

무균성 뇌막염 환자에서 뇌척수액과 대변 채취 시점에 따른 PCR의 유용성

일신기독병원 소아과

김묘징 · 이혜진 · 최정미 · 정수진 · 허재원

Utility of polymerase chain reaction(PCR) according to sampling time in CSF and stool specimens from patient with aseptic meningitis

Myo Jing Kim, M.D., Hye Jin Lee, M.D., Jung Mi Choi, M.D.
Soo Jin Jung, M.D. and Jae Won Huh, M.D.

Department of Pediatrics, Il Sin Christian Hospital, Busan, Korea

Purpose : Enteroviruses are the most common cause of aseptic meningitis in patients of all ages. A definite diagnosis of enteroviral meningitis can be established by detection of virus directly in CSF specimens. But this is time-consuming and lacks sensitivity, so polymerase chain reaction(PCR) detecting of viral RNA in patient specimens such as CSF, stool has been demonstrated. But little is known about the influence of sampling time on the results of CSF PCR and stool PCR. We investigated diagnostic utility of PCR of CSF and stool according to sampling time after the onset of symptoms.

Methods : PCR results were analyzed according to sampling time for 42 patients diagnosed aseptic meningitis in our hospital from 11th January to 30th August, 2005.

Results : The diagnostic yield of the test was higher of CSF specimens obtained ≤ 2 days after clinical onset(positive PCR results 9/18, 50 percent), compared with CSF collected > 2 days after onset(positive PCR results 1/24, 4.2 percent)($P=0.001$). Instead, positive PCR results of fecal specimens maintained highly(average 90.5 percent), 10 cases had also positive PCR results even 5-6 days after onset. 10 cases of CSF specimens had positive enterovirus PCR results containing coxsackievirus B5 (n=6), coxsackievirus B3(n=3). 38 cases of stool specimens had positive enterovirus PCR results containing echovirus 18(n=7), echovirus 9(n=3), coxsackievirus B5(n=8), coxsackievirus B3(n=3). 6 cases(coxsackie B5) had positive CSF PCR and stool PCR, both.

Conclusion : Stool PCR was clinically sensitive for detecting enterovirus during enteroviral meningitis and could give a presumptive diagnosis throughout the disease course. A definite diagnosis was obtained by CSF PCR, but its utility was clearly lower for samples obtained > 2 days after clinical onset. Therefore, it is recommended that, in addition to performance of CSF PCR, fecal samples obtained from patients with suspected enteroviral meningitis should be tested by PCR, especially when the duration of symptoms is > 2 days. (Korean J Pediatr 2006;49:745-750)

Key Words : Enteroviral meningitis, Cerebrospinal fluid, Stool, Polymerase chain reaction

서 론

장바이러스는 모든 연령층에서 무균성 뇌막염의 가장 흔한 원

접수 : 2006년 2월 27일, 승인 : 2006년 5월 9일

책임저자 : 허재원, 일신기독병원 소아과

Correspondence : Jae Won Huh, M.D.

Tel : 051)630-0501 Fax : 051)634-3349

E-mail : jwhuh@pednet.co.kr

인으로 전세계적으로 잘 알려져 있고¹⁻³⁾, 주로 여름과 가을철에 발생하며 성인보다 소아에서 흔히 발생한다²⁻⁷⁾. 발열, 기면, 식욕 부진, 경련 등의 중추 신경계 증상 등은 전신적인 세균 감염의 일환으로 나타날 수도 있으므로 임상적 증상으로 진단하기는 어렵다^{3, 8, 9)}. 장바이러스 뇌막염의 확진은 뇌척수액에서 직접 바이러스를 검출하는 것이다. 이 방법은 시일이 많이 걸려 초기 치료 계획 수립에 도움이 되지 못하고, 임상 검체에서 흔히 바이러스 역가가 낮고, group A coxsackievirus는 아주 드물게 배

양되는 것을 비롯하여 많은 혈청형이 배양시에 잘 자라지 않아 민감도가 낮다^{1, 7, 10, 11}. 이에 좀 더 빠르고 믿을 만한 진단법이 필요하였고, 대부분의 장바이러스 혈청형에서 RNA를 탐지하는 polymerase chain reaction(PCR)이 지난 십년간 발달해왔다⁵. 최근 연구에서 장바이러스 뇌막염의 진단을 위해 바이러스 검출보다 PCR이 더 빠르고 민감도가 높은 진단법이라고 보고하고 있다^{1-3, 5, 12, 13}.

