

## 원수, 정수, 그리고 수도꼭지수에서의 감염성 수인성 바이러스 분석

권순복 · 이규철<sup>†</sup>

한국수자원공사 수돗물분석연구센터

### Surveying Infectious Waterborne Viruses in Source, Treated, and Tap Water

Soonbok Kwon and Gyucheol Lee<sup>†</sup>

Water Research and Analysis Center, Korea Water Resources Corporation, Sintanjin-ro 560, Dedeok-gu, Daejeon 306-711, Korea

A total culturable virus assay was conducted with samples obtained from five water treatment plants to survey waterborne viruses in source, treated, and tap water. In case of the source water, waterborne viruses were detected from three source water samples: 1.0, 14, and 5.8 MPN/100 L. No viruses were detected in the treated and tap water samples. The results of the integrated cell culture reverse transcription PCR and the nucleotide sequence analysis showed that the VP1 region of enterovirus was amplified in the water treatment plant, 1's virus-positive samples, and that the nucleotide sequence was very similar to that of the coxsackievirus type B3. Since the nucleotide sequence was also very similar to that of the coxsackievirus type B3 isolated from an aseptic meningitis patient in Korea, it is very reliable that the viruses might have circulated from humans to the water system. This study found that there were no infectious viruses in the treated and tap water samples from five water treatment plants, but did not guarantee there were infectious viruses in all treated and tap water sources in Korea.

**Key words:** waterborne viruses, tap water, coxsackievirus type B3, ICC RT-PCR

#### 1. 서 론

수인성 장관계 바이러스(waterborne enteric viruses)는 지표수, 하수, 해수 등 물에 의해 전파되고 감염된다. 이들 수인성 바이러스는 사람 또는 동물의 장내에서 증식하고, 주로 설사 등의 임상 증상을 나타내는 감염 뿐 아니라, 마비, 심근염, 수막염 등의 심각한 질병도 유발할 수 있다<sup>1~6</sup>). 바이러스에 감염된 환자로부터 배출되는 장관계 바이러스는 주로 분변에  $10^8 \sim 10^{10}$  입자/g의 농도로 존재하는 것으로 알려져 있으며<sup>7</sup>), 이들은 하천이나 호소 등 상수원을 오염시킬 수 있다<sup>8</sup>).

이러한 수인성 장관계 바이러스는 어린이나 노인 등 면역체계가 약한 사람들에게 치명적일 수 있으며<sup>9~12</sup>), 낮은 개체수로도 인체에 심각한 급성 질병을 일으킬 수

있어 매우 위험하다고 알려져 있다<sup>13</sup>). 이러한 위험성으로 인해 바이러스와 관련된 수질 기준이 세계적으로 강화되고 있는 실정이며, 바이러스를 상수 원수에서 검출하고 모니터링하는 것은 환경보건학적 측면에서 매우 중요하다<sup>14</sup>). 국내의 경우 환경부의 정수처리에 관한 기준<sup>15</sup>)에 의해 일 정수량 5만 톤 이상의 정수장 원수에 대해 전국 규모의 바이러스 분포실태조사가 이루어진 바 있다. 이 등(2006)의 보고에 따르면, 상수 원수에서의 바이러스 검출율은 32.8%이고<sup>16</sup>), 검출 농도는 3.8 MPN/100 L이며, 이 등(2000) 역시 바이러스의 검출율이 33.4%라고 보고한 바 있다<sup>17</sup>).

정수 또는 수도꼭지수의 경우, 일부 지역 수도꼭지수에서 아데노바이러스(adenovirus)와 엔테로바이러스(enterovirus)의 유전자를 검출했다는 보고와<sup>14</sup>), 1997년

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: glee@kwater.or.kr

부터 1998년 사이 연구 결과 수도꼭지수에서 감염성 있는 아테노바이러스와 엔테로바이러스를 검출했다는 보고가 있었을 뿐<sup>18)</sup>, 인간이 직접 음용하는 정수나 수도꼭지수에 대한 바이러스 조사·연구는 매우 드물다.

