

거대세포바이러스 감염증의 조기진단을 위한 PCR 및 early antigen 면역염색법의 유용성

신혜정 · 김현경 · 김현숙

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실

The Usefulness of PCR and Early Antigen Immunostaining as a Rapid Identification Method of Cytomegalovirus Infection

Hea Jung Shin, M.D., Hyun Kyung Kim, M.D., and Hyon-Suk Kim, M.D.

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Cytomegalovirus infection is an important cause of morbidity and mortality after organ transplantation. Thus, rapid, sensitive and specific laboratory test, such as CMV antigenemia assay and polymerase chain reaction (PCR) is necessary to determine a patient's risk of CMV disease and to monitor the effectiveness of antiviral therapy. We compared the results of CMV-PCR and CMV early antigen immunostaining (CMV-EA) with CMV-specific IgM antibody to evaluate clinical usefulness for the early diagnosis of CMV infection and monitoring of antiviral therapy.

Methods : We analyzed 170 samples submitted for CMV tests between September 1995 and April 1996 in Yonsei University College of Medicine Severance Hospital. CMV-PCR and CMV-EA were performed with buffy coat cells and detection of CMV-specific IgM antibody was performed by enzyme-linked fluorescent assay (ELFA).

Results : One hundred and seventy samples of 159 patients were tested and analyzed. The concordance rate of CMV-PCR, CMV-EA and CMV-specific IgM in the same blood sample was 75.3%. The total incidence of CMV disease was 2.5%. The sensitivity and specificity based on the patients' clinical status of PCR were 100% and 91.6% respectively. In CMV-EA immunostaining method, they were 75.0% and 100% respectively. And, for CMV-specific IgM antibody ELFA, the sensitivity was only 50.0% and the specificity was 96.4%.

Conclusions : CMV-PCR and CMV-EA immunostaining are reliable methods as rapid early detection of CMV infection. The sensitivity and specificity are very high comparing to CMV-specific IgM antibody. It could also be concluded that they have advantages not only for early diagnosis but also monitoring or follow-up of a therapeutic course as quantitative assays. (*Korean J Clin Pathol 1998; 18: 452-7*)

Key words : Cytomegalovirus (CMV), Transplantation, Polymerase chain reaction (PCR), CMV early antigen (CMV-EA) immunostaining, CMV-specific IgM/IgG antibody

서론

거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV)감염은 장기이식 환자에서 이식후 사망을 초래할 수 있을 뿐아니라 이식편의 생착에

실패를 초래할 수 있는 중요한 원인이 되고 있다. 또한 면역기능이 저하되어 있는 경우 다른 기회감염균에 의한 유병률이 증가될 수도 있다[1, 2]. 따라서 종양환자나 장기이식 환자들이 늘고 있는 요즘, CMV감염을 조기에 손쉽게 진단할 수 있는 검사법이 필요한 실정이다.

CMV감염을 진단하기 위한 검사법 중 현재 가장 널리 이용되고 있는 것은 혈청학적 항체검사법으로 이는 감염 후 1-2주가 지나야만 CMV특이항체가 검출되며, 면역기능이 저하되어 있는 사람에서는 항체 합성기능이 떨어져 있어 위음성 결과를 나타낼 수도 있

접 수 : 1998년 7월 16일 접수번호: KJCP1190
수정본접수 : 1998년 7월 30일
교신저자 : 김현숙
우 120-752 서울특별시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 임상병리과학교실
전화 : 02-3497-3531, Fax : 02-3462-9493

기 때문에 CMV감염을 조기진단하는 데는 별 도움이 되지 못한다 [1]. 또한 확진을 위하여 이용되고 있는 바이러스 배양법은 배양방법 자체가 까다로우며 시간이 오래 걸리는 단점이 있고 [1, 3, 4], 동소보합결합법 (in situ hybridization)은 민감도는 높으나 조직생검에만 적용이 가능하다는 제한점을 가지고 있다 [5, 6]. 따라서 본 연구에서는 CMV감염의 조기진단법으로서 민감도와 특이도가 높은 방법으로 알려져 있는 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction, PCR)과 early antigen (EA)면역염색법의 임상적 유용성을 검토해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1995년 9월부터 1996년 4월까지 신촌세브란스병원 임상병리과에 CMV특이항체 (CMV-specific IgM/IgG antibody), CMV early antigen검사 (CMV-EA) 및 CMV-PCR검사가 의뢰되었던 159명의 환자로부터 얻어진 170검체를 대상으로 하였다. 159명의 환자군은 남자가 91명, 여자가 68명이었으며 평균연령은 37세 (13-79세)이었다.

