대한임상미생물학회지 1998:1;4-10

바이러스 감염증의 진단

이 환 종

서울대학교 의과대학 소아과학교실

바이러스 감염증 진단의 필요성

바이러스 감염증의 진단은 다음의 몇 가지 이유에서 근래에 그 중요성이 새로이 인식되고 있다. 첫째, 선천성 감염증, 뇌염, 면역억제환자 등의 바이러스 감염증에서 그 원인을 밝힘으로써 환자의 예후를 추측할 수 있다. 둘째, 항바이러스 제제의 사용, 병원감염의 방지, 임신 초기 풍진에 감염시 유산을 시키는 것과 같이 감염을 일으킨 바이러스에 따라서는 적극적인 처치를 해야하는 경우가 많다. 셋째, 호흡기 감염, 뇌막염 등에서는 바이러스 감염이 증명됨으로써 불필요한 검사, 입원, 항생제 투여 등을 중지함으로써 경제적으로 도움을 얻을 수 있다. 넷째, 인플루엔자, 일본뇌염 등의 진단은 보건정책 수립에 영향을 미칠 수 있다. 다섯째, 환자를 진료하는 사람들이 진단 가능한 바이러스 질환에 대해 더 잘 알게 됨으로써 이후에 비슷한 환자의 진료에 도움을 줄 수 있다.

바이러스 감염증 진단에 관한 잘못된 개념들

바이러스 감염증의 진단에 관해 흔히 갖기 쉬운 그릇된 개념이 몇 가지가 있다.

첫째, 임상적으로 이용하기에는 바이러스 배양에 시간이 너무 오래 걸린다는 잘못된 관념이다. 검체 접종(specimen inoculation)후 세포배양에서 세포병변효과(cytopathic effect; CPE)가 나타날 때까지의 기간은 바이러스의 종류와 검체에 포함된 바이러스의 양에 따라 다르다. Respiratory syncytial virus(RSV), influenza virus, adenovirus, herpes virus 1과 2형 및 일부의 enterovirus는 72시간 내에 바이러스가 분리되는 경우가 흔하다. 거대세포 바이러스 (cytomegalovirus; CMV) 근래에 개발된 shell vial technique를 이용하면 18시간 내에 검출할 수 있다. RSV, parainfluenza 1과 3, influenza A와 B, rotavirus, HSV 1과 2, Varicella-Zoster virus(VZV) 및 adenovirus등에 대하여 검체 체취 당일에 결과를 알 수 있는 조기 진단법(rapid diagnostic methods)이 가능하다. 둘째, throat swab, 뇨 또는 대변에서 분리되는 바이러스와 폐, 중추신경, 간 등의 장기의 감염증의 원인과 인과관계를 알 수 없다는 잘못된 개념이다. 이러한 개념은 세균 감염증의 경우에는 사실로서, 세균 감염증의 경우에는 감염된 부위에서 직접 검체를 채취하는 것이 중요하다. 그러나 바이러스의 경우에는 throat swab의 배양으로 폐, 중추신경, 간 등의 장기의 감염 원인균을 알 수 있다. 이는 세균과는 달리 바이러스 normal flora가 없기 때문이다. 한편 adenovirus 경우에서는 감염 후에 인두에서 바이러스가 장기간 검출될 수도 있고, CMV, HSV, EBV의 경우에는 한번 감염되면 이후에 간헐적으로 인두에서 바이러스가 발견될 수 있으나, 일반적으로 throat swab에서 바이러스가 분리되면 질병의 원인균으로 간주할 수 있다. 또한 검출하고자 하는 바이러스의 대부분은 상기도, 인두, 결막 등의 점막을 통해서 감염되며, 초기에 이들 부위에서 증식을 하므로 throat swab 배양에서 양성으로 나올 가능성이 많다.

셋째 바이러스 배양에 비용이 많이 들어 비경제적이다라는 잘못된 개념이다. 바이러스 배양에서 CPE가 나타날 때까지의 기간이 짧은 바이러스가 많으며, 또한 근래에 조기 진단법의 개발로 빠른 시간 내에 진단이 가능함에 따라 불필요한 검사, 입원, 항생제 치료 등을 중지함으로써 경제적으로 도움을 줄 수 있다.

