



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학 석사학위 논문

삼출성 중이염 저류액과
아데노이드 조직에서
중합효소연쇄반응(PCR)을
이용한 세균의 검출

아주대학교대학원

의학과

김병철

삼출성 중이염 지류액과
아데노이드조직에서
중합효소연쇄반응(PCR)을
이용한 세균의 검출

지도교수 박 홍 준

이 논문을 의학과 석사학위 논문으로
제출함.

1999년 12월

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

김 병 철

김병철의 의학 석사학위 논문을
인준함.

심사위원장 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

아주대학교대학원

1999년 12월 일

- 감사의 글 -

본 논문이 완성되기까지 여러 가지 어려운 가운데에도 수차례의 반복된 실험을 통하여 이 논문을 무사히 끝마칠 수 있게 물심 양면 도와주시고, 또 의학자로서의 자세와 태도를 깨우쳐 주신 박 홍준 교수님, 박 기현 교수님께 깊은 감사를 드리며, 분자생물학교실의 김 완기 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

그리고 제가 석사학위를 받을 수 있도록 용기와 힘을 북돋아 주시고 저에게 당신들의 모든 정성을 쏟아 주신, 이 세상에서 제가 가장 존경하는 저의 부모님에게도 진정으로 감사드리며, 항상 제 뒤에서 묵묵히 절 뒷받침해주고 보살펴준 사랑하는 아내 박 소영님과 이 세상에서 그 무엇보다도 바꿀 수 없는 사랑하는 딸 수빈이에게 이 논문을 바칩니다.

1999년 12월

저자 씀

삼출성 중이염 저류액과 아데노이드 조직에서 중합효소연쇄반응(PCR)을
이용한 세균의 검출

삼출성 중이염은 소아에서 가장 흔히 관찰되는 질환의 하나로 세균의 감염, 알레르기, 해부학적 요인등이 중요한 원인이다. 흔히 발견되는 세균으로는 *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* 등이 있으며 이중 *H. influenzae*의 발견율(15-20%)이 가장 높다고 하지만 실제로 수술시에 채취한 중이 저류액을 균 배양하였을때 많은 경우 균의 배양을 관찰할 수 없게 된다. 저자들은 삼출성 중이염 환자의 중이 저류액과 아데노이드 조직에서 중합효소연쇄반응을 이용하여 *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*를 검출하여 기존의 배양에 의한 결과와 비교하고, 또한 아데노이드 조직에서 균 검출과 중이저류액에서의 균 검출의 상관관계 유무를 분석하고자 하였다.

본 연구에서는 8주 이상의 약물치료에도 반응이 없으며 고막의 함몰등의 변화가 관찰되는 환아를 대상으로 하였으며 환기튜브 유치술 및 아데노이드 제거술 시 채취한 저류액과 조직을 균질화하고 lysis용액을 이용하여 DNA를 추출한 뒤 중합효소연쇄반응을 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

전체적으로 중이 저류액과 아데노이드에서의 박테리아 검출률은 63.5%, 46.2% 이었다. 중이 저류액에서 *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*의 균검출률은 30.8%, 15.4%, 13.5%이며 아데노이드 조직에서는 36.5%, 15.4%, 13.5%였다. 각 개개인 별로의 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 모두 검출된 *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* 검출률은 13.5%, 7.7%, 3.5%였다.

결론적으로 중합효소연쇄반응을 이용한 균 검출법은 기존의 배양방법보다 효과적인 균 검출 방법임을 알 수 있었으며 각 개개인 별로의 아데노이드 조직에서 균 존재 유무와 중이 저류액에서의 균 검출 관계의 유의성은 관찰할 수 없었다.

핵심되는 말 : 삼출성 중이염, 아데노이드, 중합효소연쇄반응, 박테리아 검출률,
병인

차 례

논문인준서.....	i
감사의 글.....	ii
국문요약.....	iii
차례	iv
그림 차례.....	v
표 차례	vi
I. 서론	1
II. 대상 및 방법	3
III. 결과	5
IV. 고찰	11
V. 결론	14
참고문헌	15
영문요약	17

그림 차례

- 그림 1. 중합효소연쇄반응을 이용한 *Haemophilus influenzae*균
의 검출..... 6
- 그림 2. 중합효소연쇄반응을 이용한 *Streptococcus pneumoniae*
균의 검출..... 6
- 그림 3. 중합효소연쇄반응을 이용한 *Moraxella catarrhalis*균
의 검출..... 7

