

## Performance Evaluation of Real-Q Enterovirus Quantification Kit for Enterovirus by Real-time PCR

Dual Song, M.D.<sup>1</sup>, Shine Young Kim, M.D.<sup>1</sup>, Son A Jo, M.D.<sup>1</sup>, Hyung-Il Hahm<sup>2</sup>, Sang-Hyun Hwang, M.D.<sup>1,4</sup>,  
Young Tak Lim, M.D.<sup>3</sup>, Hyung Hoi Kim, M.D.<sup>1</sup>, Chulhun L. Chang, M.D.<sup>1</sup>, and Eun Yup Lee, M.D.<sup>1</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, Medicine<sup>2</sup>, and Pediatrics<sup>3</sup>, Pusan National University School of Medicine; Medical Research Institute<sup>4</sup>, Pusan National University Hospital, Busan, Korea

**Background** : Molecular methods have enabled rapid diagnosis of aseptic meningitis and have reduced both unnecessary therapeutic interventions and medical costs. In this study, we evaluated the analytical performance of the recently developed Real-Q Enterovirus Quantification kit (BioSe-woom Inc., Korea).

**Methods** : We evaluated the detection limit, precision, linearity, and cross-reactivity of the Real-Q Enterovirus Quantification kit and compared it with the conventional PCR method. From March to September 2009, we tested 91 CSF specimens from patients who visited the pediatrics department of the university hospital with symptoms of aseptic meningitis or infantile sepsis, and we also tested 48 CSF specimens from patients with febrile convulsion for differential diagnosis.

**Results** : The Real-Q Enterovirus Quantification kit showed good linearity ( $r=0.997$ ) within a range from  $3 \times 10^2$  to  $3 \times 10^{10}$  copies/mL, and the detection limit of the kit was 83 copies/mL. The within-run, between-run, and between-day CVs were 5.3-7.6%, 9.5-12.3%, and 11.4-13.4%, respectively. There was no cross reactivity between enteroviruses and various microorganisms. Positive results were obtained for 39.1% (25/64) of the patients suspected of aseptic meningitis and 44.4% (12/27) of the patients suspected of infantile sepsis. However, among the 48 children with febrile conversion, only 4 were positive for enterovirus. Further, the concordance with conventional PCR was high (73/74).

**Conclusions** : The Real-Q Enterovirus Quantification kit showed excellent linearity and high reliability with a broad reportable range. It showed good detection rate when used with clinical specimens and also showed a high concordance with the conventional method. Therefore, this assay would be clinically useful not only in diagnosis of aseptic meningitis but also in differential diagnosis of infantile sepsis. (*Korean J Lab Med* 2010;30:624-30)

**Key Words** : Human enteroviruses, Aseptic meningitis, Real time PCR, Performance evaluation, Cerebrospinal fluid

### 서 론

장바이러스(human enteroviruses, HEV)는 Picornaviri-

dae과 Enterovirus 속에 속하는 24-30 nm 크기의 바이러스로서 외피가 없는 정이십면체의 형태를 가지며 single-stranded positive sense RNA로 구성된다. 장바이러스 유전자는 5' noncoding region (NCR)과 capsid, protease, polymerase 등을 coding하고 있고, 이중 바이러스 중화에 가장 중요한 역할을 하는 capsid는 VP1, VP2, VP3, VP4의 폴리펩티드로 이루어져 있다. 장바이러스는 침범하는 숙주의 종류와 바이러스 병인에 따라 폴리오바이러스, 에코바이러스, 콕사키바이러스 A, B 그리고 기타 장바이러스 등으로 분류되어 왔다[1]. 그런데 최근에는 VP1 유전자에 염기서열에 따라 HEV-A, -B, -C 및 -D로 분류되며, 68개의 혈청형이 International Comminttee

Received : April 22, 2010      Manuscript No : KJLM10-072  
Revision received : September 20, 2010  
Accepted : November 1, 2010  
Corresponding author : Sang-Hyun Hwang, M.D.  
Department of Laboratory Medicine, Pusan National University  
School of Medicine, 205 Gudeok-ro, Seo-gu, Busan 602-739, Korea  
Tel : +82-51-240-7403, Fax : +82-51-247-6560  
E-mail : mindcatch@hanmail.net

This work was supported for 2 years by Pusan National University Research Grant.