넷째, 혈청학적 검사를 시행하고 있으므로 바이러스 배양은 필요없다는 잘못된 개념이다. 뒤에 언급되는 여러 가지 이유로 인해 혈청학적 검사가 바이러스 배양검사를 결코 대치 할 수는 없다.

바이러스 감염의 진단 방법

바이러스 감염 진단 방법은 크게 바이러스 배양, 바이러스 또는 그 항원의 검출, 혈청학적 검사 및 기타 방법 등 4가지로 나눌 수 있다(Table 1).

바이러스 배양은 일반적으로 직접 검출 방법에 비해 시간이 더 걸리나, 아직까지 다른 진단 방법을 검정하는 기준이 된다. 검체에서 바이러스의 분리를 위해서는 3가지 방법, 즉 tissue culture, embryonated aggs 및 suckling mouse inoculation 등이 쓰인다. 이중 tissue culture가 임상적으로 가장 널리 쓰인다.

항원 검출법은 혈청형이 제한된 바이러스의 경우에 짧은 시간 내에 진단할 수 있는 방법으로서, 검체 내

Table 1. Comparison of Diagnostic Methods

Method	Time	Advantages	Disadvantages
Culture	Days to weeks	Specificity and sensitivity maximun; isolate availabe for characterization	Cell culture facilities needed; time for diagnosis may be long
Direct detection	Hours to 1 day	Speed of diagnosis; used for viruses difficult to culture	False positives and negatives; hard to batch tests
Serology	Weeks	Assessment of immunity or response to virus isolated from nonsterile site; used for viruses difficult to culture	Potential cross reactions; need for acute and convalescent specimens

에 항원이 충분히 있어야 하며, 양질의 항혈청이 있어야 가능하다.

바이러스 감염에 대한 혈청학적 검사는 전통적으로 큰 연구실 등에서 neutralization, complement fixation, hemagglutination inhibition, inmunofluorescence 방법 등으로 시행되어 왔다. 최근에는 여러 가지 바이러스의 감염의 경우에 ELISA법이 개발됨에 따라 각 병원에서 시행할 수 있게 되었다.

그 외 광학현미경으로 조직 내에서 바이러스에 의한 봉입체의 검색, 전자현미경에 의한 바이러스의 검색방법 등이 있다. 비교적 최근에 개발된 방법으로 shell vial inoculation technique, 분자생물학적 기법을 이용한 nucleic acid hybridization 및 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)등을 이용하는 방법이 있다.

1. 혈청학적 방법

1) 항체 측정 방법

일반적으로 바이러스에 대한 항체 측정 방법은 다음의 몇 가지 군으로 나눌 수 있다: (1) 항원과 항체간의 반응을 직접 측정하는 경우로서, 방사면역검사법(radioimmunoassay), 효소면역 검사법 (enzyme immunoassay), Western blots, 면역형광검사(immunofluorescent tests) 등이 있다. (2) 항체가 항원과 반응함에 따라 바이러스에 관계없이 일어나는 성질을 이용하는 경우로서 보체결합(complement fixation), 간접 혈구응집, 라텍스 응집 검사 등이 포함된다. (3) 항체가 바이러스에 특이한 기능의 일부를 방해하는 성질을 이용하는 것으로써, 여기에는 neutralization, hemagglutination inhibition, neuraminidase inhibition test등이 있다.

이상의 각 방법은 개체에서 일어나는 바이러스에 대한 여러 가지 항체반응 중 각각 별개의 항체 반응을 검사한다. 그러므로 각 방법마다 감수성이 다르며, 감염 후에 나타나는 시간 및 역가가 다룰 수 있다. 이러한 사실을 이해함으로써 혈청학적 검사의 해석과 특정한 감염증의 진단에 도움을 얻을 수 있다.

