감 염 : 제 28 권 제 2 호 1996
Vol. 28, No. 2, 105-111

□원 저□

신장이식 환자에서 거대세포바이러스 감염의 조기 검색을 위한 반정량적 중합효소 연쇄 반응 및 면역세포화학적방법의 이용

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

위성헌 · 김양리 · 최정현 · 유진홍
양철우 · 신완식 · 방병기 · 강문원

= **Abstract** =

Semiquantitative Polymerase Chain Reaction and Immunocytochemical Assay for Early Detection of Cytomegalovirus Infection in Renal Transplant Patients

Seong Heon Wie, M.D., **Yang Ree Kim**, M.D., **Jung Hyun Choi**, M.D.
Jin Hong Yoo, M.D., **Chul Woo Yang**, M.D., **Wan Shik Shin**, M.D.
Byung Kee Bang, M.D. and **Moon Won Kang**, M.D.

Department of Internal Medicine, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Background : Cytomegalovirus(CMV) attacks about 35% of kidney transplant recipients and is reported to be the direct cause of death in 2% of renal transplant recipients. The most specific diagnostic method for CMV infection is isolation of the virus by culture. However, viral culture takes too much time to detect CMV infection and CMV antibody titers may not be elevated among immunocompromised patients. Therefore, rapid and sensitive methods for detection of CMV viremia are required. Semiquantitative polymerase chain reaction(PCR) and antigenemia assay can be used for rapid diagnosis of CMV viremia.

Methods : We performed a prospective study using semiquantitative PCR and antigenemia assay for rapid detection of CMV viremia in 187 blood specimens from 28 renal transplant recipients at weekly or biweekly interval for 3 months after transplantation.

Results :

1) PCR assay was positive in 12(42.9%) and CMV antigenemia was noted in 13(46.4%) out of 28 renal transplant recipients during 3 month period after transplantation.

2) Out of 187 specimens, 30(16%) were positive by the PCR assay and 34(18.2%) were positive by the CMV antigenemia assay.

3) Twenty eight(93.3%) of 30 PCR-positive specimens were positive by CMV antigenemia assay and 151(96.2%) of 157 PCR-negative specimens were negative by CMV antigenemia assay.

본 논문은 1995년도 추계 내과학회 학술대회에 구연되었음.
본 논문은 1996년도 가톨릭 중앙의료원 학술연구비 및 성의연구비 보조로 이루어 졌음.

4) CMV DNA levels were significantly associated with CMV antigen-positive cells.

5) Serologic tests also were performed in 115 of 187 specimens. Among 20 PCR positive from 9 recipients, only 3 from 2 recipients were positive by serologic test using ELISA method. Among 95 PCR-negative specimens from 22 recipients, 4 specimens from 2 recipients were positive by the serologic test.

Conclusion : These results suggest that semiquantitative PCR and the CMV antigenemia assay be useful for early detection of CMV infection in patients with renal transplantation.

Key Words : Kidney Transplant, Cytomegalovirus, Antigenemia, Polymerase chain reaction

서 론

Cytomegalovirus (CMV로 약함)는 *Herpesviridae*에 속하는 DNA 바이러스로서 생체내에 잠복감염 상태로 있다가 면역억제 상태에 있는 신장, 골수 등의 장기 이식 환자에게 치명적인 합병증을 일으킬 수 있다. 항체 양성인 공여자로부터 수혈이나 장기이식을 받는 경우 CMV감염의 위험성이 증가되며 감염시 망막염, 뇌염, 장염, 간염, 간질성 폐렴 등이 야기될 수 있다[1, 2]. 신장이식의 경우 CMV감염은 여러 논문을 종합한 바 신수여자의 42-92%에서 발생하며 공여자와 수여자의 항체 유무 및 면역억제제 사용 정도에 따라 발생률에 차이를 보이며 이러한 CMV감염이 이식 수여자와 이식신의 생존에 중요한 요인이 되므로 신이식환자에서 조기 진단의 필요성이 강조되고 있다[3-7].

