

Otite Média Aguda com Perfuração Espontânea da Membrana Timpanica

*Paola Marchisio, Chiara Rosazza, Miriam Fattizzo,
Susanna Esposito e Nicola Principi*

Introdução

A otite média aguda (OMA) é uma doença comum em lactentes e crianças de baixa idade. Nos primeiros três anos de vida quase todas as crianças sofrem pelo menos um episódio desta doença e, aproximadamente, 50% experimentam episódios recorrentes¹. A OMA é principalmente uma doença bacteriana causada pelo *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* não tipavel (NT), *Moraxella catarrhalis* e *Streptococcus pyogenes*². Na maioria dos casos, mesmo o mais grave, a membrana timpânica, apesar de ficar abaulada e muito hiperemiada, permanece intacta. Entretanto, em um número não negligenciável de crianças ocorre uma perfuração espontânea da membrana timpânica (PEMT). A perfuração é geralmente pequena e fica localizada tipicamente no quadrante antero-inferior e limitada à *pars tensa* do tímpano. A PEMT provoca a saída do líquido da orelha média para o conduto auditivo externo. O acúmulo de uma grande quantidade de pus na cavidade da orelha média durante a primeira fase da doença é considerada a causa da PEMT. Este pus exerce uma pressão sobre os vasos sanguíneos da membrana timpânica, causando isquemia e necrose do tímpano e levando à perfuração³. Como na maioria dos casos, a PEMT cicatriza espontaneamente dentro de poucos dias sem nenhum problema clínico posterior, ela é considerada uma complicação pequena.

Em algumas diretrizes recentes para o diagnóstico e abordagem da OMA, a PEMT é considerada um sinal de gravidade, indicando prescrição sistemática de antibiótico para prevenir problemas clínicos posteriores.⁴⁻⁶ Por outro lado, PEMT acompanhando a OMA poderia ser considerada uma complicação benigna porque a drenagem do pus da orelha média, resulta em uma melhora acentuada e rápida nos sintomas e permite ao clínico prescrever antibióticos de forma individualizada. Por esta razão, muitos especialistas em ouvido, nariz e garganta (ONG), por razões diagnósticas em crianças com uma membrana timpânica íntegra e em risco de desenvolver OMA devido a patógenos incomuns ou com reduzida sensibilidade aos antimicrobianos⁷, sugerem uma perfuração artificial por meio da timpanocentese. Contudo OMA com PEMT poderia ser uma doença com algumas características específicas, diferenciando-a da OMA não complicada. Alguns estudos sugerem que a OMA com PEMT é sobretudo associada com patógenos específicos, apesar de que estes estudos não são conclusivos⁸⁻¹¹. Além disso sua prevenção em crianças com episódios recorrentes de OMA é significativamente mais difícil do que aquela nos casos de OMA não complicados¹²⁻¹³. O conhecimento da

etiologia, patogênese e resultados da OMA com PEMT pode ser de utilidade para entender a relevância da PEMT e planificar adequadamente medidas terapêuticas e preventivas para crianças, especialmente para aquelas com OMA recorrente.

Incidência de perfuração espontânea infecciosa da membrana timpânica

Embora a associação de PEMT com OMA tenha sido um problema clínico conhecido há séculos, sua incidência nunca foi claramente quantificada. Dados derivados de estudos epidemiológicos realizados para avaliar a incidência, aspectos clínicos e resultados da OMA são conflitantes nesse aspecto. Estudos mais antigos relatam que o PEMT ocorre em 0% a aproximadamente 30% das OMA diagnosticadas em crianças menores¹⁴⁻¹⁷. Uma avaliação mais recente realizada em vários países europeus documentou uma incidência global de PEMT de aproximadamente 7%¹⁸. No entanto, houve diferenças significantes entre os países, variando de 2,1% dos episódios na Itália e 2,2% no Reino Unido até 4,8% na Espanha, 6,8% na Alemanha e 17,2% na Suécia.

Vários fatores como idade das crianças estudadas, critérios utilizados para o diagnóstico de OMA, uso de antibióticos, práticas de registro e características genéticas das crianças cadastradas podem influenciar significativamente a incidência relatada de OMA com PEMT (**Tabela 1**).

Tabela 1. Fatores associados à alta incidência de otite média aguda (OMA) com perfuração espontânea da membrana timpânica (PEMT).