ISSN 1598-6535 © The Korean Society for Laboratory Medicine

on Taxonomy of Viruses Classification에 포함되었다[2, 3]. 장바이러스는 원인이 밝혀진 수막염의 가장 흔한 원인으로 알려져 있으며 특히 초여름에 유행하는 무균성 수막염은 장바이러스로 인한 경우가 대부분이다. 무증상 감염에서부터 발열, 피부 발진, 인후염, 수족구병, 헤르페스목구멍염, 심근염 등을 일으킬 수 있으며 심할 경우 무균성 수막염과 뇌염에 이르기까지 임상적으로 매우 다양한 양상을 보이는 질환이다[1, 4].

장바이러스 감염의 진단은 전통적으로 혈청학적 방법인 항체 검사 또는 배양을 통한 바이러스 검출에 의존하여 왔다. 항체검사의 경우 바이러스의 직접적인 검출이 아니며, 배양법의 경우 일주일 정도가 소요되며 일부의 장바이러스는 숙주세포가 감수성을 나타내지 않는다는 단점이 있다. 이에 비해 장바이러스 유전자 중 5' NCR을 대상으로 한 중합효소연쇄반응은 장바이러스에 대하여 높은 특이도를 보이며, 비교적 빠른 시간 내에 검출하므로 환자의 조기진단에 도움이 되며[5], 조기에 임상적 결정을 할 수 있게 하여 재원기간을 단축시키고 불필요한 진단 및 치료를 줄일 수 있다[6]. 최근에는 실시간 정량 중합효소연쇄반응(real-time quantitative PCR)을 기반으로 민감도를 높인 다수의 검사법이 소개되고 있어 장바이러스의 진단에서 분자진단기법의 이용이 급속히 증가하고 있다[7-9].

저자들은 국내에서 개발된 실시간 정량 중합효소연쇄반응을 기반으로 한 장바이러스 검출키트의 성능을 평가하고 뇌척수액 검체를 이용하여 임상적 유용성을 평가하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

Real-Q Enterovirus Quantification kit (Biosewoom Inc., Seoul, Korea)를 이용한 장바이러스 실시간 정량 중합효소연쇄반응 검사의 임상 평가를 위하여 2009년 3월부터 9월까지 부산대학교병원 및 양산부산대학교병원 소아청소년과에서 뇌척수액의 장바이러스 분자진단검사가 의뢰된 환아를 대상으로 하였다. 전체 대상은 바이러스 감염이 의심되는 군(91예)과 감별진단을 위해 의뢰된 군(48예)으로 분류되었다. 바이러스 감염이 의심되는 군에는 무균성 수막염이 의심되는 환아 64예와 1세 미만 영아에서 패혈증이 의심된 환아 27예가 포함되었고, 감별진단을 위해 의뢰된 군으로는 열성경련을 주소로 의뢰된 48예가 포함되었다.

### 2. RNA 추출 및 cDNA 합성

Gene-spin Viral DNA/RNA Extraction kit (iNtRON Biotechnology, Seoul, Korea)를 사용하여 뇌척수액 300  $\mu$ L에서 40  $\mu$ L의 장바이러스 RNA를 제조사의 지시대로 내부 대조(internal control, IC) DNA를 첨가하여 추출하였다. 추출된 RNA는 Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, Ontario, Canada)를 이용하여 제조사의 지시대로 cDNA로 합성하였다.

### 3. 실시간 정량 역전사중합효소반응

합성된 장바이러스 cDNA 9  $\mu$ L와 Real-Q Enterovirus Quantification kit (Biosewoom Inc.)내 장바이러스 표준물질을 21  $\mu$ L의 반응혼합물(master mix)에 분주하고 ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 이용하여 50°C 2분, 95°C 10분 이후 95°C에서 15초 58°C에서 45초의 반응을 45회 반복하였다.

제조사에 따르면, Real-Q Enterovirus Quantification kit는 뇌척수액과 대변을 검체로 사용할 수 있으며, 장바이러스의 5' -NCR을 대상으로 하여 시발체와 탐색자(probe)가 디자인되었다. 장바이러스 cDNA에는 VIC 형광 dye를, 내부대조물질에는 FAM 형광 dye를 부착하여 별도의 형광채널에서 검출하고 내부대조물질의 Ct 값이 38 cycle 이내에 드는 것을 확인하였다. 또한 매 반응마다 PCR의 오염을 확인하기 위해 증류수를 사용한 음성대조군에서 음성의 결과가 나오는지 확인하였다. 제조사의 기준에 따라 Ct값이 40 이하인 경우를 양성으로 보고하였다.

