wook Park¹, Hyung-Joon Bae², Hi-Joo Moon² and Kyu-Bong Cho³

¹Asan Institute for Life Sciences, Seoul, 138-736, Korea, ²Department of Medical Technology, Seoul Health College, Seongnam, 461-713, Korea, ³Clinical Laboratory Science, Shin Heung College, Euijeongbu, 480-701, Korea

Hantavirus are rodent-borne RNA virus that belongs to the family *Bunyaviridae*. Those viruses persistently infect a variety of rodents, and are transmitted by aerosols of their urine, feces and saliva. Antibody titers of sera obtained from normal laboratory rodents against hantaviruses were investigated by indirect immunofluorescence antibody technique (IFA). Seroconversion rates of normal laboratory rodents showed higher in rats than that from hamster and mongolian (M). gerbil. Theses rates of normal laboratory rodents also showed higher in titers against puumala virus (PUUV) than in hantaan (HTNV) and seoul virus (SEOV). We are concerned about infections caused by hantaviruses, especially by PUUV, occurred in laboratory rodents.

Key Words: Hantavirus, PUUV, Laboratory rodents, IFA

서 론

신증후출혈열은 분야비리과 (Family *Bunyaviridae*) 한타바이러스속 (Genus *Hantavirus*)에 속하는 바이러스에 의하여 발병하는 질병으로, 한타바이러스 (HTNV)는 1976년 이¹⁾ 등이 한국에서 처음 발견하였으며, 이 바이러스의 자연계 숙주는 동줄쥐 (*Apodemus agrarius*)입이 증명되었다. 그 후 한타바이러스와 항원적으로 유사한 바이러스가 서울 시내 마포에서 채집한 집쥐 (*Rattus rattus*) 및 실험용 흰쥐 (*Rattus norvegicus*)에서 분리되어 서울바이러스 (SEOV) 명명되었다²⁾.

1940년대에 러시아 모스크바의 한 연구소에서 약 70명의 출혈열 환자가 발생하였는데³⁾ 그 당시 많은 대륙밭쥐 (*Clethrionomys glareolus*)를 유행지역에서 채집하여 연구소에 사육하면서 실험하였던 것으로 알려졌다. 이후 1980년 핀란드에서 Nephropathia epidemica의 병원체인 PUUV가 대륙밭쥐에서 분리되었다⁴⁾.

신증후출혈열의 보균동물은 들쥐뿐만 아니라 집쥐 및 실험용 흰쥐입도 알려지게 되었으며 최근 신증후출혈열 환자는 농촌뿐만 들쥐가 없는 도시 및 각종 동물을 사육하는 사육실 및 연구소의 동물실에서도 많이 발생하고 있다.

1976년 일본 Sendai의 동북대학교 의과대학 동물실에서 원숭이와 흰쥐를 실험하던 연구원 사이에서 원인불명의 출혈열이 발생하였으며⁵⁾, 이후 역학조사에서 4명의 환자가 신증후출혈열로 밝혀졌으며, 또한 동물실의 흰쥐를 조사한 결과 64%가 한타바이러스에 대한 항체를 갖고 있음을 증명하였다. 국내에서는 1996년 서울대학교 의과대학 연구동에서 집단 발생한 원인불명열이 신증후출혈열로 판명되었고, 실험용 흰쥐로 실험하던 조교와 대학원생 등이 입원하였으며 동물실을 폐쇄하는 극단적인 조치가 취해졌다. 따라서 연구동을 이용하고 연구원들과 실험동물들을 대상으로 혈청학적 검사를 실시한 결과 혈청 검사자 175명 중 19명이 한타바이러스에 대한 항체 양성을 보였으며, 한편 실험동물에 대한 검사 결과에서도 흰쥐 36마리 중 25마리 (69.4%)가 양성으로 나타났다⁶⁾.

동물실험에 있어서 실험동물은 연구의 재료가 되므로 그 품질은 연구자의 측면에서 매우 중요하고, 질병에 걸려 있는 동물을 연구에 사용했을 경우에는 연구의 결과가 왜곡되어 재현성이 있는 정확한 성적을 얻을 수 없을 뿐만 아니라 병원체를 보유하고 있는 동물을 연구에 사용하면 실험치치가 자극이 되어 질병이 생기게 된다. 또한 병원체가 잠재적으로 감염되어 있는 경우, 병원체에 따라서는 연구자에게 감염의 위험이 있는 경우도 있으므로 실험동물들의 질병에 대해서는 체계적인 감시와 적극적인 방제대책이 검토되지 않으면 안 된다.

