

# 이중 중합효소연쇄반응을 이용한 거대세포바이러스 검출

최원호<sup>1</sup>, 강정욱<sup>1</sup>, 최태열<sup>1</sup>, 안유현<sup>2</sup>

한양대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>1</sup>, 내과학교실<sup>2</sup>

**배 경 :** Cytomegalovirus (CMV) 감염은 장기이식 환자뿐만 아니라 면역 저하 환자의 이환 및 사망의 중요한 원인이다. 연구자들은 혈액 검체에서 CMV를 검출하기 위한 이중-중합효소연쇄반응법과 항원 혈증 검사의 결과를 비교하였다.

**방 법 :** 한양대학병원에서 2002년 2월부터 2005년 5월까지 CMV 검출을 위하여 의뢰된 175개 혈액 검체 결과를 분석하였다. Dual-PCR은 CMV의 late antigen (LA) 및 major immediate early antigen (MIE) 유전자를 동시에 증폭하였고, 항원혈증 검사(Chemicon, Temecula, CA, USA)는 CMV의 lower matrix pp65 항원을 검출하였다.

**결 과 :** Dual-PCR의 양성율은 14.3% (25/175), 항원혈증 검사는 13.1% (23/175)이었다. Dual-PCR과 항원혈증 검사의 일치율은 85.1%(149/175), 불일치율은 14.9% (26/175)이었다.

**결 론 :** Dual-PCR 검사는 CMV의 조기 검출에 유용한 방법이나, 두 방법간에 불일치율이 높아 항원 혈증 검사와 함께 사용할 것을 추천한다.

## 서 론

거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV) 감염은 장기 이식환자 뿐만 아니라, 면역기능이 저하되어 있는 환자의 경우 장기이식의 실패 및 감염에 의한 치명적 사망에 이를 수가 있다[1,2]. 그러나 CMV 감염을 조기 진단하게 되면 항-바이러스 약제를 조기에 적절히 투여하여 감염에 의한 증상을 경감할 수 있을 뿐더러 CMV 감염에 의한 장기 이식 실패율을 낮출 수 있다[3-5]. CMV 진단에 사용되는 방법으로는 혈청학적 항체검사, 바이러스배양, 항원혈증 검사 및 중합효소연쇄반응 등이 있으나 각 방법마다 장단점이 있다[6]. 혈청학적검사는 간편하기는 하나 위양성 및 위음성이 많아 CMV 감염의 조기 진단에 사용하기가 적절치 않다[3,7]. 그러나 바이러스 배양법은 특이도는 높으나 민감도가 낮고 검사 시간이 긴 단점이 있으며, 항원혈증 검사는 민감도도 높고 반정량 적으로 보고 할 수가 있으나 제조회사 마다 결과의 차이를 보일 뿐만 아니라 판정 기준에 표준화가 되어있지 않다[7,8,9]. 이에 연구자는 dual-PCR과 항원혈증 검사를 이용한 혈액 내 CMV 검출 결과를 비교 검토하여 CMV 감염의 조기

진단에 있어서 PCR 검사법의 유용성을 평가해 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2002년 2월부터 2005년 5월까지 임상에서 의뢰된 CMV 검사 중 dual-PCR과 항원혈증 검사가 동시 의뢰되었던 175 명을 대상으로 하였다. 검체 의뢰 과는 혈액종양내과 75명, 신장내과 23명, 류마치스와 19명, 기타 과가 58명이었다.

### 2. 방법

#### 1) 이중-중합효소연쇄반응

##### (1) DNA 추출

Heparin 항응고제가 들어있는 혈액 5 mL에 dextran 2 mL로 적혈구를 침강시켜 buffy coat를 분리하였다. Buffy coat를 PBS에 재 부유시켜 원침 후 InstaGene (BioRad, Hercules, CA, USA)으로 처리하여 DNA를 분리하였다. External control은 CMV AD 169 strain (ATCC No. VR-538)을 사용하였다.