170검체는 장기이식 후 CMV감염이 의심되는 검체 52예 (신장 이식 45예, 골수이식 7예), 말기신부전 환자에서 신장이식 전 CMV에 대한 면역혈청학적 상태를 알아보기 위하여 의뢰된 검체 57예, 장기이식을 위한 공여자 선별검사를 위하여 의뢰된 검체 48예 및 장기이식 이외의 기타질환에서 임상적으로 CMV감염이 의심되어 의뢰된 검체 13예 등이었다.

2. 방법

1) CMV특이항체 (CMV-specific IgM/IgG Ab)

Alkaline phosphatase labelled monoclonal anti-human IgM/IgG를 conjugate로, 4 methyl-umbelliferyl-phosphate를 기질로 한 효소면역형광법에 의하여 CMV특이항체를 측정하였다 (VIDAS, bioMerieux Vitex, Inc., France). CMV-specific IgG는 6 aU/mL 이상을, CMV-specific IgM은 상대형광지수 (relative fluorescence index, RFI)가 0.9 이상일 때를 양성으로 정의하였다. CMV-specific IgM 항체 (CMV-IgM)는 150 검체에 대하여, CMV-specific IgG 항체는 149 검체에 대하여 각각 실시하였다.

2) CMV-early antigen (CMV EA)검사

CMV early antigen 검사는 상품화된 Clonab CMV kit (Bio-test AG, Landsteinerstrasse, Dreieich, Germany)를 이용하여 면역염색법으로 검사를 하였다. Citrate 또는 EDTA를 항응고제로 한 전혈 4-6 mL에 dextran 2 mL로 적혈구를 침강시켜 buffy coat층을 분리하였다. 백혈구 부유액을 슬라이드에 분주하여 한 개

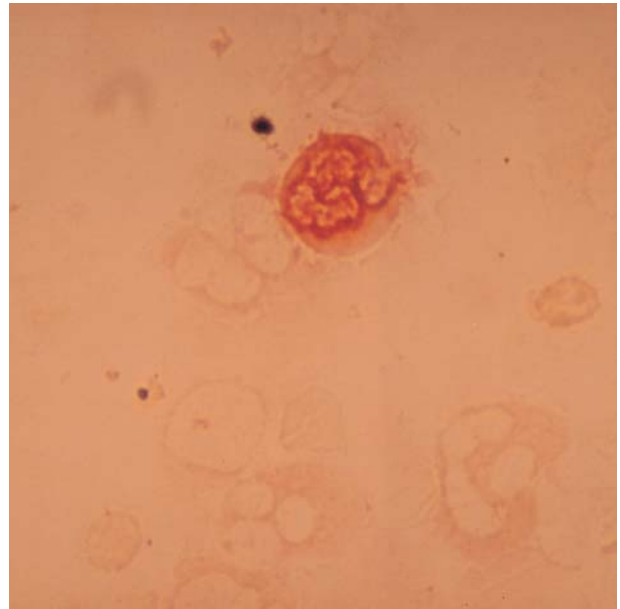


Fig. 1. CMV early antigen positive polymorphonuclear leukocytes in CMV-EA immunostaining method ($\times 1,000$).

의 슬라이드상 2×10^5 개의 백혈구가 되도록 550 rpm에서 5분간 세포원심분리를 한 후 4°C에서 acetone-methanol용액 (1:1)으로 고정시켜 CMV-pp65 antigen에 대한 단클론성 항체인 Clonab CMV, bridging antibody인 쥐에 대한 토끼혈청의 면역글로불린, alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase면역복합체 (APAAP complex)를 차례로 반응시킨 후 기질발색시약으로 염색하였다. 광학현미경 하에서 백혈구핵이 적색으로 염색되는 것을 CMV-pp65 양성으로 하였고, 2개의 슬라이드 (총 4×10^5 개의 세포)에서 염색되는 세포가 전혀 관찰되지 않을 때를 음성으로 판독하였다. 고배율 ($\times 1,000$)에서 1,000개의 세포당 관찰되는 항원 양성 세포수를 positive score로 점수화하였다 (Fig. 1).

3) 중합효소연쇄반응 (CMV-PCR)

(1) DNA추출

DNA추출은 상품화된 guanidine-detergent lysing solution (DNAzol[®], Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, USA)을 이용하였다. Citrate 또는 EDTA를 항응고제로 한 전혈 4-6 mL에 dextran 2 mL로 적혈구를 침강시켜 buffy coat층을 분리한 후 PBS에 재부유시켜 백혈구수가 1×10^7 cells/mL로 되도록 맞추었다. 백혈구 부유액 100 μ L를 DNAzol[®] 1 mL로 용해시킨 후, 10,000 \times g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 냉동보관된 100% ethanol과 잘 혼합한 다음, 2분간 원심분리하여 DNA 침전체를 만들었다. 95% ethanol로 2회 세척하여 실온에서 1시간 정도 건조시킨 후 증류수에 녹여서 DNA 추출액을 만들었다.

