

중이염 환자의 이루에서 분리된 폐구균의 혈청형 분포(2001-2006)

포천중문 의과대학교 소아과학교실, 연세대학교 의과대학 소아과학교실*

이택진 · 전진경* · 김기환* · 김기주* · 김동수*

Serotype Distribution of Pneumococcus Isolated from the Ear Discharge in Children with Otitis Media in 2001-2006

Teak Jin Lee, M.D., Jin-Kyong Chun, M.D.*, Ki Hwan Kim, M.D.*
Khi Joo Kim, M.D.* and Dong Soo Kim, M.D.*

Department of Pediatrics, College of Medicine, Pochon CHA University, Seongnam,
Department of Pediatrics*, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose : Better understanding of the epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* affects preventive and therapeutic strategies for children with otitis media. This study was undertaken to examine the prevalence of pneumococcal serotypes causing otitis media in children.

Methods : Pneumococcal isolates obtained from the ear discharge of children with otitis media between January 2001 and December 2006 were characterized by serotyping and antibiotic susceptibility testing.

Results : There were 54 pneumococcal isolates from 54 children with otitis media. The median age of patients was 13 months, and the proportion of children <5 years old was 81%. The predominant serotypes, in order of decreasing frequency, were 19A (44%), 19F (28%), 6B (7%), 6A (4%), 9V (4%), and 1 (4%); 23 isolates (43%) belonged to types included in the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7). The proportion of serotype 19A and 19F accounted for 72% of overall pneumococcal isolates, which accounted for 84% of pneumococcal isolates from otorrhea of children <5 years old (vs 20% in children ≥5 years old, $P<0.001$). All serotypes isolated from 3 vaccinees of PCV7 were 19A. There was no significant diminution in otitis media caused by pneumococcal vaccine serotypes after the introduction of PCV7. The frequency of nonsusceptibility to penicillin, erythromycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole was higher in serotype 19A than in other non-vaccine serotypes, respectively. The frequency of multiple drug resistance was 96% in serotype 19A, compared with 29% in other non-vaccine serotypes ($P=0.001$).

Conclusion : 19A was the most common pneumococcal serotype causing otitis media and represented a large proportion of strains with multiple drug resistance in children younger than 5 years of age. (*Korean J Pediatr Infect Dis* 2008;15:44-50)

Key Words : *Streptococcus pneumoniae*, Otitis media, Serotype

서 론

생후 3개월까지는 약 10%의 소아가, 생후 1세까지는 약 60%의 소아가, 생후 3세까지는 80% 이상의 소아가 중이염을 한 번 이상 앓게 된다. 미국에서는 매년 약 2

책임저자 : 김동수, 연세대학교 의과대학 소아과학교실
Tel : 02)2228-2050, Fax : 02)393-9118
E-mail : dskim6634@yumc.yonsei.ac.kr

천만 명이 중이염으로 병원을 방문하며, 학령기 이전의 소아들을 대상으로 한 외래진료 중 약 18% 정도는 중이염을 이유로 하게 된다. 또한 반복적인 중이염은 장기적으로 난청과 언어 발달지연을 흔히 야기할 수 있다.

폐구균(*Streptococcus pneumoniae*)은 이러한 급성 중이염의 원인균 중 약 28-55%를 차지하여 세균성 원인 중에서는 가장 흔한 균주로 알려져 있다¹⁾. 폐구균은 중이염뿐만 아니라 5세 미만에서 중증 폐렴의 주요 원인균으로 이로 인한 사망이 전 세계적으로 한 해에만 100만 명 이상이 된다²⁾. 또한 폐구균은 3세 미만의 소아에서 패혈증과 세균성 수막염의 가장 흔한 원인균이다³⁾.