##### (2) 이중-중합효소연쇄반응

사용된 primer (MIE-4/MIE-5, 및 LApr/LA6)는 Demmler

접 수 일: 06/3/17 게재승인일: 06/5/13

교신저자: 최태열

(133-732)서울시 성동구 행당동 17

한양대학병원 진단검사의학과

TEL: (02)2990-8974 FAX: (02)298-1735

E-mail: tychoi@hanyang.ac.kr

Table 1. Sequences of oligonucleotide primers

Primers	Sequences (5'→3')	Length (bp) of amplified product	Location of amplified product
MIE-4	CCAAGCGGCCTCTGATAACCAAGCC	432	731-755
MIE-5	CAGCACCATCCTCCTCTTCCTCTGG		1165-1150
LA-6	CACCACGCAGCGGCCCTTGATGTTT	200	2500-2476
LA-Pr	GTCGCCTGCACTGCCAGGTGCTTCG		2301-2325
KM29	GGTTGGCCAATCTACTCCCAGG	536	$\beta$ -globulin
RS42	GCTCACTCAGTGTGGCAAAG		

Abbreviations: MIE, major immediate-early antigen gene; LA, late antigen gene; bp, base pairs.

등[10]이 고안한 primer를,  $\beta$ -globin primers (RS42/KM29)는 Greer 등[11]이 기술한 것과 동일한 primer를 사용하였다 (Table 1). 중합효소연쇄반응은 Kulski [12]와 Miller 등 [13]의 PCR 방법을 약간 수정하여 다음과 같이 실시하였다. 반응액 50  $\mu$ L (10mM Tris-Cl: pH 8.3, 50 mM KCl)에는 각각의 dNTP 200  $\mu$ M, primer (LA-Pr/LA-6, MIE-4/MIE-5, RS-42/KM-29)는 각각 100 pM, AmpliTaq DNA polymerase (Promega, Madison, WI, USA) 1 U,  $MgCl_2$  1.5 mM, 검체 5  $\mu$ L을 함유하고 있다.

Dual-PCR은 initial denaturation 95 $^{\circ}$ C 5분, denaturation 95 $^{\circ}$ C 1분, annealing 60 $^{\circ}$ C 30초, extension 72 $^{\circ}$ C 2분의 조건으로 41회 반복하였다. 마지막 단계의 extension은 72 $^{\circ}$ C에서 7분간 하였다. PCR 반응 후 얻어진 증폭산물 20  $\mu$ L에 loading buffer 4  $\mu$ L를 혼합하여 2% agarose gel에서 100 V로 1시간 30분간 전기영동을 실시하여 증폭산물을 확인하였다. LA primers는 CMV late antigen의 일부분(400 bp), MIE primer는 CMV major immediate early gene의 일부분(200 bp),  $\beta$ -globin primer는 human  $\beta$ -globin gene 중 536 bp을 증폭하였다(Fig. 1).



Fig. 1. Dual-PCR of cytomegalovirus. Lane 1, molecular weight marker (123 bp ladder); lane 2, LA gene positive case; lane 3, MIE gene positive case; 4, 6, and 8, LA and MIE genes positive case; 5 and 7, negative case; 9, negative control; 10, positive control. Internal control of  $\beta$ -globin (535 bp), MIE gene (432 bp), and LA gene (200 bp).

## 2) 항원혈증 검사

항원혈증 검사 시약은 LIGHT DIANOSTICS™ kit (CMV pp65 Antigenemia Immunofluorescence Assay, Chemicon, Temecula, CA, USA)를 사용하였으며, 술식을 간략하면 다음과 같다. Heparin 처리된 혈액 5mL에서 buffy coat를 분리하여 PBS로  $1.0 \times 10^6$ /mL되게 세포수를 조절하고 cytopsin을 이용하여 200  $\mu$ L를 900 rpm으로 3분 원심하면 슬라이드당  $2 \times 10^5$  세포가 슬라이드에 부착된다. 이 슬라이드를 실온 공기 중에서 건조하고 formalin에 고정한다. 슬라이드에 부착된 세포에 40  $\mu$ L의 pp65 monoclonal antibody를 도포하고 습윤 상자에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨다. PBS로 슬라이드를 세척한 후 anti-Mouse IgG:FITC conjugate 40  $\mu$ L를 cell spot에 덮어 37 $^{\circ}$ C 습윤 상자에서 30분간 반응시킨다. 현광현미경을 사용하여 핵 내의 bright apple green의 핵이 발견되면 양성으로 판단하고 전 슬라이드에서 양성 세포의 수를 계산하였다.