### 4. 검출 한계 평가

장바이러스 양성 검체를 PCR 후 클로닝하여 얻은 장바이러스 플라스미드 DNA를 1,280 copies/mL, 640 copies/mL, 320 copies/mL, 160 copies/mL, 80 copies/mL, 40 copies/mL 농도의 희석액을 만들어 사용하여 각 농도당 24번 반복 검사를 실시하였다. 최소 검출 농도는 CLSI EP17-A에 따라 probit 분석을 통하여 95% 신뢰수준에서 예측하였다[10].

### 5. 정밀도 평가

$3 \times 10^7$  copies/mL,  $3 \times 10^4$  copies/mL 농도의 장바이러스

표준 DNA를 사용하여[11] EP5-A2에 따라 20일간 하루에 2시간 이상의 간격으로 2회씩을 시행하였고[12], 매번 실시할 때마다 5번 반복 측정하여 검사차레내(within-run), 검사차레간(between-run), 검사일간(between-day) 정밀도를 평가하였다.

## 6. 직선성 평가

CLSI EP-6A를 참고하여 장바이러스 플라스미드 DNA를  $3 \times 10^0$  copies/mL부터  $3 \times 10^2$  copies/mL까지 10배수로 연속 희석하여 각 농도마다 8회씩 반복 측정하여 직선성을 평가하였다[13]. 결과값을 다항식 회귀분석(polynomial regression)을 시행하고, *t*-test로 검정하였다.

## 7. 교차반응 평가

HBV DNA performance panels, ACCURUN HCV RNA performance panels, ACCURUN HIV-1 RNA performance panels (BBI Diagnostics, West Bridgewater, MA, USA)으로부터 장바이러스 실험군과 동일한 방법으로 DNA/RNA를 추출하고 PCR을 시행하였다. 또한, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* 등 배양된 세균을 균액을 만들어 10분간 끓인 뒤, 12,000 g에서 5분간 원심한 후 상층액을 취하는 boiling 방법으로 DNA를 추출하였고, 이후는 장바이러스와 동일조건에서 검사를 시행하고 교차반응 여부를 확인하였다.

## 8. 역전사중합효소연쇄반응과의 비교평가

Real-Q Enterovirus Quantification kit를 이용한 실시간 정량 중합효소연쇄반응과 기존의 역전사중합효소연쇄반응을 비교하기 위하여, 2009년 3월부터 2010년 9월까지 본원에 장바이러스 분자진단검사가 의뢰된 환자 중 양성으로 나온 검체 45예, 음성으로 나온 29예를 추가적으로 역전사중합효소연쇄반응 검사를 시행하였다. 역전사중합효소연쇄반응을 위해 5'-NCR을 대상으로 한 시발체와 합성된 장바이러스 cDNA, 8-methoxypsoralen (8-MOP) 등 반응혼합물을 혼합하여 총 20  $\mu$ L의 반응액을 제조하였다. 역전사중합효소연쇄반응은 94°C에서 15분 반응 후, 94°C에서 30초, 60°C 90초, 72°C 90초의 반응을 40회 반복하였고, 최종적인 연장 반응을 72°C에서 10분간 실시하였다. 증폭된 산물 5  $\mu$ L를 ethidium bromide가 0.5

$\mu$ L/mL 포함된 2% 한천젤(agarose gel)에서 100 V, 20분 동안 전기영동하여 확인하여 Real-Q Enterovirus Quantification kit를 이용한 검사 결과와 비교하였다.

## 9. 뇌척수액 검사 결과 비교

바이러스 감염이 의심되는 군과 감별진단을 위해 의뢰된 군에서의 실시간 정량 중합효소연쇄반응검사 양성률을 산출하였고, 뇌척수액의 백혈구, 중성구, 림프구, 당, 단백질, LDH 수치와 장바이러스 바이러스 정량값 간의 상관성을 살펴보았다.

## 결 과

### 1. 검출 한계

Real-Q Enterovirus Quantification kit는 160-1,280 copies/mL의 장바이러스 플라스미드 DNA를 100% 검출하였으며, 80 copies/mL (95% confidence interval: 71-105 copies/mL)의 농도에서는 91.6%의 양성률로 검출할 수 있었던 반면, 40 copies/mL의 경우는 41.6%의 양성률로 검출되었다. 반복 측정한 자료를 이용한 probit 분석에서 95% 신뢰수준으로 결정되는 한계의 장바이러스 정량값은 83 copies/mL이었다.