기존의 CMV감염의 진단방법은 anti-CMV IgM 항체양성 또는 anti-CMV IgG항체가 최초 검사치의 4배이상 증가되는 것을 확인하거나 바이러스배양 등이 이용되었으나, 항체검사는 CMV감염 2주후에나 양성을 보이고 면역기능이 저하되어 있는 신장이식환자에서 항체가 형성되지 않는 경우도 있으며, 바이러스 배양은 배양시설을 위한 연구실확보, 배양시 오염 및 긴 배양시간 등의 단점을 들 수 있다[8]. 따라서 임상적으로 보다 정확하고 빠른 진단을 내릴 수 있는 CMV 감염에 대한 검사가 필요하게 되었으며 이러한 목적을 위해 반정량적 중합효소 연쇄반응 및 CMV antigenemia assay (항원혈증검사)가 유용하다는 임상적 결과가 보고되고 있다[9-12].

저자들은 CMV감염의 조기 검색을 위한 반정량적 중합효소 연쇄반응 및 CMV 항원혈증검사의 임상적 이용 가능성을 알아보고자 신수여자를 대상으로 신장이식전 및 이식후 혈액을 채취하여 이 두 가지의 검사를 함께 시행하여 결과를 비교하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

가톨릭대학교 의과대학 부속병원에서 1995년 1월부터 7월까지 신장이식을 받은 환자 28명을 대상으로 각 환자마다 이식전 4주이내에 1회, 이식후 1주에서 12주까지 첫 4주간은 1주 간격으로 4회, 이후 8주간은 2주 간격으로 4회에 걸쳐 혈액을 채취하여 총 187개 혈액에서 반정량적 중합효소 연쇄반응 및 CMV 항원혈증검사를 시행하였다. 환자들은 남자 16명, 여자 12명이었고 평균 연령은 38세이었으며, 연령 분포는 24세에서 63세였다.

2. 반정량적 중합효소 연쇄반응

1) DNA분리

EDTA(ethylenediamine tetraacetic acid)로 처리된 혈액 5 ml에서 Ficoll-Hypaque원심분리법으로 백혈구를 분리한후 phosphate buffer solution (PBS로 약함, 0.13 M, pH 7.4±0.2)으로 세포수가 2×10^6 cells/ml가 되도록 부유시켜 원심세척하였다. Cell pellet에 PCR buffer (100 ml Tris-HCl, pH 8.0, 500 mM KCl, 17 mM $MgCl_2$)를 10배로 희석한 완충용액 5 ml, NP-40 225 μl, Tween-20 225 μl, Proteinase K (20 mg/ml) 150 μl, 증류수 44.4 ml로 만들어진 PCR-K buffer 250 μl를 첨가하고 58°C에 1시간, 98°C에 10분간 반응시킨 후 DNA 흡광도 값을 측정하여 대상 혈액 DNA 농도를 100 ng/μl로 맞추었다[10].

2) 반정량적 중합효소 연쇄반응

반정량은 target amplicon과 첨가된 control amplicon사이의 경쟁적 반응을 이용하였다[10]. 본 연구에

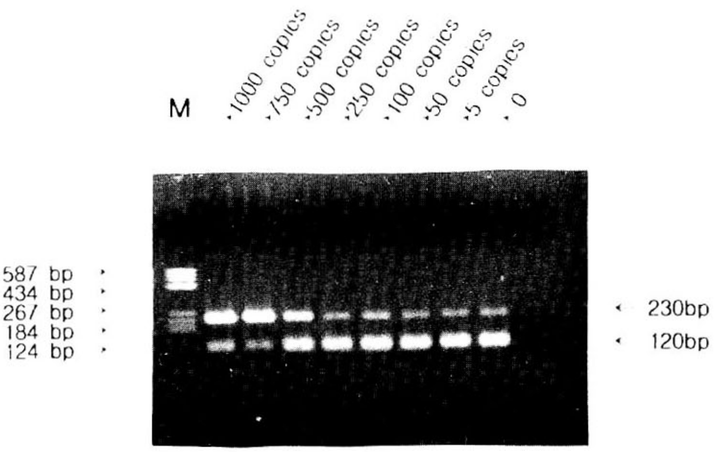

Fig. 1. Standard band pattern according to each target DNA copies. The upper bands (230 bp) indicate amplified DNA fragments from target amplicon, and the lower bands (120 bp) indicate those from control amplicon as competitor. The intensities of upper bands increase as increasing target DNA copies. M indicates DNA molecular weight marker V.

