

2014-2015년 경기지역 노로바이러스성 식중독의 분자역학적 특성분석

남수정* · 박포현 · 방선재 · 허정원 · 윤희정 · 박광희 · 윤미혜

경기도보건환경연구원 바이러스팀

Molecular epidemiological study of norovirus gastroenteritis outbreaks in Gyeonggi-Do from 2014 to 2015

Soo-Jung Nam*, Po-Hyun Park, Sun-Jae Bang, Jeong-Weon Huh, Hee-Jeong Yun, Kwang-Hee Park, and Mi-Hye Yoon

Team of virus, Gyeonggi Institute of Health and Environment, Suwon 16205, Republic of Korea

(Received May 30, 2017; Revised September 22, 2017; Accepted September 25, 2017)

Norovirus infection is a leading cause of nonbacterial gastroenteritis outbreaks. New variants of GII.4 have emerged approximately every 2~3 years and have caused norovirus gastroenteritis pandemics globally. In this study, analysis and molecular genetic characteristics of the norovirus gastroenteritis outbreaks 2,917 samples in Gyeonggi-Do from 2014 to 2015. As a result, 247 samples out of 2,917 samples are positive for norovirus. Norovirus molecular genetic characteristics of the GI 8 types (GI-1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 14), GII 10 types (GII - 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 14, 16, 17). Genome sequences of isolated noroviruses were similar to those of new GII.17 Kawasaki 2014 variants with 96.6 identity, suggesting that these viruses were imported from overseas. 44% of virus incidence was originated from school meal service. Therefore, a continuous monitoring and school sanitation should be required for preventing a massive virus outbreak.

Keywords: genotype, norovirus, outbreak, variant

노로바이러스는 전 연령층에 걸쳐 식중독을 유발하는 주요 병원체로 알려져 있으며(Noel *et al.*, 1999), 최근 다양한 변이주의 출현으로 특히 노인과 소아 계층에서 치명적인 영향을 미치는 것으로 나타나고 있다(de Graaf *et al.*, 2015). 이로 인하여 전 세계적으로 연간 약 600억 달러에 달하는 막대한 사회적

비용을 초래하는 것으로 보고되고 있다(Bartsch *et al.*, 2016).

노로바이러스는 감염력이 매우 높고 감염 후 24~48시간이 내에 복통, 메스꺼움, 구토, 설사 등을 동반한 증상이 나타나며 이러한 증상은 2~3일간 지속되다가 사라지게 되는 것이 일반적이다. 일부환자에서는 두통이나 오한, 근육통 등을 유발하기도 하며. 오염된 식품, 물을 매개로 하여 집단 발병을 일으키는 주요 원인체로 알려져 있다(Teunis *et al.*, 2008).

*Caliciviridae*로 분류되는 노로바이러스는 positive-sense ss RNA로 유전체 크기는 7.3~7.5 kb 정도이며 3개의 open reading frame (ORF)로 구성되어 있다(Kroneman *et al.*, 2013). ORF1은 RNA dependent RNA polymerase (RdRp) 등을 포함하는 6개의 non-structural (NS) 단백질로 암호화되며, ORF2는 capsid 단백질을 구성하며, ORF3는 ORF2의 보조적인 역할로 역시 capsid를 구성하는 역할을 한다고 알려져 있다(Thorne and Goodfellow, 2014).

노로바이러스의 genogroup은 RdRp 및 VP1 capsid 단백질의 다양성에 따라 GI~GVII 형의 7가지 종류로 구분되며, 이중 GI, GII, GIV형이 사람에게 감염되는 원인체로 알려져 있다. Genotype은 GI group 9종, GII group 21종, GIV group 2종 등 40종 이상으로 보고되고 있으며, 1990년대 중반 이후로 GII.4 변이주에 의한 유행이 주를 이루고 있다(Vinje, 2015).