표 차례

표 1. 세균검출을 위한 중합효소연쇄반응의 primer	8
표 2. 삼출성 중이염 환자의 성별,연령별 분포	8
표 3. 중이저류액과 아데노이드 조직에서 <i>Haemophilus influenzae</i> 균의 검출	9
표 4. 중이저류액과 아데노이드 조직에서 <i>Streptococcus pneumoniae</i> 균의 검출	9
표 5. 중이저류액과 아데노이드 조직에서 <i>Moraxella catarrhalis</i> 균의 검출	10

I. 서 론

삼출성 중이염이란 소아의 귀 질환중 가장 흔하며 중이강내의 저류액과 난청을 동반하는 질환으로 항생제의 사용으로 합병증은 감소하였으나 최근들어 발생빈도가 증가하는 경향을 보이고 있다.

이러한 삼출성 중이염의 병인으로는 구취관 장애, 세균에 의한 감염, 알레르기 및 면역학적 요인 및 아데노이드 증식증, 비인두 감염, 부비동염 등 여러 원인이 있으나 아직 명확하게 밝혀진 것은 없다.²⁾ *Senturia* 등³⁾이 상당수의 중이 삼출액에서 세균이 검출됨을 보고한 후, 세균에 의한 감염이 중요 병인으로 여겨지고 있으며, 발견된 세균 중에서 *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*)가 가장 흔한 원인균으로 알려져 왔다. 기존의 병원체 검출방법은 주로 세균배양 검사 방법을 이용하였으며 *H. influenzae*균이 8~20%로 가장 흔하고 그 다음으로 *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*가 각각 4~10%, 2~8%로 보고되었다.⁴⁾ 최근에는 기존의 배양방법보다 민감성 및 특이성이 매우 높은 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction)을 이용하여 기존의 검출률보다 높은 세균의 검출률이 보고되고 있다.⁵⁾

기존의 알려진 병인중 아데노이드의 증식증은 박테리아의 저장장소로 중이강내로 감염을 전파시키는 감염원으로써의 역할과 더불어 기계적 혹은 기능적인 이관폐쇄부전을 일으켜서 삼출성 중이염을 일으킨다는 설명이 제시되어 왔다.⁶⁾

이러한 가설을 뒷받침 하기 위하여 여러 문헌에서 아데노이드와 삼출성 중이염내의 중이 저류액에서 박테리아를 검출하여 서로의 상관 관계를 밝혀 보고자 하였으며 저자들에 따라서 서로의 연관성이 있다고 주장한 저자들과 그에 반해 연관성이 없다고 주장한 저자들도 있었다.^{7,8)} 하지만 기존의 보고된 삼출성 중이염이 있는 환자에서 아데노이드와 중이 저류액 내의 세균을 검출하여 상관관계를 분석한 것은 집단별로의 검출률을 비교한 것이지 각 환자 개개인별로 검출하여 상관관계를 비교분석한 것은 아니었다.

이에 본 저자들은 민감성 및 특이성이 높은 중합효소 연쇄반응을 이용하여 전체적인 박테리아 검출률을 기존의 검출률과 비교하여 보고, 각 삼출성 중이염

환자 개개인별로 상관성이 있는지 아데노이드와 중이 저류액 내에서의 세균을
검출하여 비교 분석하고 상관관계를 밝혀 보고자 하였다.

II. 대상 및 방법

1. 대 상

1998년 5월부터 1999년 2월까지 아주대학교병원 이비인후과에서 삼출성 중이염과 아데노이드 증식증으로 통기관 삽관술 및 아데노이드 절제술을 시행하였던 환자 52 명을 대상으로 하였으며 진단은 자각증상, 고막소견, 임피던스 청력검사를 통하여 시행하였다.

2. 방 법

수술은 8주이상 항생제 사용 후에도 증상의 호전이 관찰되지 않을 경우 시행하였고 Eppendorf 1.5 μ l 튜브를 이용하여 모은 중이저류액 및 아데노이드 조직은 수술 직후 영하 70도에서 사용하기 전까지 보관하였다.

중이저류액과 아데노이드 조직으로부터의 세균DNA 분리는 다음과 같은 방법을 사용하였다. 먼저 각 검체들을 lysis cocktail (10mM Tris-HCL; 5mM EDTA; 0.5% SDS; 0.2mg/ml proteinase K)에 넣고 균질화 시킨후 하룻밤동안 섭씨37도에서 배양시킨다. 그 후 각 검체를 넣은 튜브에 300 μ l의 phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1)를 넣고 흔들고 12,000 rpm으로 15분간 원심분리를 시행하였다.