2) 바이러스 감염에 대한 항체반응

대부분의 급성 바이러스 감염 후에는 혈청 항체가가 증가하므로, 질병의 초기와 회복기에 항체가를 측정함으로써 진단에 이용할 수 있다. 그러나 예외적으로 (1) 어린 영아의 일부 및 면역기능이 억제된 환자 (2) 호흡기 감염같은 체표면 감염의 일부, (3) 산모로부터 받은 항체가 있는 상태에서 급성 감염이 되는 경우 등에서는 항체의 증가가 일어나지 않는다. 마지막 경우에 해당되는 경우로는 신생아기나 산모로부터 받은 항체가 남아있는 어린 영아기에 CMV 감염이 일어나는 경우를 들 수 있다. 이때에도 새로운 항체의 생성이 일어날 수 있으나 급성기의 항체가가 이미 높기 때문에 이후의 항체가의 증가를 증명하기 힘들다.

어떤 경우에는 비슷한 바이러스에 항체와의 교차 반응으로 인해 특이항체의 증가를 증명하기 힘들 경우가 있다. 이에는 HSV 1형에 대한 항체가 있는 상태에서 HSV 2형의 감염이 일어나는 경우, parainfluenza 바이러스의 한가지 형에 대한 항체가 있는 상태에서 다른 형의 감염이 일어나는 등을 들 수 있다.

호흡기 바이러스의 경우에 흔히 일어나는 바와 같이 재감염에 대한 항체반응은 잘 일어나며 빨리 일어난다. 이러한 경우에는 바이러스의 배출 기간이 짧고 그 역가가 낮기 때문에 혈청학적 검사가 매우 도움이 될 수 있다. 재활성화(reactivation)에 의한 감염인 경우에는 급성 초감염이나 재감염에 비해 항체반응의 일관성이 없다. Varicella-zoster virus(VZV)의 경우에는 항체반응이 빨리 잘 일어나나, CMV나 HSV의 경우에는 항체반응을 예측할 수 없다.

3) IgG 항체의 측정

급성기와 회복기의 혈청에서 동시에 시행된 검사에서 4배 이상의 항체가 증가를 증명함으로써 진단이 가능하나, 후향성 진단만 가능하다. 한번 증가한 바이러스에 대한 항체는 천천히 감소하는 수가 많기 때문에 고역가의 1회 측정치나 4배 이상의 감소는 과거의 감염이 있었다는 사실만 의미할 뿐 감염시기는 알 수 없다. 혈청형이 한가지만 있는 경우나(예, CMV, VZV등) 배양이 가능한 바이러스가 분리되고 혈청형이 정해진 경우에 가능하다(예, enteroviruses). 전술한 바와 같이 항체 반응은 경우에 따라 일어나지 않을 수 있으며,

Table 2. Types of Cell Culture

Type of Culture	Characteristics	Examples	Primary use
Primary	Diploid; mixed cell types; 1 or 2 passages	Primary monkey kidney	Influenza, parainfluenza; some enteroviruses
Cell line	Diploid;l fibroblasts; limited passages (<50-70)	Human diploid fibroblast (WI-38, MRC-5, or HEL)	Herpes simplex; cytomegalovirus; varicella-zoster; rhinovirus
Established cell lines	Heteroploid; continuous passage in vitro	HeLa; HEp-2	Adenovirus; RSV

또한 비슷한 바이러스에 의해 교차반응 등으로 인해 위양성으로 나타날 수 있다 (예, mumps virus 감염시 parainfluenza virus에 대한 항체가 증가). 한가지 형의 parainfluenza 바이러스 감염의 경험이 있는 환자가 다른 형에 감염시, 과거에 감염되었던 형에 대한 항체 반응만 일어나고 새로 감염된 형에 대한 반응은 일어나지 않을 수도 있다

4) IgM 항체의 측정

IgM 항체는 흔히 감염의 초기의 형성되며, 이 항체가 있으면 최근의 또는 현재 진행되고 있는 감염을 의미하므로, 바이러스 감염증의 진단 방법으로 연구가 많이 되었다. IgM 항체는 여러 가지 방법으로 측정할 수 있으며 근본적으로 IgM을 분리하여 측정하는 방법(ultracentrifugation법, staphylococcal protein A를 이용하여 IgG를 제거하는 방법 및 IgM capture technique)과 IgM을 분리하지 않고 측정하는 방법(형광면역검사법, EIA 및 RIA등)으로 나눌 수 있다.