Fator
Idade <2 anos
Crítérios rigorosos utilizados para o diagnóstico de OMA
Não uso de antimicrobianos para o manejo da OMA
Ser uma criança propensa a otite
Polimorfismos genéticos específicos

Pukander¹⁶ e Ingvarsson¹⁷ constataram que a PEMT era mais comum em crianças com menos de dois anos de idade do que em crianças mais velhas, com a incidência diminuindo gradualmente de 50% para 15% naqueles com mais de oito anos. Além disso, os valores maiores de incidência foram nos estudos com os critérios mais rigorosos para o diagnóstico de OMA¹⁵. Quando foram recrutadas crianças com pequenas modificações da membrana timpânica levando a um diagnóstico incerto, a incidência de PEMT foi significativamente menor¹⁶. Além disso, o uso precoce e irrestrito de antimicrobianos para o tratamento da OMA reduz significativamente as complicações da OMA, incluindo a incidência de PEMT.¹⁹ A superestimativa da frequência da PEMT pode ocorrer quando os estudos epidemiológicos incluem principalmente crianças propensas à otite com história de PEMT anteriores ou pacientes que sofrem de uma doença subjacente que pode favorecer o desenvolvimento de OMA. Da mesma forma, a superestimativa é comum quando os estudos são baseados principalmente no relato dos

pais. Neste caso, a otorreia devido à otite externa pode ser considerada, pelos pais, patognomônica da OMA com PEMT. Por outro lado, a subestimativa é possível quando a OMA com PEMT sem otorreia significativa não é adequadamente diagnosticada. Finalmente, as características genéticas dos pacientes podem desempenhar um papel nesse sentido. Em um estudo avaliando associações potenciais entre variantes em genes que codificam fatores de imunidade inata ou adaptativa e a ocorrência de OMA recorrente com ou sem PEMT, o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) interleucina (IL) -10 rs1800896TC e o IL-1 α rs6746923A e AG SNPs foram significativamente mais e menos comuns, respectivamente, entre as crianças sem história de PEMT do que entre aquelas que sofreram com essa complicação²⁰. No entanto, tem sido demonstrado que as crianças que sofrem de um único episódio de OMA com PEMT são mais propensas do que as crianças com OMA sem complicações, a experimentar recorrências. Além disso, elas são mais propensas a desenvolver novos episódios com PEMT. Berger estudou 271 pacientes até 13 anos com OMA, dos quais 80 (29,5%) apresentavam PEMT³. Nos três meses após o primeiro episódio, 20 (25%) daqueles com PEMT experimentaram um novo episódio de OMA em comparação com 24 (12,5%) daqueles sem PEMT ocorreu em 17/20 (85%) das crianças com perfuração anterior e em 5/24 (20,8%) daquelas com membrana timpânica intacta anterior. Achados semelhantes foram relatados por Van Cauwenberge *et al*²¹. Esses autores verificaram que quanto maior o número de recorrências da OMA, maior a probabilidade de ocorrência do PEMT. Houve apenas um único episódio de OMA acompanhada por PEMT em 15% das crianças estudadas. A frequência de PEMT aumentou para 29% durante o segundo e terceiro episódios de OMA e para 40% em crianças com 3 ou mais recidivas.

Etiologia da otite média aguda com perfuração espontânea da membrana timpânica

Os mesmos quatro patógenos que são considerados os agentes etiológicos da OMA sem complicações podem ser encontrados no conduto auditivo externo de pacientes com PEMT. No entanto, permanece a questão se a PEMT ocorre porque alguns patógenos auditivos são mais agressivos que outros, ou porque a PEMT é uma complicação, independente do patógeno que causa a OMA (**Tabela 2**).

Tabela 2. Agentes etiológicos relacionados com risco aumentado de otite média aguda com perfuração espontânea da membrana timpânica

Agente etiológico
Infecção decorrente de cepas invasivas do <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Infecções devidas ao <i>Streptococcus pyogenes</i>
Coinfecções com patógenos, incluindo <i>Haemophilus influenzae</i> não tipável e <i>Moraxella catarrhalis</i>
Produção de biofilmes devido a <i>Haemophilus influenzae</i> não tipável

