뇌척수액 백혈구증가증이 없는 엔테로바이러스 뇌수막염 소아 환아들의 임상적인 특징

인제대학교 의과대학 부산백병원 소아청소년과

김나리 · 구재균 · 이보련

Clinical Characteristics of Enteroviral Meningitis without Cerebrospinal Fluid Pleocytosis in Children

Na Ri Kim, MD, Jae Kyun Ku, MD, Bo Lyun Lee, MD, PhD

Department of Pediatrics, Busan Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Busan, Korea

Purpose: The purpose of this study was to investigate the clinical features and laboratory findings of enteroviral meningitis according to the presence of cerebrospinal fluid (CSF) pleocytosis, and to investigate the factors influencing pleocytosis in children.

Methods: A retrospective study was conducted in 300 children with enteroviral meningitis confirmed by CSF reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) between 2012 and 2016. Electronic medical records including clinical and laboratory data were assessed. Clinical factors were compared between patients with and without pleocytosis.

Results: Of the total 300 children with enteroviral meningitis, 73 had no pleocytosis. The proportion of infants under the age of two years was higher in patients without pleocytosis than in patients with pleocytosis (39.7% vs 14.5%, $P < 0.001$). Patients without pleocytosis were younger (43.4 months vs 66.2 months, $P < 0.001$), had less prevalence of headache and vomiting, lower peripheral white blood cell count ($9,740 \pm 3,555/\text{mm}^3$ vs $11,632 \pm 3,872/\text{mm}^3$) and a shorter interval between the onset and lumbar puncture than those with pleocytosis. In multiple regression analysis, younger age, vomiting, lower white blood cell count, and interval less than 24 hours from onset to spinal tap were associated with the absence of pleocytosis.

Conclusion: This study showed that children younger than two years of age had high proportion of absence of pleocytosis and some of the factors analyzed correlated with CSF inflammation. Therefore, absence of pleocytosis in the initial CSF sample cannot exclude meningitis, and rapid RT-PCR testing should be performed with high suspicion in young infants.

Key Words: Enterovirus, Meningitis, Pleocytosis, Cerebrospinal fluid, Infant, Children

Submitted: 6 June, 2017

Revised: 1 July, 2017

Accepted: 27 July, 2017

Correspondence to Bo Lyun Lee, MD, PhD
Department of Pediatrics, Busan Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Bokji-ro 75, Busanjin-gu, Busan 47392, Korea
Tel: +82-51-890-6125, Fax: +82-51-895-7785
E-mail: bototii@hanmail.net

서론

엔테로바이러스는 RNA 바이러스로 67개의 혈청형이 존재하며, 주로 분변-구강 경로를 통해 전파되고, 비특이적 열성질환, 수족구병, 포진성구협염, 급성 출혈성 결막염, 호흡기 질환, 위장관 질환, 무균성 뇌수막염 등 다양한 질환을 일으킬 수 있다¹⁾. 엔테로바이러스 감염은 합병증 없이 자연적으로 호전되는 것이 대부분이지만²⁾ 경우에 따라서는 신경 발달의 심각한 합병증을 일으키기도 한다^{3,4)}. 엔테로바이러스는 소아, 특히 신생아와 영아에서 무균성 뇌수막염의 주요한 원인으로 알려져 있다. 엔테로바이러스성

뇌수막염은 우리나라에서 여름과 가을에 호발하고 성인보다 소아에서 더 흔히 발생한다⁵⁾. 임상 증상은 발열이 가장 흔하고, 인두염 및 호흡기 증상, 두통, 구토, 경련 등의 전신 증상을 보이기도 한다⁶⁾.

엔테로바이러스를 검출하는 표준적인 방법은 바이러스를 배양하는 것이다. 최근에는 역전사 중합효소연쇄반응(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)법을 이용하여 정확하고 빠르게 엔테로바이러스를 검출해 낼 수 있다^{7,8)}. 분자유전학적 방법이 고안되면서 신속하게 진단할 수 있게 되었고 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 없어도 뇌수막염 진단이 가능하게 되었다. 그러나 백혈구 증가증이 없으면서 엔테로바이러스 양성인 환아들의 특징을 보고한 국내 연구는 부족한 실정이다^{6,9,10)}.

이에 본 저자는 엔테로바이러스 뇌수막염 환아들을 대상으로 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 유무에 따라 임상 증상의 차이를 분석하였고 연령을 비교하였으며 혈청학적 검사 결과 등에서 어떠한 차이를 보이는지, 특히 나이 군별로 어떠한 특징이 있는지에 대해 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2012년 01월부터 2016년 12월까지 부산백병원에 입원한 만 18세 미만의 엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 300명 환아를 대상으로 의무 기록을 후향적으로 조사하였다. 뇌척수액(cerebrospinal fluid, CSF) RT-PCR 검사에서 엔테로바이러스 양성인 환아들을 포함하였다.

인제대학교 부산백병원을 방문한 18세 미만의 소아를 대상으로 연구를 진행했으며, 뇌척수액 RT-PCR 검사에서 엔테로바이러스 양성으로 나온 환아들만 연구 대상에 포함하였다. 나이군은 생후 4주 미만, 생후 4주에서 8주 미만, 생후 8주에서 2세 미만, 2세 이상 12세 미만, 12세에서 18세 미만으로 세분화하여 구분하였다. 이들 중, 뇌척수액 도말검사 및 배양 검사에서 세균이 검출되지 않은 환아들만 모집하였으며 뇌자기공명영상(brain magnetic resonance imaging)에서 구조적 이상 소견이 있는 경우, 천천성 대사 질환이 있는 경우, 만성적으로 약물을 복용 중인 환아는 제외하였다.