### 2. 정밀도 및 직선성

$3 \times 10^7$  copies/mL,  $3 \times 10^4$  copies/mL 두 농도에 대해 검사차레내 정밀도 변이계수 5.3-7.6%, 검사차레간 정밀도 변이계수 9.5-12.3%, 검사일간 정밀도 변이계수는 11.4-13.4%이었다.  $3 \times 10^2$ - $3 \times 10^{10}$  copies/mL 범위에서 직선성이 유지되었다 (Fig. 1).

### 3. 교차 반응 및 검사 간 비교 평가

HBV DNA performance panels, ACCURUN HCV RNA performance panels, ACCURUN HIV-1 RNA performance panels (BBI Diagnostics), *L. monocytogenes*, *E. coli* ATCC 25922, *H. influenzae*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* 등에서 장바이러스 유전자가 증폭되지 않아 교차반응은 없는 것으로 판단하였다(Table 1).

검사 간 비교에서는 Real-Q Enterovirus Quantification kit에서 양성결과를 보인 45예 모두 중합효소연쇄반응 검사에

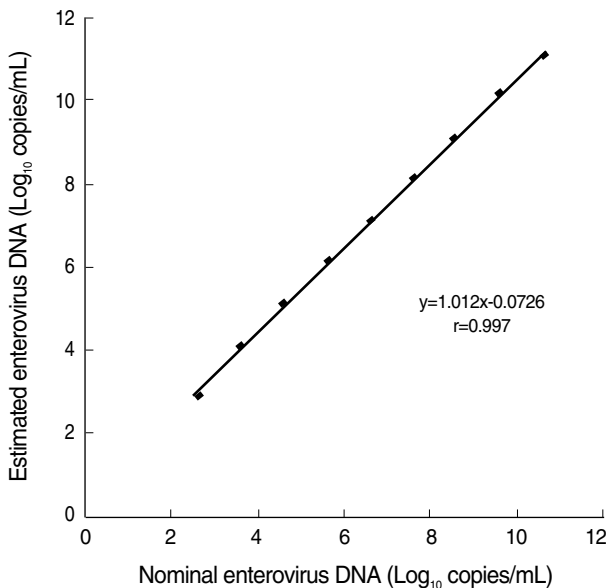


Fig. 1. Linearity range of Real-Q Enterovirus Quantification kit (BioSewoom Inc., Korea).

서 양성으로 나와 100% 일치하였으며, 음성 29예 중 1예에서만 역전사중합효소연쇄반응 검사에서 양성을 보여 불일치하였다. 역전사중합효소연쇄반응 검사에서만 양성을 보인 환자는 발열 없이 발작을 주소로 내원하여 간질로 진단된 환자였다.

#### 4. 뇌척수액 검사 양성 및 바이러스 정량값의 분포

무균성 수막염이 의심되는 뇌척수액 64예 중 25예에서 양성 이었고(39.1%), 1세 미만 영아에서 패혈증이 의심되어 감별진단을 위해 의뢰된 뇌척수액 검체 27예 중 12예(44.4%)가 양성이었으며, 이 중 양성인 장바이러스 정량값의 범위는  $1.5 \times 10^2$ – $1.0 \times 10^6$  copies/mL, 평균값은  $1.1 \times 10^4$  copies/mL, 중앙값  $3.9 \times 10^3$  copies/mL을 보였다. 한편 열성경련의 감별진단으로 의뢰된 뇌척수액 검체 48예 중에서는 4예(8.3%)(48.7, 100.6, 428.2, 1,419.7 copies/mL)만이 양성(8.3%)을 보였다. 전체에서 경계치를 보인 결과는 없었다.

뇌척수액의 백혈구, 중성구, 림프구, 당, 단백질, LDH 수치 중 장바이러스의 정량값과 유의한 상관계수를 보인 값은 오직 백혈구 수치이었고, Pearson 상관계수 0.397 ( $P=0.004$ )을 보였다.