(2) 중합효소연쇄반응

CMV-PCR은 early antigen 단백질 유전자에 대한 시발체 (primer)들을 사용하였으며 (Table 1), nested PCR로 이중 증폭하였

Table 1. Primer pairs of the immediate early (IE) genome region of CMV

	Position	Length	Polarity	PCR product size
Outer primers				1601 bp
CMLP 1 primer	547-566	20-mer	antisense	
CMLP 2 primer	2128-2109	20-mer	sense	
Inner primers				381 bp
CMLP 3 primer	1465-1487	23-mer	antisense	
CMLP 4 primer	1823-1801	23-mer	sense	

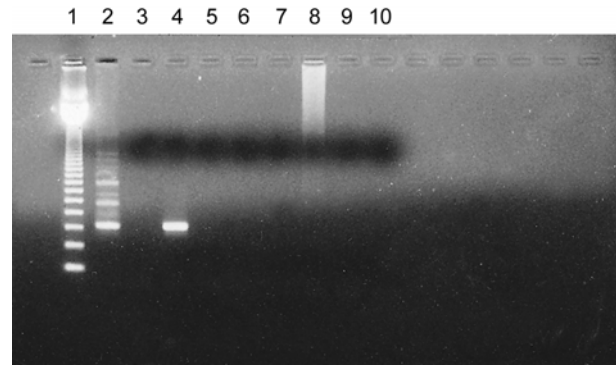
다. 1차 PCR은 MgCl₂ 50 mM, dNTPs mixture 2.5 mM each, Taq DNA polymerase 5 U/μL, outer primer 2개가 각각 15 μM 씩 포함된 반응혼합액에, 검체에서 추출한 template DNA 0.1-1.0 μg을 넣고 10 X buffer와 증류수를 가하여, Perkin Elmer thermocycler 9600 (Perkin Elmer Co., USA)을 사용하여 PCR을 시행하였다. 즉, denaturation (95°C, 1분), annealing (65°C, 1분), extension (72°C, 1분)으로 1 cycle을 시행한 후, 94°C에서 0.5분, 65°C에서 0.5분, 72°C에서 1분간 30 cycle을 시행하고 다시 95°C에서 1분, 65°C에서 1분, 72°C에서 5분간 1 cycle을 시행하였다. Nested PCR은 1차 PCR과 같은 조성의 반응혼합액에, 2개의 inner primer 15 μM씩과 1차 PCR산물 1-2 μL를 넣고 잘 혼합하여 1차 PCR과 동일한 조건으로 증폭하였다.

(3) 반응산물의 확인

PCR산물은 1.5% agarose gel에 전기영동하여 ethidium bromide로 염색한 후 UV transilluminator 위에서 band를 확인하였다. 이때, 분자량 표지자(molecular size marker)로는 123 molecular ladder DNA (Bethesda Research Laboratory, USA)를 사용하였고, 증폭된 산물의 크기가 1601 bp 또는 381 bp이면서 양성 대조 검체가 양성일, 음성대조 검체가 음성일 때만을 PCR 양성으로 판정하였다(Fig. 2).

4) CMV감염(CMV infection)과 CMV질환 (CMV disease)의 진단 기준

CMV감염은 바이러스배양에서 CMV바이러스가 검출되거나 CMV항원이나 CMV-specific IgM항체의 검출 증거가 있을 때로 정의하였고, CMV질환은 CMV감염과 함께 1)3일 이상 지속되는

**Fig. 2.** The Results of CMV-PCR.

- 1: Molecular marker
- 2: Positive control
- 3: Negative control
- 4-10: Patient samples

발열, 2) 백혈구감소증(<3,000/μL), 3) 혈소판감소증(<100,000/μL), 4) 비전형 림프구증다증, 5) 간염, 6) 간질성 폐렴, 7) 망막염, 8) 대장염, 9) 신장염 중 2개 이상의 소견을 나타내는 증거가 있을 때로 정의하였다[7].