## 결 과

전체적으로 dual-PCR (LA gene이나 MIE gene 양성) 양성율은 14.3% (25/175), 항원혈증 검사 양성율은 13.1% (23/175)로 유사하였다. Dual-PCR 양성/항원혈증 검사 양성 11예, dual-PCR 양성/항원혈증 음성 14예, dual-PCR 음성/항원혈증 양성 12예, dual-PCR 음성/항원혈증 음성 138예였다. Dual-PCR과 항원혈증 검사의 일치율은 85.1% (149/175), 불일치율은 14.9% (26/175)였다. Dual-PCR 양성 항원혈증 검사 양성인 11예는 항원혈증 검사의 양성 백혈구가 2-1000(4 이하 3예, 5이상 8예)이었으며, dual-PCR음성 항원혈증 검사 양성인 양성 백혈구 수는 2-120(4이하 9예, 5이상 2예)이었다.

Dual-PCR 검사에서 LA gene 및 MIE gene 결과를 분리하여 분석하면 전체 175 검체 중 LA gene 양성 23예 (13.1%), MIE gene 양성 13예 (7.4%), 항원혈증 검사 양성 23예 (13.1%)로 LA gene 검사와 항원혈증 검사의 양성율은 동일하였다. LA gene, MIE gene, 및 항원혈증 검사 모두 양성 5예, LA gene, MIE gene 양성 및 항원혈증 음성은 6예, LA gene, 항원혈증 양성, MIE gene 음성은 6

Table 2. Results of dual-PCR and Ag test for cytomegalovirus detection

		Ag test		
		positive	negative	total
dual-PCR	positive			
	LA only	6	6	12
	MIE only	0	2	2
	LA/MIE	5	6	11
negative		12	138	150
Total		23	152	175

Abbreviations: LA, late antigen gene, MIE; major immediate early antigen gene; Ag, antigenemia.

예, LA gene만 양성 6예, MIE gene만 양성은 2예, 항원혈증 검사만 양성은 12예, LA gene, MIE gene 및 항원혈증 검사 음성은 138예 이었다. LA gene과 항원혈증 검사 결과의 일치율은 86.3% (151/175), 불일치율은 13.7% (24/175)인 반면 MIE gene과 항원혈증 검사의 일치율은 85.1% (149/175), 불일치율은 14.9% (26/175)로 LA gene 검사와 항원혈증 검사의 결과 일치율이 MIE gene 과 항원혈증 검사 결과의 일치율과 유사하였다(Table 2).

## 고 찰

CMV 항체 양성률 및 감염의 발생률은 나라마다 다르며, 검사 방법마다 차이가 있을 수가 있다. 국내 건강인의 CMV IgG 항체 양성율은 98-100%이며, CMV-IgM 항체 양성율은 8-11% 정도이다[14-16]. CMV 감염에는 잠복감염과 현증감염이 있으며 현증감염의 정확한 범위 설정이 어려워 검사 결과의 올바른 해석이 필요한 실정이다. 현증감염은 여러 가지 CMV 검사방법(혈청학적검사, 세포배양, 항원혈증 검사 및 PCR 등) 중 한 가지라도 양성이며, CMV 감염의 증상(발열, 백혈구감소증, 혈소판감소증, 간 효소 상승, 장염, 폐렴, 망막염, 신염, 혹은 관절통 등) 중 두 가지 이상의 증상이 나타나면 현증 감염으로 정의하고 있으나[17], 각 방법의 위양성 및 위음성 때문에 한 가지 방법에 의존하여 현증감염을 진단하기는 여러 가지 위험이 있을 수 있다. 아직까지 CMV 검사의 표준방법으로 제시된 방법은 없으나 기존에 사용하던 항원혈증 검사를 표준검사로 가정하였을 경우 dual-PCR의 예민도 48%, 특이도 91%로 예민도가 상당히 낮은 것으로 나타났다. 그러나 이것은 두 방법 간에 불일치율이 높기 때문이다.