## 고 찰

무균성 수막염 환자 진단에 있어, 분자진단법은, 4–8일 정도

Table 1. The list of viruses and bacteria used for evaluating cross-reactions of Real-Q Enterovirus Quantification kit

HBV genotype A (PHD201-02)
HBV genotype B (PHD201-04)
HBV genotype C (PHD201-05)
HBV genotype D (PHD201-06)
HBV genotype E (PHD201-08)
HBV genotype F (PHD201-09)
Hepatitis C virus 1a
Hepatitis C virus 1b
Hepatitis C virus 2a
Hepatitis C virus 2b
Hepatitis C virus 3a
Hepatitis C virus 3b
Hepatitis C virus 4
Hepatitis C virus 4h
Hepatitis C virus 5a
Hepatitis C virus 6a
Human immunodeficiency virus A
Human immunodeficiency virus B
Human immunodeficiency virus C
Human immunodeficiency virus D
Human immunodeficiency virus E
Human immunodeficiency virus F
Human immunodeficiency virus G
Human immunodeficiency virus H
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>

걸리는 배양검사에 비해 신속한 진단이 가능하여[14], 무균성 수막염 환자의 조기 진단을 가능하게 함으로써, 환자 관리 및 의료비용감소에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[6, 15]. 지금까지 중합효소연쇄반응[14], 이중중합효소연쇄반응[16], 염기순서기반증폭[17], 실시간 정량 중합효소연쇄반응[7] 등 무균성 뇌수막염의 진단을 위한 다양한 분자진단방법이 개발되어 임상에 적용되고 있다.

본 연구에서 평가한 BioSewoom Real-Q Enterovirus Quantification kit는 실시간 역전사-중합효소연쇄반응의 원리를 적용하고 있으며 cDNA를 만들어 실시간 정량 중합효소연쇄반응을 거치는 두 단계로 이루어져 있다. 일반적으로 장바이러스 검출에 있어 two-step RT-PCR이 one-step RT-PCR보다 민감도가 높은 것으로 알려져 있다[18].

BioSewoom Real-Q Enterovirus Quantification kit의 검출한계는 83 copies/mL로, 이는 이번 실험에서 양성으로 확인된 장바이러스 정량값의 범위인  $1.5 \times 10^2$ – $1.0 \times 10^6$  copies/

mL보다 낮아, 임상적으로 유용할 것으로 판단된다. 또한, 592 genome equivalent/mL이 검출한계인 다른 실시간 정량 중합효소연쇄반응 방법보다 비교적 예민한 검출 민감도를 보이는 것으로 판단되었다[7].

또한, 장바이러스에 의한 무균성 뇌수막염의 환자 검체에서 검출된 장바이러스 농도의 중앙값이  $3.9 \times 10^3$  copies/mL를 보여 이전 연구결과( $4.5 \times 10^3$  copies/mL)와 유사한 값을 나타내었다[19]. 또한,  $3 \times 10^2 - 3 \times 10^{10}$  copies/mL의 매우 넓은 범위에서 직선성이 유지되어 정량적 측정에 유용할 것으로 사료된다.

정밀도는 검사차례내 정밀도 변이계수가 5.3-7.6%, 검사차례간 정밀도 변이계수 9.5-12.3%, 검사일간 정밀도 변이계수는 11.4-13.4%였다. 이전 연구에서 two-step 역전사중합효소연쇄반응검사의 검사차례내 정밀도가 1.1-1.5%, 검사차례간 정밀도는 3.2-3.3%로 보고한 것에 비해 정밀도가 떨어지는 것으로 보이나, 이전 연구는 Ct 값의 정밀도를 평가한 것이고, 본 연구는 장 바이러스의 copy 수의 정밀도를 평가한 것으로 직접 비교에는 제한이 있을 것으로 생각된다[18].

이 연구는 장바이러스를 혈청형별로 분류하여 실험을 하지 못하여 혈청형별로 발생할 수 있는 위음성 가능성에 대해서 평가되지 않았다. 또한 본 연구는 임상 전 성능 평가 단계의 연구 설계 형태로 배양 검사와 같은 참고 검사법과의 비교를 시행하지 않았다. 추가적으로 확진 검사법을 이용한 임상 성능 평가가 진행되어야 할 것이다. 하지만, 무균성 수막염이 의심된 뇌척수액 64예 중 25예(39.1%)에서 양성이고, 1세 미만 영아에서 패혈증이 의심되어 감별진단을 위해 의뢰된 뇌척수액 검체 27예 중 12예(44.4%)가 양성이었으며, 한편 열성경련의 감별진단으로 의뢰된 뇌척수액 48예 중에서는 4예(8.3%)만이 양성을 보여, 임상증상과의 관련성을 보였다.