2014년 말부터 2015년 초까지 일본, 중국 등 아시아를 중심으로 노로바이러스 GII. 17 kawasaki 변이주가 출현하면서 (Gao *et al.*, 2015; Matsushima *et al.*, 2015), 전 세계적으로 식

*For correspondence. E-mail: timeface@gg.go.kr;
Tel.: +82-31-250-2646; Fax: +82-31-250-2527

중독이 크게 유행하였다(Lu *et al.*, 2016). 이에 따라 본 연구에서는 경기지역에서 2014년부터 2015년까지 발생한 노로바이러스성 식중독 발생특성 및 유전형질을 분석하여 세계적인 유행양상과 비교하였으며, 이를 토대로 경기지역 식중독 예방 대책 수립의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

검체수집 및 전처리

본 연구에서는 2014년 1월부터 2015년 12월까지 2년간 경기 남부지역 21개 시·군 보건소에서 집단식중독 발생 시 의뢰된 환자 및 종사자의 분변 검체 2,917건(2014년 1,303건, 2015년 1,614건)을 사용하였다. 분변 검체는 직장 도찰(rectal swab)의 경우, 멸균된 0.1 M PBS (phosphate buffered saline) 2 ml에 넣고, 분변(stool)일 경우 분변 1 g을 0.1 M PBS 9 ml에 넣어 3분간 vortex한 후 rectal swab 검체의 면봉은 제거하였다. 희석된 검체는 4°C, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취해 새로운 튜브에 옮겨 소분한 뒤 실험에 사용될 때까지 -70°C 초저온 냉동고에 보관하였다.

노로바이러스 RNA추출 및 유전자 검출

노로바이러스 RNA 추출은 분변 검체 140 µl를 QIAamp microspin columns (viral RNA mini kit: QIAGEN)을 이용하였으며, 추출된 RNA는 사용할 때까지 -70°C에서 보관하였다. 질병관리본부 primer 검출 조건에 따라 노로바이러스 유전자검출을 수행하였다(Table 1). Onestep RT-PCR를 위해 2X RT-PCR Master mix 12.5 µl, 10 pmole sense primer와 antisense primer 각각 2 µl, DW 6 µl, RNA 2 µl를 포함한 25 µl 반응액을 사용하였다. 유전자 증폭을 위해 Verti 96 well Thermal Cycler (Applied Biosystems)를 이용하여 48°C에서 40분간 reverse transcription을 수행하고, 94°C 3분 동안 반응시킨 뒤 94°C 30초, 54°C 30초, 72°C 45초로 35 cycles를 반복한 후 72°C에서 7분간 반응하였다.

Table 1. Oligonucleotide primers used in this study

Genotype	Primer	Sequence (5' → 3')	Position	Application
GI	GI-F1M	CTGCCCGAATTYGTAATGA	5342	Onestep RT-PCR
GI	GI-R1M	CCAACCCARCCATTRTACA	5671	Onestep RT-PCR / Semi-nested PCR
GI	GI-F2	ATGATGATGGCGTCTAAGGACGC	5357	Semi-nested PCR
GII	GII-F1M	CNTGCGAGGGCGATCGCAA	5058	Onestep RT-PCR
GII	GII-R1M	CCRCCNGATRHCRTTRTA	5401	Onestep RT-PCR / Semi-nested PCR
GII	GII-F3	TTGTGAATGAAGATGGCGTCGART	5088	Semi-nested PCR

RT-PCR이 종료된 산물 2 µl를 이용하여 semi-nested RT-PCR을 수행하였으며 10 × PCR reaction buffer, 2.5 mM dNTP, 20 pmol primer, 1U Taq polymerase (Bioneer)를 넣어서 50 µl 반응액 제조한 후 실험에 사용하였다. 반응조건은 94°C에서 3분 동안 반응시킨 후 94°C 30초, 56°C 30초, 72°C 45초로 25 cycles를 반복한 후 72°C에서 7분간 반응하였다.

PCR 산물은 QIAxel (QIAGEN) 전기영동장치로 확인하였다.

유전자 염기서열 분석

RT-PCR을 통해 증폭된 PCR 산물은, Marcrogen사를 통해 정제와 유전자 분석을 수행하였다. 즉, 증폭된 유전자를 1% 아가로스 젤(Gibco)로 전기영동하여 확인한 뒤, DNA 절편을 절단한 후, AccuPrep Gel Purification kit (Bioneer)를 사용하여 정제하였다. 절편을 튜브에 넣고 3배 부피의 젤 용해용 완충용액(Buffer GB)을 첨가하고 50°C에서 젤을 용해시킨 뒤, Bioneer spin column으로 옮겨 4°C에서 14,000 r/min으로 1분간 원심분리한 후, 세척용 완충용액 750 µl을 첨가하고 14,000 r/min에서 1분간 원심분리한 후, 상층액을 취하여 잔여 세척용 완충용액을 제거하고 30~50 µl의 증류수로 DNA를 회수하여 다음 실험에 이용하였다.