본 연구는 동물실의 정상 실험동물에서 한타바이러스에 대한 항체 양성율을 조사하여 보고하는 바이다.

*논문 접수: 2003년 5월 17일

수정재접수: 2003년 6월 20일

†별책 요청 저자: 우영대, (우) 138-736 서울특별시 송파구 풍납동

388-1, 아산생명과학연구소

Tel: 02-3010-4420, Fax: 02-3010-4500

e-mail: ydwoo@hanmail.net

재료 및 방법

1. 정상 실험동물의 혈청 검사 및 검사재료

1994년부터 2000년까지 약 6년간 총 27회에 걸쳐 정상 실험동물 1,063마리, 즉 랫드 188마리, 햄스터 624마리 그리고 몽골리안 저빌 251마리를 대상으로 혈청 검사를 시행하였다 (Table 1). 정상 실험동물의 안와 정맥총에서 채혈하여 열정을 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였고, 장기는 폐장과 신장을 무균적으로 적출하여 -80°C 냉동고에 사용시까지 보관하였다.

2. 항원 제작

Vero E6 (ATCC CRL1586, USA) 세포를 세포배양 플라스크에 3일간 배양하고 단층세포가 형성된 것을 확인한 후 HTNV 76/118, SEOV 80-39와 PUUV #141247를 각각 접종하고, 바이러스를 세포에 1시간 동안 흡착시킨 다음 배양액 즉 Eagle's minimum essential medium (MEM) 88%, fetal bovine serum 10%, HEPES 1% (1 M/L), antibiotics 1% (penicillin 100 units/ml, streptomycin 100 µg/ml)를 첨가한 후 36.5°C, 5% CO₂ 배양기에서 HTNV와 SEOV은 7일, PUUV는 11일 동안 배양하였다. 그 후 배지를 제거하고 감염된 세포를 0.25% trypsin으로 처리한 다음 일정량의 세포용액을 10 well spot slide (CEL-LINE/ERIE Scientific Co., USA)에 분주하여 12~18시간 배양한 후 인산완충액 (PBS; 0.01 M, pH 7.2)으로 3회 세척하여 항체 검사용 항원으로 -80°C에 보관하면서 사용하였다.

3. 간접면역형광항체법 (indirect immunofluorescent antibody technique, IFA)

IFA는 Lee 등¹²⁾의 방법으로 실시하였다. 한타바이러스를 감염시킨 Vero E6 세포를 12~18시간 배양한 spot slide를 냉각 아세톤으로 10분간 고정한 다음 1차 반응은 각 well에 인산완충액 (PBS; 0.01 M, pH 7.2)으로 1:16으로 희석된 혈청을 25 µl씩 가한 후 moist chamber에 넣어 36.5°C에서 30분간 반응시켰다. 냉각된 PBS로 3회 천천히 세척하고, 증류수로 1회 씻은 다음 실온에서 건조하였다. 2차 반응은 FITC goat anti-rat IgG (H+L) (KPL, Gaithersburg MD., USA)와 FITC goat anti-hamster IgG (H+L) (KPL, Gaithersburg MD., USA)를 8~16 unit로 적정하여 25 µl씩 가한 후 1차 반응과 동일한 방법으로 반응시키고, 세척한 후 건조하여 mounting media를 가하고 유리덮개를 덮어 형광현미경 (Zeiss, Germany)으로 특이 형광반응을 관찰 (×400)하였다.