2. 방법

뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 유무에 따라 대상 환아를 두 집단으로 분류하였다. 각 집단별로 임상적으로 뇌수막염이 의심되는 증상(발열, 두통, 구토, 보챔, 기침, 처짐, 경련 등), 진단 당시 말초혈액 백혈구 수, 호중구 수, 혈청 C-반응단백질, 뇌척수액 검사에서 백혈구 수, 적혈구 수, 단백질량, 당 수치 및 그람 염색, 라텍스 응집반응검사, 세균 배양 검사 결과를 각각 수집하였고, 뇌척수액 및 분변에서 엔테로바이러스 RT-PCR 결과를 확인하였다. 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증의 기준은 생후 4주 미만의 신생아는 $22/\text{mm}^3$ 이상, 생후 4주 이상 2개월 미만은 $15/\text{mm}^3$ 이상, 생후 2개월 이상에서는 $5/\text{mm}^3$ 이상으로 하였으며 백혈구 수의 증가가 없는 집단 A와 백혈구 수의 증가

가 있는 집단 B로 나누었다¹¹⁾. 뇌척수액 백혈구 수는 외상성 요추 천자(뇌척수액 mm^3 당 적혈구 500개 이상)시에는 뇌척수액 적혈구 수를 고려하여 보정하였다¹²⁾.

엔테로바이러스 RNA는 enterovirus real time RT-PCR을 이용하여 확인하였다. 뇌척수액 검체(CSF)로부터 GeneXpert 장비(Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)를 이용, RNA 추출부터 역전사 실시간 연쇄 중합효소법까지 전자동으로 엔테로바이러스의 RNA를 검출하여 뇌수막염 증후를 진단하는 The Xpert EV assay kit를 이용하였다. 카트리지와 함께 제공되는 시약에는 형광표지물질들이 포함되어 있으며, 이 물질들은 증폭산물에 특이적으로 결합하는 올리고핵산염 프로브(probe)에 연결되어 있으며, PCR 중에 형광의 강도를 모니터링 하여 결과를 도출하였다. 결과의 판정은 전자동으로 형광 강도에 따라 양성, 음성, 무효로 나누었다.

3. 통계학적 분석

두 환자군 간의 처음 진단 당시 혈액학적 검사, 뇌척수액 검사 결과는 평균±표준편차로 표현하였고, 그 평균값을 unpaired Student t-test로 비교하였으며, 증상이 있고 나서 뇌척수액 검사까지 걸린 시간, 입원기간, 발열, 두통, 구토, 경부강직, 경련 등의 임상 양상의 빈도 비교를 위해 피어슨 카이제곱 검정(Pearson's chi-square test)을 통해 분석하였고 기대값이 5 미만인 셀이 20% 이상인 경우는 피셔의 정확 검정법(Fisher's exact test)을 이용하였다. 뇌척수액 백혈구 증가증과 관련된 인자들(나이, 말초혈액 백혈구 수, 증상 시작과 검사 시행 사이의 시간 간격 등)을 확인하기 위해서 다변량 로지스틱 회귀분석을 시행하였다. 의미 있는 *P* 값은 0.05 미만으로 정의하였으며, 모든 통계 수치들은 SPSS ver. 23.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였다. 본 연구는 인제대학교 부산백병원 생명의학 윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(IRB No.16-0210).

결과

1. 엔테로바이러스 뇌수막염의 임상적 특징

총 300명의 엔테로바이러스 뇌수막염으로 진단된 환아들의 평균 나이는 60.7개월로 특히 2세 미만 영아는 전체 환자의 20.7% (62명)이었으며, 남아는 164명, 여아는 136명이었다. 호소하는 증상은 발열, 두통, 구토가 각각 87.3%, 77%, 66.3%였으며, 그 외에 구역, 복통, 경련 증상을 보였다. 말초 혈액 검사결과, 백혈구 수 $11,172 \pm 3,878/\text{mm}^3$, 절대 호중구 수 $7,855 \pm 3,758/\text{mm}^3$, C-반응단백질 $1.03 \pm 1.08 \text{ mg/L}$ 였으며, 뇌척수액 검사 결과, 백혈구 수 $151.5 \pm 275.3/\mu\text{L}$, 단백질 $49.8 \pm 46.7 \text{ mg/dL}$, 뇌척수액/혈액 당 비율은 0.60 ± 0.11 이었다. 증상의 발생부터 뇌척수액 검사 시행까지 걸린 시간은 24시간 미만인 경우가 84명으로 전체 환자의 28%를 차지하였으며, 평균 입원 기간은 5.1일이었다. 항생제 치료를 한 환아는 269명으로 전체 환자의 89.7%를 차지하였다(Table 1).

2. 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 없는 군(A)과 있는 군(B)의 임상적 특징 비교

엔테로바이러스 뇌수막염으로 진단된 환자 300명 중 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증이 없는 A군과 백혈구 증가증이 있는 B군으로 나누어 조사하였다. A군은 73명(24.3%), B군은 227명(75.6%)으로 뇌척수액의 백혈구 증가증을 보이지 않는 환아는 전체 대상 환자 중 4명 중에 1명꼴이었다. 평균 나이는 A군 43.4개월, B군 66.2개월로 A군의 나이가 더 어렸으며, 특히 2세 미만 환자군 중에서 A군은 39.7%로 B군 14.5%에 비해 높은 비율을 차지하였다($P<0.001$).