결 과

1. 3가지 검사 방법간의 결과 비교

CMV-PCR은 170검체중 17검체(10%)에서, CMV-EA는 170검체중 3검체(1.8%)에서, CMV-specific IgM은 150검체중 7검체(4.7%)에서 양성이었다. CMV-PCR과 CMV-EA 그리고 CMV-specific IgM의 3가지 방법에서 모두 일치할 보인 검체는 170검체중 128개(75.3%)였는데 양성일치가 1개, 음성일치가 127개 있었다. 총 159명중 4명(2.5%)이 CMV 질환으로 확진되었는데 세가지 방법이 모두 양성인 검체가 1개, CMV-PCR과 CMV-EA만 양성인 검체가 2개, CMV-PCR과 CMV-specific IgM만 양성인 검체가 1개, CMV-specific IgM만 양성인 검체가 1개 있었다(Table 2). CMV질환이 없었던 164검체 중 세가지 방법 모두 음성인 검체가 127개, CMV-PCR만 양성인 검체가 13개, CMV-specific IgM

Table 2. The results of CMV-PCR, CMV-EA and CMV-specific IgM in CMV disease

Pt. No.	Result	Diagnosis	CMV disease	EA positive score	IgM RFI	Days after tpl
1	CMV-PCR(+) CMV-EA(+) CMV-IgM(+)	AML, s/p BMT	CMV enteritis	85	1.01	94
	CMV-PCR(-) CMV-EA(-) CMV-IgM(ND)			-	-	116
2	CMV-PCR(+) CMV-EA(+) CMV-IgM(-)	ESRD, s/p renal allograft	CMV nephritis	9	-	61
3	CMV-PCR(+) CMV-EA(+) CMV-IgM(-)	ALL, s/p BMT, acute GVHD	CMV enteritis	325	-	15
4	CMV-PCR(+) CMV-EA(-) CMV-IgM(+)	SAA, s/p BMT	CMV pneumonia	-	1.86	199
	CMV-PCR(-) CMV-EA(-) CMV-IgM(+)			-	1.63	216

Abbreviations : EA, early antigen; RFI, Relative fluorescence index; Pt., Patients; tpl, transplantation; ND, Not done; AML, Acute myelogenous leukemia; s/p, status post; BMT, Bone marrow transplantation; ESRD, End stage renal disease; GVHD, Graft versus host diseases.

Table 3. The results of CMV-PCR, CMV-EA and CMV-specific IgM Ab in the specimens without CMV disease

	No. of specimen
CMV-PCR(+) CMV-EA(-) CMV-IgM(-)	13
CMV-PCR(-) CMV-EA(-) CMV-IgM(+)	5
CMV-PCR(-) CMV-EA(-) CMV-IgM(-)	127
CMV-PCR(-) CMV-EA(-) CMV-IgM(ND)	19
Total	164

Abbreviation : ND, Not done.

만 양성인 검체가 5개 있었다(Table 3). CMV-PCR의 민감도와 특이도는 각각 100%, 91.6%였고, CMV-EA는 75%와 100%, CMV-specific IgM은 50%과 96.4%였다.

2. CMV감염질환과 검사 결과 분석

4명의 CMV질환이 있었던 환자 가운데 <환자 1>은 급성골수성 백혈병으로 골수이식후 3개월에 시행한 결과 세가지 방법에서 모두 양성이었다 이때 early antigen positive score는 85로써 CMV장염으로 확진되었던 환자이다. 4개월째 다시 시행한 결과 PCR과 early antigen은 음성이었으며 CMV특이항체는 시행하지 않았다. <환자 2>는 말기신부전환자로서 신장이식을 받고 2개월째 시행한 CMV검사상 PCR과 EA만 양성이었다 이때 early antigen positive score는 9이었고 CMV신염으로 확진되었다. <환자 3>은 급성림프구성백혈병환자로서 골수이식후 15일째 시행한 결과 CMV-PCR과 CMV-EA만 양성이었다 이때 EA positive score는 325로서 CMV장염이 있었던 환자이었다. <환자 4>는 중증재생불량성빈혈로 골수이식후 7개월째 시행한 결과 CMV-specific IgM만 양성이었으나 18일 후 다시 시행한 결과 CMV-PCR과 CMV-specific IgM이 양성으로 CMV폐렴으로 확진되었던 환자이었다(Table 2).