PCR을 통해서 증폭된 노로바이러스 양성 PCR 산물을 이용하여 각각의 유전자형에 특이적인 프라이머를 사용하여 양쪽 방향으로 dideoxynucleotide chain termination 기법을 사용하는 Bigdye sequencing kit (ABI prism Applied Biosystems, Perkin Elmer)을 사용하여 sequencing reaction을 하였다. 얻어진 PCR 산물을 이용하여 ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit와 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Perkin-Elmer Cetus)를 이용하여 염기서열 분석을 수행하였다.

유전계통학적 분석

분석된 경기도내 분리주의 nucleoprotein (N) 부위 염기서

열은 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)을 이용하여 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) database에 등록되어 있는 기존의 노로바이러스 표준주 염기서열과 비교분석을 통해 가장 높은 상동성을 나타낸 유전형을 확인하였다. 서열들은 ClustalW program을 사용하여 정렬하였으며, MEGA v 6.06 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.06) program을 이용하여 maximum composite likelihood model과 neighbor-joining method에 의해 염기서열간의 유전적 거리와 phylogenetic tree를 추론하였다. 또한, bootstrap 값은 1,000회의 resampled data로부터 추론하였다.

결 과

경기도내 노로바이러스성 식중독 발생특성

2014년부터 2015년까지 경기지역의 식중독 발생 사례 및

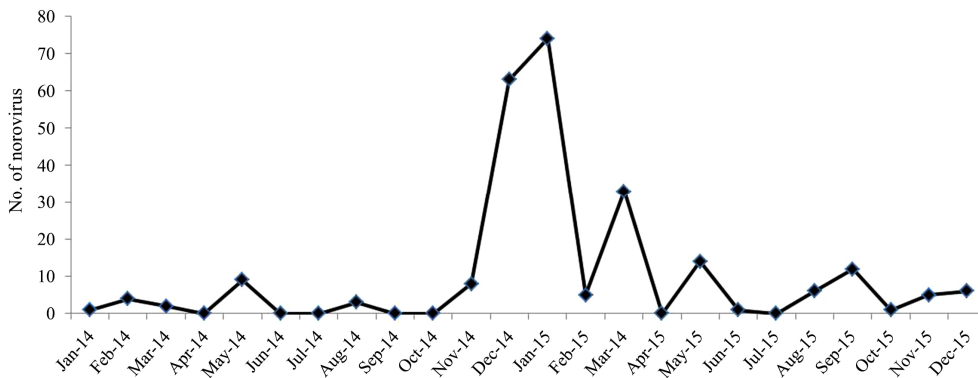


Fig. 1. Monthly incidence of outbreak from 2014 to 2015 in Gyeonggi-Do.

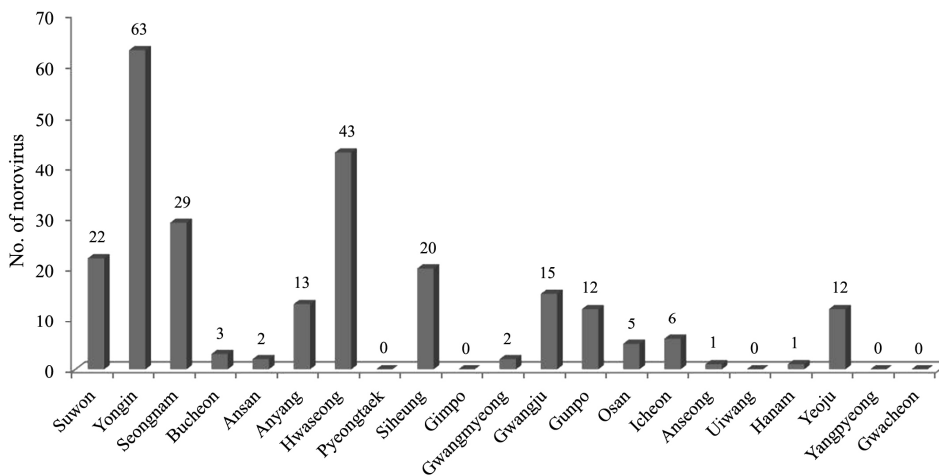


Fig. 2. The number of patients who has norovirus infection in food poisoning related outbreaks from 2014 to 2015 in Gyeonggi-Do by administrative districts.

발생건수는 2014년 114사례 1,303건, 2015년 151사례 1,614건이었다.