IgM 항체는, 특히 IgM을 분리하지 않는 방법을 쓸 경우에는, 여러 가지 질환에서 나타날 수 있는 rheumatoid factor에 의해 위양성으로 나타날 수 있으며 또한 경쟁하는 IgG 항체에 의해 위음성을 보일 수도 있다. 이 중 후자는 특히 선천성 감염을 진단하기 위해 제대혈청을 검사 시에 어려움을 줄 수 있으며, 급성 감염의 초기에 IgM 항체 측정 시에는 별 문제가 되지 않는다. IgG 항체와 마찬가지로 면역기능이 억제되거나 영아에서는 IgM 항체 반응이 일어나지 않을 수 있다. 또한 어떤 바이러스에 감염시 비슷한 바이러스에 대한 IgM 항체가 생길 수 있다(예, togavirus와 coxsackie B 바이러스).

IgM 항체는 수개월간 지속될 수 있으며, 재감염이나 재활성화되어도 나타나므로, 양성인 검사 결과의 해석에 주의를 하여야 한다. IgM 항체 반응이 진단에 유용한 질환으로는 A형 간염, Epstein-Barr virus감염, 풍진, 홍역, CMV 감염, arbovirus 감염의 일부 등을 들 수 있다.

이상에서 혈청학적 검사가 유용하게 활용될 수 있으나, 여러 가지 문제점으로 인해 혈청학적 진단은 어느 정도 잠정적인 결과로 생각하여야 하며, 근래에는 점점 직접적인 방법이 더 많이 쓰이고 있다.

2. 바이러스 배양검사

1) 바이러스 분리에 사용되는 세포

바이러스 분리에 사용되는 cell line 또는 strain의 종류의 선택, embryonated aggs 나 suckling mice의 사용 여부의 결정은 비용, 세포의 이용 가능도, 검사실의 기능 등에 따라 달라진다. 예를 들어서 성인을 주로 치료하는 병원을 보조하는 검사실에서는 HSV와 CMV의 배양에 중점을 둔다. 소아가 대상인 검사실에서는 herpesvirus군뿐만 아니라 여러 가지 호흡기 바이러스와 enterovirus 등에 이르는 다양한 바이러스를 배양하여야 한다. 한편 공중보건을 다루는 기관에서는 influenza, 일본뇌염같은 arbovirus에 중점을 둔다.

바이러스 배양에는 주로 3가지의 tissue culture, 즉, 원숭이 신장의 primary culture (myxovirus와 enterovirus), 사람의 이배엽세포 (diploid cell line) (CMV, rhinovirus, VZV, HSV등) 및 Hep-2 또는 Hela 등의 continous cell line (RSV, adenovirus)을 쓴다(Table 2).

2) 접종(inoculation)

이상의 세포들을 culture tube에 배양하여 보관하고 있다가 검체가 도착하면 접종하여 37℃의 배양기나 33℃의 roller drum에 보관한다. 접종 1-2 시간 후에 배지를 교환해 준 후, 주기적으로 관찰한다

3) 바이러스 유무를 알 수 있는 방법

① 세포병변효과(cytopathic effect; CPE) : 대부분의 바이러스는 특정한 세포에 특징적인 CPE를 보이기 때문에, 조직학적 또는 혈청학적 염색을 하지 않고도 바이러스 유무 및 종류를 알 수 있다(Table 3). 세포병변으로는 lysis(or necrosis), inclusion formation, cytomegaly, giant-cell(or syncytium) formation 및 cytoplasmic vacuolation 등을 들 수 있다.