Table 1. Seroconversion rates of normal rat against HTNV, SEOV and PUUV in animal laboratory

Year	Date	No. of antibody positive / No. of sera tested against		
		HTNV ¹	SEOV ²	PUUV ³
1994	23 Aug.	0/9	0/9	2/9
1994	31 Aug.	1/21	1/21	8/21
1994	7 Sep.	2/27	3/27	14/27
1994	31 Oct.	0/22	5/22	0/22
1995	22 Dec.	7/89	4/89	0/89
1996	11 Dec.	0/10	0/10	0/10
1997	19 Mar.	0/10	0/10	0/10
Total		10/188 (5.32%)	13/188 (6.91%)	24/188 (12.8%)

¹: Hantaan virus strain 76-118, ²: Seoul virus strain 80-39,

³: Puumala virus strain #141247

4. 푸말라바이러스 양성인 몽골리안 저빌의 감염 추적

1997년 4월 14일에 검사한 몽골리안 저빌 중에서 푸말라 바이러스에 양성으로 나타난 5마리를 푸말라바이러스의 항체 변화를 추적하고자 7차례 follow up 하였고, 약 8개월 후 부검하여 항원 검사를 실시하였다. 혈액은 1~6회까지는 안와 정맥총에서, 7회째는 심장 채혈하였으며 조직은 폐장조직을 무균적으로 적출하여 항원 검사를 실시하였다.

5. 조직중의 한타바이러스 항원 검사

항원 검사를 위하여 실험동물의 폐장과 신장을 Cryostat (IEC, USA)를 이용하여 -18°C에서 5 µm로 냉동 절편하였다. 이 절편을 10 well spot slide에 고정하고 100% 냉각 아세톤으로 10분간 고정한 다음 IFA를 시행하였다. 항혈청으로는 한국과 일본 그리고 핀란드의 신증후출혈열 환자 혈청을 사용하였다. FITC conjugate는 goat anti-human IgG (H+L), (ICN, Aurora, OH., USA)를 사용하여 형광현미경 (×400)에서 항원의 유무를 조사하였다.

결 과

1. 한타바이러스에 대한 양성율

Table 1에서와 같이 정상 랫드에서는 한타바이러스, 서울 바이러스 그리고 푸말라바이러스에 대한 항체가 각각 5.32% (10/188), 6.91% (13/188) 그리고 12.8% (24/188)로 나타났고, 정상 햄스터에서는 한타바이러스, 서울바이러스 그리고 푸말라바이러스에 대한 항체가 각각 2.40% (15/624), 2.72% (17/624) 그리고 3.69% (23/624)로 나타났으며 (Table 2), 정상 몽

골리안 저빌에서는 한탄바이러스, 서울바이러스 그리고 푸말라바이러스에 대한 항체가 각각 1.20% (3/251), 0.40% (1/251) 그리고 7.17% (18/251)로 나타났다 (Table 3).

2. 동물실에서 감염된 동물의 항원 검사 성적

랫드는 188마리 중 항체 양성인 47마리의 폐장과 신장에 대한 한국인, 일본인 그리고 핀란드 신증후출혈열 환자 혈청을 반응시켜 한타바이러스 항원을 검사한 결과 모두 음성반응을 나타내었다. 햄스터와 몽골리안 저빌의 경우 항체 양성을 나타낸 56과 22마리의 폐장과 신장에 대한 한국인, 일본인 그리고 핀란드 신증후출혈열 환자 혈청을 반응시켜 한타바이러스 항원을 검사한 결과 모두 음성반응으로 나타났다 (Table 4).

Table 2. Seroconversion rates of normal hamster against HTNV SEOV and PUUV in animal laboratory

Year	Date	No. of antibody positive / No. of sera tested against		
		HTNV ¹	SEOV ²	PUUV ³
1995	21 Oct.	0/21	1/21	2/21
1995	30 Oct.	3/20	1/20	2/20
1995	22 Nov.	0/20	2/20	0/20
1997	21 Feb.	0/15	1/15	0/15
1997	26 Feb.	1/45	6/45	3/45
1997	14 Apr.	1/65	1/65	0/65
1997	23 Jun.	0/57	1/57	2/57
1997	17 Nov.	1/27	0/27	0/27
1998	7 Apr.	4/76	3/76	9/76
1999	17 May	1/101	0/101	2/101
2000	8 Feb.	4/177	1/177	3/177
Total		15/624 (2.40%)	17/624 (2.72%)	23/624 (3.69%)

¹: Hantaan virus strain 76-118, ²: Seoul virus strain 80-39,

³: Puumala virus strain #141247

3. 몽골리안 저빌의 추적 검사 성적

1997년 4월 14일에 검사한 몽골리안 저빌 중에서 푸말라바이러스에 양성으로 나타난 5마리 중에서 4마리는 푸말라바이러스에 대한 항체가 약 8개월간 지속적으로 높게 (256~4,096) 유지하고 있었고, 1마리만은 1차 검사에서는 256이었으나 2와 3차에서 점점 낮아지다 4차부터는 음성 (<16)으로 판정되었다. 한편 d-238일째 5마리를 부검하여 푸말라바이러스에 대한 항원 검사를 폐장에서 실시하였으나 모두 핀란드 신증후출혈열 환자 혈청과 반응하지 않아 모두 음성반응으로 나타났다 (Table 5).