폐구균은 현재 약 90가지 이상의 혈청형이 발견되었으나 이 중 소아에서 주로 침습적 감염과 관련되는 혈청형은 대부분 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F 등이며⁴⁾, 이에 대한 7가 단백결합 백신이 도입되면서 침습적 폐구균 질환의 발생빈도가 크게 감소하였다^{5, 6)}. 폐구균 단백결합 백신은 침습적 감염뿐만 아니라 폐구균에 의한 중이염 및 비인두 집락 감소에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다^{5, 7-9)}. 하지만 침습적 폐구균 질환과 달리 중이염과 관련되는 혈청형에 대한 분석은 최근까지도 국외는 물론 국내에서도 상대적으로 많지 않았다¹⁰⁾. 전 세계적으로 유행하는 혈청형의 분포는 연령과 지리적 위치에 따라 차이를 보일 수 있으며¹⁰⁻¹²⁾, 따라서 국내 소아에서의 폐구균 혈청형의 분포 양상 및 변화를 알아보는 것은 중이염의 예방과 치료 계획을 수립하는 데 있어 매우 중요하다. 폐구균 단백결합 백신의 중이염에 대한 효능은 혈청형별로 차이가 있으며(예를 들면 19F는 약 25%, 6B는 약 84%)⁹⁾, 대부분의 항생제 내성 폐구균은 몇 가지의 혈청형에 국한되기 때문이다¹³⁾. 이에 저자들은 국내 단일기관에서의 경험을 토대로 중이염에서의 폐구균의 혈청형 분포 양상에 대해 알아보았다.

대상 및 방법

1. 대상

2001년 1월부터 2006년 12월까지 세브란스병원에서 중이염으로 진단받은 15세 미만의 소아에서 동반된 이 루의 배양 검사에서 폐구균이 동정된 환아들을 대상으로 이들의 의무기록을 후향적으로 검토하였다. 고막천자술을 시행한 환아는 포함시키지 않았다. 내원 24시간 이내의 갑작스런 발열, 보챔, 이통, 식욕부진 등의 급성 증상이 동반된 경우를 급성 중이염, 이러한 급성 증상 없

이 이루만 보인 경우를 삼출성 중이염, 중이강 삼출액이 3개월 이상 지속된 경우를 만성 중이염으로 구분하였다.

2. 혈청형 분석

분리된 폐구균은 ethylhydrocupreine(optochin) 감수성 검사로 확인하였으며 혈청형을 확인하기 전까지 -70℃에 보관하였다. 혈청형은 항혈청(Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark)을 이용하여 quellung 반응에 의해 확인하였다. 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F 등을 백신혈청형으로 분류하였다.

3. 항생제 감수성 검사

항생제 감수성은 페니실린, erythromycin, tetracycline, levofloxacin 및 trimethoprim-sulfamethoxazole에 대해 Clinical and Laboratory Standards Institute(Wayne, PA, USA)의 기준에 따라 디스크 확산법을 이용하여 판정하였다. 세 가지 이상의 서로 다른 항생제에 대한 비감수성을 보이는 균주를 다제 내성균주로 판단하였다.

4. 통계적 분석

각 군 간의 비교는 카이제곱 검사나 Fisher exact test를 이용하여 95%의 신뢰구간으로 *P*값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 하였다.

결 과

1. 대상 환아의 특성

모두 54명의 환아로부터 54개의 검체를 얻었으며 이들의 연령의 중앙값은 13개월이었고 5세 미만의 환아가 차지하는 비율은 81%였다(Table 1). 전체 남녀비는 1.1:1이었으나 1세 미만의 환아에서는 남녀비가 2.8:1이었다. 급성 중이염 환아가 35명(65%), 삼출성 중이염 환아가 14명(26%), 만성 중이염 환아가 5명(9%)이었다. 이중 급성 중이염 환아의 97%가 5세 미만이었고 5세 이상의 환아의 90%가 삼출성 중이염 또는 만성 중이염이었다. 만성 중이염 환아들 중에는 환기관 삽입 1례, 구개열 1례, 진주중(cholesteatoma) 1례, 발달지연 1례 등이 있었다. 진단 이전에 7가 단백결합 폐구균백신을 접종한 환아는 모두 3명이었고, 이 들 3명의 진단 당시 연령은 각각 생후 10, 12, 22개월로 모두 기초접종 3회

를 마쳤으며 1명은 추가접종까지 시행한 상태였다.

2. 폐구균의 혈청형

54명의 환아에서 얻은 폐구균 54주 모두 혈청형 분석이 가능하였다. 혈청형 빈도는 19A (44%), 19F (28%), 6B (7%), 6A (4%), 9V (4%), 1 (4%) 등의 순이었다 (Table 2). 전체 혈청형 중 19A와 19F가 차지하는 비율이 72%이었으며, 특히 5세 미만의 소아에서는 84%를 차지하여 그 이후의 소아(20%, $P<0.001$)와 유의한 차이를 나타냈다. 19A의 비율도 5세 미만의 소아에서는