증상별로 비교해 본 결과, 두 군간에 유의한 차이가 있는 증상은 두통과 구토 증상으로, 특히 구토 증상은 뇌척수액 백혈구 증가증이 없는 A군의 62.5%에서 보인 반면 백혈구 증가증이 있는 B군에서는 82%의 환자들에서 관찰되었다($P=0.002$). 증상이 시작되고 나서 뇌척수액 검사까지 걸린 시간을 24시간 기준으로 나누어 보았을 때, 24시간 이내 검사를 시행한 비율이 A군은 45.2%인 반면에 B군은 22.5%였으며, 증상이 시작되고 나서 뇌척수액 검사까지 걸린 시간이 24시간 이내일수록 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 없을 가능성이 높음을 시사하고 있다($P<0.001$). 2012년부터 2016년까지 연도별로 분석한 결과 엔테로바이러스성 뇌수막염 발생율은 2012년, 2016년이 각각 38%, 23.7%로 다른 해에 비해 높았다. 2012년의 경우 114명 중 6명(5.3%)의 환아를 제외하고 모든 환아가 뇌척수액에서 백혈구 증가증을 보였으나 2016년의 경우 약 반 수의 환아에서 백혈구 증가증이 보이지 않았다($P<0.001$). 입원 기간, 말초혈액 C-반응 단백질 및 뇌척수액 단백질, 뇌척수액 당의 비율에서는 두 군간에 차이가 없었다. 말초혈액 백

Table 1. Demographic Data and Clinical Characteristics of Total Patients Diagnosed with Enteroviral Meningitis (n=300)

Variables	Mean±SD/ number of patients	IQR (25%)	IQR (75%)	Range
Age (month)	60.7±44.4	38.0	85.0	0.2-185.0
Age <2 years old (%)	62 (20.7)			
Male gender (%)	164 (54.7)			
Fever* (%)	262 (87.3)			
Headache (%)	231 (77.0)			
Vomiting (%)	199 (66.3)			
Nausea (%)	30 (10.0)			
Abdominal pain (%)	20 (6.7)			
Seizure (%)	4 (1.3)			
Peripheral WBC (/mm ³)	11,172±3,878	8,553	13,105	870-28,110
ANC (/mm ³)	7,855±3,758	5,080	10,060	160-24,960
CRP (mg/dL)	1.03±1.08	0.29	1.48	0.01-6.58
CSF WBC (/uL)	151.5±275.3	6.0	200.0	0-2,090.0
CSF Protein (mg/dL)	49.8±46.7	24.6	56.4	4.2-396.0
CSF/Serum glucose ratio	0.60±0.11	0.54	0.66	0.02-1.04
Interval [†] <24 hours (%)	84 (28)			
Hospital stay [‡] (days)	5.1±2.2	4	6	1.0-20.0

Values are expressed as mean±standard deviation or number of patients (%).

*Fever defines as over 38°C of axillary body temperature.

[†]Interval from onset of symptoms to spinal tapping.

[‡]Duration of hospitalization in days.

ANC, absolute neutrophil count; CRP, C-reactive protein; CSF, cerebrospinal fluid; IQR, inter-quartile range; SD, standard deviation; WBC, white blood cell.

혈구 수는 A군 $9,740\pm3,555/\text{mm}^3$, B군 $11,632\pm3,872/\text{mm}^3$, 절대 호중구 수는 A군 $6,702\pm8,228/\text{mm}^3$, B군 $3,331\pm3,819/\text{mm}^3$ 으로 통계학적으로 유의하게 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 있는 군에서 말초혈액 백혈구 수 및 절대 호중구 수가 많았다($P<0.001$) (Table 2).

3. 엔테로바이러스 뇌수막염의 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증과 관련된 인자들

엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 환자들 중 나이, 두통과 구토의 증상 유무, 증상이 시작되고 나서 뇌척수액 검사까지 걸린 시간이 24시간 이내인 경우, 말초혈액 백혈구 수, 절대 중성구 수는 단변량 분석에서 통계학적으로 유의하게 뇌척수액의 백혈구 증가증과 관련이 있었다. 본 연구에서는 유의한 독립변수를 보정하여 다변량 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과, 나이가 어린 환자의 경우(adjusted OR [aOR], 1.014; 95% CI, 1.007-1.021), 특히 나이가 2세 미만의 환자(aOR, 3.015; 95% CI, 1.598-5.689)에서 뇌척수액의 백혈구 증가증

Table 2. Comparison of Clinical Manifestation and Laboratory Values between Two Groups with Enteroviral Meningitis

Variables	Non-pleocytosis group (n=73)	Pleocytosis group (n=227)	P-value
Age (months)	43.4±40.9	66.2±44.2	<0.001
Age <2 years old (%)	29/73 (39.7)	33/227 (14.5)	<0.001
Male gender (%)	41/73 (56.2)	123/227 (54.2)	0.768
Presenting symptoms and signs			
Fever* (%)	64/73 (87.7)	198/227 (87.2)	0.921
Headache (%)	45/53 (84.9)	186/199 (93.5)	0.045
Vomiting (%)	35/56 (62.5)	164/200 (82.0)	0.002
Nausea (%)	5/53 (9.4)	25/198 (12.6)	0.525
Abdominal pain (%)	7/54 (13.0)	13/198 (6.6)	0.123
Seizure (%)	2/53 (3.8)	2/198 (1.0)	0.154
Interval [†] <24 hours (%)	33/73 (45.2)	51/227 (22.5)	<0.001
Hospital stay [‡] (days)	5.1±2.1	5.2±2.3	0.731
Occurrence year [§] (%)			<0.001
2012	6/114 (5.3)	108/114 (94.7)	
2013	13/33 (39.4)	20/33 (60.6)	
2014	6/26 (23.1)	20/26 (76.9)	
2015	14/56 (25.0)	42/56 (75.0)	
2016	34/71 (47.9)	37/71 (52.1)	
Laboratory findings			
Peripheral WBC (/mm ³)	9,740±3,555	11,632±3,872	<0.001
ANC (/mm ³)	6,702±8,228	3,331±3,819	0.002
CRP (mg/dL)	0.84±1.09	0.92±1.12	0.089
CSF WBC (/uL)	2.3±5.3	199.5±301.2	<0.001
CSF Protein (mg/dL)	46.6±50.9	50.8±47.4	0.500
CSF/Serum glucose ratio	0.62±0.14	0.60±0.11	0.271