CMV 항원혈증 검사에서 사용한 항체는 CMV의 lower matrix protein pp65와 반응하는 단클론항체이다. CMV의 lower matrix protein pp65는 CMV의 감염 초기에 나타나는 중요 단백 중 하나로 상당히 면역성이 강한 성질을 갖고 있다[18]. 이 방법은 말초혈액 내의 백혈구를 분리하여 cytopsin을 하고 염색하여  $2 \times 10^5$ 백혈구 중 CMV 양성 세포를 계산하여 CMV 감염을 반정량적으로 측정할 수 있으며, 또한 신속한 결과를 얻을 수 있어 현재 검사실

에서 많이 사용되고 있는 방법이다. 그러나 항원혈증검사는 kit 제조회사 마다 방법이 다르고, 사용된 단클론항체의 종류가 다르므로 CMV 검출율이 다를 수가 있으며, 혈액 내 백혈구 수가 극히 낮은 경우는 검사를 할 수 없는 단점이 있다. 이 방법도 높은 예민도 때문에 잠복감염의 검체에서 위양성을 나타낼 수 있는 위험이 있으나 양성 백혈구 수를 계산하여 반정량적으로 보고하고 있다. Murray 등[4]은 항원혈증 검사에서 백혈구  $5 \times 10^4$  중 양성 세포 수가 10개 이상이면 현증 CMV 감염일 확률이 93%까지 올라간다고 보고하였으나, Miller 등[19]은 항원혈증 검사에서 음성인 경우에도 많은 수에서 심한 CMV 감염을 경험하여 아직까지 항원혈증 검사에서 정확한 현증 감염의 범위 설정이 어려운 상황이다. 항원혈증 검사에서는 검체로부터 백혈구 회수율이 너무 낮아 검사가 불가능한 경우는 부적합 검체로 처리하여 연구대상에서 제외시켰으나, dual-PCR 검사는 혈장 및 혈청을 사용할 수가 있었으며, 뿐만 아니라 저자들의 경험에 의하면 인체 내 모든 체액(객담, 소변 등)도 검사 할 수 있는 장점이 있다[1].

CMV DNA를 검출하는 PCR 검사는 항체검사, 바이러스배양 및 항원혈증 검사보다 먼저 양성 반응을 나타내므로 초기에 항바이러스 약제를 투여할 수 있는 장점이 있다[6,14,20]. 그러나 PCR 검사도 역시 높은 예민도 때문에 잠복 감염된 CMV DNA도 검출할 수 있는 단점이 있다. 정상 건강인의 혈액에서도 8%의 CMV DNA가 검출되어 현증감염과 잠복감염을 구별하기가 어려운 경우가 있다[21]. PCR검사에서는 특히 검사 도중 CMV의 오염에 의한 위양성을 고려하여야 하는데, 본 연구에서는 철저한 정도관리와 음성 대조를 자주 사용하여 CMV의 혼입을 사전에 차단하였다.

PCR 검사의 고도 예민도를 극복하기 위하여 혈장이나 혈청을 검체로 사용할 수 있으며, mRNA를 reverse transcriptase-PCR (RT-PCR)을 실시하여 CMV의 활성을 검출할 수가 있다[22-26]. 뿐만 아니라 회석법에 의한 반정량적 PCR 또는 real time PCR 등을 사용하여 검체 내 CMV의 양을 정량적으로 측정할 수가 있다[1,8,24-26]. 본 연구에서도 항원혈증 검사 결과에서 양성 세포수가 1,000개 이상인 환자의 검체를 1,000 배까지 회석하여

dual-PCR을 실시하여도 양성으로 나타난 경우가 있어 항-바이러스 치료 후 CMV DNA를 반정량으로 측정할 수 있을 것으로 사료된다[1]. 본 연구에서 dual-PCR 양성 항원혈증 검사 양성인 11예의 경우 항원혈증 검사의 양성 백혈구가 2-1000(4 이하 3예, 5이상 8예)로, dual-PCR음성 항원혈증 검사 양성인 양성 백혈구 수 2-120(4이하 9예, 5 이상 2예) 보다 양성 백혈구 수가 많았던 것으로 나타났다. Dual-PCR 음성이나 항원혈증 검사에서 양성 백혈구가 120개 나타난 경우는 Demmler 등[10]이 지적한 것처럼 감염 CMV의 염기서열에 변이가 있어 저자들이 사용한 primers로 검출되지 않은 것으로 사료된다.