고 찰

CMV는 장기이식 환자에서 가장 중요한 병원체 중의 하나로서 대부분 이식후 3개월 이내에 감염을 일으키는 것으로 알려져 있으나[8] CMV감염의 발생률, 감염증의 정도, 항체양성율은 나라마다 다르다. 외국의 경우 IgG항체보유율이 30-80% 정도이며 이식후 CMV감염의 발생률이 높고 감염될 경우 증상이 심한 것이 특징이나 우리나라의 경우에는 IgG항체보유율이 95.2-98.6%, IgM은 8%로 거의 대부분이 IgG항체를 가지고 있기 때문에 일차감염은 드물고 주로 재활성화나 재감염에 의한 경우가 대부분이며 증상도 심한 경우는 드문 것으로 알려져 있다[9-11]. 이식후 CMV감염의 발생률은 장기이식의 종류와 검사방법, 환자의 면역형질학적 상태 및 항바이러스약제 치료여부에 따라 달라질 수 있을 것으로 생각되는데 외국의 경우, CMV-specific IgG양성인 공여자로부터 골수이

식을 받거나 골수이식전 CMV-specific IgG양성이었던 환자들 중 60-70%가 동종골수이식후 CMV감염을 일으키는 것으로 알려져 있고[12], 신장이식환자에서는 28-75%의 CMV감염율이 보고되고 있다[13]. 이에 비하여 우리나라는 신장이식을 받은 환자에서 36.6%의 CMV감염율을 보고한 바 있다[11]. 본 연구에서는 이식 환자 뿐아니라 CMV감염이 의심되는 모든 검체를 대상으로 하였는데 1가지 이상의 검사에서 양성인 나온 경우는 170검체중 24검체(14.1%)였고 CMV질환으로 확진된 경우는 6검체로서 3.5%의 극히 낮은 발생율을 보였다.

이식후 면역기능이 저하된 환자에서 CMV감염을 이식거부반응으로 오진하여 면역억제제 치료를 할 경우 CMV감염이 확산되어 치명적으로 될 수 있기 때문에 CMV감염을 조기에 진단하고 이식거부반응과 감별이 가능한 검사법이 필요하다. 1988년 van der Bij는 CMV에 감염된 심장이식 환자의 말초혈액 중의 다형핵 백혈구와 단핵구에서 CMV 항원의 존재를 처음으로 증명하였다. 초기에는 주로 다형핵 백혈구에 존재하는 핵내 바이러스 단백질을 immediate-early (IE) protein으로 알고 있었으나, 최근에는 dense body에 존재하는 lower matrix phosphoprotein pp65로 밝혀졌다[14]. 이 pp65는 면역염색법으로 검출이 가능한데, 고정액의 종류, 면역화학기법의 종류, pp65의 서로 다른 epitope에 대한 단 클론성 항체의 종류 등에 따라 결과에 차이가 있을 수 있으나, 본 연구에서 사용한 APAAP법은 다형핵 백혈구에 존재하는 endogenous peroxidase를 억제하여 민감도를 증강시킨 방법으로 알려져 있다[15,16]. CMV antigenemia assay는 총 400,000개의 세포 가운데 1개의 CMV항원 양성세포라도 존재할 경우 검출이 가능하다는 장점이 있으며, 현미경 시야에서 정량분석이 가능하여 CMV항원 양성세포의 수가 많을수록 CMV 감염의 증상발현의 정도와 관련이 깊다고 알려져 있다[17,18]. 본 연구에서는 CMV항원 양성인 환자 수가 적어, CMV 항원 양성세포 수와 증상발현과의 상관관계를 통계적으로 규명하는데는 무리가 있으나 CMV early antigen 양성 환자 3명 중에서 1명은 1,000개의 세포당 10개 이하의 CMV항원 양성세포가 관찰되었으나 2명은 10개 이상의 CMV항원 양성세포가 관찰되었는데, 이 두명은 모두 증상발현된 CMV질환자들이었다.

CMV DNA를 검출하는 CMV-PCR은 CMV-EA보다도 약 1주일 정도 먼저 양성으로 나타나기 때문에 여러가지 방법 중 CMV감염증을 가장 조기에 검출할 수 있다고 알려져 있다. 즉, CMV감염증이 임상적으로 의심되는 초기에 항바이러스 약제를 투여하여 치명적 감염으로 진행되는 것을 막을 수 있다는 장점이 있다. 민감도가 극히 높은 것이 이 방법의 장점이기도 하지만 반면에, 소량의 DNA가 오염되어도 위양성 결과를 가져올 수 있다는 단점이 있다. 최근에는 PCR의 민감도에 대한 문제점이 지적되면서 실제로 CMV-specific IgG가 양성인 건강한 공혈자에서 CMV-PCR 양성인 보고가 있었다[19]. 이는 CMV-PCR이 latent CMV DNA도 검출하기 때문으로 생각되며, 따라서 활동성 바이러스와 비활동성이나 잠복 바이러스 또는 non-viable 바이러스를 구분할 수 없는 것이 단점이다[20]. 본 연구에서도 CMV-specific IgG양성인 신장이식을 위한 건강한