고 찰

실험동물의 품질관리는 동물의 실험결과에 영향을 미치는 직·간접적인 여러 가지 요인을 규명하고 품질의 균일성을 유지하기 위한 모든 대책을 의미하는 것으로, 실험동물은 실

Table 3. Seroconversion rates of normal M. gerbil against HTNV SEOV and PUUV in animal laboratory

Year	Date	No. of antibody positive / No. of sera tested against		
		HTNV ¹	SEOV ²	PUUV ³
1995	24 Oct.	1/20	0/20	2/20
1995	16 Dec.	0/14	0/14	0/14
1997	21 Feb.	0/15	0/15	0/15
1997	26 Feb.	0/7	0/7	0/7
1997	14 Apr.	1/70	0/70	5/70
1997	23 Jun.	1/73	1/73	4/73
1998	7 Apr.	0/52	0/52	1/52
Total		3/251 (1.20%)	1/251 (0.40%)	18/251 (7.17%)

¹: Hantaan virus strain 76-118, ²: Seoul virus strain 80-39,

³: Puumala virus strain #141247

Table 4. Detection of hantaviruses antigen in lungs and kidneys from laboratory rodents with positive sera

Species	Antisera	Antigen detection in tissues by antisera					
		KHF81-460-3 ¹		Nigata-JH1 ²		NE87-969 ³	
		Tissues	Lu ⁴ .	K ⁵ .	Lu.	K.	Lu.
Rat		0/10	0/10	0/13	0/13	0/24	0/24
Hamster		0/15	0/15	0/17	0/17	0/23	0/23
M. gerbil		0/3	0/3	0/1	0/1	0/18	0/18

¹: Korean HFRS serum, ²: Japan HFRS serum ³: Finland HFRS serum, ⁴: Lungs, ⁵: Kidneys

Table 5. Changes of IF titers against PUUV and antigen detection in lungs from *M. gerbil* with positive sera

Animal no.	IF antibody titer to PUUV ¹							Antigen in lungs
	d-0	d-37	d-66	d-106	d-135	d-178	d-238	NE87-969 ²
G7	256	64	64	512	256	256	2,048	— ³
G12	256	64	16	<16	<16	<16	<16	—
G17	128	256	256	1,024	256	256	256	—
G55	256	256	1,024	2,048	2,048	2,048	4,096	—
G69	64	256	256	512	256	256	1,024	—

¹: Puumala virus strain #141247, ²: Finland HFRS serum, ³: No viral detection

험자의 보호와 실험결과에 잘못된 영향을 방지하기 위해 기준에 맞게 정확하고 정밀하게 관리하여야 한다.

미생물에 의한 감염은 임상적 질환의 유무에 관계없이 실험결과에 현저한 영향을 미치게 되며, 실험동물에 감염이 발생하면 실험동물의 행동, 성장률, 장기중량, 면역반응, 종양 발생, 효소 활성도 등과 같은 생물학적 매개변수들에서 많은 변화가 일어나게 되고, 특히 인수공통전염병의 감염은 실험동물은 물론 연구자의 안전에도 치명적인 위험성을 갖게 된다. 따라서 미생물 모니터링은 정밀한 조작을 통하여 얻은 연구결과만큼이나 중요한 과정으로 연구결과에 높은 신뢰성과 재현성을 확고하게 보증해 주는 과정이다.

본 연구에서 조사한 동물실내 설치류는 랫드 (*Rattus norvegicus*)는 SD (sprague-dawley) rat 188마리, 햄스터는 Syrian 또는 golden hamster (*Mesocricetus auratus*) 624마리 그리고 저빌은 몽골리안 저빌 (*Meriones unguiculatus*) 251마리를 대상으로 SPF (specific pathogen free)실이 아닌 일반 동물실에서 사육된 것을 대상으로 한타바이러스 감염을 조사하였다.