Values are expressed as mean±standard deviation or number of patients (%). The denominator is the case number of data available, and the numerator is the case number of corresponding to each variables.

*Fever defines as over 38°C of axillary body temperature.

[†]Interval from onset of symptoms to spinal tapping.

[‡]Duration of hospitalization in days.

[§]Number of patients in the year that enteroviral meningitis occurred.

ANC, absolute neutrophil count; CRP, C-reactive protein; CSF, cerebrospinal fluid; WBC, white blood cell.

이 보이지 않을 가능성이 높음을 확인하였다. 또한 증상 발생 후 뇌척수액 검사까지 시간이 24시간 미만으로 짧은 경우(aOR, 2.194; 95% CI, 1.221-3.994) 뇌척수액의 백혈구 증가증이 보이지 않는 것과 관련이 있었다. 뇌척수액의 백혈구 증가증을 보인 환아는 구토 증상을 더 많이 호소하였고(aOR, 2.709; 95% CI, 1.376-5.335), 말초혈액 백혈구 수가 의미있게 많았다(aOR, 1.002; 95% CI, 1.001-1.003). 각 연도별 발생율은 2012년을 참조 변수로 하고 나이와 뇌척수액 검사까지 걸린 시간이 24시간 이내인 경우를 보정하여 다변량 로지스틱 회귀분석을 시행한 결과 뇌척수액의 백혈구 증가증의 유무에 따른 연도별 환아들의 분포가 통계학적으로 유의하게 차이가 있었다(Table 3).

4. 뇌척수액 백혈구 증가증의 나이 군별 분포

엔테로바이러스성 뇌수막염을 진단 받은 환아들 중 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 유무가 나이별로 차이가 있는지에 대해서 조사하였다. A군과 B군으로 나누어 나이별로 비교 분석한 결과, 생후 28일부터 2세까지의 나이군에서 백혈구 증가증이 없는 환아의 비율이 더 높았으나, 그 외의 나이 군에서는 백혈구 증가증을 보인 환아가 더 많았다. 특히 2세 이상의 소아들 중, 뇌척수액에서 백혈구 증가증을 보인 환아의 수가 백혈구 증가증을 보이지 않은 환아의 수보다 2배 이상 높음을 확인하였다(Fig. 1).

고찰

본 연구에서는 만 18세 미만의 엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 환아를 대상으로 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 유무에 따라 연령별 차이점 및 백혈구 증가증에 영향을 주는 인자들에 관한 분석을 시행하였다. 뇌척수액 백혈구 증가증의 기준은대상 환아의 나이

를 고려하여 각각 다르게 적용하였고 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증이 없는 A군과 백혈구 증가증이 있는 B군으로 나누어 비교분석 하였다¹¹⁾. 평균 나이는 A군 43.4개월, B군 66.2개월로 뇌척수액의 백혈구 증가증이 없는 A군의 나이가 더 어렸으며, 증상이 시작되고부터 뇌척수액 검사까지 걸린 시간이 짧았고, 말초 혈액 백혈구 수 및 절대 호중구 수가 적은 경향을 보였다. 두통과 구토 증상은 백혈구 증가증이 있는 환아 군에서 더 많이 호소하였다. 연도별 발생율은 2012년에는

Fig. 1. Age distribution and comparison of number of patients with enteroviral meningitis based on the presence or absence of cerebrospinal fluid (CSF) pleocytosis.

Table 3. Multivariate Regression Analysis of Factors Associated CSF Pleocytosis in Patients with Enteroviral Meningitis

Variables	Non-pleocytosis group (n=73)	Pleocytosis group (n=227)	P-value	Multivariate model aOR (95% CI)
Age (months)	43.4±40.9	66.2±44.2	<0.001	1.014 (1.007-1.021)
Age <2 years old (%)	39.7	14.5	<0.001	3.015 (1.598-5.689)
Headache (%)	84.9	93.5	0.045	1.273 (0.425-3.817)
Vomiting (%)	62.5	82.0	0.002	2.709 (1.376-5.335)
Interval* <24 hours	45.2	22.5	<0.001	2.194 (1.221-3.994)
Peripheral WBC (/mm ³)	9,740±3,555	11,632±3,872	<0.001	1.002 (1.001-1.003)
ANC (/mm ³)	6,702±8,228	3,331±3,819	0.002	1.001 (1.000-1.002)
CRP (mg/dL)	0.84±1.09	0.92±1.12	0.089	1.180 (0.884-1.576)
Occurrence year [†] (%)				
2012 (ref)	6/114 (5.3)	108/114 (94.7)		1.0 [‡]
2013	13/33 (39.4)	20/33 (60.6)		0.083 [‡] (0.028-0.252)
2014	6/26 (23.1)	20/26 (76.9)		0.231 [‡] (0.065-0.818)
2015	14/56 (25.0)	42/56 (75.0)		0.186 [‡] (0.066-0.527)
2016	34/71 (47.9)	37/71 (52.1)		0.066 [‡] (0.025-0.175)

Values are expressed as mean±standard deviation or proportion of patients (%). Only variables which achieved statistical significance in the univariate model were included in the logistic regression analysis.