52%를 차지하여 그 이후의 소아(10%, $P=0.031$)와 역시 유의한 차이를 나타냈다. 19A와 19F가 차지하는 비율은 급성 중이염 환아에서 86%, 삼출성 중이염이나 만성 중이염 환아에서는 47%로 통계적으로 유의한 차이가 있었다($P=0.004$). 연도별 19A나 19F가 차지하는 비율은 차이가 없었으며, 7가 단백결합 폐구균백신 도입 이전과 이후 시기 사이에도 차이가 없었다(Table 3). 전체 폐구균 중 백신혈청형이 차지하는 비율은 43%이었으며 연령 및 연도별 백신혈청형의 비율에는 차이가 없었다. 진단 이전 7가 단백결합 폐구균백신을 접종한 3명의 환아에서 동정된 혈청형은 모두 19A였다.

Table 1. Demographic Features of Children with Otitis Media Accompanying Otorrhea by Age-group

Characteristic	<1 year (N=23)	1 year (N=16)	2-4 years (N=5)	≥5 years (N=10)	All (N=54)
Males (%)	74	38	40	60	57
Otitis media					
Acute*	21	10	3	1	35
Serious†	2	5	2	5	14
Chronic‡		1		4	5
PCV7 vaccinees	1	2			3

*At least 1 of 4 symptoms, namely, fever within the previous 24 hours, including irritability; otalgia; anorexia.

†Middle-ear effusion (MEE) has been present for ≤3 months.

‡MEE has been present for >3 months.

PCV7 indicates heptavalent pneumococcal conjugate vaccine.

Table 2. Distribution of Serotype of *S. pneumoniae* Isolated from Otorrhea in Children with Otitis Media by Age-group

Serotype	<1 year (N=23)	1 year (N=16)	2-4 years (N=5)	≥5 years (N=10)	All (N=54)
19A	11	9	3	1	24 (44)*
19F	9	3	2	1	15 (28)
6B	1	3			4 (7)
6A	2				2 (4)
9V				2	2 (4)
1				2	2 (4)
23F		1			1 (2)
18C				1	1 (2)
11A				1	1 (2)
9A				1	1 (2)
5				1	1 (2)

*Numbers in parentheses, percent

Table 3. Distribution of Serotype 19A and 19F from Children with Otitis Media Due to *S. pneumoniae* in 2001-2006

Serotype	No. (%) of isolates, by year					
	2001 (N=8)	2002 (N=9)	2003 (N=8)	2004 (N=14)	2005 (N=6)	2006 (N=9)
19A	3 (38)*	4 (44)	4 (50)	5 (36)	4 (67)	4 (44)
19F	2 (25)	2 (22)	1 (13)	6 (43)	1 (17)	3 (33)
6B	1	2		1		
6A			2			
9V		1				1
1	1			1		
23F				1		
18C					1	
11A			1			
9A						1
5	1					

*Numbers in parentheses, percent

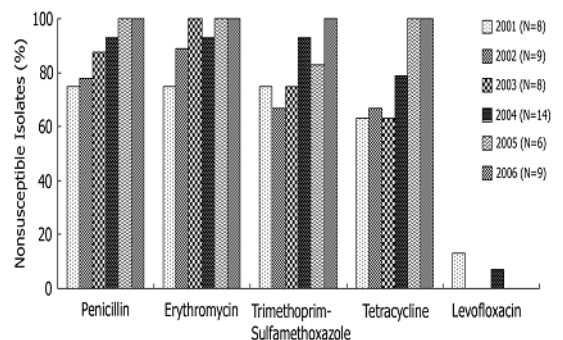


Fig. 1. Changes in the proportion of pneumococcal isolates nonsusceptible to various antibiotics among children with otitis media, 2001 to 2006.

3. 항생제 감수성

여러 항생제들에 대한 비감수성 폐구균의 비율은 각각 페니실린 89%, erythromycin 93%, trimethoprim-sulfamethoxazole 83%, tetracycline 78%, levofloxacin 4%였다(Fig. 1). 연령대 별로 보면 특히 페니실린, erythromycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등의 항생제에 대한 비감수성 폐구균의 비율이 5세 미만의 환아에서 그 이후의 환아보다 더 높았다(Table 4). 혈청형 별 항생제 비감수성 폐구균의 비율에서 19F는 다른 백신혈청형에 비해 trimethoprim-sulfamethoxazole에 비감수성 비율이 더 높았고, 19A는 다른 비백신혈청형에 비해 페니실린, erythromycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등에 비감수성 비율이 더 높았다(Table 5). 다제 내성률은 19F 100%, 19A 96%, 다른 백신혈청형 75%, 다른 비백신혈청형 29%로 19A와 다른 비백신