식중독 검체 2,917건 중 247건이 노로바이러스 양성으로 확인되었으며, 노로바이러스 양성 검출 비율은 2014년 7.0% (91/1,303건), 2015년 9.7% (156/1,614건)로 평균 8.5% (247/2,917건)로 나타났고, 이는 국내(서울, 부산, 강원)의 경우 15.5%~25.6% 보다 다소 낮은 것으로 분석되었다(Ko *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2012; Ku *et al.*, 2014).

월별 발생양상을 살펴보면 2014년 12월 64건(26.0%), 2015년 1월 74건(29.7%)으로 가장 높았다. 2015년 2월에는 소강상태를 보였다가 3월에 33건(13.4%)으로 재유행하는 경향을 보였는데 이는 중국 광둥지역 유행패턴과 유사한 것으로 나타났다(Lu *et al.*, 2015). 주로 겨울철 식중독으로 알려져 있는 노로바이러스는 2014년 5월 9건, 2015년 5월 14건, 9월 12건 등 비겨울철에도 연중 산발적으로 발생하는 것으로 나타났다(Fig. 1).

지역별 노로바이러스 발생양상

2014년부터 2015년까지 경기도에서 발생한 식중독 중 노로바이러스 양성 건수를 시·군별로 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. 용인시 25.3% (63/247건), 화성시 17.3% (43/247건)으로 비율이 높았고, 5개 시·군(평택시, 김포시, 의왕시, 양평군, 과천시)을 제외한 16개 시군에서 모두 노로바이러스가 검출되었으며, 지역별 뚜렷한 역학관계는 찾을 수 없었다.

노로바이러스 분자유전학적 특성

2014년부터 2015년까지 경기도내 발생한 식중독 환자의 검체에서 분리한 노로바이러스의 genogroup의 특성을 살펴보면 GI 7.3% (18/247건), GII 81.8% (202/247건), GI과 GII 중복감염 검체가 10.9% (27/247건)를 차지하고 있어 GII group의 비중이 높았다. 월별 분포양상을 분석한 결과 2014년 12월 25.9% (64/247건), 2015년 1월 29.6% (73/247건)으로 2014년 12월부터 2015년 1월까지 노로바이러스가 크게 유행했음을 알 수 있다(Fig. 3).

염기서열 분석을 통한 유전형 분석결과 GI 형에서 8종 (GI-1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 14), GII형에서 10종(GII-2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 14, 16, 17)으로 다양하게 분포하고 있는 것으로 나타났다 (Fig. 4). GII-17형의 경우 2014년에 분리된 검체가 없었으나 2015년 21% (52/247건)로, 이는 2011년부터 2013년까지 경기도에서 발생한 노로바이러스성 식중독 유전자형 분석결과 GII-4형이 31.1% (14/42건)를 차지한 것과 대조적으로 나타났다(Park *et al.*, 2013).

노로바이러스 GII-17 변이주의 유전계통학적 분석

2014년 말부터 전세계적으로 GII-17 kawasaki 변이주의 출현으로 노로바이러스 집단 식중독이 크게 유행하였다는 보고에 따라, 본 연구에서 확인된 노로바이러스 중 GII-17형에 대한 유전계통학적 분석을 수행하였다. GII-17형으로 확인된 52건의 검체 중에서 50건이 GII-17 kawasaki 형으로 확인되었고, 이 중 2015년 초 집단식중독을 유발했던 35건의 검체에 대한 유전계통학적 분석을 한 결과 일본의 Hu/GII/JP/2014/

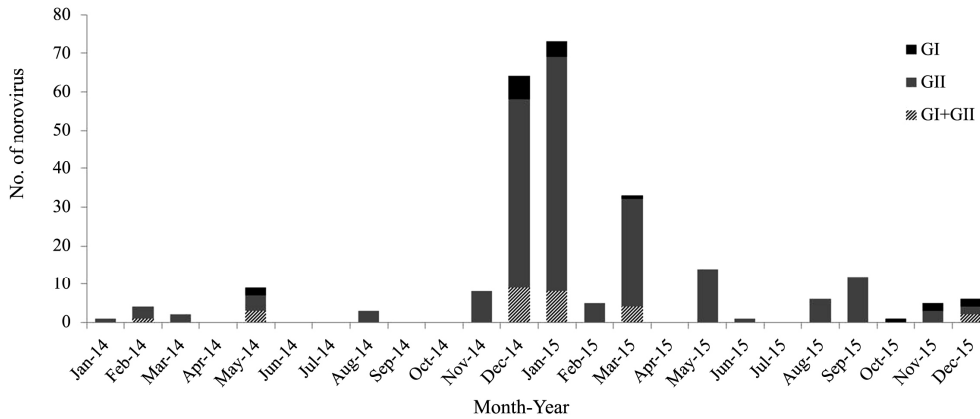


Fig. 3. The number of norovirus genotypes detected from outbreak from 2014 to 2015.