사용된 primer들은 DNA 합성기 (Cyclone 8400 plus, Milligen/Biosearch, Massachusetts, U.S.A.)로 합성하였으며, 외부 primer로는 CMV immediate early gene의 exon 4에 특이한 major immediate early(MIE로 약함)-4N과 MIE-5N 이 사용되었고 내부 primer로는 MIE-AN과 MIE-BN 이 사용되었다[13]. Target fragment 0, 5, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 copies와 control DNA fragment 600 copies를 섞어 이중 중합효소 연쇄반응을 시행하여 한천겔전기영동에서 target DNA농도에 따른 표준띠 형태를 관찰하였다(Fig. 1). 혈액에서 분리된 DNA 100 ng에 control DNA fragment 600 copies를 추가한 후 이중 중합효소 연쇄반응을 시행하였다. 1단계 중합효소 연쇄반응은 완충용액 2 μl, 2 mM dNTP 0.3 μl, 25 mM Mg^{++} 1.72 μl, primer MIE-4N 1.6 pmol, MIE-5N 1.6 pmol, Taq polymerase 0.16 μl, 증류수 9.82 μl, DNA 100 ng을 포함하는 시료 2 μl가 혼합된 18 μl에 각각 control CMV DNA 2 μl 또는 증류수 2 μl를 첨가하여 총 20 μl가 되도록 만든 후 denaturation, annealing, extension 과정으로 thermocycler에서 94°C에서 1분, 다시 94°C에서 15초와 69°C에서 120초로 30회 반복한 후 72°C에서 10분간 유지하였다. 2단계 중합효소 연쇄반응은 완충용액 2 μl, 2 mM dNTP 2 μl, primer MIE-AN 12.32 pmol, MIE-BN 12.32 pmol, Taq polymerase 0.12 μl, 증류수 11.88 μl, 1단계 반응 생성물 2 μl 를 모두 섞어 총 20 μl가 되도록 만든후 94°C에서 1분, 다시 94°C에서 15초와 69°C에서 80초로 30회 반복한 후 72°C에서 10분간 유지하였다. 2차 증폭 산물에 Hind III 처리하여 37°C에서 1시간 둔 후 한천겔 전기영동을 시행하여 그 결과를 표준띠와 비교하여 검사 혈액내의 DNA copy수를 반정량하였다(Fig. 2). 정량은 target fragment 5, 50, 100 copies에 해당되는 경우를 1+, 250 와 500 copies인 경우를 2+, 750 과 1000 copies인 경우를 3+로 하였다.

3. 면역세포화학적방법을 이용한 CMV 항원혈증 검사 방법

1) 말초 혈액에서 백혈구의 분리

채취한 말초혈액 3 ml를 EDTA로 항응고 시키고 1.5 ml PBS로 희석한 후에 5% dextran 용액을 이용하여 백혈구를 분리하였다. 분리한 백혈구 층은 적혈구 용해 용액으로 처리하여 더욱 순수한 백혈구층을 얻고 다시 PBS로 세척한 후 원심분리하여 상층액을 버리고 pellet을 얻었다.