Table 4. Proportion of Pneumococcal Isolates Non-susceptible to Various Antibiotics from Children with Otitis Media Accompanying Otorrhea by Age-group

Antibiotic	Percentage of isolates non-susceptible to antibiotics		
	<5 years (N=44)	≥5 years (N=10)	P
Penicillin	98	50	<0.001
Erythromycin	98	70	0.017
Trimethoprim-sulfamethoxazole	93	40	0.001
Tetracycline	80	70	NS
Levofloxacin	5	0	NS

NS indicates not significant.

Table 5. Proportion of Pneumococcal Isolates Nonsusceptible to Various Antibiotics from Children with Otitis Media Accompanying Otorrhea by Serotype

Antibiotic	Percentage of isolates non-susceptible to antibiotics			P	Percentage of isolates non-susceptible to antibiotics		
	19F (N=15)	Vaccine types* excluding 19F (N=8)			19A (N=24)	Non-vaccine types excluding 19A (N=7)	P
Penicillin	100	75	NS	100	43	<0.001	
Erythromycin	100	88	NS	100	57	0.008	
Trimethoprim-sulfamethoxazole	100	63	0.032	96	29	<0.001	
Tetracycline	87	75	NS	79	43	NS	
Levofloxacin	7	0	NS	4	0	NS	

*Including 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F and 23F. NS indicates not significant.

혈청형 사이에 유의한 차이를 보였다($P=0.001$).

고찰

중이염은 중이강(middle ear cavity)에 생기는 염증성 질환으로 특히 영유아에서 흔한 질환이다. 임상적으로 크게 급성 중이염과 삼출성 중이염으로 나눌 수 있는데, 급성 염증과 관련된 증상 및 징후는 급성 중이염에서만 관찰된다. 하지만 급성 중이염과 삼출성 중이염은 병인 기전과 병리적 소견 등을 부분적으로 서로 공유하고 있으며 어느 한쪽에서 다른 쪽으로 진행할 수 있으므로 같은 연장선 안에서 고려돼야 한다¹⁴. 중이염의 병인과 발병기전이 아직 확실하진 않지만 귀인두관(eustachian tube)의 기능이상을 초래하는 해부학적 이상, 지역사회획득(community-acquired) 호흡기 병원체와 같은 환경적 요소, 밀집(crowding)이나 탁아소와 같은 상황, 면역이상 등의 여러 가지 요소들에 좌우되는 것으로 보인다^{15, 16}. 귀인두관은 중이강과 비인두를 연결하여 중이의 분비물을 점막섬모의 운반작용에 의해 배출하는 통로 역할을 담당하지만 어떤 상황에서는 비인두에 집락한 병원체가 귀인두관을 따라 중이강으로 이동하여 중이염을 일으키기도 한다¹⁷. 특히 어린 소아에서는 두개안면골의 해부학적 특성으로 인해 완전하지 못한 귀인두관의 기능과 미성숙한 면역력 때문에 중이염이 자주 발생하게 된다^{18, 19}.

폐구균, 인플루엔자균(*Haemophilus influenzae*), *Moraxella catarrhalis* 등이 가장 흔한 세균성 원인균이며, influenza A 나 respiratory syncytial virus 같은 호흡기 바이러스들이 중이염 발생에 중요한 역할을

한다^{20, 21}). 따라서 비강용 인플루엔자 생백신이 중이염 발생을 줄일 수 있다는 보고가 그리 놀라운 것은 아닐 것이다²²). 또한 중이염 발생을 줄이기 위해 백신 개발, 특히 폐구균 백신에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 기존의 다당질 백신이 2세 미만의 소아에서 폐구균 감염을 충분히 예방하지 못했기 때문에²³), 현재 단백결합 백신이 가장 바람직한 대안으로 여겨진다. 7가 단백결합 백신은 백신에 포함되어 있는 혈청형에 의한 중이염을 예방하고 백신혈청형의 비인두 집락을 감소시키는 효과가 보고되었다. 미국 Northern California Kaiser Permanente Group에서 38,000여 명의 소아를 대상으로 한 연구에서는 전체 중이염 발생이 7% 감소하였다고 하였고⁵), 핀란드에서 2,500여 명의 소아를 대상으로 한 무작위 이중맹검 조사에서는 전체 중이염은 6%, 폐구균에 의한 중이염은 34%, 백신혈청형에 의한 중이염은 57% 감소하였다고 보고하였다⁹).