② 혈구흡착(hemadsorption) 및 혈구응집(hemagglutination); 많은 바이러스는 바이러스 표면에 여러 가지 동물의 적혈구를 응집시키는 성분을 가지고 있으며, 이중 일부는 감염된 세포의 표면에 이러한 성분을 발현시킨다. 그러므로 myxovirus 및

Table 3. Differential Diagnosis of Viral Cytopathic Effects

Virus	Cell Culture			Speed of detection	Description
	PMK	HDF	HEp-2		
Influenza virus	+++	-	-	Rapid	None or focal enlarged granular cells followed by sloughing; rapid progression
Parainfluenza virus	+++	-	+	Medium	None of focal rounding and multinucleated giant cells (types 2 and 3)
RSV	++	+	+++	Medium-slow	Enlarged, glassy syncytial giant cells or rounded cells
Mumps virus	+++	+	-	Medium	Enlarged, syncutial giant cells
Measles	+	-	+	Medium-slow	Vacuolated, syncytial giant cells; rarely isoltaed
Poliovirus	+++	+++	+++	Rapid	Random, swollen, glassy cells; rapid progression and detachment of cell from glass
Coxsackie virus B	+++	-	+++	Rapid-medium	Focal, swollen, glassy cells: detachment from glass
Rhinovirus	++	+++	-	Medium-slow	Focal, swollen, or granular cells
Adenovirus	++	+	+++	Medium-slow	Enlarged, clustered cells (bunches of grapes or lattice)
Herpes simplex virus	++	+++	++	Rapid	Enlarged or shrunken granular cells starting at edge; rapid progression and sloughing; may have giant cells
Varicella-zoster virus	+	++	-	Medium-slow	Discrete, elongated foci of enlarged or shrunken cells; slow contiguous progression enhanced by use of growth medium
Cytomegaloviru	-	++	-	Rapid-slow	Compact foci of enlarged cells; slow, contiguous growth

+++ = Optimal cells for detection of cytopathic effect (CPE); ++ = CPE frequent, may be best available system for detection of CPE; + = CPE may occasionally observed; - = CPE does not usually occur;
PMK = primary monkey kidney cells; HDF = human diploid fibrkoblast cells; HEp-2 = human continuous cell line
Adapted from McIntosh, K. Diagnostic Virology. in Fields Virology, Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds), 3rd ed, New York, Raven Press, 1996, PP. 401-430.

orthomyxovirus는 감염된 세포에 guinea pig 적혈구를 흡착시키는 성질을 이용하여 바이러스의 유무를 조기에 인지할 수 있다. Embryonated egg에 검체를 접종한 경우에는 혈구응집 검사를 통하여 인지한다.

③ 간섭(interference) : 풍진 바이러스는 CPE나 적혈구 흡착을 일으키지 않는다. 특정한 세포가 풍진 바이러스에 감염되면 다른 종류의 바이러스의 감염이 억제된다. 그러므로 풍진 바이러스가 있을 것으로 의심되는 검체를 접종 후에 CPE를 나타내는 다른 바이러스 (흔히 ECHO virus를 이용한다)를 접종하여 다른 바이러스의 CPE가 나타나지 않으면 풍진바이러스가 자라고 있는 것으로 추측할 수 있다.

4) 바이러스의 확인

이상의 세포병변효과, 적혈구 응집, 간섭 등을 통하여 바이러스가 있을 것으로 추측되면, CMV의 경우에는 세포병변효과만으로도 확정적이지만, 대부분의 경우에는 바이러스 유무를 확인하는 과정이 필요하다. 1) 흔히 바이러스의 존재가 의심되는 바이러스에 대한 항체를 이용하여 직접 또는 간접 면역형광염색하여 확인한다. 2) 혈청형이 많은 바이러스의 경우에는 중화검사, 적혈구응집억제검사 또는 보체결합검사를 시행한다. 3) Rhinovirus의 세포병변효과는 자라는 속도가 다소 늦기는 하지만 enterovirus와 비슷하며 산(acid)에 대한 감수성이 높다. Rhinovirus를 확인하기 위해서는 흔히 산 감수성검사 (acid sensitivity test)를 시행한다. 4) 최근에는 비록 세포병변을 일으키는 바이러스일지라도, 검체를 접종하고 2-3일이 지난 후, 세포병변이 나타나기 전에, 임상적으로 의심되는 바이러스에 대한 항체로써 면역형광염색하여 조기에 검출하는 방법이 시도되고 있다.