전통적인 역전사중합효소연쇄반응 검사와의 비교에서는 74예 중 1예만이 불일치를 보여 매우 상관성이 높은 것으로 판단된다. 불일치를 보인 1예는 Real-Q Enterovirus Quantification 검사에서 음성, 역전사중합효소연쇄반응 검사 양성이었으나 임상적으로 장바이러스 감염과의 상관성이 없는 환자로 뇌척수액 검사상 뇌수막염을 의심할 수 있는 백혈구가 관찰되지 않았고, 최종적으로 간질로 진단되었다.

일반적으로 실시간 정량 중합효소연쇄반응은 기존의 중합효소연쇄반응에 비하여 정량 값을 알 수 있다는 장점 외에도, 전기영동 등의 과정이 생략되어 가지는 장점이 있다. 하지만, 장바이러스 정량 값이 주는 임상적 의의나 뇌척수액 내의 세포학적, 생화학적 검사 결과와의 상관성이 적어서 장바이러스의 정량 측정이 임상적으로 기존의 역전사중합효소연쇄반응에 비해

더 유용한지에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

장바이러스는 신생아에서의 sepsis-like syndromes의 중요한 원인으로 알려져 있으며[1, 11], 발열을 동반한 신생아와 3개월 미만의 영아를 대상으로 한 전향적인 연구에서도 장바이러스 감염이 흔하다고 보고하였으며[20], 특히 1개월 미만의 영아에서는 사망률이 50%에 이른다는 보고가 있다[21]. 이는 이번 연구에서 패혈증이 의심된 신생아 및 영아에서의 높은 장바이러스 양성률을 보인 것과 일치되며, Real-Q Enterovirus Quantification kit는 신생아 장바이러스 검출에도 임상적으로 유용할 것으로 예상되므로 임상적 사용 시 그 효용이 크다 하겠다.

결론적으로, Real-Q Enterovirus Quantification kit는 검출한계, 정밀도, 직선성, 교차반응 등의 성능에 있어 우수하며, 기존의 역전사중합효소연쇄검사와의 높은 일치도를 보이며, 임상 검체에서도 높은 장바이러스 검출률을 보여, 무균성 수막염의 진단과 1세 미만의 발열을 주스로 내원하는 영아에서 신속한 장바이러스 감염의 진단에 유용할 것으로 판단된다. 하지만, 추가적으로 확진검사법을 이용한 임상 성능평가가 이루어져야 할 것이다.

## 요 약

**배경 :** 무균성 수막염 환자를 분자진단법으로 조기에 진단하는 것은 불필요한 치료 및 의료비용 감소에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이에 저자들은 최근 국내에서 개발된 Real-Q Enterovirus Quantification kit (BioSewoom Inc., Korea)의 성능 평가를 시행하였다.

**방법 :** Real-Q Enterovirus Quantification kit의 검출한계, 정밀도, 직선성, 교차반응 및 전통적인 역전사중합효소연쇄반응법과의 비교평가를 시행하였다. 2009년 3월부터 9월까지 소아청소년과에서 무균성 수막염이 의심되는 환자 및 1세 미만 영아에서 패혈증이 의심되는 환자 91명, 그리고 열성경련이 의심되어 감별진단을 위해 장바이러스 검사가 의뢰된 환자 48명의 뇌척수액을 대상으로 키트의 성능을 평가하였다.

**결과 :** Real-Q Enterovirus Quantification kit는  $3 \times 10^2 - 3 \times 10^{10}$  copies/mL 범위에서 직선성을 보였으며( $r=0.997$ ), 검출한계는 83 copies/mL이었다. 정밀도는 검사차례내 정밀도 변이계수(CV) 5.3-7.6%, 검사차례간 정밀도 변이계수 9.5-12.3%, 검사일간 정밀도 변이계수는 11.4-13.4%이었다. HBV DNA performance panels 등의 virus 및 다른 세균주와의 교차반응은 없었다. 무균성 수막염이 의심되는 뇌척수액 64예 중 25예(39.1%)에서 양성이고, 1세 미만 영아에서 패혈증이 의



심되어 의뢰된 검체 27예 중 12예(44.4%), 열성경련의 감별진단으로 의뢰된 48예 중에서는 4예(8.3%)에서 양성이었다. 또한 전통적인 역전사중합효소연쇄반응법과 높은 일치율을 보였다(73/74).