질병 기간 동안 뇌척수액 뿐 아니라 위장관 혹은 호흡기에서도 바이러스가 얻어지는데 이는 그 바이러스가 질병의 원인일 가능성이 높음을 나타내며, 바이러스 혈증 동안에는 혈액에서도 검출될 수 있다^{2, 5, 13, 14}. 최근에는 장바이러스 뇌막염에서 뇌척수액 보다 대변에서 장바이러스 수가 더 많은 것으로 보고되고 있어 장바이러스 뇌막염의 진단에서 대변은 장바이러스 RNA 검출의 좋은 검체로 주목되고 있다^{2, 5, 15}.

무균성 뇌막염 환자에서 뇌척수액과 대변의 채취 시기에 따라 검체별 PCR 양성률이 다른데 이에 관해 평가한 연구는 드물다.

본 연구의 목적은 소아 환자에서 무균성 뇌막염을 진단함에 있어 증상 발현 시점에서 뇌척수액과 대변의 검체를 채취하기까지의 시간에 따른 검체별 PCR의 유용성을 확인하는 것이다.

대상 및 방법

1. 대상

2005년 6월 11일부터 8월 30일까지 부산 일신기독병원에 입원하여 무균성 뇌막염으로 진단받은 42례를 대상으로 뇌척수액과 대변에서 장바이러스에 대한 PCR 검사를 시행하였다. 환자들의 평균 연령은 2.9±3.1(0-11)세였고 남아 30명, 여아 12명이었다. 무균성 뇌수막염의 진단은 발열, 두통, 구토, 경부 강직 등 뇌막염의 증상과 징후를 보이고, 뇌척수액 검사상 백혈구 증가증(4주 미만의 신생아: >30/mm³, 4주 이상의 소아: >5/mm³)을 보이면서 뇌척수액 도말 검사 및 배양 검사에서 균이 검출되지 않은 경우로 하였다.

2. 방법

1) 세포 배양 검사

장바이러스 배양 검사시 대변의 전처리는 complete PBS (NaCl 8.1 g, KCl 0.2 g, Na₃HPO₄ 1.15 g, KH₂PO₄ 0.2 g, 800 mL DDW, pH 7.2-7.4, MgCl₂·6H₂O 0.1 g in 100 mL, CaCl₂ 0.1 g in 100 mL)에 10% 부유액으로 만든 후 5분 동안 강하게 진탕하고 원심 분리하여 상층액을 취한 후 10-20% 부유액에 최종 농도가 10%가 되도록 chloroform을 첨가한 후 10분 동안 강력한 진탕을 실시하고 500×g로 15분 동안 원심 분리한 후 상층액을 취하여 세포 접종에 사용하였고, 뇌척수액은 별도의 전처리 과정없이 세포 접종에 사용하였다.

장바이러스 배양에 사용된 세포주들은 세계보건기구(World Health Organization, WHO)가 추천하는 vero cell(African

green monkey kidney), human larynx epidermoid carcinoma (HEp-2), rhabdomyosarcoma(RD)였다. 각 세포주를 3-4일간 시험관내 배양하여 단층이 형성되면 세포 배양액을 적절한 유지 배지로 교체한 후 100 μL의 검체를 세포주당 각각 접종하고 34 °C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 전자 현미경을 이용하여 매일 관찰하여 세포 병변 효과가 보이면 양성으로 보고(PCR 시험에 사용)하였고, 세포 병변 효과가 없으면 이후 7일간 더 관찰한 후 음성으로 보고하였다. 분리된 바이러스의 동정(PCR 양성 검체와 세포 배양액)은 국립보건원 소화기계 바이러스과에 의뢰되어 중화 항체 시험(neutralization test)과 sequencing으로 유전형질을 확인하였다.

2) 유전자 검출 시험

뇌척수액은 4°C 냉장 보관하고 대변은 채취 즉시 냉동 보관하였다가 4°C를 유지하면서 부산광역시 보건 환경 연구원에 의뢰하여 세포 배양 시험과 reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)을 이용해서 확인하였다. 세포 배양액 및 검체는 Tri-reagent(Invitrogen, Carlsbad, California, US)를 사용하여 RNA를 추출한 후, RT PCR onestep mastermix (Bioincell, Houston, Texas, US)을 이용하여 48°C 40분, 94°C 3분, [94°C 30 sec/52°C 30 sec/72°C 45 sec]35 cycles, 72°C 7분의 조건으로 RT-PCR 하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에 전기영동하고, UV transilluminator를 사용하여 확인하였다. 검사 결과의 타당성을 높이기 위해 각 단계마다 양성과 음성 대조군을 실시하였다.