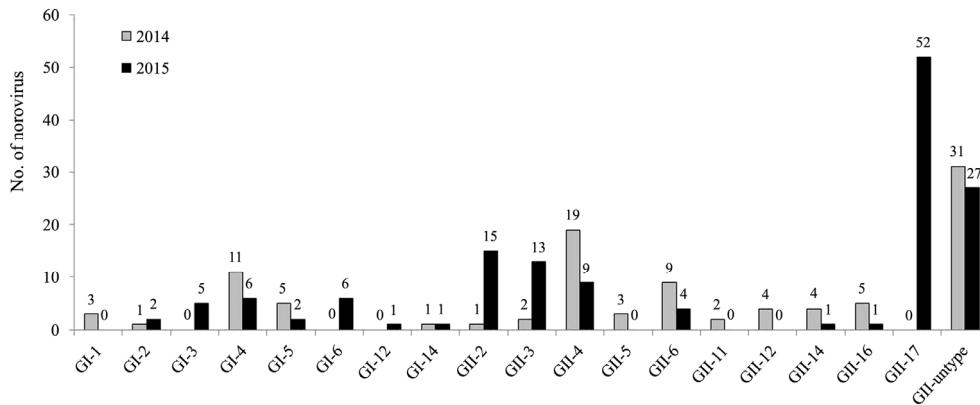


Fig. 4. The number of norovirus genotypes detected from outbreak from 2014 to 2015.

GII.P17_GII.17/Kawasaki323 (Accession No. AB983218) 분리주와 96.6% 이상, 미국의 Hu/GII.17/Gaithersburg/2014/US (Accession No. KR083017) 분리주와 98.1% 이상, 중국의Hu/GII.17/41621/Guangzhou/2014/CHN (Accession No. KR020503)

분리주와 97.7% 이상, 일본의 Hu/GII/JP/2015/GII.P17_GII.17/Kawasaki308 (Accession No. LC037415) 분리주와 97.4% 이상 일치하였다(Fig. 5).

이는 기존에 알려진 GII-17 유형(Accession No. AB901276,



Fig. 5. Phylogenetic tree of noroviruses based on partial VP1 nucleotide sequences. Nucleotide sequences were analyzed by using the maximum-likelihood method. Shown are trees with the highest log likelihood. Statistical evaluation was performed by 1,000 bootstrap replications and percentages of clustering ($\geq 80\%$) are shown at nodes. Closed circles represent strains in January 2015, and triangles represent strains in March 2015. GenBank accession number followed by unique sequence identifier, country of origin and year of collection.

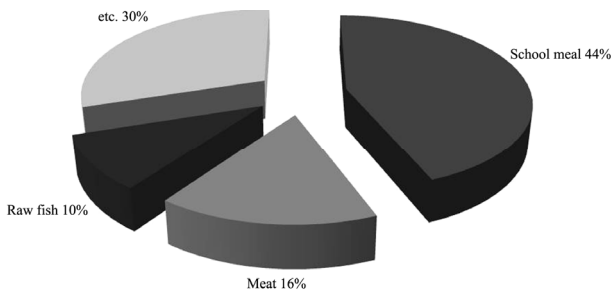


Fig. 6. Incidence of outbreak NoV GII.17 kawasaki due to food intake from 2014 to 2015 in Gyeonggi-Do.

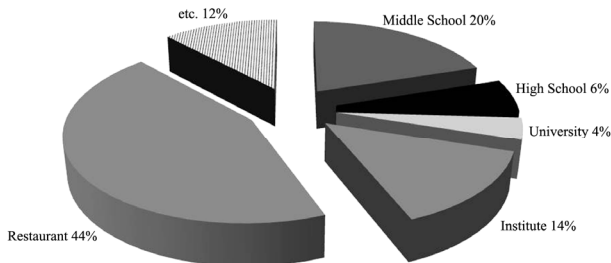


Fig. 7. Area incidence of outbreak NoV GII.17 kawasaki from 2014 to 2015 in Gyeonggi-Do.