**결론 :** Real-Q Enterovirus Quantification kit는 검출한계, 정밀도, 직선성, 교차반응 등의 성능에 있어 우수하며, 기존 검사법과의 높은 일치율을 보이고, 임상 검체에서도 높은 장바이러스 검출률을 보여, 무균성 수막염의 진단뿐만 아니라 발열을 보이는 1세 미만 영아에서 장바이러스 감염의 진단에도 유용할 것으로 판단된다.

## 참고문헌

- Pallansch MA and Roos R. Enteroviruses, polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: Knipe DM and Howley PM, eds. Fields virology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 839-93.
- Stanway G, Brown F, Christian P. *Picornaviridae*. In: Fauquet CM, Mayo MA, et al. eds. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: 8th report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005: 757-78.
- Nix WA, Oberste MS, Pallansch MA. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. J Clin Microbiol 2006;44:2698-704.
- Khetsuriani N, Lamonte-Fowlkes A, Oberst S, Pallansch MA. Enterovirus surveillance—United States, 1970-2005. MMWR Surveill Summ 2006; 55:1-20.
- Sawyer MH, Holland D, Aintablian N, Connor JD, Keyser EF, Waecker NJ Jr. Diagnosis of enteroviral central nervous system infection by polymerase chain reaction during a large community outbreak. Pediatr Infect Dis J 1994;13:177-82.
- Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH. Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management. JAMA 2000;283:2680-5.
- Verstrepen WA, Kuhn S, Kockx MM, Van De Vyvere ME, Mertens AH. Rapid detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid specimens with a novel single-tube real-time reverse transcription-PCR assay. J Clin Microbiol 2001;39:4093-6.
- Heo SR, Jin SK, Chang HE, Park KU, Song J, Kim EC. Detection of enterovirus in cerebrospinal fluid by real-time nested reverse transcription polymerase chain reaction. Korean J Lab Med 2006;26:9-13. (허세란, 진선경, 장호은, 박경운, 송정환, 김의종. 뇌척수액에서 실시간-이중-역전사중합효소연쇄반응을 이용한 장바이러스의 검출. 대한진단검사의학회지 2006;26:9-13.)
- Pillet S, Billaud G, Omar S, Lina B, Pozzetto B, Schuffenecker I. Multicenter evaluation of the ENTEROVIRUS R-gene real-time RT-PCR assay for the detection of enteroviruses in clinical specimens. J Clin Virol 2010;47:54-9.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation: approved guideline (EP17-A). 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
- Noordhoek GT, Weel JF, Poelstra E, Hooghiemstra M, Brandenburg AH. Clinical validation of a new real-time PCR assay for detection of enteroviruses and parechoviruses, and implications for diagnostic procedures. J Clin Virol 2008;41:75-80.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the precision performance of clinical chemistry devices: approved guideline (EP5-A2). 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS, 2004.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach: approved guideline (EP6-A). 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS, 2003.
- Rotbart HA. Nucleic acid detection systems for enteroviruses. Clin Microbiol Rev 1991;4:156-68.
- Archimbaud C, Chambon M, Bailly JL, Petit I, Henquell C, Mirand A, et al. Impact of rapid enterovirus molecular diagnosis on the management of infants, children, and adults with aseptic meningitis. J Med Virol 2009;81:42-8.
- Kammerer U, Kunkel B, Korn K. Nested PCR for specific detection and rapid identification of human picornaviruses. J Clin Microbiol 1994;32:285-91.
- Heim A and Schumann J. Development and evaluation of a nucleic acid sequence based amplification (NASBA) protocol for the detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid samples. J Virol Methods 2002;103:101-7.
- Petitjean J, Vabret A, Dina J, Gouarin S, Freymuth F. Development and evaluation of a real-time RT-PCR assay on the LightCycler for the rapid detection of enterovirus in cerebrospinal fluid specimens. J Clin Virol 2006;35:278-84.
- Monpoeho S, Coste-Burel M, Costa-Mattioli M, Besse B, Chomel JJ,

- Billaudel S, et al. Application of a real-time polymerase chain reaction with internal positive control for detection and quantification of enterovirus in cerebrospinal fluid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:532-6.
20. Rittichier KR, Bryan PA, Bassett KE, Taggart EW, Enriquez FR, Hillyard DR, et al. Diagnosis and outcomes of enterovirus infections in young infants. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:546-50.
21. Debiase RL and Tyler KL. Molecular methods for diagnosis of viral encephalitis. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:903-25.