따라서 본 연구에서는 정수나 수도꼭지수에 감염성 있는 수인성 바이러스가 존재하는지 그렇다면 어떤 종류의 바이러스가 존재하는지 알아보려고 5개 정수장의 원수, 정수, 그리고 수도꼭지수 시료를 대상으로 총배양성바이러스분석법과 역전사중합효소연쇄반응법을 수행하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 조사 지점 및 대상

이 등(2006)<sup>16)</sup>의 발표를 참고로, 바이러스 검출빈도가 높으며(총 8회중 5회 이상 검출), 국내 수계를 대표할 수 있는 5개 정수장을 조사 대상으로 하였다(Fig. 1). 각 정수장 별로 원수 1개, 정수 1개, 그리고 수도꼭지수 2개(단, J 정수장의 경우 3개) 시료를 조사하였다(Table 1).

### 2.2. 세포 및 바이러스

수인성 바이러스 분석을 위해 Buffalo green monkey kidney (BGMK, 국립환경과학원 분양) 세포를 사용하였다. 세포 배양을 위해 5% fetal bovine serum (FBS, Gibco<sup>TM</sup>, Invitrogen, Grand Island, NY, USA), penicillin (Invitrogen)과 streptomycin (Invitrogen)이 각각 100 units/mL, 100 µg/mL이 포함된 MEM/L-15 배지 (Invitrogen)를 사용하였다. 36.5 ± 0.5°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 세포배양기에서 배양하였으며, 세포병변효과 양성 대조군으로 약독화된 폴리오바이러스 3형 (poliovirus type 3, 국립환경과학원 분양)을 사용하였다.

### 2.3. 총배양성바이러스분석법

채수장비와 방법은 환경부의 정수처리에 관한 기준<sup>15)</sup>을 따랐으며, 이 등(2006)의 발표에서 기술한 방법을 참고로 하였다<sup>16)</sup>. 요약하면, 원수의 경우 200 L, 정수와 수도꼭지수의 경우 1,500 L를 1-MDS 양전하 필터 (CUNO, Meriden, CT, USA)를 이용하여 채수하였고, 멸균된 1 L의 1.5% 소고기엑기스 (beef extract, pH 9.5, 0.375% glycerin, Becton, Dickinson and Com-

**Table 1.** Five water treatment plants and sampling information.

WTP	Water source	Water samples	Sampling date	Temp. (°C)	pH	Turbidity (NTU <sup>a</sup> )
G	Nakdonggang	Source	2005.7.26	28.1	7.6	12.00
		Treated	2005.7.26	29.0	7.1	0.04
		Tap 1	2005.7.26	29.4	7.3	0.05
		Tap 2	2005.7.27	28.8	7.2	0.05
S	Geumgang	Source	2005.8.16	25.9	7.0	5.00
		Treated	2005.8.16	26.6	6.5	0.03
		Tap 1	2005.8.16	26.6	6.5	0.03
		Tap 2	2005.8.17	26.5	7.1	0.03
J	Hangang	Source	2005.10.5	19.9	7.4	14.00
		Treated	2005.10.5	20.0	7.0	0.04
		Tap 1	2005.10.5	19.0	6.9	0.04
		Tap 2	2005.10.7	19.1	7.0	0.16
		Tap 3	2005.10.7	19.4	6.7	0.10
B	Nakdonggang	Source	2005.11.29	15.5	8.8	17.40
		Treated	2005.11.30	15.5	7.6	0.03
		Tap 1	2005.11.29	15.0	7.5	0.04
		Tap 2	2005.11.30	15.0	7.6	0.03
I	Hangang	Source	2005.12.12	2.7	7.8	6.56
		Treated	2005.12.12	2.8	7.4	0.03
		Tap 1	2005.12.12	2.8	7.4	0.04
		Tap 2	2005.12.12	3.0	7.5	0.06