결과 판정은 전기 영동상 primers를 사용하여 5'-noncoding region(NCR)을 증폭시킨 후 436 base pair(bp) band가 보이지 않으면 음성으로, 그 외의 경우는 양성으로 하였다(Table 1)(Fig. 1).

3. 통계 방법

모든 측정치는 평균±표준편차로 표시하였고 임상 증상 발현 시점에서 뇌척수액과 대변 검체 채취까지의 시간에 따른 검체별 PCR의 양성률은 Chi-square test를 이용하여 분석하였고, P<0.05인 경우를 통계학적으로 유의하다고 판단하였다.

결 과

1. 환아군

대상 환아 42례 중 남아 30례, 여아가 12례였고 남녀비는

Table 1. Primers from the 5' NCR of Enterovirus Genome Used in the RT-PCR Assay

Target lesion	Primer	Sequence(5'-3')	Map position (bp)
5'NCR	ENTF	F-CAAGCACTTCTGTTTCCCCGG	436
	ENTR	R-ATTGTCACCATAAGCAGCCA	

2.5:1로 남아에서 호발하였다. 대상 환아의 평균 연령은 2.9±3.1(0-11)세로 연령별로는 1세 이하가 23례(54.8%)(신생아 6명 포함)로 가장 많았고, 2-4세가 3례(7.1%), 5세 이상이 16례(38.0%)였다.

2. 임상 증상 및 이학적 소견

임상 증상은 발열(95.2%), 구토(50.0%), 두통(40.5%), 보챔(28.6%), 수유 부진(28.6%) 순으로 흔하였고, 신생아와 영아에서 보챔, 수유 부진, 설사가 연장아에선 구토, 두통, 인후통, 경부강직이 우세하였으나 환아의 수가 적어 통계학적 유의성은 없었다(Table 2).

3. 뇌척수액 검사 소견

뇌척수액 검사상 백혈구 수는 평균 132.4±340.0(6-1,808)/mm³, 중성구 수는 평균 36.5±27.8(0-100)%, 림프구 수는 평균 63.6±27.9(0-100)%였다. 뇌척수액의 단백질은 평균 56.1±21.1(20-108) mg/dL, 당은 평균 57.2±17.2(34-121) mg/dL였고, 뇌척수액/혈액의 당비율은 평균 58.2±17.0(38.1-100)%로 50% 이

하로 감소된 경우는 5례(11.9%)였다. 뇌척수액의 CRP는 평균 0.01±0.00(0.00-0.04) mg/dL, ferritin은 평균 6.1±6.0(3-31) ng/mL였다(Table 3).

4. 월별 환자 분포

월별 분포는 6월이 22례(52.4%)로 환자 발생이 가장 많았고, 7월이 15례(35.7%), 8월이 5례(11.9%)였다.

5. 검체 채취까지의 시간에 따른 검체별 PCR 결과

발열, 수유 부진, 구토, 두통 등 임상 증상의 발현 시점에서부터 뇌척수액 채취까지의 시간은 평균 1.9±1.2(0-5)일이었고, 대변의 경우 평균 3.4±1.6(0-7)일이었다. 뇌척수액의 경우 발병 2일 이내에 채취된 검체의 PCR 양성률(50.0%)이 발병 2일 이후 채취된 검체의 양성률(4.2%)에 비해 유의하게 높았다(P=0.001)(Table 4). 뇌척수액과는 달리 대변의 경우 시기에 따른 PCR 양성률에 차이가 없었다(P>0.05)(Table 5).

7. 바이러스 배양 검사

뇌척수액과 대변 각각 42례가 의뢰되었다. 그 중 뇌척수액 10례(23.8%)에서 장바이러스 PCR이 양성되었고, 바이러스가 확인된 9례(21.4%)에서 coxsackievirus B5 6례, coxsackievirus B3 3례가 배양되었다. 10례 중 4례(40.0%)에서 대변의 장바이러스 PCR이 음성이었다. 대변의 경우 42례 중 38례(90.5%)에서 장바이러스 PCR이 양성되었고, echovirus 18 7례, echovirus 9 3례, coxsackievirus B5 8례, coxsackievirus B3 3례였다. 뇌척수액과 대변에서 동시에 배양된 경우는 6례로 모두 coxsackievirus B5 바이러스였다.