2) 면역세포화학적 방법에 의한 염색

혈구 분석기를 이용하여 백혈구 수를 측정한 후 PBS를 사용하여 백혈구수가 2×10^6 cells/ml 가 되도록 조정하고 CMV-vue microscope 슬라이드에 세포 부유물 25 μl (백혈구 50,000개)를 가한뒤

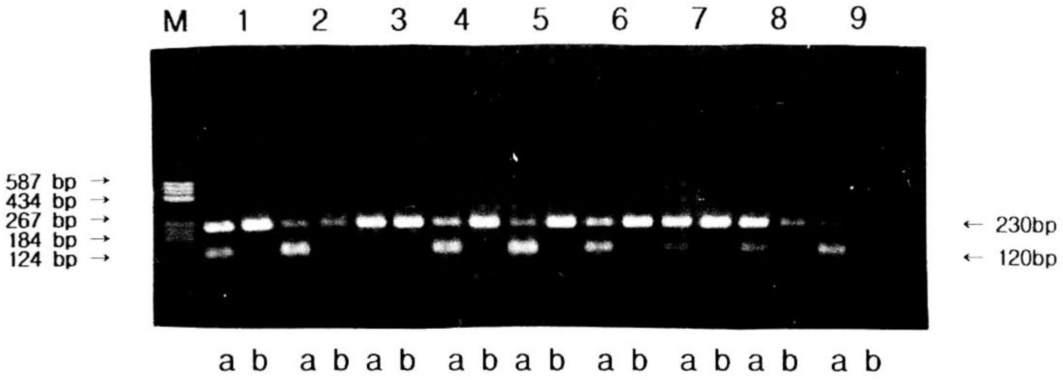

Fig. 2. Semiquantitation of CMV DNA in 9 samples by competitive polymerase chain reaction. a : the result of polymerase chain reaction of patient DNA with control CMV DNA 600 copy. b : the results of only patient DNA PCR without addition of control CMV DNA. M indicates molecular-weight marker V.

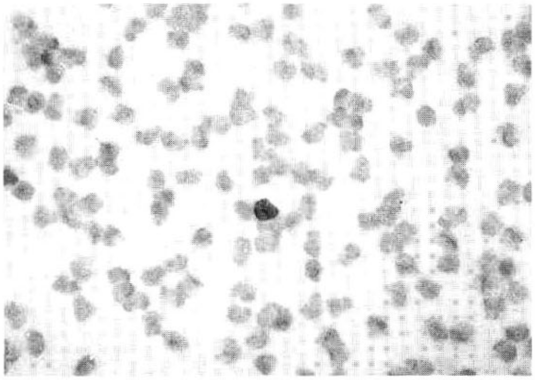

Fig. 3. A leukocyte with reddish-brown nuclear staining that was considered as antigen-positive cells(immunocytochemical staining, ×400).

coverslip을 덮고 15-17분간 실온에 방치한 후 아세톤에 고정하였다. Endogenous peroxidase inhibitor reagent로 약 5분간 처리한 후 CMV pp65 antigen에 대한 단클론 항체를 넣고 37°C로 50분간 반응한 뒤 PBS로 세척하였다. Horseradish peroxidase-labeled antimouse immunoglobulin을 가하여 37°C로 50분간 반응시킨뒤 aminoethylcarbazone 용액으로 실온에서 10분간 염색하였다. Acetate buffer(pH 4.9, 0.05 M)로 슬라이드를 세척하고 hematoxylin으로 30초간 대조염색을 하였다. 광학현미경으로 관찰하여 짙은 갈색의 핵염색을 CMV양성 (Fig. 3)으로 해석하고, CMV strain AD-169 균주를 감염시킨 섬유모세포를 양성 대조군으로, 균주 감염이 안된 섬유모세포를 음성 대조군으로 하였다.

4. 혈청내 CMV에 대한 IgM, IgG 항체가의 검사

대상 신수여자 28명중 26명으로부터 채취한 115개 혈액에서는 CMV항원에 특이하게 반응하는 IgM, IgG CMV 항체를 효소결합면역흡착법 (ELISA ; Enzygnost-Cytomegalie®, Behring, Germany)으로 검사하였고 IgM 양성인 경우와 IgG 수치가 최초 수치에 비해 4배 이상 상승한 경우를 최근의 CMV감염으로 간주하였다.

5. 통계적 검정

CMV DNA양이 다른 군간에 항원양성세포수의 비교는 Wilcoxon's rank sum test로 통계적 검정을 하였으며 유의수준은 5% 미만으로 두었다.