NTU<sup>a</sup>, Nephelometric turbidity units

pany, Sparks, MD, USA) 용액을 이용하여 탈리·농축하였다. 농축된 시료는 T25 세포배양용기 (Nalge Nunc, Rochester, NY, USA)에 배양한 BGMK 세포에 접종하였으며, 총 14일간 세포병변효과를 현미경으로 관찰하였다. 바이러스 정량을 위해 미 환경보호청 (United States Environmental Protection Agency)에서 제공하는 최적확수(most probable numbers, MPN) 계수 소프트웨어 (ICR MOST PROBABLE NUMBER CALCULATOR Version 1.00)를 이용하였다.

#### 2.4. RNA 추출과 역전사중합효소연쇄반응(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)

총배양성바이러스분석 결과 바이러스 양성으로 판정된 배양시료로부터 QIAamp Viral RNA Minikit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 이용하여 제조사의 추천 방법을 따라 RNA를 추출하였다. 추출된 바이러스의 RNA를 RNase가 없는 물 50  $\mu$ L에 용해시켜 RT-PCR의 주형으로 사용하였다. 엔테로바이러스의 5' non coding region (5'-NCR) 부위를 증폭시키기 위해서 엔테로바이러스 검출 키트(질병관리본부 제공)를 사용하였다. 역전사 조건은 45°C, 30분 반응 후 94°C, 3분 반응이었으며, 역전사 반응 산물인 cDNA를 주형으로 94°C에서 30초, 54°C에서 30초, 72°C에서 45초 동안 총 35회 반복, 72°C에서 7분간 추가 반응을 시켜 PCR 산물을 얻었다. 엔테로바이러스의 VP1 유전자를 증폭시키기 위한 역전사 조건은 50°C에서 30분 반응 후 94°C, 3분 반응이었으며, 이렇게 얻은 cDNA를 주형으로 하여 94°C에서 30초, 42°C에서 30초, 60°C에서 30초 동안 총 35회 반복하였고, 72°C에서 5분간 추가 반응 시켜 PCR 산물을 얻었다. RT-PCR을 위해 사용한 primer는 Table 2에 나타내었으며, RT-PCR 기기는 GenAmp PCR System 9700(Applied Biosystems, Foster city, USA)을 사용하였다.

#### 2.5. 염기서열 및 유전형 분석

QIAquick Gel extraction kit(QIAGEN)을 이용하여 PCR 산물을 정제하였으며, ABI PRISM 377(Applied Biosystems)을 이용하여 염기서열을 분석하였다. 획득한 유전자 염기서열은 GenBank에 등록하여 accession number를 부여받았고(DQ917797), 엔테로바이러스의 유전형을 알아보기 위해 BLASTN(version 2.2.16)을 이용하여 염기서열을 분석하였다.

#### 2.6. 총 대장균(total coliforms) 분석

적정량을 희석한 원수 100 mL를 멸균된 여과장치 (Millipore, Billerica, MA, USA)를 이용하여 공극 0.45  $\mu$ m, 지름 47 mm의 멸균된 여과막(Advantec MFS, Inc., Dublin, CA, USA)을 통해 여과한 후, 이것을 Difco m Endo agar LES(Becton, Dickinson and company) 배지, 35 $\pm$ 0.5°C 조건에서 24 $\pm$ 2시간 배양하였다. 암적색의 금속광택을 띠는 집락(colony)의 수가 20~80 범위에 드는 것을 계수하여 100 mL 중 총 대장균군 집락수(colony forming units(CFU)/100 mL)로 나타내었다.