원심분리후 각 튜브의 위쪽 용액을 추출후 새 용기에 담고 600 μ l 100% ethanol과 3M sodium acetate 30 μ l를 넣은 후 침전을 시킨다. 섭씨 4도에서 12,000rpm으로 20 분간 원심분리하여 DNA를 침전시키고 80% cold ethanol로 세척한 후 건조하여 20 μ l dH₂O로 DNA를 녹인다.

중합효소연쇄반응(PCR)을 위하여 다음과 같은 primer를 사용하였다. *H. influenzae*의 검출을 위해 P6 단백질의 염기서열을 이용하였으며, *S. pneumoniae*는 PBP 2P의 염기서열, *M. catarrhalis*는 M46 clone 염기서열을 사용하였다.⁵⁾ (표 1)

중합효소연쇄반응의 조건은 DNA thermal cycler (MJ Research, INC, U.S.A)를 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 변성(denaturation), 50 $^{\circ}$ C에서 결합(annealing), 72 $^{\circ}$ C에서 중합(polymerization)의 3단계를 40주기 시행하였다.

양성대조군의 박테리아 (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M .catarrhalis*)는 아주대학교병원 임상병리과에서 제공받아 사용하였다.

중합효소 연쇄반응의 산물은 각각 5 μ l를 2.0% agarose gel에서 120 volt, 20분간 전기영동 시행하였고 0.5% Ethium bromide 염색후 결과를 관찰하였다. 통계 방법은 Chi-square 검증법을 이용하였다.

III. 결 과

연령분포는 3세에서 8세로 평균 5.6세였고, 남,녀 비율은 1:1.6 이었다.(표 2) 전체적으로 중이 저류액과 아데노이드에서의 박테리아 검출률은 삼출성 중이염에서는 33/52 (63.5%)이었고 아데노이드 조직에서는 24/52 (46.2%)이었다. 이 중 *H. influenzae*의 경우 전체 삼출성 중이염내의 중이 저류액 중 16/52 (30.8%), 아데노이드 조직에서는 19/52 (36.5%)에서 각각 검출되었다. *S. pneumoniae*는 전체 삼출성 중이염내의 중이 저류액 중 10/52 (19.2%)였고 아데노이드 조직에서는 8/52 (15.4%)에서 검출되었으며였으며 *M. catarrhalis*도 전체 중이 저류액 중 검출된 경우는 6/52 (11.5%)였고 아데노이드 조직에서는 7/52 (13.5%)이었다.

각 환자 개개인별로의 아데노이드와 중이 저류액에서 박테리아의 검출률을 보면 *H. influenzae*는 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 다 검출된 례는 7례, 아데노이드 혹은 중이 저류액 한쪽에서만 검출된 례는 21례, 양쪽 모두 검출되지 않았던 례는 24례로 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 다 검출된 검출률은 13.5%이었으며, 각 개개인 별로 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 *H. influenzae*의 검출은 통계학적인 상관성이 없었다.($p > 0.05$)(그림 1,표 3)

*S. pneumoniae*경우는 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 다 검출된 례는 4례, 아데노이드 혹은 중이 저류액 한쪽에서만 검출된 례는 10례, 양쪽 다 검출되지 않았던 례는 38례로 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 다 검출된 검출률은 7.7%이었으며, 각 개개인별 아데노이드와 중이 저류액에서 *S. pneumoniae*의 검출상관관계는 통계학적인 방법으로 유의성이 없었다. ($p > 0.05$)(그림 2. 표 4)

마지막으로 *M. catarrhalis*는 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 다 검출된 례는 2례, 아데노이드 혹은 중이 저류액 한쪽에서만 검출된 례는 9례, 양쪽 다 검출되지 않았던 례는 41례로 아데노이드와 중이 저류액 양쪽에서 모두 검출된 검출률은 3.8%이었으며, 아데노이드와 중이 저류액에서 *M. catarrhalis*의 검출상관관계를 관찰할 수 없었다. ($p > 0.05$)(그림 3, 표 5)