PCR 검사에서 위음성은 혈중 viremia가 낮아서 위음성을 나타낼 수 있을 뿐만 아니라, CMV의 염기서열 변형에 의한 위음성 및 항응고제로 사용한 heparin에 의한 PCR 위음성도 고려하여야 한다[13,27]. Dual-PCR의 위음성을 줄이기 위해서는 검체에서 백혈구 회수 및 DNA를 추출하는 방법을 더욱 효율성 높은 방법으로 개선하고, dual-PCR의 조건을 개선하면 예민도를 더욱 높일 수 있을 것으로 사료된다.

Demmler 등[10]은 CMV 검출을 한 종류의 primers만 사용하여 CMV DNA를 증폭할 경우 CMV의 변이에 따른 DNA 염기서열에 차이가 있을 수가 있으므로 여러 종류의 primers를 사용하여 CMV를 검출하는 것이 위음성을 낮출 수 있다고 하였다. 연구자들도 CMV의 LA 및 MIE gene을 각각 검출할 수 있는 두 쌍의 primers를 사용하였다. LA gene은 분자량이 65 kDa인 인산화된 기질 구조 단백을 조절하는 gene이며 이 단백질은 비리온 외피의 주 구성 성분이다[28]. MIE gene은 68-72 kDa의 인산화된 단백을 조절하는 유전자로 알려져 있으며, 감염 후 감염세포의 핵내에 농축되어 있다[29].

본 연구에서 LA gene 검출율은 13.1% (23/175)로 MIE gene 검출율 7.4% (13/175)보다 높았으나 통계학적인 의의는 없었다. Demmler 등[10]도 46 분리 군주 중 9 군주 (20%)에서 LA gene과 MIE gene 증폭 결과 불일치함을 발견하였다. 이것으로 보아 LA gene과 MIE gene 증폭 결과의 차이는 각 primers의 예민도도 고려할 수 있겠으나 감염된 CMV DNA 염기서열의 변이에 의한 다양한 CMV 감염을 생각할 수가 있다[10].

Kulski [12]는 저자들이 사용한 동일한 primers를 사용하여 LA primers는 1 fg ( $10^2$  copy), MIE primers는 10 fg ( $10^3$  copies)까지 검출할 수 있었다. 뿐만 아니라 single PCR과 dual PCR을 실시한 결과 single PCR에서는 LA gene은 17.4%, MIE gene은 6.5%의 위음성을 나타내었으나, dual-PCR에서는 46예 중 한 예(2.2%)에서만 위음성을 나타내어 dual-PCR의 우수성을 강조하였다[12]. Demmler 등[10]은 선천성 CMV 감염을 진단하기 위하여 처음 소변 내 CMV를 dual-PCR을 이용하여 좋은 결과를 나타내었으나, 강 등[1]은 전향적인 방법으로 환자의 혈액에서 항원혈증 검사와 함께 사용하여 좋은 결과를 나

타내었다. 이에 연구자들은 이 dual-PCR법을 모든 검체에 적용 사용하여왔으며, 혈액 검체에서는 기존에 사용하여 오던 항원혈증 검사와 함께 상호 보완적으로 사용하여왔다. 이번 연구 결과에서 dual-PCR과 항원혈증 검사의 불일치율이 높았던 이유 중에 하나로 dual-PCR과 항원혈증 검사의 예민도와 특이도 때문도 있겠으나, 검사를 각기 다른 병원에서 실시하여 검사 실시 시간상의 차이 때문인 점도 배제하지 못하였다. 결론적으로 dual-PCR 검사는 CMV 검출율이 높은 검사이나 혈액 검사의 경우 항원혈증 검사와 불일치율이 높아 상호보완적으로 사용함이 좋을 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