#### 2.7. 분원성 대장균군(fecal coliforms) 분석

적정량을 희석한 원수 100 mL를 총 대장균군에서 사용한 방법과 동일하게 여과한 후, 이것을 Difco m FC agar(Becton, Dickinson and company) 배지, 44.5 $\pm$ 0.2°C 조건에서 24 $\pm$ 2시간 동안 배양하였다. 파란색의 집락수가 20~60 범위에 드는 것을 계수하여 100 mL 중 분원성 대장균군수 단위(CFU/100 mL)로 표시하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 수인성 바이러스의 검출

본 연구에서 원수 뿐 아니라 정수와 수도꼭지수에 감염성 있는 수인성 바이러스가 존재하는지 알아본 결과, 직접 음용하는 물이라고 할 수 있는 정수와 수도꼭

Table 2. Oligonucleotide primers used in this study for ICC RT-PCR amplification of enteroviruses.

Primers	Sequences(5'3')	Size	Target
ENT-F	CAA GCA CTT CTG TTT CCC CGG	436 bp	5'-NCR
ENT-R	ATT GTC ACC ATA AGC AGC CA		
Forward	MIG CIG YIG ARA CNG G	340 bp	VP1
Reverse	CIC CIG GIG GIA YRW ACA T		

지수에는 감염성 바이러스가 존재하지 않음을 알 수 있었다. 이 등(2006)<sup>16)</sup>의 문헌을 참고로 원수에 대한 바이러스 분포실태조사 8회 중 5회 이상 검출된 정수장 5곳을 선정하였다(Fig. 1). 원수의 경우 S, B, 그리고 I 정수장의 시료를 접종한 세포에서 세포병변효과가 관찰되어(Fig. 2) 이를 바이러스 양성으로 판정하였다. S 정수장 원수의 경우 1.0 MPN/100 L의 농도로, B 정수장 원수의 경우 14 MPN/100 L, 그리고 I 정수장 원수의 경우 5.8 MPN/100 L의 농도로 바이러스가 검출되었다(Table 3). B 정수장과 I 정수장 원수의 경우, 이 등(2006)<sup>16)</sup>이 발표한 바이러스 평균 검출농도 3.18 MPN/100 L에 비해 높은 농도로 검출되었지만, 정수처리에 관한 기준에서 정수에 대해 추가 분포실태조사를 하도록 규정한 원수의 최대 바이러스 농도 기준인 100 MPN/100 L에 비해서는 모두 낮은 수준이었다. 이는 3개 정수장의 원수에 바이러스가 존재하더라도 정수처리과정에서 모두 제거될 수 있음을 의미하며, 실제로 3개 정수장의 원수에서 바이러스가 검출되었음에도 불구하고, 이들 정수장의 정수와 수도꼭지수에 대한 총배양성바이러스분석법 실험 결과, 모든 시료에서 감염성

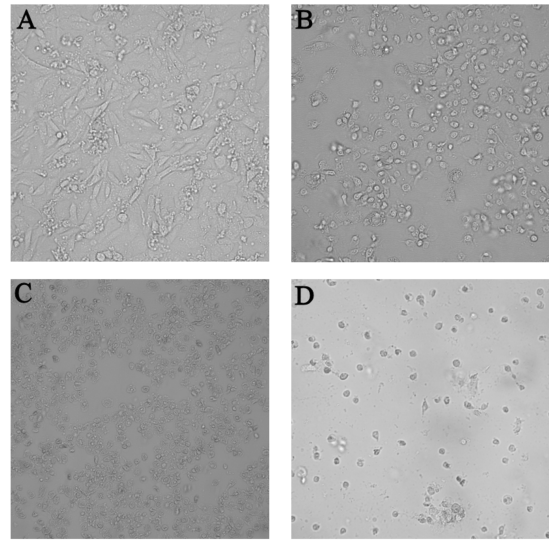


Fig. 2. Cytopathic effect observed on waterborne viruses-infected BGMK cells. A, negative control; B, S-sample inoculated BGMK; C, B-sample inoculated BGMK; I-sample inoculated BGMK.