하지만 7가 단백결합 백신의 도입 후 비백신혈청형에 의한 폐구균 감염이 증가하였다는 보고가 점차 증가하고 있는데 중이염의 경우에서도 이러한 혈청형 대체현상(serotype replacement)이 관찰되고 있다^{9, 24}). 특히 기존의 7가 단백결합 백신에 의한 교차방어효과(cross protection)가 매우 제한적이라고 알려진 혈청형 19A의 경우 이러한 대체현상이 두드러지고 있는데 부분적으로는 혈청형 전환현상(serotype switching)에 의한 것으로 추정되고 있다²⁵). 또한 폐구균의 항생제 내성률 중 19A의 내성률이 점차 증가하는 것으로 보고되고 있어 그 문제의 심각성이 매우 커지고 있다²⁶). 이러한 폐구균의 대체현상에 대한 대책으로 PsaA(pneumococcal surface antigen A)²⁷), PspA(pneumococcal surface protein A)²⁸), PppA(pneumococcal protective protein A)²⁹), pneumolysin³⁰) 등을 이용하여 폐구균 백신을 개발하여 혈청형에 대한 의존성을 줄이는 노력이 진행 중이다. 또한 단백결합 폐구균 백신 도입 이후 인플루엔자균과 *M. catarrhalis*에 의한 중이염이 증가하고 있는데^{9, 24}) 이러한 폐구균 백신의 제한적인 효과에 대한 적절한 대책을 강구해야 할 것이다. 발효된 우유를 지속적으로 마신 후 비인두에서 병원체 집락이 감소함을 관찰하였는데³¹), 최근 probiotics을 이용한 새로운 예방법이 제안되고 있다. 항생제 치료 후 상부 호흡기계의 정상 세균총인 α -hemolytic streptococci를 비강 내에 분무하여 병원체의 비인두 재집락을 방해하여 중이염의 발생을 감소시켰다는 보고도 있다³²).

국내 중이염 환아들의 원인 중 폐구균이 차지하는 비

율은 약 13-33% 정도로 인플루엔자균과 더불어 가장 흔한 세균성 원인이다³³⁻³⁵). 최근 5세 미만의 소아에서 폐구균에 의한 침습적 감염과 관련된 혈청형 19A의 증가가 보고되었으나³⁶) 중이염에서의 혈청형 분포 변화에 대한 보고는 아직 없는 상태이다. 국내의 경우 2003년 11월부터 7가 단백결합 백신이 도입되었으나 백신 도입 이전뿐만 아니라 백신 도입 이후에도 폐구균 혈청형 분포나 백신의 접종 실패에 대한 전국적인 역학 조사가 아직 이루어지고 있지 않아 미국 등의 국외 연구 결과에 대부분 의존하고 있다. 하지만 폐구균의 혈청형이나 항생제 내성률 등이 연령대나 지역적인 차이에 따라 다를 수 있으며 단백결합 폐구균 백신의 국내 도입 이후 예상되는 혈청형의 분포 변화를 파악하기 위해서는 국내에서도 전국적인 역학조사가 반드시 필요하다. 이번 연구는 서울의 일개 대학병원에서 후향적으로 조사했기 때문에 지역적인 한계와 더불어 이전 항생제의 투약력이나 중이염의 반복력 등이 고려되지 않는 제한점이 있다. 또한 일부에 의하면 고막천자에 의해 분리된 폐구균과 자연적인 고막파열에 의해 분리된 폐구균의 혈청형 분포가 조금 다르다는 보고¹⁰)가 있어 혈청형 분포에 대한 연구를 더 정확히 수행하기 위해서는 향후 고막천자술을 이용한 전향적인 역학 조사가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

목적: 국내의 소아에서의 폐구균 혈청형의 분포양상 및 변화를 알아보는 것은 중이염의 예방과 치료 계획을 수립하는 데 있어 매우 중요하다. 단일기관에서의 경험을 토대로 중이염에서의 폐구균의 혈청형 분포양상을 알아보고자 하였다.