결 과

1. 반정량적 중합효소 연쇄반응 검사

이식 후 12주까지 28명 중 12명(42.9%)에서 최소한 한 번이상 중합효소 연쇄반응검사상 양성의 결과를 보였다. 채취된 총 187혈액중 30개(16%)가 중합효소 연쇄반응검사상 양성이었다. 신이식 전후 기간별 검사 혈액의 중합효소 연쇄반응 결과는 이식후 3주에 25예 중 4예(16%), 4주에 24예 중 5예(20.8%), 6주에 22예 중 8예(36.4%), 8주에 15예 중 5예(33.3%), 10주에 14예 중 6예(42.9%), 12주에 11예 중 2예(18.2%)에서 양성을 보였고 이식 전과 이식 후 1, 2주에서는 양성이 한 예도 없었다.

Table 1. Antigenemia Levels according to PCR Semiquantitations

Test Results	Number of samples	mean Ag† (+) cells per 50,000 WBC	PCR quantitations	Number of samples	mean Ag*(+) cells per 50,000 WBC
PCR(+) Ag†(+)	28	7.8	PCR (1+)	10	2.7
			PCR (2+)	9	4.9 *
			PCR (3+)	9	17.4 **
PCR(+) Ag†(-)	2	0	PCR (1+)	2	·
PCR(-) Ag†(+)	6	1	·	·	·
PCR(-) Ag†(-)	151	0	·	·	·

* $p < 0.05$ vs recipients with PCR (1+)
** $p < 0.05$ vs recipients with PCR (2+)   by Wilcoxon's rank sum test
† Ag = Antigenemia

2. CMV 항원혈증 검사 (Antigenemia Assay)

이식 후 12주까지 28명 중 13명(46.4%)에서 최소한 한 번이상 항원혈증 검사상 양성의 결과를보였다. 채취된 총 187혈액 중 34개(18.2%)가 CMV 항원혈증 검사상 양성의 결과를 얻었다. 신이식 전후 기간별 검사혈액의 CMV 항원혈증 검사 결과는 이식후 3주에 25예 중 5예(20%), 4주에 24예 중 7예(29.2%), 6주에 22예 중 7예(31.8%), 8주에 15예 중 5예(33.3%), 10주에 14예 중 7예(50%), 12주에 11예 중 3예(27.3%)에서 양성을 보였고 이식 전과 이식 후 1, 2주의 검사에서는 모두 음성의 결과를 보였다.

3. 중합효소 연쇄반응의 정량과 CMV Antigenemia Titer의 비교

중합효소 연쇄반응 검사상 양성인 혈액 30개 중 28개(93.3%)에서 항원혈증 검사에서 양성을 보였으며, 중합효소 연쇄반응 검사에서 음성인 혈액 157개중 151개(96.2%)에서 항원혈증 검사에 음성으로 나타났다.

중합효소 연쇄반응의 반정량 결과 CMV DNA copy수가 더 많은 혈액에서 항원 양성 세포수도 더 높게 나타났다. PCR 1+ 인 군에서의 백혈구 50,000개당 평균 항원 양성 세포수는 2.7개, 2+ 인 군에서는 4.9개, 3+ 인 군에서는 17.4개였다(Table 1).

4. 중합효소 연쇄반응과 혈청학적 검사의 비교

중합효소 연쇄반응검사가 시행된 총 187개 혈액 중 115개에서 함께 혈청학적 검사도 시행되었으며 이 중 중합효소 연쇄반응검사 양성을 보인 20개의 혈액 중 3개(15%) 혈액에서 혈청학적 검사로 CMV감염 진단이 가능하였다. 중합효소 연쇄반응검사에서 음성을 보인 95개 혈액중에는 4개(4.2%)만이 혈청학적 검사상 양성을 보였다.