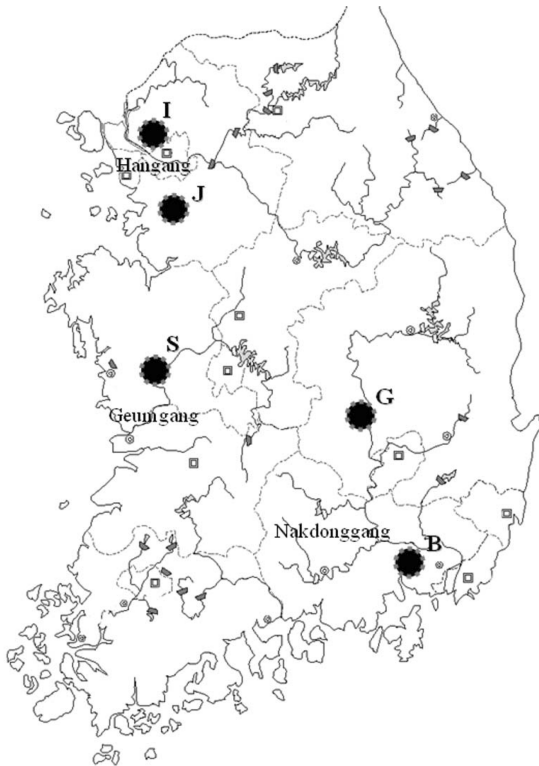


Fig. 1. Sampling sites for surveying waterborne viruses in source, treated, and tap water.

Table 3. Detection of waterborne viruses, total coliforms, and fecal coliforms in source, treated, and tap water samples from five water treatment plants.

WTP	Water samples	Virus <sup>a</sup>	T.C. <sup>b</sup>	FC. <sup>c</sup>
G	Source	0.0	16	5
	Treated	0.0	N.D <sup>d</sup>	N.D
	Tap 1	0.0	N.D	N.D
	Tap 2	0.0	N.D	N.D
S	Source	1.0	630	450
	Treated	0.0	N.D	N.D
	Tap 1	0.0	N.D	N.D
	Tap 2	0.0	N.D	N.D
J	Source	0.0	400	N.D
	Treated	0.0	N.D	N.D
	Tap 1	0.0	N.D	N.D
	Tap 2	0.0	N.D	N.D
	Tap 3	0.0	N.D	N.D
B	Source	14	21	2
	Treated	0.0	N.D	N.D
	Tap 1	0.0	N.D	N.D
	Tap 2	0.0	N.D	N.D
I	Source	5.8	460	10
	Treated	0.0	N.D	N.D
	Tap 1	0.0	N.D	N.D
	Tap 2	0.0	N.D	N.D

Virus<sup>a</sup>, MPN/100 L; T.C.<sup>b</sup>, total coliform, CFU/100 mL; FC.<sup>c</sup>, Fecal coliform, CFU/100 mL; N.D<sup>d</sup>, not detected.

있는 바이러스가 검출되지 않았다(Table 3). 이는 채수 시기의 3개 정수장 소독능이 정수처리기준에 적합하게 유지되고 있었기 때문이라고 사료된다.

### 3.2. ICC RT-PCR

총배양성바이러스분석법의 경우 감염성 있는 바이러스를 검출할 수 있다는 장점이 있는 반면, 바이러스의 종류를 알 수 없다. 이러한 단점을 해결하기 위해 총배양성바이러스분석법과 PCR 등의 분자생물학적 방법들을 융합시킨 integrated cell culture(ICC)-PCR 등에 대한 연구들이 보고되었다<sup>19~21</sup>). 본 연구에서 총배양성 바이러스분석법에 의해 바이러스 양성으로 판정된 S, B, 그리고 I 정수장의 원수 시료에 어떤 종류의 엔테로바이러스가 존재하는지 알아보기 위해 ICC RT-PCR을 수행하였다. 엔테로바이러스는 *picornaviridae*에 속하는 바이러스로, 폴리오바이러스(poliovirus), 콕사키바이러스(coxsackievirus) A형과 B형, 에코바이러스(echovirus), 그리고 엔테로바이러스 68~71형으로 분류되며<sup>21~23</sup>), 소아마비, 심근염, 수막염, 장염, 등을 유발하여 노약자나 소아에게 치명적일 수 있는 바이러스이다<sup>24</sup>). 엔테로바이러스의 유전형을 조사하기 위한 연구에 주