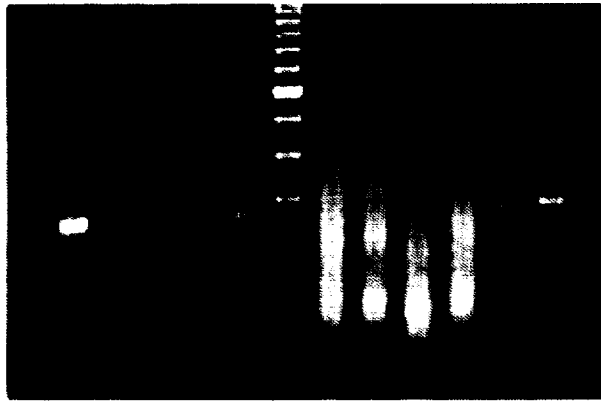


그림 1. 중합효소연쇄반응을 이용한 *H. influenzae*균의 검출
Fig. 1. Detection of *H. influenzae* by PCR



그림 2. 중합효소연쇄반응을 이용한 *S. pneumoniae*균의 검출
Fig. 2. Detection of *S. pneumoniae* by PCR



그림 3. 중합효소연쇄반응을 이용한 *M. catarrhalis*균의 검출

Fig. 3. Detection of *M. catarrhalis* by PCR

표 1. 세균검출을 위한 중합효소연쇄반응의 primer.

Table 1. Primers and probes used for the specific detection of bacterial pathogens.

<i>Haemophilus influenzae</i> from the P6 gene	
5' primer :	ACT TTT GGC GGT TAC TCT AT
3' primer :	TGT GCC TAA TTT ACC AGC AT
<i>Streptococcus pneumoniae</i> from the PBP2P gene	
5' primer :	GAT CCT CTA AAT GAT TCT CAG GTG G
3' primer :	ACT ATA GAA GAA AGG GAA GTT TCC A
<i>Moraxella catarrhalis</i> from the M46 clone.	
5' primer :	TTG GCT TGT GCT AAA ATA TC
3' primer :	GTC ATC GCT ATC ATT CAC CT

표 2. 삼출성 중이염 환자의 성별, 연령별 분포.

Table 2. Age and sex distribution of patients at diagnosis

Age \ Sex	Male	Female	Total
	3	4	4
4	4	8	12
5	11	10	21
6	3	2	5
7	2	2	4
8	0	2	2
Total	24	28	52

표 3. 중이저류액과 아데노이드 조직에서 *H. influenzae*균의 검출.

Table 3. Detection of *H. influenzae* in OME and adenoids.

<i>H. influenzae</i>	Effusions		Total
	+	-	
Adenoids	+	7	19
	-	9	33
Total		16	52

($p > 0.05$)

+ : Number of detected samples.

- : Number of not detected samples.

표 4. 중이저류액과 아데노이드 조직에서 *S. pneumoniae*균의 검출

Table 4. Detection of *S. pneumoniae* in OME and adenoids.

<i>S. pneumoniae</i>	Effusions		Total
	+	-	
Adenoids	+	4	8
	-	6	44
Total		10	52

($p > 0.05$)

+ : Number of detected samples.

- : Number of not detected samples.

표 5. 중이저류액과 아데노이드 조직에서 *M. catarrhalis*균의 검출

Table 5. Detection of with *M. catarrhalis* in OME and adenoids.

<i>M. catarrhalis</i>	Effusions		Total
	+	-	
Adenoids	+	2	7
	-	41	45
Total	6	46	52

($p > 0.05$)

+ : Number of detected samples.

- : Number of not detected samples.

IV. 고찰

삼출성 중이염 (otitis media with effusion)은 고막의 천공없이 중이강내에 장액성 또는 점액성의 저류액이 지속되는 질환으로 소아 난청및 언어 장애에 가장 흔한 원인으로 간주되고 있고 진단은 자각증상, 고막소견,순음청력검사 및 임피던스 검사등으로 비교적 용이하게 내릴 수 있으나 정확한 진단은 고막천자로 중이강내의 저류액을 확인하는 방법이라고 할 수 있다.

삼출성 중이염의 원인에 대하여는 명확히 밝혀져 있지 않아 아직 여러 학자들 간의 논란의 대상이 되고 있지만, 다음과 같이 크게 3가지로 요약할 수 있다.