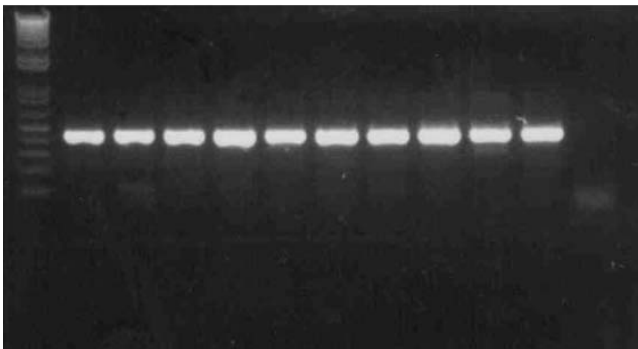


Fig. 1. Visualization of enteroviral RNA in gel electrophoresis (436 bp).

Table 2. Clinical Manifestation of Patients with Aseptic Meningitis

Symptom and sign	<1 m n=6(%)	1 m-1 yr n=17(%)	2 yr-4 yrs n=3(%)	≥ 5 yrs n=16(%)	Total No. n=42(%)
Fever	5(83.3)	16(94.1)	3(100.0)	16(100.0)	40(95.2)
Vomiting		4(23.4)	2(66.7)	15(93.7)	21(50.0)
Headache			1(33.3)	16(100.0)	17(40.5)
Irritability	2(33.3)	10(58.8)			12(28.6)
Poor feeding	4(66.7)	8(47.1)			12(28.6)
Sore throat			1(33.3)	9(56.3)	10(23.8)
Neck stiffness			1(33.3)	8(50.0)	9(21.4)
Diarrhea	2(33.3)	7(41.2)			9(21.4)
Abdominal pain			1(33.3)	7(43.8)	8(19.0)
Rash		2(11.8)			2(4.8)
Seizure		1(5.9)	1(33.3)		2(4.8)
Moaning		2(11.8)			2(4.8)
Cough		2(11.8)			2(4.8)
Tachypnea	1(16.7)				1(2.4)
Dizziness				1(6.3)	1(2.4)

Table 3. Cerebrospinal Fluid Findings of the Patients with Aseptic Meningitis

CSF finding	Mean ±SD	Range
WBC count/mm ³	132.4±340.0	6-1,808
Neutrophil(%)	36.4±27.8	0-100
Lymphocyte(%)	63.6±27.9	0-100
Protein(mg/dL)	56.1±21.1	20-108
Glucose(mg/dL)	57.2±17.2	34-121
CRP(mg/dL)	0.01±0.00	0.00-0.04
Ferritin(ng/mL)	6.1±6.0	1.3-31.0

Abbreviation : SD, standard deviation

Table 4. CSF PCR Result According to Sampling Time

	No. of CSF PCR result		No. of samples tested
	Positive(%)	Negative(%)	
1 day	7(50.0)	7(50.0)	14
2 days	2(50.0)	2(50.0)	4
3 days	0(0.0)	12(100.0)	12
4 days	0(0.0)	6(100.0)	6
5 days	1(20.0)	4(80.0)	5
6 days	0(0.0)	1(100.0)	1
7 days	0(0.0)	0(0.0)	0
≥8 days	0(0.0)	0(0.0)	0
Total	10(23.8)	32(76.2)	42

Table 5. Stool PCR Result According to Sampling Time

	No. of stool PCR result		No. of samples tested
	Positive(%)	Negative(%)	
1 day	3(100.0)	0(0.0)	3
2 days	3(75.0)	1(25.0)	4
3 days	6(75.0)	2(25.0)	8
4 days	6(75.0)	0(0.0)	6
5 days	10(90.9)	0(0.0)	11
6 days	6(100.0)	0(0.0)	6
7 days	3(100.0)	0(0.0)	3
≥8 days	1(100.0)	0(0.0)	1
Total	38(90.5)	3(7.1)	42

고 찰

장바이러스는 picornaviridae 과(family)에 속하는 single-stranded positive sense RNA 바이러스로 약 70여개의 혈청형이 존재하고^{6, 7, 15-17)}, polioviruses(1-3형), echoviruses(1-33형), coxsackieviruses(A : 1-24형, B : 1-6형), 기타 장바이러스(68-72형)로 분류된다^{7, 18)}.

사람이 유일한 숙주로 분변-경구, 경구-경구(호흡기), 오염된 손을 통해 전파되며⁷⁾ 소아는 면역학적으로 감염되기 쉽다. 원인

은 알 수 없지만 남아에서 여아보다 2배 가량 많이 발생하며^{7, 31)}, 그 이유에 대하여 Green³¹⁾은 성별에 따른 면역 차이로 인해 증상 발현율이 다른 것으로 설명하였다. 유행 시기는 온대 지방에서는 대부분 여름과 가을철이며, 불현성 감염에서부터 비특이적 열성질환, 호흡기 질환, 무균성 뇌막염 등 다양한 증상을 유발하며^{4, 15, 16)}, 단일한 바이러스 형이 여러 임상 증상을 나타내기도 하고 다른 바이러스 형들이 비슷한 증상을 초래하기도 한다¹⁷⁾.