3. 바이러스 감염의 조기진단 방법

1) 현미경

① 광학현미경

Herpes simplex virus 나 varicella-zoster virus의 감염이 의심되는 수포의 밑바닥 세포를 긁어서 스라이드에 도말을 만들어 Wright 또는 Giemsa 염색하여 (Tzanck smear), 크고 세포질이 풍부한 다핵의 거대세포를 관찰함으로써 진단이 가능하다. 비슷한 방법으로 홍역의 Koplik's spots, CMV감염이 의심되는 환자의 뇨침사를 검사함으로써 진단이 가능하나 근래에는 보다 직접적

인 방법이 많이 쓰인다.

② 전자현미경

임상 검체에서 전자현미경으로 바이러스를 찾음으로써 진단이 가능하나 이 방법에 의한 바이러스 감염의 진단은 발달이 늦었으며, 특수한 경우에만 사용되고 있다. 이는 기구의 비용이 비싸고 유지하기가 쉽지 않으며, 전자현미경으로 검출되기 위해서는 검체 내에 특징적인 바이러스 입자가 다량 존재해야 하며(최소한 ml당 10^7개 이상), 또 형태학적으로는 바이러스간의 구별이 완전하지 않기 때문이다. 그러나 전자현미경은 배양이 안되거나 힘들고 효소면역법이 개발되지 않은, 뇌속의 parvovirus, 대변 내의 Norwalk agent, astrovirus, calicivirus 등의 검출에는 유일한 방법으로 이용되고 있다.

2) 항원 검출법

혈청형이 제한된 바이러스의 경우에는 검체에서 항원을 직접 검출함으로써 조기 진단이 가능하다. 이를 위해서는 검체 내에 항원이 충분히 있어야 하고 양질의 항혈청(단클론 또는 다클론)이 필요하다.

① 면역형광염색

비흡인물, 수포 또는 조직에서 얻어지는 세포로써 스라이드에 도말을 만들어 아세톤으로 고정한 후에 의심되는 바이러스에 대한 항혈청으로 면역형광염색을 하여 형광 현미경으로 관찰한다. Influenza virus의 검출에 처음 이용되었으며, RSV, influenza virus A와 B, parainfluenza virus 1, 2, 3, 과 4, mumps virus, 홍역 바이러스, coronavirus 및 adenovirus등 대부분의 호흡기 바이러스의 검출에 성공적으로 이용될 수 있다. RSV와 홍역의 경우에는 배양 검사와 비교하여 민감도(sensitivity) 및 특이도(specificity)가 95% 이상으로 매우 높으며 보고에 따라서는 배양 검사보다도 민감도가 높은 결과도 있다. influenza 등 다른 호흡기 바이러스에 대한 항원 검출 방법이 개발되어 있으며, 특이도는 높으나 감수성이 50-80%로 RSV에 비해 다소 낮다. 대체로 효소면역법은 면역형광법에 비해 민감도, 특이도가 다소 떨어진다[4]. 특히 RSV와 홍역바이러스의 경우에는 민감도가 바이러스 배양검사와 비슷하거나 이 보다 더 좋다는 보고도 있다.

② Solid phase immunoassay

바이러스에 대한 항체를 ELISA plate 표면, 적혈구, 또는 latex 입자 등에 입혀서 검체와 반응시킴으로써 enzyme immunoassay, radioimmunoassay 또는 응집반응 등으로 항원의 유무를 검색할 수 있다. 이중 바이러스 항원의 검출에는 효소면역법이 근래에 많이 개발되고 있다. 현재까지 A형, B형 간염 바이러스, rotavirus, Norwalk agent, RSV, influenza virus, parainfluenza virus, 인간면역결핍증바이러스(human immunodeficiency virus; HIV), enterovirus 일부 등에 성공적으로 적용되었으며, 상업용 검사 kit가 이용 가능한 바이러스는 B형 간염, RSV, HIV, enteric adenovirus 및 rotavirus등으로 상당히 제한되어 있다.