첫째는 이관의 폐쇄나 기능부진으로 인한다는 것으로, Silverstein⁹⁾등은 삼출성 중이염환자 전부에게서 이관기능의 이상을 관찰하였으며 Sade¹⁰⁾는 아데노이드가 비대되어 이관의 폐쇄를 일으키면 비인강의 생리적인 압력변화를 감소시켜 이관을 통한 중이의 배액기능이 장애를 일으켜 삼출성 중이염이 발생한다고 했다.

Bluestone¹¹⁾은 비인두의 종양이나 아데노이드비대 염증등으로 인한 이관의 기계적폐쇄나 혹은 구개근육의 기능부진이나 구개열등으로 인한 이관의 기능적 폐쇄가 있을 때 이관이 부분적으로 폐쇄되어 중이확장 부진증이나 세균성 삼출성 중이염이 초래되고 폐쇄가 심하면 무균성 삼출성 중이염이 초래되며 이관이 비정상적으로 개발된 상태에서는 비인두에서 균이 중이강내로 흡입되어 세균성 중이염을 일으킨다고 설명하고 있다.

둘째는 감염설인데 1963년 Friedman은 동물실험에서 중이강내 감염을 일으켜 2주내에 중이강내의 분비세포인 선조직과 배상세포(Goblet cell)의 많은 증가를 관찰하였으며, 그 이외에도 여러 학자들이 중이강내 점막층의 염증반응을 보고 하였다.²⁾¹²⁾

셋째는 중이강내 저류액에서 Eosinophil을 발견하였다고 보고하면서 알레르기를 원인 인자로 주장하였으나¹²⁾ 한편에서는 부정적으로 받아들여 지고 있다.¹³⁾

이처럼 많은 연구조사에도 불구하고 그 정확한 원인은 논란의 대상이 되고 있지만 삼출성 중이염 내에서 아데노이드의 역할은 여러 가지 면에서 중요시 되어 왔으며 크게 3가지로, 첫째는 이관 기계적 폐쇄로 인한 것이며 둘째는 아데노이드에서 균이 중이강내로 이관을 통해 상행감염을 일으키는 것이며 셋째는 병원체의 저장기(reservoir)로 설명되어 지고 있다.¹⁴⁾¹⁵⁾

기존의 보고에 의하면 삼출성 중이염에서 검출된 주된 원인균은 *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* 이고 배지에서 균을 배양되는 방법으로 검출된 빈도는 각각 8~20%, 4~10%와 2~8%이며⁵⁾ 아데노이드에서는 *H. influenzae* 가 30~64%정도 보고되고 있다.⁹⁾

그러나, 검체에서 균을 채취한 후 배지에서 배양하는 방법으론 중이 저류액내에 약 60~80%가 음성으로 나왔고 이러한 배양 방법이 박테리아 또는 바이러스를 검출하는데 정확한 진단적 방법인지에 대해서는 여러 저자들에 의해 그 부적절성이 제기되어 왔다.⁶⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ 삼출성 중이염에 있어서 중이내 저류액의 세균 배양 음성 빈도가 높은 이유는 고막 절개 및 통기관 삽입술 전에 다양한 항생제의 사용으로 병원균의 증식이 현저히 감소하며⁶⁾, 만성인 경우 병원균 자체가 성장이나 증식이 느려져 결국 세균 배양에 실패하게 되는데 이는 세균 증식 과정을 막는 항생제에 대한 반응이 감소될 뿐만 아니라, 중이내 저류액 속에 있는 분비성 면역글로불린과 항균효소인 라이소자임(lysozyme)이 병원균 및 바이러스들의 증식을 억제시키기 때문이라고 보고되고 있다.¹⁸⁾

이에 비하여 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction technique)을 이용한 균의 검출은 매우 민감도가 높은 방법으로¹⁹⁾ 세균 배양 음성으로 나온 삼출성 중이염에서 2/3이상 중합효소 연쇄반응으로 세균의 검출이 보고된 바 있다.⁵⁾ 이러한 중합효소 연쇄반응으로 검출된 박테리아가 활동성(metabolically activity)이 있는지에 대한 것은 활동중인 박테리아가 자신의 복제 또는 합성을 위해 필수적인 GAPDH 효소의 mRNA를 역전사효소-중합효소 연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction)을 이용해 확인함으로써 중합효소 연쇄반응으로 검출된 박테리아가 활동성도 나타내고 있음이 증명되었다.²⁰⁾ 이것은 배양만으로 균이 검출되지 않았던 삼출성 중이염 내에서도 활동성이 있는 균들이 존재할 수 있다는 것을 나타내고 있다.