AY502009, DQ438972, GQ266696, GQ266697, GQ856468, JN699043, KC597139)과 차이를 보여 새로운 변이주가 출현했음을 알 수 있었다.

GII-17 kawasaki 변이주로 확인된 50건의 지역별 발생특성을 살펴보면, 용인시가 28% (14/50건)로 가장 높았으며 화성시 24% (12/50건), 여주시 24% (12/50건)로 나타났다. 그 외 지역은 광주시 4건, 수원시 3건, 성남시, 안산시, 안양시, 시흥시, 이천시 각각 1건으로 확인되었다. 섭취 식품별 발생양상은 급식 44% (22/50건), 육류 16% (8/50건), 회 10% (5/50건), 기타 30% (15/50건)로 나타났으며(Fig. 6), 장소별 분석결과 중학교 20% (10/50건), 고등학교 6% (3/50건), 대학교 4% (2/50건), 기숙학원 14% (7/50건), 식당 44% (22/50건), 기타 12% (6/50건)로 확인되었다(Fig. 7).

경기도에서 2015년 1~3월 유행한 노로바이러스성 식중독의 유전계통학적 분석결과 2014년 말부터 세계적으로 유행했던 GII.17 kawasaki 2014 형으로 확인되어 해외 변이주 출현 및 유행패턴에 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 생각된다. 한편 기숙학원을 비롯한 학교에서 섭취한 급식으로 인하여 발생한 비율이 44%를 차지하고 있어, 단체급식 위생 및 관리에 각별한 주의를 요할 것으로 판단되며 원인 규명율을 높여 발생 원인을 사전에 차단, 대규모 식중독 유행에 대비하여야 할 것으로 판단된다.

고 찰

2014년 1월부터 2015년 12월까지 경기도내 집단식중독 검체 2,917건을 대상으로 발생양상을 파악하고 노로바이러스의 분자유전학적 특성을 분석하였다.

식중독 검체 2,917건 중 247건이 노로바이러스 양성으로 확인되었으며, 노로바이러스 양성 검출 비율은 2014년 7.0% (91/1,303건), 2015년 9.7% (156/1,614건)로 평균 8.5% (247/2,917건)로 나타났다.

노로바이러스는 2014년 12월 64건, 2015년 1월 73건으로 겨울철에 가장 높았으나 연중 산발적으로 발생하는 경향을 보였다.

노로바이러스의 지역별 발생양상은 5개 시군(평택시, 김포시, 의왕시, 양평군, 과천시)을 제외한 16개 시군에서 모두 노로바이러스가 검출되었으며, 지역별 뚜렷한 역학관계는 찾을 수 없었다.

노로바이러스의 분자유전학적 특성은 GI 형에서 8종(GI-1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 14), GII형에서 10종(GII-2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 14, 16, 17)으로 다양하게 분포하고 있는 것으로 나타났다.

2015년 초 집단발생한 노로바이러스 35건에 대한 유전계통학적 분석결과 GII-17 kawasaki 형으로 알려진 분리주와 96.6%이상 일치하여 새로운 변이주에 의한 유행임을 확인하였으며, 기숙학원을 비롯한 학교에서 섭취한 급식으로 인한 발생 비율이 44%로 나타났다.

따라서 향후 도내 식중독 예방을 위하여 해외 유행패턴의 지속적인 모니터링 및 학교나 기숙학원 등 단체급식 취급 기관을 대상으로 식중독 예방훈련 등 위생과 관리에 주의를 기울여야 할 것으로 판단된다.

적 요

노로바이러스는 식중독을 유발하는 주요 병원체이며, 최근 GII.4 변이주의 출현으로 전세계적으로 2~3년 주기로 유행하고 있다. 본 연구에서는 2014년부터 2015년까지 2년간 경기도내 집단식중독 검체 2,917건을 대상으로 노로바이러스성 식중독 발생양상을 파악하고 분자유전학적 특성을 분석하였다. 검사결과 노로바이러스가 247건으로 가장 많았으며, 분자유전학적 특성은 GI 형에서 8종(GI-1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 14), GII형에서 10종(GII-2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 14, 16, 17)으로 다양하게 분포하고 있는 것으로 나타났다. 2015년 초 집단발생한 노로바이러스 35건에 대한 유전계통학적 분석결과 GII-17 kawasaki

2014형으로 알려진 분리주와 96.6% 이상 일치하여 새로운 변이주에 의한 유행이었음을 확인하였으며, 학교 등 급식에 의한 비율이 44%로 단체급식 위생에 주의하는 한편 발생 원인을 파악하여, 대규모 식중독 유행에 대비하여야 할 것으로 판단된다.