고　　찰

CMV감염은 면역기능이 저하된 사람들에서 많이 발생하는 것으로 알려져 있으며, 특히 신장이식을 시행한 신수여자의 31-38%에서 임상증상을 동반한 CMV 질환 발생이 보고되고 있다[3,14,15]. CMV는 간, 폐, 장, 망막 등의 여러 장기와 조직을 침범하여 다양한 임상 증상을 유발하므로 조기 진단을 위한 적극적인 노력이 요구되고 있다[16]. CMV감염에서 중요한 위험 요인으로는 공여자와 수여자의 항체 유무, 면역억제제 사용 정도, 항원양성 세포수 등이 있고[7,17] CMV감염시 다량의 면역억제제를 사용하거나 항바이러스약제의 사용이 지연된다면 중증 CMV질환으로의 진행이 가능하므로 조기 진단후 면역억제제의 감량 또는 항바이러스약제의 조기 투여가 매우 중요하다[12].

중합효소 연쇄반응은 혈액에서의 CMV DNA 검출에 매우 빠르고 감수성이 높은 방법으로 알려져 있으며 혈액내의 CMV DNA양이 많을수록 더 심한 임상증상을 나타내는 것으로 보고되고 있다[10]. 반정량적 중합효소 연쇄반응은 target amplicon과 control amplicon사이의 경쟁적인 반응을 이용하는 방법으로 Hind III 제한 부위를 가져 한천겔 전기영동에서 분리되어 나타나는 control CMV DNA와 여러 가지 다른 CMV DNA copy수를 보이는 target CMV DNA사이의 경쟁적 반응들에 의해 얻어진 표준띠형태를 기초로 대상자 혈액의 CMV DNA농도를 반정

량화한다[10].

CMV 항원혈증 검사법은 CMV의 pp65항원에 대한 단클론 항체를 이용한 면역세포화학적 방법으로 CMV에 감염된 말초혈액 백혈구 수를 세는 방법이며 shell vial 배양법보다 더 빠르고 감수성도 더 높은 것으로 보고되고 있다[11]. 또한 이 CMV 항원혈증 검사법은 초기 무증상인 CMV감염의 조기 진단이 가능하여 면역억제제의 용량 조정이 가능하고 항바이러스제제의 치료 효과를 평가할 수 있을 것으로 생각되고 있다[12]. CMV감염은 신장이식후 90일 이내에 잘 발생되어[10], 신장이식후 첫 2-3 개월은 매주 CMV 항원혈증 검사를 시행하는 것이 조기 진단 및 치료에 도움이 될 수 있다고 보고되고 있다[12].

본 연구에서는 이식전 및 이식후 약 3개월간에 걸쳐 1-2 주 간격으로 신수여자로부터 혈액을 채취하여 반정량적 중합효소 연쇄반응과 CMV 항원혈증 검사를 시행하였으며, 이식후 3주 부터 양성 (중합효소 연쇄반응 양성율 16%, CMV 항원혈증 검사 양성율 20%)을 보이기 시작하여 이식 후 10주경에는 중합효소 연쇄반응으로 50% 및 CMV 항원혈증 검사로 42.9%의 높은 양성율을 보였다. 신수여자 중합효소 연쇄반응 검사상 총 28명 중 12명 (42.9%)에서 양성의 소견을 보였으나 고열 등의 전신 증상이나 폐, 간, 장 등 여러 장기 병변을 동반한 CMV 질환을 나타내는 경우는 없었다.

신공여자와 신수여자의 이식전 면역 상태에 따라 CMV 질환의 발생률에 차이를 보일 수 있는데 공여자가 항체 양성, 수여자가 항체 음성인 경우에서는 50%에서 CMV질환이 발생되고 공여자가 항체 음성이거나 공여자와 수여자 모두 항체 양성인 경우에서는 1.6%에서만 CMV질환이 발생되었음이 보고 되어있다[5]. 본 연구에서의 공여자와 수여자는 모두 이식전 CMV 항체 검사에서 양성을 보였고 CMV질환의 임상 증상도 없었다.