*Interval from onset of symptoms to spinal tapping.

[†]Number of patients in the year that enteroviral meningitis occurred.

[‡]Adjusted for age, interval <24 hours.

ANC, absolute neutrophil count; aOR, adjusted odd ratio; CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; CSF, cerebrospinal fluid; ref, reference; WBC, white blood cell.

뇌척수액 백혈구 증가증이 있는 환아들의 비율이 월등히 높았으나, 2016년의 경우에는 뇌척수액 백혈구 증가증이 없는 환아들의 비율이 더 높았다.

본 연구에서 뇌척수액의 백혈구 증가증을 보이지 않은 환아는 전체 환아의 약 25%를 차지하였다. 이러한 결과는 뇌수막염을 진단할 때 뇌척수액에서 백혈구 수가 정상이라고 하더라도 바이러스성 뇌수막염을 배제할 수 없음을 보여주고 있다. 최근 엔테로바이러스 검출에 RT-PCR법이 도입되면서 비교적 빠른 시간 안에 엔테로바이러스에 의한 뇌수막염 진단이 가능하게 되었고 엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 환아들 중 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 없는 경우들이 보고 되었다^{1,13}. Yun 등⁵과 Stephanie 등¹⁰은 RT-PCR을 이용하여 엔테로바이러스 뇌수막염으로 진단된 환아들 중 각각 16.3%와 40%에서 뇌척수액 백혈구 증가증을 보이지 않았다고 보고하였다.

본 연구에서는 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증을 보이지 않은 엔테로바이러스 뇌수막염 환아들이 백혈구 증가증이 있는 환아들보다 나이가 어린 경향을 보였다. 이는 1세 미만 영아에서는 뇌척수액 검사에서 엔테로바이러스가 양성으로 나온다고 하더라도 백혈구 증가증이 보이지 않을 가능성이 높으며, 특히 3개월 미만의 어린 영아에서 백혈구 증가증이 보이지 않을 비율이 높다는 이전의 연구 결과들과 일치한다¹⁴⁻¹⁶. Seiden 등¹⁷은 2개월 미만의 엔테로바이러스 뇌수막염 환아들의 33%에서, Mulford 등¹⁸은 30%에서 뇌척수액 백혈구 증가증을 보이지 않았다고 보고하였다. Seiden 등¹⁷은 뇌척수액 검사에서 엔테로바이러스 양성이나 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 보이지 않는 이유는 나이가 어릴수록 면역학적으로 미성숙 하기 때문이라고 하였다. 염증이 일어난 곳에 백혈구를 모으는 chemokine 반응이 나이가 어릴수록 미성숙하기 때문에 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 보이지 않을 가능성이 높다는 것이다¹⁸. 또 다른 연구에서는 어린 나이의 소아일수록 단순 발열로 내원한 경우라 하더라도 뇌척수액 검사까지 걸리는 시간이 짧으며, 뇌척수액 검사율도 높기 때문일 것이라고 주장하였다¹⁹. 증상 발생 후 뇌척수액 검사까지 걸린 시간이 짧을수록 염증반응이 적게 일어날 수 있기 때문이다. 본 연구에서는 뇌척수액 백혈구 증가증에 영향을 주는 인자들 중 환자의 나이와의 연관성을 확인하기 위해 뇌척수액 검사 시기를 보정하여 다변량 회귀분석을 시행하였으며, 뇌척수액에서 백혈구 증가증을 보이지 않은 환아들의 나이가 통계학적으로 의미 있게 어리다는 것을 확인하였다. 즉 나이가 어릴수록 면역학적 반응이 적게 일어날 수 있다.

본 연구에서는 생후 28일 이상 2세 미만 소아들의 경우 뇌척수액 검사 결과, 백혈구 증가증이 없는 환아들이 백혈구 증가증을 보이는 환아들보다 더 많았다. 다만 생후 28일 미만 신생아 총 22명 중 16명(73%)의 뇌척수액에서 백혈구 증가증을 관찰할 수 있었으므로 신생아 엔테로바이러스 뇌수막염에서 백혈구 증가증을 보이는 경우가 적다는 이전의 연구와는 다른 결과를 보였다⁵. 본 연구에서 백혈구 증가증을 보인 신생아 16명 구성원들 중 9명(56%)은 2012년에 엔테로바이러스 뇌수막염에 이환된 환아들이었다. 2012년 엔테로바이러스성 뇌수막염 환아들 중, 뇌척수액 백혈구 증가증을 보인 환아의 비율이 94.7%로 다른 연도에 비해 월등히 높았던 것으로 보아, 당시의 유행했던 바이러스 혈청형과 뇌척수액의 백혈구 증가증과 연관 관계가