1. Kahng KW, Kong K, Kim DU, Kwak JY, Kang CM. Quantitation of cytomegalovirus DNA by end-point titration and dual polymerase chain reaction in renal transplant recipients. *J Korean Transplant* 1996;10:25-33.
2. Choi SI, Lee HS, Kang MJ. Comparison of polymerase chain reaction and viral culture for the detection of cytomegalovirus. *Korean J Clin Pathol* 1993;13:607-16.
3. Lee YW, Nam MH, Lee JH, Lee NY. Comparison of polymerase chain reaction method and CMV antigenemia assay for diagnosis of cytomegalovirus infection in transplanted patients. *Korean J Clin Microbiol* 1998;2:177-81.
4. Murray BM, Brentjens J, Amsterdam D, Myers J, Gray V, Pawlowski I, et al. The cytomegalovirus-antigenemia assay in the diagnosis of posttransplant cytomegalovirus infection. *J Am Soc Nephrol* 1994;4:1615-22.
5. Einsele H, Ehninger G, Steidle M, Vallbracht A, Muller M, Schmidt H, et al. Polymerase chain reaction to evaluate antiviral therapy for cytomegalovirus disease. *Lancet* 1991;338:1170-2.
6. Olive DM, Simsek M, Al-Mufti S. Polymerase chain reaction assay for detection of human cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1989;27:1238-42.
7. Shin HJ, Kim HK, Kim HS. The usefulness of PCR and early antigen immunostaining as a rapid identification method of cytomegalovirus infection. *Korean J Clin Pathol* 1998;18:452-7.
8. Park SJ, Jang YW, Chun HJ, Jeon DS, Kim JR. Semiquantitative PCR for detection of human cytomegalovirus. *Korean J Clin Pathol* 1996;16:545-55.
9. Kim MY, Yoon M, Kim WH, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Early detection of human cytomegalovirus DNA by PCR-ELISA. *Korean J Clin Pathol* 1998;8:407-413.
10. Demmler GJ, Buffone GJ, Schimbor CM, May RA. Detection of cytomegalovirus in urine from newborns by