본 연구에서 중합효소 연쇄반응 양성인 12명의 신수여자 중 9명은 특별한 항바이러스제제의 사용 없이 음성으로 전환되었으며 나머지 3명은 거부반응에 대한 면역억제제 투여 증가와 함께 항바이러스제제를 사용하여 2명에서 중합효소 연쇄반응이 음성으로 전환되거나 CMV DNA농도가 감소되는 양상을 보였다. 항림프구글로불린의 사용에 따라 CMV 질환이 더 증가될 수 있음이 보고 되어 있고[5, 18], 본 연구에서도 거부반응에 대한 치료로 항림프구글로불린을 사용한 1명에서 항바이러스제제의 사용에도 불구하고 중합효소 연쇄반응 검사상 CMV DNA농도가 더 증가되고 항원양성 세포수도 증가되는 양상을 보였다.

본 연구의 결과를 볼 때 중합효소 연쇄반응과 항원혈증 검사법의 결과는 비교적 일치되었다. 즉 중합효소 연쇄반응 양성인 혈액 30개중 28개 (93.3%)가 항원혈증 검사법에서도 양성을 보였으며 중합효소 연쇄반응 음성인 혈액 157개중 151개 (96.2%)가 항원혈증 검사법에서도 음성을 보였다. 중합효소 연쇄반응 양성인 혈액들을 DNA copy수에 따라 1+, 2+, 3+의 세 가지 군으로 나누어 항원양성 세포수를 비교하였으며 이들 세가지 군 사이에 통계적으로 의의있는 차이를 보였다.

중합효소 연쇄반응에서의 반정량치와 항원 양성 세포수가 절대적인 임상 양상의 경중을 나타내지는 않지만 항체 유무나 면역억제제 사용 등 다른 위험요인 등과 결합하여 평가하면 임상적으로 항바이러스제제 사용등 조기 치료의 판단에 도움이 될 수 있을 것이다[19].

요 약

목 적 : 저자들은 장기 이식후 면역기능이 저하된 환자들에서 CMV감염의 조기 검색을 위한 반정량적 중합효소 연쇄반응 및 CMV 항원혈증검사의 임상적 이용 가능성을 알아보고자 신수여자를 대상으로 신장이식전 및 이식후 혈액을 채취하여 이 두 가지의 검사를 함께 시행하여 결과를 비교하였다.

방 법 : 가톨릭대학교 의과대학 부속병원에서 1995년 1월부터 7월까지 신장이식을 받은 환자 28명으로부터 신이식 전과 신이식 후 12주까지 채취된 187개 혈액에서 반정량적 중합효소 연쇄반응 및 CMV 항원혈증검사를 시행하였다.

결 과 :

1) 중합효소 연쇄반응 검사상 신수여자 12명(42.9%)에서, 항원혈증 검사상 신수여자 13명(46.4%)에서 CMV감염을 보였다.

2) 187개 혈액중 중합효소 연쇄반응 검사상 양성을 보인 경우는 30개(16%)였고, 항원혈증 검사상 양성을 보인 경우는 34개(18.2%)였다.

3) 중합효소 연쇄반응 검사상 양성을 보인 30개 혈액중 28개(93.3%)가 항원혈증 검사상 양성이었고, 중

합효소 연쇄반응검사에서 음성을 보인 157개 혈액중 151개(96.2%)가 항원혈증 검사상 음성이었다.

4) 중합효소 연쇄반응에서 많은 양의 CMV DNA가 검출된 군에서 항원양성 세포수도 더 높게 나타났다.

5) 혈청학적 검사를 함께 시행하였던 115개 혈액중 중합효소 연쇄반응 양성인 혈액 20개중 3개 (15%)에서만 혈청학적검사로 CMV감염이 진단되었다.