한타바이러스에 대한 항체는 랫드, 햄스터와 몽골리안 저빌에서 각각 5.32% (10/188), 2.40% (15/624) 그리고 1.20% (3/251)로 나타나 랫드가 많이 감염되었으며, 서울바이러스에 대한 항체는 랫드, 햄스터와 몽골리안 저빌에서 각각 6.91% (13/188), 2.72% (17/624) 그리고 0.40% (1/251)로 역시 랫드에서 감염이 많음을 나타냈다. 푸말라바이러스에 대한 항체는 랫드, 햄스터와 몽골리안 저빌에서 각각 12.8% (24/188), 3.68% (23/624) 그리고 7.17% (18/251)로 나타나 랫드가 현저히 감염율이 높았음을 알 수 있었다.

랫드, 햄스터와 몽골리안 저빌에서 한타바이러스 항체 양성을 나타낸 47, 56과 22마리의 폐장과 신장조직에 대한 한국, 일본 그리고 핀란드 신증후출혈열 환자 혈청을 반응시켜 한타바이러스 항원을 검사한 결과 모두 음성반응으로 나타났다.

이와 같은 결과는 1986년에 발표⁹⁾된 서울시내 6개 연구소의 동물실내 환경의 한타바이러스 감염조사에서 195마리 중

126마리가 한타바이러스에 대해 64.6%의 형광항체 양성율을 보이는 것과 비교하면 상당히 낮은 결과이며, 당시 동물실에서 종사하는 45명을 추가 조사한 결과 12명 (16.7%)이 한타바이러스에 대한 높은 항체가를 갖고 있었다. 한편 한타바이러스 항원조사에서는 179마리 중 41마리가 폐장에서 양성으로 나타나 22.9%의 양성율을 나타냈는데, 이는 현재 온도, 습도, 기압, 바람, 소음, 일조시간 등 여러 가지 시설면에서 개선되고, 병원체의 검출과 동정 그리고 혈청학적 검색으로 검역을 실시하는 등 지속적인 감염관리로 실험동물의 품질이 좋아진 것을 의미할 수도 있다.

몽골리안 저빌 중에서 푸말라바이러스에 양성으로 나타난 5마리를 약 8개월 동안의 추적 검사한 결과는 4마리에서 푸말라바이러스에 대한 항체가가 8개월간 지속적으로 1:256에서 1:4,096으로 높은 항체가를 유지하고 있었고, 1마리 (G12)는 1차 검사 이후부터 점점 낮아지다 4차부터는 음성 (<16)으로 판정되었다. 한편 d-238일째 부검하여 푸말라바이러스에 대한 항원 검사를 폐장에서 실시하였으나 모두 음성반응으로 나타났다. 이와 같이 실험동물에서 장기간에 걸쳐 항원과 항체가가 유지될 수 있다는 연구결과들은 야생 들쥐인 등줄쥐에서 한타바이러스 전파 경로가 다량의 바이러스가 감염된 쥐의 뇨 및 타액에서 분비됨을 증명하여 발표¹¹⁾된 것과 수평감염과 수직감염의 연구에서 감염된 등줄쥐와 정상 등줄쥐를 동일한 사육통에 10일간 혼합 사육 후 분리하여 1개월 후에 정상 등줄쥐의 한타바이러스 감염유무를 검사한 결과 수평감염이 성립되는 것에서 원인을 규명할 수 있다. 특히 한국이나 일본의 경우 동물실에서 환자가 발생한 경우는 대다수의 환자가 겨울에 발생하였으며 환기 시설이 전혀되어 있지 않았고 건조한 공기와 적은 공간에 감염된 동물로 가득 차 있었다는 사실로 미루어 볼 때 다량의 바이러스가 건조된 공기 중에 존재하다가 호흡기를 통하여 감염된 것으로 분석되었다⁸⁾.