무균성 뇌막염은 어느 연령에서나 발생할 수 있으나 10세 미만의 소아에서 다른 연령군보다 2배 내지 10배 많이 발생하며^{19, 24)}, 본 연구에서는 1세 이하가 23명(54.0%)으로 가장 많았고, 그 중 4개월 미만이 20명(47.7%)으로 이는 본원의 환자 구성 연령이 어린것도 영향을 끼쳤으리라 생각한다.

임상 증상은 대개 급성 경과를 밟고 소아에서는 고열, 두통, 구토, 경부 강직 등이 주요 증상이고^{7, 16, 19, 20)}, 영아에서는 갑자기 발생한 38-40℃의 발열을 특징으로 하고 보챔, 흥분 등의 비특이적인 증상으로 패혈증과 감별하기 어려운 경우가 많다^{7, 16, 19)}. 본 연구에서는 발열(95.2%), 구토(47.6%), 두통(40.5%), 보챔(28.6%), 수유 부진(28.6%) 등의 순서로 나타났고, 신생아와 영아에서 보챔, 수유 부진, 설사가 흔하였고, 연장아에선 구토, 두통 등의 증상이 우세하였으나 통계학적 유의성은 없었다.

뇌척수액 검사상 백혈구 수는 100-1,000/mm³인 경우가 많으며 첫 1-2일 동안에는 다핵구가 증가하고 후기에는 주로 단핵구가 증가하게 된다. 단백은 정상이거나 경미하게 증가하고, 당 수치는 대개 정상이나 18-33%에서 경미하게 감소하며 균 염색이나 배양 검사에서 세균을 볼 수 없다^{7, 19)}. 본 연구의 경우 백혈구 수는 평균 132.4±340.0(6-1,808)/mm³, 중성구 수는 평균 36.5±27.8(0-100)%, 림프구 수는 평균 63.6±27.9(0-100)%였고, 단백은 평균 56.1±21.1(20-108) mg/dL, 당은 평균 57.2±17.2(34-121) mg/dL로 경미하게 단백질이 증가하였는데 환아군이 신생아 6명(14.3%)을 포함하기 때문으로 생각된다.

장바이러스 뇌막염의 확진은 뇌척수액에서 직접 바이러스를 검출하는 것이다²¹⁾. 바이러스 분리 동정을 위해 본 연구에서 사용한 세포 배양/중화 시험법은 장바이러스 동정을 위해 가장 보편적으로 사용되는 방법이나 세포 배양까지 적어도 6-7일 이상 걸리고 음성 보고는 14일까지 소요되어 환자의 치료에 실질적인 도움을 주지 못하고¹⁹⁾, 항체 중화 과정, 적절하지 못한 검체 수집 과정, 세포 배양시 검체 오염 가능성 등의 단점이 있다. 또한 group A coxsackievirus와 같이 일부 혈청형이 잘 배양되지 않고 검체 내 바이러스 역가가 낮아 25-35%에서 위음성으로 보고될 수 있다^{1, 4, 6, 7, 20)}. 1998년 Dagan 등³²⁾에 의하면 장바이러스 분리 결과 대변 86%, 인후 도찰물 57%, 뇌척수액 39%, 혈액 3.3%에서 양성이었다¹⁶⁾, 2004년 Jee 등¹⁷⁾에 의하면 1999-2003년 동안 국내에서 시행한 바이러스 분리 결과 뇌척수액의 양성률은 6.6%로 대변 31.5%, 인후 도찰물 25.6%에 비해 많이 떨어졌다.