결 론 : 혈청학적 검사 등 기존의 방법에 비해 반정량적 중합효소 연쇄반응과 CMV 항원혈증 검사법이 임상증세가 없는 CMV 감염의 조기 검색에 매우 유용할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1) 김태규, 강문원, 신완식, 유문간, 정연준, 한 훈, 김금용: 신장이식환자 소변에서 중합효소 연쇄 반응 및 교잡법을 이용한 인형거대세포바이러스의 조기 진단. 대한 미생물학회지 *27:79-86, 1992*
2) Zaia JA: *Epidemiology and pathogenesis of cytomegalovirus disease. Semin Hematol 27:5-10, 1990*
3) Peterson PK, Balfour HH, Marker SC, Fryd DS, Howard RJ, Simmons RL: *ytomegalovirus disease in renal allograft recipients: A prospective study of the clinical features, risk factors and impact on renal transplantation. Medicine 59: 282-300, 1980*
4) Clenn J: *Cytomegalovirus infections following renal transplantation. Rev Infect Dis 3:1151-1178, 1981*
5) Weir MR, Irwin BC, Maters AW, Genemans G, Shen SY, Charache P, Williams GM: *Incidence of cytomegalovirus disease in cyclosporine-treated renal transplant recipients based on donor/recipient pretransplant immunity. Transplantation 43:187-193, 1987*
6) Weir MR, Henry ML, Blackmore M, Smith J, First MR, Irwin B, Shen S, Genemans G, Alexander JW, Corry RJ, Nghiem DD, Ferguson RM, Kittur D, Shield CF, Sommer BG, Williams GM: *Incidence and morbidity of cytomegalovirus disease associated with a seronegative recipient receiving seropositive donor-specific transfusion and living-related donor transplantation. Transplantation 45:111-116, 1988*
7) van den Berg AP, van Son WJ, van der Bij W, van der Giessen M, The TH: *Early identification of patients at high risk of severe cytomegalovirus disease after renal transplantation using the immediate early antigenemia assay. Transplant Proc 22:1800-1802, 1990*
8) van Son WJ, The TH: *Cytomegalovirus infection after organ transplantation: An update with special emphasis on renal transplantation Transpl Int 2:147-164, 1989*
9) Sunwen C: *Cytomegalovirus infection. Curr Opin Infect Dis 5:427-432, 1992*
10) Gerdes JC, Spees EK, Fitting K, Hiraki J, Sheehan M, Duda D, Jarvi T, Roehl C, Robertson AD: *Prospective study utilizing a quantitative polymerase chain reaction for detection of cytomegalovirus DNA in the blood of renal transplant patients. Transplant Proc 25:1411-1413, 1993*
11) Erice A, Holm MA, Gill PC, Henry S, Dirksen CL, Dunn DL, Hillam RP, Balfour HH: *Cytomegalovirus antigenemia assay is more sensitive than shell vial cultures for rapid detection of CMV in polymorphonuclear blood leukocytes. J Clin Microbiol 30:2822-2825, 1992*
12) van den Berg AP, Klompmaker IJ, Haagsma EB, Scholten-Sampson A, Schirm BJ, van der Giessen M, Slooff MJH, The TH: *Antigenemia in the diagnosis and monitoring of active cytomegalovirus infection after liver transplantation. J Infect Dis 164:265-270, 1991*
13) 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 158:1177-1184, 1988*
14) Davis CL: *The prevention of cytomegalovirus disease in renal transplantation. Am J Kid Dis 16:175-188, 1990*
15) Rubin RH, Cosimi AB, Tolkoff-Rubin NE, Russell PS, Hirsch MS: *Infectious disease syndrome attributable to cytomegalovirus and their significance among renal transplant recipients. Transplantation 24:458-464, 1977*
16) Stratta RJ: *Clinical patterns and treatment of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. Transplant Proc 25:15-21, 1993*
17) Martin M: *Combination antiviral strategies in managing cytomegalovirus infection. Transplant Proc 26(Suppl 1):28-30, 1994*
18) Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH: *The interaction of immunosuppression with infection in the organ transplant recipients. Transplant Proc 26 (Suppl 1): 16-19, 1994*
19) van den Berg AP, van der Bij W, van Son WJ, Anema J, van der Giessen M, Schirm J, Tegzess AM, The TH: *Cytomegalovirus antigenemia as useful marker of symptomatic cytomegalovirus infection after renal transplantation - a report of 130 consecutive patterns. Transplantation 48:991-995, 1989*