방법: 2001년 1월부터 2006년 12월까지 세브란스병원에서 중이염으로 진단받은 15세 미만의 소아 중 동반된 이루의 배양검사에서 폐구균이 분리된 경우를 대상으로 혈청형과 항생제 감수성을 알아보았다.

결과: 모두 54명의 환아로부터 54개의 검체를 얻었으며 이 들의 연령의 중앙값은 13개월이었고 5세 미만의 환아가 차지하는 비율은 81%였다. 혈청형 빈도는 19A(44%), 19F(28%), 6B(7%), 6A(4%), 9V(4%), 1(4%) 등의 순이었다. 전체 혈청형 중 19A와 19F가 차지하는 비율이 72%이었으며, 특히 5세 미만의 소아에서는 84%나 차지하여 5세 이상 소아에서의 20%에 비해 높은 비율을 보였다($P<0.001$). 연도별 19A나 19F이 차지

하는 비율은 차이가 없었으며, 7가 단백결합 폐구균백신 도입 이전과 이후 시기 사이에도 차이가 없었다. 전체 폐구균 중 백신혈청형이 차지하는 비율은 43%이었다. 진단 이전 7가 단백결합 폐구균백신을 접종한 3명의 환아에서 동정된 혈청형은 모두 19A였다. 혈청형 별 항생제 비감수성 폐구균의 비율에서 19A는 다른 비백신혈청형에 비해 페니실린, erythromycin, trimethoprim-sulfamethoxazole 등에 비감수성 비율이 더 높았다. 다제 내성률도 다른 비백신혈청형에서 29%인데 반해 19A에서는 96%였다($P=0.001$).

결론 : 5세 미만의 중이염 환아의 이루에서 분리된 폐구균 중 19A가 가장 흔한 혈청형이었고 매우 높은 다제 내성률을 보였다.

References

- 1) Block SL. Causative pathogens, antibiotic resistance and therapeutic considerations in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:449-56.
- 2) World Health Organization. Pneumococcal vaccines. WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec* 1999;74:177-83.
- 3) Overturf GD. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Technical report: prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines and antibiotic prophylaxis. *Pediatrics* 2000;106:367-76.
- 4) Feikin DR, Klugman KP. Historical changes in pneumococcal serogroup distribution: implications for the era of pneumococcal conjugate vaccines. *Clin Infect Dis* 2002;35:547-55.
- 5) Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:187-95.
- 6) Whitney CG, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM, Lynfield R, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med* 2003;348:1737-46.
- 7) Dagan R, Melamed R, Muallem M, Figlansky L, Greenberg D, Abramson O, et al. Reduction of nasopharyngeal carriage of pneumococci during the second year of life by a heptavalent conjugate pneumococcal vaccine. *J Infect Dis* 1996;174:1271-8.
- 8) Ghaffar F, Barton T, Lozano J, Muniz LS, Hicks

- P, Gan V, et al. Effect of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae* in the first 2 years of life. *Clin Infect Dis* 2004;39:930-8.
- 9) Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva E, et al. Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N Engl J Med* 2001;344:403-9.
- 10) Hausdorff WP, Yothers G, Dagan R, Kilpi T, Pelton SI, Cohen R, et al. Multinational study of pneumococcal serotypes causing acute otitis media in children. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:1008-16.
- 11) Mühlemann K, Matter HC, Täuber MG, Bodmer T. Nationwide surveillance of nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with respiratory infection, Switzerland, 1998-1999. *J Infect Dis* 2003;187:589-96.
- 12) Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rümke HC, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet* 2004;363:1871-2.
- 13) Dagan R, Givon-Lavi N, Shkolnik L, Yagupsky P, Fraser D. Acute otitis media caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in southern Israel: implication for immunizing with conjugate vaccines. *J Infect Dis* 2000;181:1322-9.
- 14) Yoon TH, Paparella MM, Schachern PA, Lindgren BR. Morphometric studies of the continuum of otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1990;148:23-7.
- 15) Rovers MM, Schilder AG, Zielhuis GA, Rosenfeld RM. Otitis media. *Lancet* 2004;363:465-73.
- 16) Straetemans M, van Heerbeek N, Tonnaer E, Ingels KJ, Rijkers GT, Zielhuis GA. A comprehensive model for the aetiology of otitis media with effusion. *Med Hypotheses* 2001;57:784-91.
- 17) Tonnaer EL, Sanders EA, Curfs JH. Bacterial otitis media: a new non-invasive rat model. *Vaccine* 2003;21:4539-44.
- 18) Kemaloglu YK, Göksu N, Ozbilen S, Akyildiz N. Otitis media with effusion and craniofacial analysis-II: "Mastoid-middle ear-eustachian tube system" in children with secretory otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1995;32:69-76.
- 19) Jero J, Karma P. Bacteriological findings and persistence of middle ear effusion in otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol Suppl* 1997;529:22-6.
- 20) Ruuskanen O, Arola M, Putto-Laurila A, Mertsola J, Meurman O, Viljanen MK, et al. Acute otitis media and respiratory virus infections. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:94-9.
- 21) Heikkinen T, Thint M, Chonmaitree T. Prevalence of various respiratory viruses in the middle ear during acute otitis media. *N Engl J Med* 1999;340:260-4.