- using polymerase chain reaction DNA amplification. *J Infect Dis* 1988;158:1177-84.
11. Greer CE, Peterson SL, Kivat NB, Manos MM. PCR amplification from paraffin-embedded tissues. Effects of fixative and fixation time. *Am J Clin Pathol* 1991; 95:117-24.
  12. Kulski JK. Quantitation of human cytomegalovirus DNA in leukocytes by end-point titration and duplex polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 1994; 49:195-208.
  13. Miller MJ, Bovey S, Pado K, Bruckner DA, Wagar EA. Application of PCR to multiple specimen types for diagnosis of cytomegalovirus infection: Comparison with cell culture and shell vial assay. *J Clin Microbiol* 1994;32:5-10.
  14. Kang JM, Choi TY. Cytomegalovirus antibody in normal persons and patients with chronic renal failure. *J Hanyang Med Coll* 1988;8:901-6.
  15. Hahn JS, Lee SJ, Park WK, Ko YW, Kim HO, Lee S. A survey of the cytomegalovirus antibodies in blood donors and the diseased. *Korean J Blood Transfus* 1990;1:21-34.
  16. Kim YK and Kim DW. Seroepidemiology of human cytomegalovirus in health adults measured by means of the anticomplement immunofluorescence technique. *Korean J Infect Dis* 1992;24:87-92.
  17. 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 allogeneic bone marrow transplantation from unrelated donors. *Bone Marrow transplant* 1997;19:241-8.
  18. Landini MP, Severi B, Furlini G, Badiali DeGiorgi L. Human cytomegalovirus structural components: intracellular and intraviral localization of p28 and p65-69 by immunoelectronic microscopy. *Virus Res* 1987;8:15-23.
  19. Miller H, Rossier E, Milk R, Thomas C. Prospective study of cytomegalovirus antigenemia in allograft recipients. *J Clin Microbiol* 1991;29:1054-5.
  20. Zipeto D, Revello MG, Silini E, Parea M, Percivalle E, Zavattoni M, et al. Development and clinical significance of a diagnostic assay based on the polymerase chain reaction for detection of human cytomegalovirus DNA in blood samples from immunocompromized patients. *J Clin Microbiol* 1992;30:527-30.
  21. Smith KL, Kulski JK, Cobain T, Dunstan RA. Detection of cytomegalovirus in blood donor by the polymerase chain reaction. *Transfusion* 1993;33:497-503.
  22. Nyberg G, Bergstrom T, Blohme I, Norden G, Ricksten A. Clinical use of a PCR test for detection of CMV DNA in leukocyte and serum samples. *Transplant Proc* 1994;26:1717.
  23. Randhawa PS, Manez R, Frye B, Ehrlich GD. Circulating immediate-early mRNA in patients with cytomegalovirus infections after solid organ transplantation. *J Infect Dis* 1994;170:1264-7.
  24. Pang XL, Chui L, Fenton J, LeBlanc B, Preiksaitis JK. Comparison of LightCycler-based PCR, COBAS Amplicor CMV monitor, and pp65 antigenemia assays for quantitative measurement of cytomegalovirus viral load in peripheral blood specimens from patients after solid organ transplantation. *J Clin Microbiol* 2003;41: 3167-74.
  25. Piiparinen H, Hockerstedt K, Gronhagen-Riska C, Lautenschlager I. Comparison of two quantitative CMV PCR test, Cobas Amplicor CMV monitor and TaqMan assay, and pp65-antigenemia assay in the determination of viral loads from peripheral blood of organ transplant patients. *J Clin Virol* 2004;30:258-66.
  26. Boeckh M, Huang M, Ferrenberg J, Stevens-Ayers T, Stensland L, Nichols WG, et al. Optimization of quantitative detection of cytomegalovirus DNA in plasma by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2004;42: 1142-8.
  27. Beutler E, Gelbart T, Kuhl W. Interference of heparin with the polymerase chain reaction. *Biotechniques* 1990;9:166.
  28. Leach FS and Mocarski ES. Regulation of cytomegalovirus late-gene expression: differential use of three start sites in the transcriptional activation of ICP36 gene expression. *J Virol* 1989;63:1783-91.
  29. Blanton RA and Tevethia MJ. Immunoprecipitation of virus-specific immediate-early and early polypeptides from cells lytically infected with human cytomegalovirus strain AD 169. *Virology* 1981;112:262-73.

## Detection of Cytomegalovirus by Dual-PCR

Won Ho Choe<sup>1</sup>, Jung Oak Kang<sup>1</sup>, Tae Yeal Choi<sup>1</sup>, and Youhern Ahn<sup>2</sup>

*Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, and Internal Medicine<sup>2</sup>, Hanyang University Medical College, Seoul, Korea*

---

**Background:** Cytomegalovirus (CMV) infection is a major cause of morbidity and mortality in transplant recipients and immunocompromised patients. We compared the results of a dual polymerase chain reaction (dual-PCR) and an antigenemia (Ag) test for detection of CMV from blood samples.

**Methods:** Between February 2002 and May 2005, we analyzed 175 blood samples submitted for CMV tests at Hanyang University Hospital. The late antigen (LA) and major immediate early (MIE) genes of CMV were concurrently amplified in the dual-PCR. The lower matrix protein pp65 of CMV was detected for the Ag test (Chemicon, Temecula, CA, USA).

**Results:** The positive rate of the dual-PCR was 14.3% (25/175) and that of the Ag test was 13.1% (23/175). The concordance rate of the dual-PCR and Ag test was 85.1% (149/175), while the discordance rate was 14.9% (26/175).

**Conclusion:** The dual-PCR is a useful method for the early detection of CMV, but we recommend using both the dual-PCR and Ag test for detection of CMV due to a high discordance rate of the two methods.

*(Korean J Clin Microbiol 2006;9(2):96-101)*

**Keywords:** Cytomegalovirus, Late antigen (LA) gene, Major Immediate Early Antigen (MIE) gene, Polymerase chain reaction, Antigenemia

---

**Address reprint requests to :** Tae Yeal Choi, M.D., Department of Laboratory Medicine, Hanyang University College of Medicine, Seoul 133-732, Korea.  
TEL. +82-2-2990-8974 FAX. +82-2-2298-1735 E-mail: tychoi@hanyang.ac.kr