로 5'-NCR이나 VP1 부분의 염기서열이 이용된다. 5'-NCR은 임상에서 엔테로바이러스를 신속하게 검출하기 위한 PCR의 주요 증폭 부위이고, 분자생물학적 역학연구와 진화연구에 많이 사용되고 있으며, VP1 유전자의 경우 이를 분석한 바이러스 유전형(genotypes)이 바이러스의 혈청형(serotypes)과 잘 부합되어 최근 엔테로바이러스의 유전형 연구에 많이 활용되고 있다<sup>25~28</sup>). 본 연구에서 두 유전자에 대해 ICC RT-PCR을 수행한 결과, I 정수장의 양성 시료에서만 VP1 유전자가 증폭되었다(Fig. 3). 총배양성바이러스분석법에 의해 양성으로 판정된 시료로부터 추출한 RNA로 RT-PCR을 수행

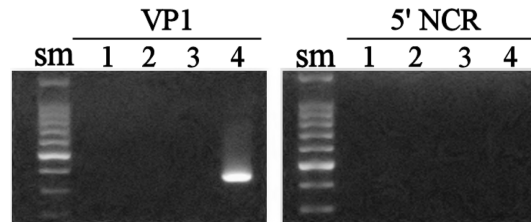


Fig. 3. Amplification of VP1 and 5' NCR region of enterovirus by ICC RT-PCR. sm, 100 bp size marker; lane 1, negative control; lane 2, S-sample; lane 3, B-sample; lane 4, I-sample.

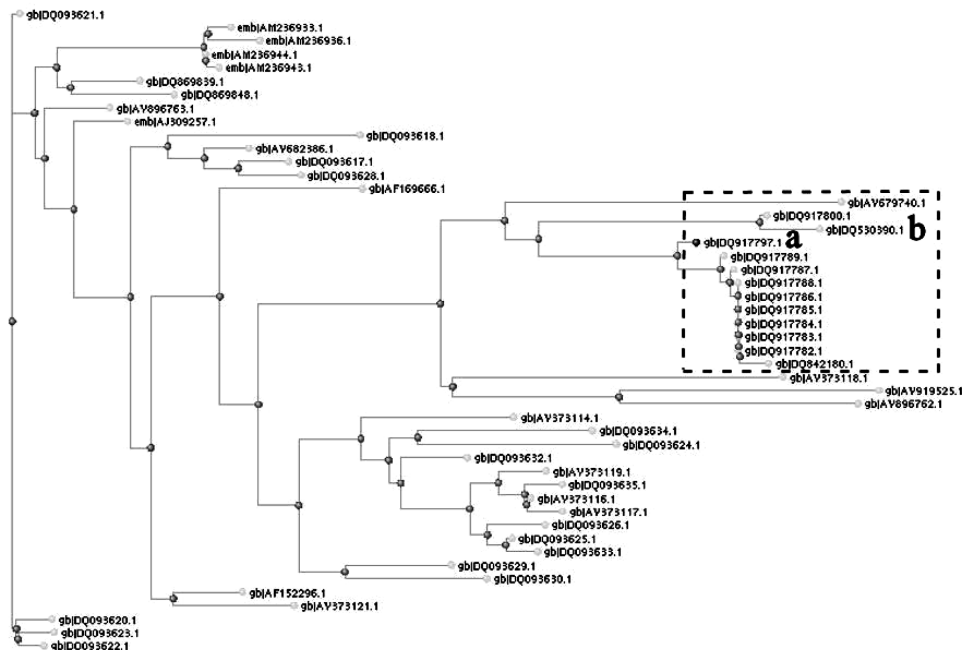


Fig. 4. Molecular phylogenetic analysis. Neighbor Joining tree was drawn by BLASTN (version 2.2.16.) and Jukes-Cantor method was used to calculate the distances. a, nucleotide sequence of VP1 region amplified from I-source water sample-inoculated BGMK cells; b, nucleotide sequence of VP1 region amplified from coxsackievirus type B3 isolated from an aseptic meningitis patient.