있었을 것이라 추측된다. 신생아에서 2012년에 이환된 환아들의 비율이 높아서 뇌척수액 백혈구 증가증이 더 많이 관찰되었을 가능성이 있겠다. 그러나 본 연구에서는 엔테로바이러스 혈청형에 대한 조사가 이루어지지 않았기 때문에 이에 대한 정확한 원인 분석은 시행하지 못하였다. 또 다른 원인으로 엔테로바이러스 뇌수막염 아이들 중 심한 감염이 있는 신생아 환아들이 선택적으로 더 많이 포함되었을 가능성을 들 수 있다. 본 연구는 단일 연구기관의 후향적 데이터 분석이고, 분석한 신생아 환아들의 수가 22명으로 적었기 때문에 정확한 원인 분석에는 한계가 있으며, 여러 기관의 더 많은 환아들을 대상으로 분석할 필요가 있다. 또 다른 가능성은 엔테로바이러스 양성이면서 세균성 감염이 함께 있을 수 있고, 세균성 감염의 초기에는 뇌척수액 배양검사 결과가 음성으로 나올 수 있다는 것이다. 엔테로바이러스 양성인 신생아의 3.1-10%까지 세균성 감염이 함께 있다고 보고한 논문들이 있다^{17,20,21}. 다만 본 연구에서는 뇌척수액 배양 검사 결과 음성인 환아들만을 대상으로 했기 때문에 세균성 감염이 동시에 있었다는 증거는 없다.

본 저자들은 환아들의 말초 혈액 백혈구 수가 뇌척수액의 백혈구 증가증 유무와 관련이 있음을 관찰하였다. 즉 말초 혈액의 백혈구 수가 많은 경우 뇌척수액의 염증 반응이 좀 더 심할 수 있다는 최근의 연구 결과들과 일치한다^{5,10}. 면역 반응이 심할수록 말초혈액 백혈구 수 및 중성구 수가 증가하고, 뇌척수액 백혈구 증가증이 보일 가능성이 높다고 할 수 있겠다.

본 연구에서는 엔테로바이러스 뇌수막염이 발병한 시점부터 검사까지의 기간이 짧을수록 뇌척수액의 백혈구 증가증이 보이지 않을 가능성이 높다는 결과를 얻었다. 백혈구를 뇌척수액까지 모으는 면역학적 반응이 일어나려면 시간이 필요하기 때문이라고 가정해볼 수 있다. 발병부터 검사까지의 시간이 24시간 이내인 환자들 중 생후 3개월 미만 영아들의 비율이 높다는 점을 감안했을 때, 세균성 뇌수막염으로 진단된 신생아나 영아들도 진단 초기에 검사를 시행한 경우, 뇌척수액 백혈구 증가증이 없을 수 있다는 최근의 연구와 비슷한 맥락으로 볼 수 있다^{22,23}.

2012년부터 2016년까지 5개년의 연도별 발생율을 비교한 결과, 연구 대상 300명 환아들 중 2012년과 2016년에 각각 114명, 71명으로 전체 환자의 약 3분의 2의 환아들이 이 시기에 엔테로바이러스성 뇌수막염을 진단받았다. 최근 5개년 중, 2012년과 2016년에 엔테로바이러스 대유행이 있었음을 예측할 수 있다. 2012년을 참조변수로 하여 각 연도별로 연령과 뇌척수액 검사 시기를 보정하여 다변량 회귀분석을 시행한 결과 뇌척수액의 백혈구 증가증 유무로 분류한 환아군의 분포에 차이가 있었다. 각 군별 분포를 살펴보면, 2012년은 뇌척수액의 백혈구 증가증이 없는 환아가 6명(5.3%)으로 적은 반면, 다른 연도에서는 23.1-47.9%의 환아에게서 백혈구 증가증이 관찰되지 않았다. 일반적으로 엔테로바이러스는 해마다 전년과 다른 혈청형이 유행하며, 동일한 혈청형은 3-5년을 주기로 유행하는 양상을 갖는다고 알려져 있다²³. 2006년, 2008년에 각각 echovirus 25형, echovirus 30형에 의한 무균성 뇌수막염이 유행하였으며, 2009년, 2010년에는 수족구병, 포진성 구협염을 주로 나타내는 enterovirus 71이 유행하였다²⁴. 연구에 따라 차이가 있기는 하지만 무균성 수막염은 CB군, CA

군, E군, EV71군에서 많이 나타난다고 보고 된 바 있으며²⁵⁾, 국내 연구에서는 모든 연령군의 환자들을 대상으로 한 다기관 보고에서 2009년부터 2011년까지 EV71이 가장 호발한다고 하였으나²⁶⁾, 비슷한 시기인 2008년부터 2013년까지 3개월 미만의 영아를 대상으로 시행한 국내 단일 기관 연구에서는 CB1이 가장 호발한다고 보고하여 차이를 보였다²⁷⁾. Yang 등²⁸⁾에 따르면, 엔테로바이러스 수막염 환아를 대상으로 단일 기관에서 혈청형을 분석한 결과, 가장 호발하였던 혈청형은 EV71으로, 2010년(63.3%)과 2012년(66.7%)에 특히 호발했다고 보고하였다. 2015년 이후 우리나라 전체의 엔테로바이러스 혈청형에 대한 역학 조사가 보고된 바는 아직 없으며, 본 연구에서는 엔테로바이러스 혈청형에 대한 분석을 하지 못하였으나 2012년에 유행하는 엔테로바이러스가 다른 연도에 비해 좀 더 심한 면역학적 반응을 일으켰을 것이라고 추측해 볼 수 있겠다.