공여자임에도 CMV-PCR 양성인 경우가 17명중 2명 있었다. PCR 결과가 잠복기에 있는 바이러스까지도 검출하기 때문에 생기는 위양성율은 PCR cycle의 수를 제한하거나[21], DNA대신에 viral mRNA를 선택적으로 증폭시키거나[22, 23], 또는 정량적인 PCR법에 의하여 개선될 수 있다고 보고하고 있다[24, 25]. Peiris 등은 반정량적인 PCR법을 이용하였을 때, CMV PCR titer가 1,000이상($>2 \times 10^7$ copies of CMV DNA/mL)이면 CMV감염질환을 의심할 수 있고, 1이하($<2 \times 10^4$ copies of CMV DNA/mL)이면 subclinical infection과 관련이 있음을 주장하였다[19]. 또한 Schmidt 등은 PCR 양성은 급성 이식편대숙주반응의 정도와 관련이 있다고 하였다[26]. 300×10^6 /L이하의 림프구 수나 100×10^6 /L이하의 CD4 양성 세포수와 함께 중등도의 급성 이식편대숙주반응이 CMV감염증의 위험인자로 간주될 수 있을 것으로 생각된다[27]. 본 연구에서도 CMV감염증을 일으킨 환자 중에 grade III의 급성 이식편대숙주반응 환자가 1명 있었는데 PCR과 EA에 모두 양성이었다.

본 연구에서 시행한 CMV-PCR법, CMV early antigen면역염색법과 기존의 혈청학적 CMV특이 IgM항체 검출의 세 가지 방법을 비교해 본 결과, 민감도, 특이도, 양성예측도, 음성예측도는 다른 저자들의 보고와 비슷한 결과를 얻었고[4, 28, 29], 세 가지 방법에서 모두 일치율 보인 경우는 170검체중 128검체로서 75.3%의 일치율을 보였고 세 방법간의 불일치를 보이는 경우는 22검체가 있었는데 그원인으로는, 각 방법간의 민감도 차이외에도 혈액내 존재하는 바이러스의 양과 관련이 있으리라 생각된다. 즉, CMV감염 초기에는 바이러스의 양이 적어 PCR에는 양성이어도 CMV early antigen 면역염색법에서는 위음성이 나올 수 있고, 항바이러스약제 투여후 시간의 경과에 따라서도 바이러스의 양이 변화되므로 방법간에 불일치를 나타낼 수 있겠다. 세 가지 방법 중 CMV early antigen 면역염색법은 이식 후 약 3-6주 후에 나타나기 시작하여 감염증이 회복됨에 따라 감소하기 시작하며, CMV PCR은 EA보다 수일-1주 이전 부터 나타나기 시작하여 치료 후에도 가장 늦게 까지 양성 지속된다[28-30]. CMV-IgM항체는 CMV감염 후 1-2주 후에야 생합성이 되고, early antigen이 양성으로 나타나기 시작한 후 약 10일 후에야 양성으로 전환되기 시작하기 때문에 CMV감염증을 조기에 진단하는 데는 별 도움이 되지 못하는 것으로 알려져 있다. CMV감염을 조기진단하는 데는 CMV-PCR과 CMV-EA 면역염색법을 둘다 동시에 시행하면 상호 보완적으로 가장 이상적이겠으나 부득이하여 한가지 검사만을 시행할 수 밖에 없는 경우에는 민감도가 더 높고 가장 초기에 양성을 보이는 CMV-PCR법이 더 바람직하리라 생각되며 CMV감염의 경과추적과 항바이러스약제의 투여여부를 결정하는 데는 viral load를 반영하는 CMV-EA 면역염색법을 시행하는 것이 더 나으리라 생각된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 CMV감염증의 위험이 높은 환자군에서 CMV감염증을 조기에 진단하는 데는 민감도와 특이도가 높은 PCR법과 EA 면역염색법이 CMV특이 IgM항체 검출법보다 임상적으로 더욱 유용하다는 결론을 얻었다. PCR의 단점인 높은 위양성 결과를 개선하기 위해서는 반정량적인 PCR방법 등이 필요하며,

CMV감염의 위험이 있는 환자에 대해서는 일정한 간격으로 세 가지 방법을 동시에 시행하여 경과를 추적, 관찰한다면 CMV감염을 진단하고 치료지침을 세우는데 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

요약

배경: CMV감염은 장기이식 환자의 중요한 사망원인이 되고 있다. 따라서 CMV감염의 고위험군에서 CMV감염을 조기에 발견해 내고 항바이러스약제의 치료효과를 추적관찰하는데 CMV-PCR과 CMV antigenemia assay와 같은 신속하고 민감도와 특이도가 높은 검사법이 필요하다. 본 연구에서는 CMV감염을 조기진단하고 추적관찰하기 위한 임상적 유용성을 평가하기 위해서 CMV-PCR법과 CMV early antigen 면역염색법을 기존의 CMV특이항체검출법과 비교하였다.