하였음에도 불구하고, 3개 시료에서 5'-NCR 유전자가 전혀 증폭되지 않았고, VP1을 대상으로 한 경우에도 2개 시료에서 유전자가 증폭되지 않은 이유는 엔테로바이러스 외의 다른 바이러스들이 BGMK 세포에 감염하여 세포병변효과를 나타냈기 때문이라고 사료된다. 수인성 바이러스들은 BGMK 세포에 대해 다양한 감염 능력의 차이가 있다. 이것은 BGMK 한 종류의 세포만을 사용하는 총배양성바이러스분석법의 단점이기도 하다. 이러한 단점을 해결하기 위해 다양한 세포들을 이용한 방법들이 연구되어지고 있다<sup>29)</sup>.

### 3.3. 염기서열분석 및 분자진화학적 연구

I 정수장 원수 시료의 엔테로바이러스 유전형형을 알아보기 위해, ICC RT-PCR에 의해 증폭된 VP1 amplicon의 염기서열로 BLASTN을 실행하였다. 그 결과, 유사성이 높은 염기서열들의 바이러스 유전형 중 53%가 콕사키바이러스 B3형이었다. 이는 I 정수장의 원수 시료에 콕사키바이러스 B3형이 존재한다는 것을 의미하는 결과이다. BLASTN 결과 max score가 높은 50개의 염기서열을 선택하여 유전적 분류를 수행한 결과 한국에서 등록된 엔테로바이러스의 염기서열들과 클러스터(cluster)를 형성하는 관찰할 수 있었으며(Fig. 4. 점선상자), 이 클러스터 내 염기서열 중 DQ530390은 실제 한국의 수막염 환자에서 분리된 콕사키바이러스 B3형의 염기서열이었다(Fig. 4a와 b). 이 결과는 환자로부터 분리된 콕사키바이러스 B3형과 I 정수장 원수 시료에 존재하는 바이러스가 매우 유사한 유전형임을 의미한다.

## 4. 결 론

1. 5개 정수장의 원수, 정수, 그리고 수도꼭지수에 감염성 있는 수인성 바이러스가 존재하는지 알아본 결과, 원수의 경우 3개 정수장 원수에서 바이러스가 검출되었으나, 정수 및 수도꼭지수에서는 검출되지 않았다.

2. ICC RT-PCR과 염기서열 분석 결과, I 정수장의 원수 시료에 콕사키바이러스 B3형이 존재한다는 것을 알 수 있었으며, 이것이 환자로부터 분리된 콕사키바이러스 B3형과 매우 유사한 유전형이라는 것을 알 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 한국수자원공사 수자원연구원 수돗물분석