References

- Bartsch, S.M., Lopman, B.A., Ozawa, S., Hall, A.J., and Lee, B.Y.** 2016. Global economic burden of norovirus gastroenteritis. *PLoS One* **11**, e0151219.
- de Graaf, M., van Beek, J., Vennema, H., Podkolzin, A.T., Hewitt, J., Bucardo, F., Templeton, K., Mans, J., Nordgren, J., Reuter, G., et al.** 2015. Emergence of a novel GII.17 norovirus-End of the GII.4 era? *Euro Surveill.* **20**, 1-8.
- Gao, Z., Liu, B., Huo, D., Yan, H., Jia, L., Du, Y., Qian, H., Yang, Y., Wang, X., Li, J., et al.** 2015. Increased norovirus activity was associated with a novel norovirus GII.17 variant in Beijing, China during winter 2014-2015. *BMC Infect. Dis.* **15**, 574.
- Kim, E.J., Kim, M.S., Chae, Y.Z., and Cheon, D.S.** 2012. Prevalence of human noroviruses detected from outbreaks of gastroenteritis patients in Seoul, Korea. *Korean J. Microbiol.* **48**, 102-108.
- Ko, E.M., Seok, W.S., Lee, T.J., Im, E.J., and Son, S.Y.** 2008. Epidemiological characteristics of gastroenteritis outbreaks by norovirus in Gangwon-do 2007. *Rep. Inst. Kang-won Health & Environment* **19**, 30-40.
- Kroneman, A., Vega, E., Vennema, H., Vinjé, J., White, P.A., Hansman, G., Green, K., Martella, V., Katayama, K., and Koopmans, M.** 2013. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch. Virol.* **158**, 2059-2068.
- Ku, P.T., Kim, N.H., Hwang, S.J., Park, D.J., and Lee, M.O.** 2014. Epidemic patterns and molecular genetic analysis of diarrhea-causing viruses related to food-borne illness in Busan. *Rep. Inst. Busan Metropolitan city Health & Environment.* **24**, 9-18.
- Lu, J., Fang, L., Zheng, H., Lao, J., Yang, F., Sun, L., Xiao, J., Lin, J., Song, T., Ni, T., et al.** 2016. The evolution and transmission of epidemic GII.17 noroviruses. *J. Infect. Dis.* **214**, 556-564.
- Lu, J., Sun, L., Fang, L., Yang, F., Mo, Y., Lao, J., Zheng, H., Tan, X., Lin, H., Rutherford, S., et al.** 2015. Gastroenteritis outbreaks caused by norovirus GII.17, Guangdong Province, China, 2014-2015. *Emerg. Infect. Dis.* **21**, 1240-1242.
- Matsushima, Y., Ishikawa, M., Shimizu, T., Komane, A., Kasuo, S., Shinohara, M., Nagasawa, K., Kimura, H., Ryo, A., Okabe, N., et al.** 2015. Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. *Euro Surveill.* **20**, 2-7.
- Noel, J.S., Fankhauser, R.L., Ando, T., Monroe, S.S., and Glass, R.I.** 1999. Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution. *J. Infect. Dis.* **179**, 1334-1344.
- Park, P.H., Park, M.K., Park, E.M., Cho, H.G., Lee, H.K., Yoon, M.H., and Lee, J.B.** 2013. Molecular epidemiological study of norovirus-associated gastroenteritis outbreaks in Gyeonggi from 2011 to 2013; Emergence and spread of GII.4-2012 Sydney variants. *Rep. Inst. Gyeonggi-Do Health & Environment* **26**, 23-35.
- Teunis, P.F., Moe, C.L., Liu, P., Miller, S.E., Lindesmith, L., and Baric, R.S.,** 2008. Norwalk virus: how infectious is it? *J. Med. Virol.* **80**, 1468-1476.
- Thorne, L.G. and Goodfellow, I.G.** 2014. Norovirus gene expression and replication. *J. Gen. Virol.* **95**, 278-291.
- Vinje J.** 2015. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *J. Clin. Microbiol.* **53**, 373-381.