본 연구의 한계점은 단일 기관의 소아들을 대상으로 엔테로바이러스에 대한 분석 및 전자 의무기록을 후향적으로 분석한 점, 엔테로바이러스의 혈청형에 대한 분석이 이루어지지 못한 점을 들 수 있겠다. 또한 뇌수막염이 의심되는 환아일지라도 엔테로바이러스 RT-PCR검사를 시행하지 않은 경우 연구 대상에서 제외되었다는 것과 나이별로 뇌척수액 검사를 하는 기준이 다른 것도 본 연구의 한계점이라 하겠다. 즉, 생후 3개월 미만의 아이들은 발열만 있어도 패혈증 감별을 위해 뇌척수액 검사를 시행하는 반면 만 2세 이상의 아이들은 두통, 구토 등 다른 증상이 동반될 때 뇌수막염을 의심하고 검사를 시행하는 경우가 많다는 것이다. 어린 나이의 아이들에게는 증상 발생 후 24시간 이내에 뇌척수액 검사를 시행하는 경우가 더 많아서 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증이 동반되지 않을 가능성이 높을 수 있다는 것을 고려해야 한다. 다만 본 연구에서는 뇌척수액 검사 시기를 보정하여 다변량 회귀분석을 시행하였고 뇌척수액의 백혈구 증가증이 없는 경우의 환아들이 백혈구 증가증을 보이는 환아들보다 의미 있게 나이가 어렸으며 특히 2세 미만의 아이들에게서 뇌척수액의 백혈구 증가증이 보이지 않을 가능성이 높다는 것을 확인하였다.

결론적으로, 2세 미만의 어린 연령 소아들은 엔테로바이러스 뇌수막염에 이환 되어도 뇌척수액 검사에서 백혈구증가증이 동반되지 않을 가능성이 높았다. 말초 혈액의 백혈구 수가 적거나 증상 발생 후 빠른 시간 내에 뇌척수액 검사가 시행되었을 경우에도 백혈구 증가증이 없을 가능성이 높을 수 있다. 따라서, 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증이 없다 하더라도 뇌수막염을 완전히 배제해서는 안되며, RT-PCR 방법으로 빠르고 정확하게 진단하고 치료를 결정하며 예후를 예측하는 것이 필요하다. 본 연구에서는 엔테로바이러스성 뇌수막염 환아들의 분석에서 연도별로 뇌척수액의 백혈구 증가증이 관찰되는 빈도 및 전체적인 이환율의 차이를 볼 수 있었다. 앞으로 엔테로바이러스 혈청형을 분석한다면 혈청형별 엔테로바이러스 뇌수막염의 임상적인 특징을 예측하는데 도움을 줄 수 있을 것이다.

요약

목적: 본 연구에서는 엔테로바이러스 뇌수막염 환아들을 대상으

로 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 유무에 따라 임상증상, 혈액 검사에서의 차이점 및 뇌척수액 백혈구 증가증에 영향을 미치는 인자들에 대해 알아보고자 하였다.

방법: 2012년 01월부터 2016년 12월까지 부산 백병원에 입원한 만 18세 미만의 엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 300명 환아를 대상으로 후향적 연구를 시행하였다. 대상 환아들의 임상 양상 및 말초 혈액 검사, 뇌척수액 검사 결과를 평가하였으며, 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증 유무에 따라 두 집단으로 나누어 그 특징을 분석하였다.

결과: 엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 300명의 환아들 중, 73명에서 뇌척수액 백혈구 증가증이 관찰되지 않았다. 뇌척수액에서 백혈구 증가증이 관찰되지 않은 환아들은 백혈구 증가증이 동반된 환아들보다 나이가 어렸으며(43.4개월 vs 66.2개월, $P<0.001$), 특히 2세 미만 환아들 중 약 40%에서 뇌척수액 백혈구 증가증이 관찰되지 않았다(39.7% vs 14.5%, $P<0.001$). 뇌척수액의 백혈구 증가증이 보이지 않은 환아에서 두통(84.9% vs 93.5%, $P=0.045$) 및 구토(62.5% vs 82.0%, $P=0.002$)의 동반 비율이 낮았으며, 말초혈액의 백혈구 수가 적었고, 증상 발생 후 24시간 이내 뇌척수액 검사가 시행된 경향을 보였다. 다변량 회귀분석에서 뇌척수액의 백혈구 증가증에 유의하게 영향을 미치는 인자는 환자의 나이, 말초혈액의 백혈구 수, 뇌척수액 검사 시기였다. 연도별 분석에서 2012년과 2016년에 엔테로바이러스 뇌수막염의 발생율이 특히 높았음을 확인하였고, 뇌척수액의 백혈구 증가증 유무로 분류한 환아들의 분포가 연도별로 차이를 제시하였다.

결론: 본 연구에서는 엔테로바이러스성 뇌수막염으로 진단된 환아들의 특징을 분석하였다. 2세 미만의 어린 나이에는 뇌척수액의 백혈구 증가증이 보이지 않는 비율이 다른 나이에 비해 높았으며 말초 혈액의 백혈구 수와 뇌척수액 검사 시기도 뇌척수액의 백혈구 증가증에 영향을 미침을 확인하였다. 뇌수막염이 의심되는 환아를 대상으로 내원 당시 처음 시행한 뇌척수액 검사에서 백혈구 증가증이 보이지 않는다고 해서 뇌수막염을 배제해서는 안되며, RT-PCR과 같은 진단적 도구를 통해 빠르고 정확하게 진단하는 것이 환자의 치료를 결정하고 예후를 예측하는데 있어서 반드시 필요하다.