뿐만 아니라 실험동물에서 중요한 바이러스 종류로는 랫드의 경우 상재감염의 병원체인 파보바이러스로 대표적인 항

인은 Kilham 랫드 바이러스와 Toolan H-1이고, 호흡기 질환의 원인체인 쉐다이바이러스 그리고 젓먹이 랫드에서 설사를 일으키는 로타바이러스 등이 있으며^{1,5,16)}, 햄스터에서는 전염성이 강한 햄스터 폴리오마바이러스, 공중보건학적 측면에서 상당히 중요한 림프구성백막수막염 바이러스, 그리고 최근에 자연숙주로 밝혀진 쉐다이바이러스 등이 있다^{2,13,14)}. 몽골리안 지빌에서는 현재 임상적으로 중요한 바이러스성 질병은 없다고 하지만 한타바이러스를 비롯하여 쉐다이바이러스, 림프구성백막수막염 바이러스, 타액누선염 바이러스 등 주요 바이러스에 대해서는 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 생각된다. 특히 모든 실험동물에서 한타바이러스는 치명적인 인사사고를 미연에 방지하기 위해 철저한 혈청학적 검역과 정기적인 모니터링이 필수적인 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Ball-Goodrich LJ, Leland SE, Johnson EA, Paturzo FX and Jacoby RO (1998): Rat parvovirus type 1: the prototype for a new rodent parvovirus serogroup. *J Virol*, **72**: 3289-3299.
- 2) Barthold SW (1987): Further evidence for papovavirus as the probable etiology of transmissible lymphoma of Syrian hamsters. *Lab Anim Sci*, **37**: 283-288.
- 3) Bummer-Korvenkonitio M, Vaheri A, Hovi T, von Bonsdorff CH, Vuorimies J, Manni T, Penttinen K, Oker-Blom N and Laehdevirta J (1980): Nephropathia epidemica: Detetion of antigen in bank voles and serologic diagnosis of human infection. *J Infec Dis*, **141**: 131-134.
- 4) Casals J, Hoogstraal H, Johnson KM, Shelakov A, Wiebenga NH and Work TH (1966): A current appraisal of hemorrhagic fevers in the U.S.S.R. *Am J Trop Med Hyg*, **15**: 1751.
- 5) Castleman WL (1983): Respiratory tract lesions in weanling outbred rats infected with Sendai virus. *Am J Vet Res*, **44**: 1024-1031.
- 6) Communicable diseases monthly report (CDMR). (1996): Vol 7, No 6: 67.
- 7) Lee HW, Baek LJ and Johnson KM (1982): Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean haemorrhagic fever from wild urban rats. *J Infect Dis*, **146**: 638-644.
- 8) Lee HW, Baek LJ, Joo YK, Ahn IS and Park KK (1985): Study of horizontal and vertical transmission of hantaan and seoul virus in *Apodemus agrarius* and in rats. *J Kor Soc Virol*, **15(1)**: 55-63.
- 9) Lee HW, Baek LJ and Kim HD (1986): Studies of laboratory rat infection with hantavirus animal rooms of institutes in Seoul. *J Kor Soc Virol*, **16(2)**: 113-120.
- 10) Lee HW and Lee PW (1976): Korean haemorrhagic fever I. Demonstration of causative antigen and antibodies. *Kor J Internal Med*, **19**: 371-383.
- 11) Lee HW, Lee PW, Baek LJ, Song CK and Seong IW (1981): Intraspecific transmission of hantaan virus, the etiologic agent of korean hemorrhagic fever, in *Apodemus agrarius*. *J Trop Med and Hyg*, **30**: 1106.
- 12) Lee HW, Lee PW and Johnson KM (1978): Isolation of the etiologic agent of Korean haemorrhagic fever. *J Infect Dis*, **137**: 298-308.
- 13) Percy DH and Palmer (1997): Experimental sendai virus infection in the syrian hamster. *Lab Anim Sci*, **47**: 132-137.
- 14) Skinner HH and Knight EH (1979): The potential role of Syrian hamsters and other small animals as reservoirs of lymphocytic choriomeningitis virus. *J Small Anim Pract*, **20**: 145-161.
- 15) Umenai T, Lee HW, Lee PW, Saito T, Toyoda T, Hongo M, Hoshinara K, Nobunaga T, Horiuchi T and Ishida N (1979): Korean hemorrhagic fever in staff in an animal laboratory. *Lancet*, **1**: 1314-1316.
- 16) Voderfecht SL (1984): Infectious diarrhea of infant rats produced by a rotavirus-like agent. *J Virol*, **52**: 94-98.