- 22) Belshe RB. Current status of live attenuated influenza virus vaccine in the US. *Virus Res* 2004; 103:177-85.
- 23) O'Brien KL, Steinhoff MC, Edwards K, Keyserling H, Thoms ML, Madore D. Immunologic priming of young children by pneumococcal glycoprotein conjugate, but not polysaccharide, vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:425-30.
- 24) Kilpi T, Ahman H, Jokinen J, Lankinen KS, Palmu A, Savolainen H, et al. Protective efficacy of a second pneumococcal conjugate vaccine against pneumococcal acute otitis media in infants and children: randomized, controlled trial of a 7-valent pneumococcal polysaccharide-meningococcal outer membrane protein complex conjugate vaccine in 1666 children. *Clin Infect Dis* 2003;37:1155-64.
- 25) McEllistrem MC, Adams JM, Patel K, Mendelsohn AB, Kaplan SL, Bradley JS, et al. Acute otitis media due to penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* before and after the introduction of the pneumococcal conjugate vaccine. *Clin Infect Dis* 2005;40:1738-44.
- 26) Pichichero ME, Casey JR. Emergence of a multi-resistant serotype 19A pneumococcal strain not included in the 7-valent conjugate vaccine as an otopathogen in children. *JAMA* 2007;298:1772-8.
- 27) Arêas AP, Oliveira ML, Miyaji EN, Leite LC, Aires KA, Dias WO, et al. Expression and characterization of cholera toxin B-pneumococcal surface adhesin A fusion protein in *Escherichia coli*: ability of CTB-PsaA to induce humoral immune response in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;321:192-6.
- 28) Briles DE. Protection of the elderly from pneumococcal pneumonia with a protein-based vaccine? *Mech Ageing Dev* 2004;125:129-31.
- 29) Green BA, Zhang Y, Masi AW, Barniak V, Wetherell M, Smith RP, et al. PppA, a surface-exposed protein of *Streptococcus pneumoniae*, elicits cross-reactive antibodies that reduce colonization in a murine intranasal immunization and challenge model. *Infect Immun* 2005;73:981-9.
- 30) Ogunniyi AD, Folland RL, Briles DE, Hollingshead SK, Paton JC. Immunization of mice with combinations of pneumococcal virulence proteins elicits enhanced protection against challenge with *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 2000;68:3028-33.
- 31) Glück U, Gebbers JO. Ingested probiotics reduce nasal colonization with pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, and beta-hemolytic streptococci). *Am J Clin Nutr* 2003;77:517-20.
- 32) Roos K, Håkansson EG, Holm S. Effect of recolonisation with "interfering" alpha streptococci on recurrences of acute and secretory otitis media in children: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2001;322:210-2.
- 33) Park CW, Han JH, Jeong JH, Cho SH, Kang MJ, Tae K, et al. Detection rates of bacteria in chronic otitis media with effusion in children. *J Korean Med Sci* 2004;19:735-8.
- 34) 정도석, 김현상, 박철원, 오성희. 소아에서 이루어 동반한 중이염의 원인 및 항균제 감수성. *소아감염* 2000;7: 233-9.
- 35) 박홍준, 박기현, 김병철, 유영준, 박승구. 만성 삼출성 중이염 저류액과 아데노이드 조직에서 중합효소연쇄반응(PCR)을 이용하여 검출된 세균의 비교. *대한이비인후과학회지* 2000;43:913-7.
- 36) 김소희, 송은경, 이준호, 김남희, 이진아, 최은화 등. 15년간(1991-2005년) 우리나라 소아에서 분리된 폐구균의 혈청형 분포의 변화. *소아감염* 2006;13:89-98.