3) Shell vial inoculation technique

비교적 최근에 개발된 방법으로서, 흔히 CMV 감염의 조기 진단에 쓰인다. CMV 감염 환자의 검체를 인간 이배엽세포의 단층에 접종하여 CPE가 나타나려면, 바이러스 양이 많은 경우는 2-3일, 흔히 7-10일 또는 길게는 3-4주까지 기다려야 한다. 그러나 vial의 밑바닥에 cover slip을 놓고 그 위에 세포를 키우고, 이 vial에 검체를 접종한 후 2000-3000 rpm에 약 1시간 centrifuge하여 이튿날 CMV에 early antigen에 대한 항체로서 면역 형광 염색함으로써 CMV의 조기 검출이 가능하다. 고식적인 배양법에 대한 이 방법의 감수성은 80-90% 정도로 우수한 편이다. Shell vial inoculation technique CMV의 조기 검출에 가장 많이 이용되나, Chlamydia, HSV, influenza virus, RSV, adenovirus 및 enterovirus의 검출에도 고식적인 방법에 보조적인 방법으로 이용될 수 있다[3-5].

4) Nucleic acid hybridization과 Polymerase chain reaction

최근에 개발된 핵산 교잡법(Nucleic acid hybridization), 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR), 역전사 중합효소 연쇄반응 (reverse transcription polymerase chain reaction; RT-PCR)[6] 등의 분자 생물학적 기법을 이용하여, 바이러스의 유전자를 임상검체 또는 조직에서 조기에 또 아주 미량을 검출하는 방법이 개발되었다. 이들 방법은 바이러스를 포함한 모든 생물학의 연구에 중요한 기법으로 인식되고 있으나, 일반 병원에서 널리 시행되기에는 어려움이 있다.

호흡기 바이러스의 검출에는 기존의 면역 형광법이나 효소면역법에 비해 큰 장점이 없으며 아직 임상 검체에서 바이러스를 검출하여 환자의 진료에 이용하고자하는 임상검사실에서는 아직 광범위하게 사용되고 있지는 않다.

HSV에 의한 뇌염 환자에서 뇌척수액 배양 검사상 바이러스가 분리되는 빈도가, 신생아에서 파종성 HSV 감염에 동반된 뇌염에서는 50% 이상이나 신생아 연령 이후에는 5% 미만이다. 그러므로 신생아 연령 이후의 HSV에 의한 뇌염의 확진을 위해서 과거에는 뇌의 생검 조직에서 봉입체의 검색 및 바이러스 배양을 시행하였으나, 근래에는 뇌단층 촬영, 자기 공명 영상 등의 개발로 herpes simplex encephalitis와 비슷한 증상을 발현할 수 있는 다른 치료 가능한 질환과의 감별진단이 과거보다 용이해지고, 효과적이고 부작용이 적은 acyclovir가 사용됨에 따라 침습성 검사인 뇌 생검을 회피하게 됨에 따라 HSV에 의한 뇌염의 확진이 불가능하게 되었다. 그러나, HSV 뇌염 환자의 뇌척수액에

Table 4. Recommended Specimens for Viral Culture

Syndrome	Optimal specimens	Peremissible alternatives and additional specimens
Coryza Cough	Nasopharyngeal aspirate	Nasopharyngeal swab
Pharyngitis	Throat washing	
Bronchiolitis Pneumonia	Nasopharyngeal aspirate Tracheal aspirate Lung aspirate or biopsy	Nasopharyngeal swab
Pleurodynia	Nasopharyngeal aspirate plus feces	Nasopharyngeal swab Rectal swab
Aseptic meningitis Encephalitis Transverse myelitis	Spinal fluid plus feces plus Nasopharyngeal aspirate	Rectal swab, Nasopharyngeal aspirate Brain biopsy for Herpes simplex; urine for measels or mumps
Gastroenteritis	Feces	Rectal swab
Parotitis	Nasopharyngeal aspirate plus urine	Nasopharyngeal swab
Vesicular rash	Aspirate or swab of vesicle	Nasopharyngeal swab
Maculopapular rash	Nasopharyngeal aspirate plus feces	Nasopharyngeal swab Rectal swab
Hemorrahgic cystitis	Urine	
Myocarditis Pericarditis	Nasopharyngeal aspirate plus feces	Urine for mumps virus Nasopharyngeal swab Rectal swab
Keratitis	Conjunctival or corneal scraping plus Nasopharyngeal aspirate	Conjunctival or cornial swab Nasopharyngeal swab

Adapted from McIntosh, K. Diagnostic Virology. in Fields Virology, Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds), 3rd ed, New York, Raven Press, 1996, PP. 401-430.