연구센터에서 수행되었습니다. 본 논문을 세심하게 살펴 주신 이상태 센터장님과 정상기 박사님께 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 정은영, 정종문, 류재익, 신관세, 전홍기, 장경립, *생명과학회지*, **2000**, 10, 484-489.
2. M. Abbaszadegan, M. S. Huber, C. P. Gerba and I. L. Pepper, *Appl Environ Microbiol*, **1993**, 59, 1318-1324.
3. E. Dubois, G. Merle, C. Roquier, A.L. Trompette, F Le Guyader, C. Cruciere and J.J. Chomel, *Int J Food Microbiol*, **2004**, 92, 35-43.
4. F. Le Guyader, E. Dubois, D. Menard and M. Pommepuy, *Appl Environ Microbiol*, **1994**, 60, 3665-3671.
5. M. Muscillo, A. Carducci, G. La Rosa, L. Cantiani and C. Marianelli, *Water Res*, **1997**, 31, 1980-1984.
6. D. Papaventsis, N. Siafakas, P. Markoulatos, G.T. Papageorgiou, C. Kourtis, E. Chatzichristou, C. Economou and S. Levidiotou, *Appl Environ Microbiol*, **2005**, 71, 72-79.
7. M.J.G. Farthing, "Viruses and the gut", **1989**, Smith Kline & French, United Kingdom.
8. 박홍기, 정은영, 이유정, 정종문, 최동훈, 손희중, 권기원, 홍용기, *생명과학회지*, **2003**, 13, 197-205.
9. M. Beller, A. Ellis, S.H. Lee, M.A. Drebot, S.A. Jenkerson, E. Funk, M.D. Sobsey, O.D. Simmons III, S.S. Monroe, T. Ando, J. Noel, M. Petric, J.P. Middaugh and J.S. Spika, *JAMA*, **1997**, 278, 563-568.
10. G.S. Fout, B.C. Martinson, M.W. Moyer and D.R. Dahling, *Appl Environ Microbiol*, **2003**, 69, 3158-3164.
11. J.R. Harris, M.L. Cohen and E.C. Lippy, *J Infect Dis*, **1983**, 148, 759-762.
12. H.W. Lawson, M.M. Braun, R.I. Glass, S.E. Stine, S.S. Monroe, H.K. Atrash, L.E. Lee and S.J. Engler, *Lancet*, **1991**, 337, 1200-1204.
13. C.N. Haas, J.B. Rose, C.P. Gerba and R. Regli, *Risk Anal*, **1993**, 13, 545-552.
14. H.B. Cho, S.H. Lee, J.C. Cho and S.J. Kim, *Can J Microbiol*, **2000**, 46, 417-424.
15. 환경부, **2002**, 환경부고시 제2002-106호.
16. 이규철, 지연숙, 이찬희, 이상태, *J Bacteriol Virol*, **2006**, 36, 279-285.
17. 이보영, 황만식, 문지영, 정 용, 신영오, 이옥재, *대한상하수도학회 한국물환경학회 공동추계 학술발표논문집*, **2000**, A-14, 69-72.
18. S.H. Lee and S.J. Kim, *Water Res*, **2002**, 36, 248-256.
19. G. Ko, T.L. Cromeans and M.D. Sobsey, *Appl Environ*

- Microbiol*, **2003**, 69, 7377-7384.
20. T. Matsushita, Y. Matsui and N. Shirasaki, *Water Sci Tech*, **2006**, 53, 199-207.
21. D. Papaventsis, N. Sifakas, P. Markoulatos, G.T. Papageorgiou, C. Kourtis, E. Chatzichristou, C. Economou and S. Levidiotou, *Appl Environ Microbiol*, **2005**, 71, 72-79.
22. H. Norder, L. Bjerregaard, L. Magnius, B. Lina, M. Aymard and J.J. Chomel, *J Gen Virol*, **2003**, 84, 827-836.
23. M. Oberste, D. Schnurr, K. Maher, S. al-Busaidy and M. Pallansch, *J Gen Virol*, **2001**, 82, 409-416.
24. N. Thapar and I.R. Sanderson, *Lancet*, **2004**, 363, 641-653.
25. V. Caro, S. Guillot, F. Delpyroux and R. Crainic, *J Gen Virol*, **2001**, 82, 79-91.
26. J. R. Romero, *Arch Pathol Lab Med*, **1999**, 123, 1161-1169.
27. I. Thoelen, E. Moes, P. Lemey, S. Mostmans, E. Wollants, A.M. Lindberg, A.M. Vandamme and M. Van Ranst, *J Clin Microbiol*, **2004**, 42, 963-971.
28. I. Thoelen, P. Lemey, I. Van der Donck, K. Beuselinck, A.M. Lindberg and M. Van Ranst, *J Med Virol*, **2003**, 70, 420-429.
29. Y.T. Huang, P. Yam, H. Yan and Y. Sun, *J Clin Microbiol*, **2002**, 40, 366-371.