이에 좀 더 빠르고 믿을 만한 진단법에 대한 요구가 제기되

어, 장바이러스 혈청형에서 RNA를 탐지하는 PCR이 소개되었다⁵⁾. 최근 연구에서 장바이러스 뇌막염의 진단을 위해 바이러스 검출보다 PCR이 빠르고, 저렴하며, 덜 힘들고, 보다 민감도가 높아 유용한 진단법(민감도 89%, 특이도 66%)이라고 보고하고 있다^{1-3, 5, 21)}. 2003년 Guney 등²¹⁾은 PCR 양성이나 바이러스 배양 음성인 뇌척수액 검체에 대해 낮은 바이러스 역가 때문으로 설명하며 무균성 뇌막염이 의심되는 환자에서 PCR을 이용한 선별 검사에 대해 언급하였다. 1996년 Miriam 등¹²⁾은 무균성 뇌막염 환자에서 검체별 PCR 양성률이 대변 38%, 인후 도찰물 26%, 뇌척수액 25%라고 하였고, 1992년 Martin 등²⁾은 대변에서 29-95%로 뇌척수액에서의 양성률 13-70%보다 높아 장바이러스 RNA의 양이 뇌척수액보다 대변에서 높다고 하였다. 따라서 대변은 장바이러스 RNA 검출의 좋은 검체로 주목되고 있다^{2, 5, 15)}. 반면 2001년 Pei-Wen Chung 등¹⁵⁾은 인후 도찰물에서 감염 후 첫 2주까지, 대변에서는 대부분 4-8(최대 11)주까지 장바이러스가 분리되어, 대변에서 장바이러스 RNA의 검출시 과거 감염을 배제할 수 없다고 하였다⁵⁾.

따라서 무균성 뇌막염 환자의 대변 검체에서 장바이러스 RNA의 검출은 장바이러스가 뇌막염의 원인이라고 확정짓기는 어려우나 가능성이 높음을 시사한다고 하겠다.

본 연구의 경우 임상 증상의 발현 시점에서부터 뇌척수액 채취까지의 시간은 평균 $1.9 \pm 1.2(0-5)$ 일이었고, 대변의 경우는 평균 $3.4 \pm 1.6(0-7)$ 일이었다. PCR 양성률은 뇌척수액 26.2%, 대변 90.5%로 대변에서의 양성률이 높았다. 증상 발현 후 검체 채취 시점까지의 시간에 따른 PCR 양성률은 뇌척수액의 경우 발병 2일 이내 채취된 검체에서 50.0%(9례/18례)였고, 2일이 지나 채취된 검체에서 4.2%(1례/24례)로 발병 2일 이후 PCR 양성률이 급격하게 감소하였다. 반면 대변의 경우는 일주일까지 채취 시기에 관계없이 PCR 양성률이 평균 90.5%로 지속적으로 높았다.

뇌막염은 장바이러스 감염 후 초기에 혈류를 통한 바이러스 혈중에 의해 유발되고, 뇌척수액 내 바이러스는 이 시기 동안 검출되는데 그 기간이 짧다. Dagan 등³³⁾은 바이러스 배양 양성인 뇌척수액 50%가 증상 발현 48시간 내에 얻어졌고 78%가 4일 이내에 얻어진 검체로 통계학적 유의성은 없으나 입원까지의 기간이 짧았던 3개월 미만의 환자에서 바이러스 혈증이 더 흔하다고 하였다. 반면 위장관계에서 장바이러스 복제는 임상적인 질병이 없어도 감염 후 수주까지 지속되어 대변을 통해 배출된다. 따라서 무균성 뇌막염이 의심되는 환자에서 대변 PCR은 장바이러스를 검출하는 임상적으로 민감한 검사법으로 질병 경과 동안 진단을 예측하게 한다. 결정적인 진단은 뇌척수액 PCR에 의해 얻어지지만 발병 2일이 지나 얻어진 검체에서는 그 유용성이 명백히 낮았다. 따라서 임상 증상이 2일 이상 경과하였을 때는 뇌척수액 PCR과 더불어 대변 검체 PCR을 같이 검사하는 것이 추천된다.

요 약

목적 : 장바이러스는 모든 연령층에서 무균성 뇌막염의 가장 흔한 원인으로 확진은 뇌척수액에서 직접 바이러스를 검출하는 것이나 시일이 많이 걸리고 민감도가 낮아 뇌척수액, 대변 등 환자의 검체에서 바이러스 RNA를 탐지하는 PCR법이 대두되었다. 무균성 뇌막염 환자에서 뇌척수액과 대변의 채취 시기에 따라 검체별 PCR 양성률이 달라서 이에 관한 평가가 필요하다. 이에 저자들은 소아 환자에서 무균성 뇌막염을 진단함에 있어 증상 발현 후 뇌척수액과 대변 검체의 채취 시기에 따른 검체별 PCR의 유용성을 알고자하였다.

방법 : 2005년 6월 11일부터 8월 30일까지 부산 일신기독병원 원에 입원하여 무균성 뇌막염으로 진단 받은 42례를 대상으로 임상 증상의 발현 시점에서 뇌척수액과 대변 채취 시기에 따른 검체별 PCR 결과를 조사하였다.