방법: 1995년 9월부터 1996년 4월까지 신촌세브란스병원에서 CMV검사가 의뢰된 170검체를 대상으로 하였다. Buffy coat층의 백혈구부유액으로 nested PCR과 early antigen면역형광염색법을 실시하였고 CMV-specific IgM/IgG항체는 효소형광면역법으로 검사하였다.

결과: 총 170검체에서 159명의 환자를 분석한 결과 3가지 방법에서 모두 일치율 보인 검체가 128개로 75.3%의 일치율을 나타내었다. 159명의 환자 가운데 4명(2.5%)이 CMV질환이 있었다. CMV-PCR의 민감도와 특이도는 각각 100%, 91.6%였고, CMV-EA는 75%와 100%, CMV-IgM은 50%과 96.4%였다.

결론: CMV감염의 조기진단에 있어서 CMV-PCR법과 CMV-EA 면역염색법은 CMV특이항체 검출법보다 민감도와 특이도가 우수하였다. 따라서 CMV-PCR법과 CMV-EA 면역염색법은 CMV감염을 조기진단하는데 뿐 아니라 반정량이 가능하기 때문에 치료경과를 추적 관찰하는 데에도 유용할 것으로 생각되었다.

참고문헌

1. van Son WJ. *The Cytomegalovirus infection after organ transplantation: an update with special emphasis on renal transplantation.* *Transpl Int* 1989; 2: 147-64.
2. Dummer JS. *Cytomegalovirus infection after liver transplantation: clinical manifestations and strategies for prevention.* *Rev Infect Dis* 1990; 12(Suppl 7): S767-75.
3. Lautenschlager I, Suni J, Ahonen J, Gruhagen-Riska C, Ruutu P, Ruutu T, et al. *Detection of cytomegalovirus by early-antigen immunofluorescence test versus conventional tissue culture.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1989; 8: 610-7.
4. van den Berg AP, van der Bij W, van Son WJ. *Cytomegalovirus antigenemia as a useful marker of symptomatic cytomegalovirus infection after renal transplantation - a report of 130 consecutive patients.* *Transplantation* 1989; 48: 991-5.
5. Einsele H, Ehringer G, Vallbracht A, Schmidt H, Muller CA. *In situ hybridization for detection of cytomegalovirus in liver from*