References

- 1) Kawashima H, Ioi H, Ishii C, Hasegawa Y, Amaha M, Kashiwagi Y, et al. Viral loads of cerebrospinal fluid in infants with enterovirus meningitis. *J Clin Lab Anal* 2008;22:216-9.
- 2) Chadwick DR. Viral meningitis. *Br Med Bull* 2006;75-76:1-14.
- 3) Sáez-Llorens X, McCracken GH Jr. Bacterial meningitis in children. *Lancet* 2003;361:2139-48.
- 4) Park SK, Park B, Ki M, Kim H, Lee K, Jung C, et al. Transmission of seasonal outbreak of childhood enteroviral aseptic meningitis and hand-foot-mouth disease. *J Korean Med Sci* 2010;25:677-83.
- 5) Yun KW, Choi EH, Cheon DS, Lee J, Choi CW, Hwang H, et al. Enteroviral meningitis without pleocytosis in children. *Arch Dis Child* 2012;97:874-8.

- 6) Graham AK, Murdoch DR. Association between cerebrospinal fluid pleocytosis and enteroviral meningitis. *J Clin Microbiol* 2005;43:1491.
- 7) Hosoya M, Ishiko H, Shimada Y, Honzumi K, Suzuki S, Kato K, et al. Diagnosis of group A coxsackieviral infection using polymerase chain reaction. *Arch Dis Child* 2002;87:316-9.
- 8) 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.
- 9) Desai D, Nataraj G, Kulkarni S, Bichile L, Mehta P, Baveja S, et al. Utility of the polymerase chain reaction in the diagnosis of tuberculous meningitis. *Res Microbiol* 2006;157:967-70.
- 10) de Crom SC, van Furth MA, Peeters MF, Rossen JW, Obihara CC. Characteristics of pediatric patients with enterovirus meningitis and no cerebral fluid pleocytosis. *Eur J Pediatr* 2012;171:795-800.
- 11) Bonadio WA, Stanco L, Bruce R, Barry D, Smith D. Reference values of normal cerebrospinal fluid composition in infants ages 0 to 8 weeks. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:589-91.
- 12) Gorchynski J, Oman J, Newton T. Interpretation of traumatic lumbar punctures in the setting of possible subarachnoid hemorrhage: who can be safely discharged? *Cal J Emerg Med* 2007;8:3-7.
- 13) 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.
- 14) Jin D, Heo TH, Byeon JH, Kim GH, Kim MK, Eun SH, et al. Analysis of clinical information and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for early diagnosis of enteroviral meningitis. *Korean J Pediatr* 2015;58:446-50.
- 15) Lee KY, Burgner D, Lee HS, Hong JH, Lee MH, Kang JH, et al. The changing epidemiology of pediatric aseptic meningitis in Daejeon, Korea from 1987 to 2003. *BMC Infect Dis* 2005;5:97.
- 16) Hviid A, Melbye M. The epidemiology of viral meningitis hospitalization in childhood. *Epidemiology* 2007;18:695-701.
- 17) Seiden JA, Zorc JJ, Hodinka RL, Shah SS. Lack of Cerebrospinal fluid pleocytosis in young infants with enterovirus infections of the central nervous system. *Pediatr Emerg Care* 2010;26:77-81.
- 18) Mulford WS, Buller RS, Arens MQ, Storch GA. Correlation of cerebrospinal fluid (CSF) cell counts and elevated CSF protein levels with enterovirus reverse transcription-PCR results in pediatric and adult patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:4199-203.
- 19) Sato M, Hosoya M, Honzumi K, Watanabe M, Ninomiya N, Shigeta S, et al. Cytokine and cellular inflammatory sequence in enteroviral meningitis. *Pediatrics* 2003;112:1103-7.
- 20) Sfera TJ, Pacini DL. Simultaneous recovery of bacterial and viral pathogens from cerebrospinal fluid. *Pediatr Infect Dis J* 1988;7:552-6.
- 21) Kobayashi K, Haruta T, Kubota M, Akiyoshi K, Suga T, Ito M. Clinical spectrum in hospitalized children with echovirus type 13 infection. *Pediatr Int* 2005;47:185-9.
- 22) Garges HP, Moody MA, Cotten CM, Smith PB, Tiffany KF, Lenfestey R, et al. Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters? *Pediatrics* 2006;117:1094-100.
- 23) Greenberg RG, Benjamin DK Jr, Cohen-Wolkowicz M, Clark RH, Cotten CM, Laughon M, et al. Repeat lumbar punctures in infants with meningitis in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol* 2011;31:425-9.
- 24) Park IS, Lee HS, Choi SH, Kim HJ, Hwang SY, Cheon DS, et al. Epidemiology and clinical characteristics of enterovirus infections in children: a single center analysis from 2006 to 2010. *Pediatr Infect Vaccine* 2013;20:81-8.
- 25) Pons-Salort M, Parker EP, Grassly NC. The epidemiology of non-polio enteroviruses: recent advances and outstanding questions. *Curr Opin Infect Dis* 2015;28:479-87.
- 26) Hyeon JY, Hwang S, Kim H, Song J, Ahn J, Kang B, et al. Accuracy of diagnostic methods and surveillance sensitivity for human enterovirus, South Korea, 1999-2011. *Emerg Infect Dis* 2013;19:1268-75.
- 27) Cheon KR, Park SH, Yang JH, Chung JK, Sonn ES, Choi YY, et al. Early infantile meningitis trends in full-term infants: a Korean single-center study, 2008-2013. *J Korean Child Neurol Soc* 2015;23:31-8.
- 28) Yang JH, Song JH, Cheon KR, Chung JK, Song ES. Clinical characteristics of childhood enteroviral meningitis according to age and viral serotype. *J Korean Child Neurol Soc* 2016;24:1-7.