결과 : 뇌척수액의 경우 증상 발현 시점부터 검체 채취 시기까지의 기간이 2일 이내였던 18례 중 PCR 양성은 9례(50.0%)로 2일이 지나 채취된 검체 24례 중 PCR 양성 1례(4.2%)에 비해 유의하게 높았다($P=0.001$). 반면 대변의 경우는 일주일까지 채취 시점에 관계없이 PCR 양성률이 평균 90.5%로 지속적으로 높았다. 뇌척수액 10례(23.8%)에서 장바이러스 PCR이 양성되었고, 바이러스가 밝혀진 9례(21.4%)에서 coxsackievirus B5 6례, coxsackievirus B3 3례였다. 대변의 경우 42례 중 38례(90.5%)에서 장바이러스 PCR이 양성으로 echovirus 18 7례, echovirus 9 3례, coxsackievirus B5 8례, coxsackievirus B3 3례였다. 뇌척수액과 대변에서 동시에 배양된 경우는 6례로 모두 coxsackievirus B5였다.

결론 : 대변을 이용한 PCR은 장바이러스 뇌막염 동안 장바이러스를 검출하는 임상적으로 민감한 검사법으로 질병 경과 동안 진단을 예측하게 한다. 결정적인 진단은 뇌척수액 PCR에 의해 얻어지나 발병 2일 후 얻어진 검체에서는 그 유용성이 매우 낮아서 임상 증상이 2일 이상 경과하였을 때는 뇌척수액 PCR 이외에 대변을 이용한 PCR을 같이 검사하는 것이 도움이 된다.

References

- 1) Hosoya M, Sato M, Honzumi K, Katayose M, Sakuma H, Ishiko H, et al. Application of polymerase chain reaction and subsequent phylogenetic analysis to the diagnosis of enteroviral infection in the central nervous system. *J Clin Virol* 2002;25:27-38.
- 2) Glimaker M, Abebe A, Johansson B, Ehrnst A, Olcén P, Strannegard O. Detection of enteroviral RNA by polymerase chain reaction in faecal samples from patients with aseptic meningitis. *J Med Virol* 1992;38:54-61.
- 3) Schlesinger Y, Sawyer MH, Storch GA. Enteroviral meningitis in infancy : potential role for polymerase chain reaction