중합효소 연쇄반응을 이용한 *H. influenzae*의 검출율은 삼출성 중이염에서 약 50%, 아데노이드 조직에서 약 80%까지 검출되었다는 보고가 있었으며⁶⁾²⁰⁾ 국내 문헌에 의하면 중이 저류액에서 *H. influenzae*가 61%, *S. pneumoniae*가 13% 검출된 것으로 보고되었다.¹⁾

본 저자들의 연구결과에 의하면 삼출성 중이염 환자의 중이 저류액 내에서 *H.*

*influenzae*는 30.8%, *S. pneumoniae*는 19.2%, *M. catarrhalis*는 11.5% 이었으며 아데노이드 조직에서는 *H. influenzae*가 36.5%, *S. pneumoniae*는 15.4%, *M. catarrhalis*는 13.5% 로 검출되었고, 총괄적인 중이 저류액가 아데노이드에서의 박테리아 검출률은 삼출성 중이염에서는 63.5%이었고 아데노이드 조직에서는 46.2%이었다. 이 결과는 기존의 보고보다 다소 검출률이 떨어지지만 크게 다를 바가 없었다. 기존의 결과 및 본 연구의 결과에서 전체적으로 아데노이드와 중이 저류액에서 균의 검출률로 보았을 때는 삼출성 중이염 환자에서 아데노이드의 박테리아와 중이 저류액에서의 박테리아가 서로 상관관계가 있는 것처럼 여겨지나, 이것은 어디까지나 전체 대 전체의 비교로 분석한 상관관계이지 각 환자 개개인 별로 아데노이드와 중이 저류액내의 박테리아가 상관관계가 있는지에 대한 분석은 아니었다.

따라서 본 저자들은 각 환자 개개인 별로 박테리아를 검출함으로써 삼출성 중이염 환자에서 아데노이드의 박테리아와 중이 저류액에서의 박테리아가 서로 상관관계가 정말로 있는지에 대한 검증을 시행해 보고자 민감성 및 특이성이 높은 중합효소 연쇄반응을 이용하여 알아보고자 하였고 위의 결과를 통해서 각 개개인별의 삼출성 중이염 환자에서 아데노이드의 박테리아와 중이 저류액에서의 박테리아가 서로 연관이 있는지에 대한 통계학적인 분석을 한 결과 서로 유의성이 없음을 알 수 있었다.

이것은 기존의 삼출성 중이염의 요인중에서 아데노이드가 균의 저장소(reservoir)로써 이곳의 균들이 이관을 통해서 중이내로 역류하여 삼출성 중이염을 일으킨다는 것에 대해 제고가 필요하며 아데노이드의 기계적 폐쇄작용 및 이관기능장애에 대한 연구가 필요하리라 생각되었다.

V.결 론

중합효소 연쇄반응은 삼출성 중이염 환자의 중이 저류액과 아데노이드에서 세균을 검출하는 데 효과적인 방법임을 확인하였다. 저자들은 세균의 전체적인 검출률은 기존의 보고와 유사하였으며 각 삼출성 중이염 환자 개개인별로 아데노이드의 박테리아와 중이 저류액 내에서의 박테리아를 검출하여 비교 분석한 결과 상관관계가 통계학적으로 유의성이 없음을 알 수 있었다.

참고문헌

- 1) 최영철, 박용수, 여상원, 채세용, 정대건, 김성원: 소아의 삼출성 중이염에서 중합효소연쇄반응(PCR)을 이용한 *Haemophilus Influenzae*와 *Streptococcus Pnuemoniae*의 검출. 한이인지 41(7):846-850, 1998
- 2) Tos M, Bak PK: The pathogenesis of chronic secretory otitis media. Arch Otolaryngol 95:511-521, 1972
- 3) Senturia BH, Gessert CF, Carr CD, Baumann ES : Studies concerned with tubotympanitis. Ann Oto Rhinol Laryngol 67:440-467, 1958
- 4) Bluestone CD and others : Frequency of bacteria isolated from middle ear effusion of children from the United States, Finland, Japan, and Denmark. Ann Otol Rhinol Laryngol 42(suppl 149):99, 1990
- 5) Post JC, Prestone RA, Aul JJ, et al: Molecular analysis of bacterial pathogens in otitis media with effusion. JAMA 273:1598-1604, 1995
- 6) Bluestone CD: Recent advances in the pathogenesis diagnosis and management of otitis media. The pediatric Clinic of North Amer 18:727-755, 1981
- 7) Pillsbury HC, Kveton JF, Sasaki CT, et al : Quantitative bacteriology in adenoid tissue, Otolaryngol Head Neck Surg 89:355-363, 1985
- 8) Forsgren J, Samuelson A, Lindberg A, Rynnel DB: Quantitative bacterial culture from adenoid lymphatic tissue with special reference to *Haemophilus influenzae* age-associated changes. Acta otolaryngol 113: 668-672, 1993
- 9) Silverstein H, Miller G, Jr and Lindeman RC: Eustachian tube dysfunction as a cause for chronic secretory otitis in children. Laryngoscope 76: 259-273, 1966
- 10) Sade J: Pathology and pathogenesis of serous otitis media. Arch otolaryngol 76:259-273, 1966
- 11) Bluestone CD: Recent advances in the pathogenesis diagnosis and management of otitis media. The pediatric clinic of North Amer 28:

727-755, 1981

- 12) Draper WL: Secretary otitis media in children : A study of 540 children. *Laryngoscope* 77:636-653, 1967
- 13) Lim DJ, et al: Otitis media with effusion : Cytological and micrological correlates. *Arch Otolaryngol* 105:404-412, 1979
- 14) Meyer W: Adenoid vegetation in the nasopharyngeal cavity: their pathology, diagnosis and treatment. *Med. Surg.Trans* 53:191-215, 1970
- 15) George AG, Christine AA, Thomas JP, San AT: Effect of adenoidectomy upon children with chronic otitis media with effusion. *Laryngoscope* 98: 58-63, 1988
- 16) Jero J, Virolainen A, Salo P, Leionen M, Eskola J, Karama P: PCR assay for detecting *Streptococcus pneumoniae* in the middle ear of children with otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 89(suppl 68): 3-4, 1980
- 17) Post JC, Aul J, White GJ, et al: PCR-based detection of bacterial DNA after antimicrobial treatment is indicative of persistent, viable bacteria in the chinchilla model of otitis media. *Am J Otolaryngol* 17:106-111, 1996
- 18) Liu YS, Lim DJ, Lang RW, Brick HG: Chronic middle ear effusions : Immunochemical and bacteriological investigations. *Arch Otolaryngol* 101: 278-286, 1975
- 19) Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, et al: Primer-directed enzymatic amplication of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 29: 487-491, 1988
- 20) Rayner M, Zhang Y, Gorry MC, Post JC, et al: Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion. *JAMA* 279:296-300, 1998
- 21) Sakamoto N, Kurono Y, Ueyama T, et al: Detection of *Haemophilus influenzae* in adenoids and nasopharyngeal secretions by polymerase chain reaction. *Acta otolaryngol* 523:145-146, 1996

= Abstract =

**Bacterial detection in middle ear fluid and adenoid tissue in
otitis media effusion with effusion by PCR**

Byung-Chul Kim

Department of Medicine

The Graduate School, Ajou University

(Directed by Professor Hong-Joon Park)

Otitis media with effusion(OME) is one of the most common disease in children. The pathogenesis still remains unclear, although it is closely related to bacterial infection. The most common bacteria associated with OME include *H. influenzae*, *S. pneumoniae* and *M. catarrhalis*. These bacteria have consistently been reported to show colony growth on agar. Recently, analysis by polymerase chain reaction(PCR) has been reported to be much more sensitive than previous methods of culturing for bacterial detection. We investigate the possible relationship between bacterial infection in adenoid tissue and middle ear effusion.

Total of 52 middle ear effusions and adenoids were collected from pediatric patients during ventilation tube insertion and adenoidectomy. All patients had failed multiple course of antimicrobial therapy.

PCR was applied to detect bacteria(*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*) in the middle ear effusions and adenoids.

Bacterial detection rates of *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* in effusions were 30.8%, 19.2%, 11.5% and in adenoids were 36.5%, 15.4%,

13.5%. Overall detection rates of bacteria in effusion were 69.5% and in adenoids were 52.1%. *H. influenzae*, *S. pneumoniae* and *M. catarrhalis* are detected in both adenoid and effusion in 13.5%, 7.7% and 3.5%, respectively.

It is hard to find any significant relationship between adenoid and middle ear fluid in each OME children in aspect of pathogenic organisms.

KEY WORDS : Otitis media with effusion, Adenoids, Polymerase chain reaction, Bacterial detection, Pathogenesis