서 중합효소 연쇄반응을 이용하면 뇌척수액 내에서 HSV의 DNA를 뇌생검상 확인된 HSV 환자의 거의 전 예에서 검출할 수 있으며 다른 원인에 의한 뇌염 환자에서는 전혀 검출되지 않는다고 보고되어, 중합 효소 연쇄 반응을 이용한 DNA 검출 방법이 herpes simplex encephalitis의 표준 진단 방법(gold standard)으로 인식되고 있다[7,8].

분자 생물학적 기법은 HSV 뇌염의 진단 외에도 C형 간염, HIV, parvovirus 등 배양이 어렵거나 불가능한 바이러스의 검출 및 배양이 가능하더라도 시간이 오래 걸리는 경우의 조기 검출에 이용될 수 있다. 또, formalin에 고정된 조직에서 바이러스의 검출에 이용할 수 있다.

바이러스 감염증 진단을 위한 검체의 채취

바이러스 감염증의 진단을 위해서는 적절한 검체의 채취가 필수적이다. 혈청학적 검사를 위해서는 질병의 급성기와 2-4주 후의 회복기 혈청을 채취하여야 한다.

바이러스 배양이나 항원의 검출을 위해서는 가능한 한 빨리 검체를 채취하여야 한다. 어떠한 검체를 채취하여야 할지를 결정하기 위해서는 질병의 발병기전을 이해하여야 한다(Table 4). 질병이 표면(피부 또는 점막)에서 진행되는 경우에는 그 표면에서 검체를 채취한다. 예를 들어서 호흡기 감염인 경우에는 비흡인물 또는 throat swab을, 위장관 감염인 경우에는 대변을 채취한다. 감염증이 내부 장기를 침범하거나 전신 질환인 경우에는(예, 비수포성 발진성 질환, 뇌막염, 뇌염, 원인불명열, 선천성 감염증 등) 뇨, 대변, 비흡인물, 혈액 등 여러 부위에서 검체를 채취한다. 일반적으로 바이러스 감염증 진단을 위해 내부 장기의 생검이 요구되지는 않으나, HSV에 의한 뇌염, 면역억제 환자의 CMV 감염증에서 각 감염증의 확인을 위해서는 침범된 장기의 생검을 요한다. 최근의 보고에 의하면 HSV 뇌염의 경우 polymerase chain reaction으로 뇌척수액에서도 바이러스를 성공적으로 검출할 수 있다.

참 고 문 헌

1. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. *Koneman EW, Janda WM, Allen SD, Sommers HM, Dowell Jr VR, Winn Jr WC, eds, 3rd ed. Philadelphia; JB Lippincott Company 1988:691-764.*
2. McIntosh, K. *IN:Fields Virology, Fields BN, Knipe DM,*

Howley PM, eds, Diagnostic Virology. 3rd ed, New York; Raven Press, 1996;401-30.

3. Rabalais GP, Stout GG, Ladd KL, Cost KM. *Rapid diagnosis of respiratory viral infections by using a shell vial assay and monoclonal antibody pool. J Clin Microbiol 1992;30:1505-8.*
4. Klespies SL, Cebula DE, Kelley CL, Galehouse D, Maurer CC. *Detection of enteroviruses from clinical specimens by spin amplification shell vial culture and monoclonal antibody assay. J Clin Microbiol 1996;34: 1465-7*
5. Smith MC, Creutz C, Huang YT. *Detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal secretions by shell vial technique. J Clin Microbiol 1991;29: 463-5*
6. Paton AW, Paton JC, Lawrence AJ, Goldwater PN, Harris RJ. *Rapid detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates by reverse transcription and polymerase chain reaction amplification. 1992;J Clin Microbiol 30:901-4.*
7. Rosenberg F, Lenon P. *Amplification and characterization of herpes simplex DNA in cerebrospinal fluid from patients with acute encephalitis. J Clin Microbiol 1991;29:2412-7.*
8. Aurelius E, Johanson B, Skodenberg B, Stland A, Forsgren M. *Rapid diagnosis of herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. Lancet 1991;337:189-92.*