- in patient management. *Pediatrics* 1994;94:157-62.
- 4) Andreoletti L, Blassel-Damman N, Dewilde A, Vallee L, Cremer R, Hober D, et al. Comparison of use of cerebrospinal fluid, serum, and throat swab specimens in diagnosis of enteroviral acute neurological infection by a rapid RNA detection PCR assay. *J Clin Microbiol* 1998;36:589-91.
 - 5) Kupila L, Vuorinen T, Vainionpää R, Marttila RA, Kotilainen P. Diagnosis of enteroviral meningitis by use of polymerase chain reaction of cerebrospinal fluid, stool, and serum specimens. *Clin Infect Dis* 2005;40:982-7.
 - 6) Mohamed N, Elfaitouri A, Fohlman J, Friman G, Blomberg J. A sensitive and quantitative single-tube real-time reverse transcriptase-PCR for detection of enteroviral RNA. *J Clin Virol* 2004;30:150-6.
 - 7) John FM. Enteroviruses. In: Anne AG, Peter JH, Samuel LK, editors. *Krugman's Infectious diseases of children*. 8th ed. St. Louis: Mosby, 2004:117-42.
 - 8) Jarvis WR. Enterovirus type 7 meningitis in young children. *Am J Dis Child* 1981;135:1009-12.
 - 9) Sumaya CV, Corman LL. Enteroviral meningitis in early infancy: significance in community outbreaks. *Pediatr Infect Dis* 1982;1:151-4.
 - 10) Hosoya M, Honzumi K, Suzuki H. Detection of enterovirus by polymerase chain reaction and culture in cerebrospinal fluid of children with transient neurologic complications associated with acute febrile illness. *J Infect Dis* 1997;175:700-3.
 - 11) Zoll GJ, Melchers WJ, Kopecka H, Jambroes G, van der Poel HJ, Galama JM. General primer-mediated polymerase chain reaction for detection of enteroviruses: application for diagnostic routine and persistent infections. *J Clin Microbiol* 1992;30:160-5.
 - 12) Riding MH, Stewart J, Clements GB, Galbraith DN. Enteroviral polymerase chain reaction in the investigation of aseptic meningitis. *J Med Virol* 1996;50:204-6.
 - 13) Thorén A, Widell A. PCR for the diagnosis of enteroviral meningitis. *Scand J Infect Dis* 1994;26:249-54.
 - 14) Peigue-Lafeuille H, Croquez N, Laurichesse H, Clavelou P, Aumaitre O, Schmidt J, et al. Enterovirus meningitis in adults in 1999-2000 and evaluation of clinical management. *J Med Virol* 2002;67:47-53.
 - 15) Chung PW, Huang YC, Chang LY, Lin TY, Ning HC. Duration of enterovirus shedding in stool. *J Microbiol Immunol Infect* 2001;34:167-70.
 - 16) Kim HJ, Cheong HK, Jung C, Lee KM, Jee YM, Kim WD, et al. Clinical and virologic study of aseptic meningitis. *Korean J Pediatr* 2004;47:392-8.
 - 17) Jee YM, Cheon DS, Choi WJ, Ahn YB, Kim KS, Chung YS, et al. Updates on enterovirus surveillance in Korea. *Infect Chemother* 2004;36:294-303.
 - 18) Charrel RN, Bernit E, Zandotti C, de Lamballerie X. An approach based on RFLP assay to investigate outbreaks of enteroviral meningitis. *J Clin Virol* 2004;29:54-8.
 - 19) Park JH, Lee NY, Kim GH, Jung JH, Cho KS, Kim SM. A clinical study of aseptic meningitis in the Busan area in 2002. *J Korean Pediatr Soc* 2003;46:858-64.
 - 20) Carroll KC, Taggart B, Robison J, Byington C, Hillyard D. Evaluation of the Roche AMPLICOR enterovirus PCR assay in the diagnosis of enteroviral central nervous system infection. *J Clin Virol* 2000;19:149-56.
 - 21) Guney C, Ozkaya E, Yapar M, Gumus I, Kubar A, Doganci L. Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction(PCR) assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;47:557-62.
 - 22) Nelson P, Hiemstra H, Minor T, D'Alessio D. Nonpolio enterovirus activity in Wisconsin based on a 20-year experience in a diagnostic virology laboratory. *Am J Epidemiol* 1979;109:352-61.
 - 23) Wilfert C, Lehrman S, Katz S. Enteroviruses and meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1983;2:333-41.
 - 24) Alan RS, De vivo DC. Viral infections of the central nervous system. In: Colin DR, Abraham MR, Margaret KH, George L, Norman JS, editors. *Rudolph's Pediatrics*. 21th ed. New York: McGraw-Hall Co, 2002:2305-7.
 - 25) Oh SH, Lee MS, Kang JH, Kim CH, Park CY, Sohn YM, et al. Report of nationwide epidemiology of aseptic meningitis outbreak in 1993 in Korea. *J Korean Pediatr Soc* 1996;39:42-52.
 - 26) Hur JY, Kim TS, Cho WJ, Kim SW. Clinical studies of aseptic meningitis in Pusan area in 1996. *J Korean Pediatr Soc* 1998;41:38-46.
 - 27) Park SY, Kwon OS, Kim WY, Jung WJ, Ma SH, Kim SK, et al. Epidemics of aseptic meningitis in Kyongsangnamdo from March to October, 1997. *Korean J Pediatr Infect Dis* 1998;5:104-14.
 - 28) Chonmaitree T, Baldwin CD, Lucia HL. Role of virology laboratory in diagnosis and management of patients with central nervous system disease. *Clin Micro Biol Rev* 1989;2:1-14.
 - 29) Rorabaugh ML, Berlin LE, Heldrich F, Roberts K, Rosenberg LA, Doran T, et al. Aseptic meningitis in infants younger than 2 years of age: acute illness and neurologic complications. *Pediatrics* 1993;92:206-11.
 - 30) Berlin LE, Rorabaugh ML, Heldrich F, Roberts K, Doran T, Modlin JF, et al. Aseptic meningitis in infants less than two years of age: diagnosis and etiology. *J Infect Dis* 1993;168:888-92.
 - 31) Green MS. The male predominance in the incidence of infectious disease in children: a postulated explanation for disparities in the literature. *Int J Epidemiol* 1992;21:381-6.
 - 32) Dagan R, Jenista JA, Menegus MA. Association of clinical presentation, laboratory findings, and virus serotypes with the presence of meningitis in hospitalized infants with enterovirus infection. *J Pediatr* 1988;113:975-8.
 - 33) Dagan R, Jenista JA, Prather SL, Powell KR, Menegus MA. Viremia in hospitalized children with enterovirus infections. *J Pediatr* 1985;106:397-401.