- patients after marroe grafting. *Lancet* 1988; 2: 634-5.
6. Strickler JG, Manivel JC, Copenhaver CM, Kubic VL. Comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for detection of cytomegalovirus and herpes simplex virus. *Hum Pathol* 1990; 21: 443-8.
 7. Takenaka K, Gondo H, Tanimoto K, Nagafuji K, Fujisaki T, Mizuno S, et al. Increased incidence of cytomegalovirus (CMV) infection and CMV-associated disease after bone marroow transplantation from unrelated donors. *Bone marrow transplantation* 1997; 19: 241-8.
 8. The TH, van der Ploeg M, van den Berg P, Vlieger AM, van der Giessen M, van Son WJ. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes- a review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Transplantation* 1992; 54: 193-8.
 9. 양동현, 김영휴, 양동욱. 신전동결혈장의 수혈위험성에 관한 검토: HBsAg, anti-HBc 및 anti-CMV 양성율과 transaminase치. *대한수혈학회지* 1990; 1: 85-9.
 10. 오영철, 최범열, 김종암, 조명준. 헌혈자에서의 cytomegalovirus의 IgG, IgM 항체검출율에 관한 연구. *대한혈액학회지* 1989; 24: 75-9.
 11. Kahng KW, Kang CM, Kwak JY. Detection of cytomegalovirus infection in renal transplant recipients in Korea. *Transpl Proc* 1996; 28: 1507.
 12. Hebart H, Muller C, Loffler J, Jahn G, Einsele H. Monitoring of infection: a comparison of PCR from whole blood, plasma-PCR, pp65-antigenemia and virus culture in patients after bone marrow transplantation. *Bone marrow transplant* 1996; 17: 861-8.
 13. Stratta RJ. Clinical patterns and treatment of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Transplant Proc* 1993; 25: 15-21.
 14. Grefte JMM, Van der Giessen M, van der Gun BTF, van Son WJ, The TH. The predominantviral antigen present in peripheral blood leukocytes during an active CMV infection is the lower matrix protein pp65. In: Landini MP, ed. *Progress in cytomegalovirus research*. Amsterdam: Elsevier, 1991: 233.
 15. Bein G, Bitsch A, Hoyer J, Kirchner H. The detection of human cytomegalovirus immediate early antigen in peripheral blood leukocytes. *J Immunol Methods* 1991; 137: 175.
 16. Revello MG, Percival E, Zavattoni M, Parea M, Grossi P, Gerna G. Detection of human cytomegalovirus immediate early antigen in leukocytes as a marker of viremia in immunocompromised patients. *J Med Virol* 1989; 29: 88-93.
 17. Koskinen PK, Nieminen MS, Mattila SP, Hayry PJ, Lautenschlager IT. The correlation between symptomatic CMV infection and CMV antigenemia in heart allograft recipients. *Transplantation* 1993; 55: 547-51.
 18. Halwachs G, Zach R, Poggilitsch H, Holzer H, Tiran A, Iberer F, et al. A rapid immunocytochemical assay for CMV detection in peripheral blood of organ-transplanted patients in clinical practice. *Transplantation* 1993; 56: 338-42.
 19. Weideman JT, Sissins JGP, Borysiewicz LK, Sinclair JH. Monocytes are a major site of persistence of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells. *J Gen Virol* 1991; 72: 2059-64.
 20. Peiris JSM, Taylor CE, Main J, Graham K, Madley CR. Diagnosis of cytomegalovirus (CMV) disease in renal allograft recipients: the role semiquantitative polymerase chain reaction (PCR). *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 1198-205.
 21. Jiwa NM, van Gemert GW, Raap AK, Van de Rijke FM, Mulder A, Lens PF, et al. Rapid detection of human cytomegalovirus DNA in peripheral blood leukocytes of viremic transplant recipients by the polymerase chain reaction. *Transplantation* 1989; 48: 72-6.
 22. Stanier P, Taylor DL, Kitchen AD, Wales N, Tryhorn Y, Tynms AS. Persistence of cytomegalovirus in mononuclear cells in peripheral blood from blood donors. *Brit Med J* 1989; 299: 897.
 23. Buffone GJ, Hine E, December GJ. Detection of mRNA from the immediate early gene of human cytomegalovirus in infected cells by in vitro amplification. *Mol Cell Probes* 1990; 4: 143-51.
 24. Schafer P, Braun RW, Mohring K, Henco K, Kang J, Wendland T, et al. Quantitative determination of human cytomegalovirus target sequences in peripheral blood leukocytes by nested polymerase chain reaction and temperature gradient gel electrophoresis. *J Gen Virol* 1993; 74: 2699-707.
 25. Cagle PT, Buffone G, Holland VA, Samo T, Demmler GJ, Noon GP, et al. Semiquantitative measurement of cytomegalovirus DNA in lung and heart-lung transplant patients by in vitro DNA amplification. *Chest* 1992; 101: 93-6.
 26. Schmidt CA, Oettle H, Wilborn F, Jessen J, Timm H, Schwerdtfeger R, et al. Determination of cytomegalovirus after bone marrow transplantation by polymerase chain reaction, virus culture and antigen detection in buffy coat leukocytes. *Bone marrow transplantation* 1994; 13: 71-5.
 27. Einsele H, Ehninger G, Steidle M, Fischer I, Bihlers S, Gemeth F, et al. Lymphocytopenia as an unfavorable prognostic factor in patients with cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. *Blood* 1993; 82: 1672-8.
 28. Boland GJ, De Gast GC, Hene RJ, Jambroes G, Donckerwholcke R, The TH, et al. Early detection of active cytomegalovirus (CMV) infection after heart and kidney transplantation by testing for immediate early antigenemia and influence of cellular immunity on the occurrence of CMV infection. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2069-75.
 29. van den Berg AP, Klompmaker IJ, Haagsma EB, Scholten-Sampson A, Bijleveld CM, Schirm J, et al. Antigenemia in the diagnosis and monitoring of active CMV infection after liver transplantation. *J Infect Dis* 1991; 164: 265-70.
 30. Gerna G, Zipeto D, Parea M, Revello MG, Silini E, Percivalle E, et al. Monitoring of human cytomegalovirus infections and ganciclovir treatment in heart transplant recipients by determination of viremia, antigenemia and DNAemia. *J Infect Dis* 1991; 164: 488-98.