As evidências parecem particularmente significativas para *S. pyogenes* e *S. pneumoniae*, embora a avaliação dos resultados finais de alguns estudos seja complicada por vários fatores. O primeiro é o uso difundido das vacinas conjugadas pneumocócicas (PCV) que, após inclusão no calendário de vacinação de lactentes e crianças jovens na maioria dos países, causaram mudanças mundiais na circulação de *S. pneumoniae* e a frequência com que todos os patógenos da OMA causam essa doença. Ben-Shimol *et al.* realizaram um estudo prospectivo de base populacional no sul de Israel, no qual todos os episódios de OMA submetidos à cultura de líquido ou fluido da orelha média (*middle ear fluid* - MEF) em crianças <3 anos, de 2004 a 2015, foram incluídos²². A incidência de casos de OMA devido a *S. pneumoniae*, *H. influenzae* não tipável (NT), *M. catarrhalis* e *S. pyogenes* e aqueles que eram cultura negativa foi calculada no período anterior à introdução de PCV e que ocorreu após a introdução da heptavalente. A vacina PCV (PCV-7) e a vacina treze valente (PC-V13) estavam disponíveis. Os episódios de OMA pneumocócica e não pneumocócica, incluindo aqueles em que mais de um patógeno foi cultivado, diminuíram substancialmente após a introdução sequencial de PCV-7 / PCV-13. A redução de episódios não pneumocócicos foi atribuída por esses autores à prevenção precoce de episódios de OMA, resultando em menor taxa de OMA complexa, muitas vezes não pneumocócica²². O segundo fator é o número reduzido de estudos em quais as etiologias de OMA sem complicações e complicadas foram avaliadas simultaneamente. A timpanocentese não é rotineiramente recomendada por razões éticas⁶, e os estudos mais recentes sobre a etiologia da OMA incluíram apenas casos com PEMT^{23,24}. Esta prática impede qualquer possibilidade de comparar os dois tipos de OMA.

Streptococcus pyogenes

Os dados disponíveis sobre *S. pyogenes* indicam que este patógeno é mais comum em OMA complicada por PEMT do que em casos não complicados. Segal *et al.* estudaram 11.311 episódios de OMA, incluindo os casos não complicados (grande maioria) e complicados, e encontraram que o *S. pyogenes* pôde ser identificado no MEF em apenas 3,1% dos casos, em comparação com 47,9%, 43,2% e 4,1% dos *H. influenzae* NT, *S. pneumoniae* e *M. catarrhalis*, respectivamente²⁵. No entanto, as características clínicas da OMA de *S. pyogenes* foram significativamente diferentes e geralmente mais graves do que as da OMA causada por outros patógenos, sugerindo que *S. pyogenes* possa causar danos mais rápidos e significativos à membrana timpânica. Os episódios de OMA associados ao *S. pyogenes* ocorreram principalmente com PEMT e foram acompanhados por febre alta e outros achados sistêmicos, como infecções respiratórias altas e baixas. Resultados semelhantes foram relatados por Leibovitz *et al.* em um estudo no qual 5.247 pacientes com OMA e cultura positiva foram recrutados¹⁰. Nas 822 crianças com PEMT, o *S. pyogenes* foi encontrado em uma proporção significativamente maior do que naqueles sem (47/822, 5,7%, vs 44/4425, 1%, $p < 0,01$). A confirmação adicional do papel de *S. pyogenes* na produção de PEMT é dada pelos dados coletados por Grevers *et al.*⁸ com um estudo realizado na Alemanha (*S. pyogenes* em 5/17 de amostras de otorreia) e por Marchisio *et al.*⁹ com uma avaliação retrospectiva realizada na Itália.

Streptococcus pneumoniae

A importância real do *S. pneumoniae* como causa direta de PEMT é difícil de ser determinada. No entanto, Palmu *et al.*, em estudo realizado antes da introdução das PCV, relataram que os episódios iniciais de OMA com PEMT eram devidos principalmente a esse patógeno¹¹. As culturas bacterianas das amostras de perfurações preexistentes, revelaram uma proporção maior de pneumococos (35%) e proporções menores de *M. catarrhalis* (3%) e culturas mistas (3%) do que as outras culturas de secreções da orelha média. No entanto, perfurações pré-existentes que sugerem doenças recorrentes²⁶ foram mais propensas a conter *H. influenzae* NT (30%) e patógenos mistos (18%) e foram menos propensas às culturas negativas (16%). Esses achados indicam que os primeiros episódios de OMA com PEMT são devidos principalmente a esse patógeno, e outras bactérias, isoladas ou em associação, ocorrem apenas posteriormente com o PEMT, em associação com episódios recorrentes. Por outro lado, vários estudos mostraram que o *S. pneumoniae* é uma causa extremamente comum de OMA inicial^{11,27,28} e muitos casos são particularmente graves porque estão associados a um aumento significativo de marcadores inflamatórios e febre alta, otalgia intensa e raramente, bacteremia²⁹⁻³². As primeiras OMA pneumocócicas graves são causadas pelos sorotipos mais agressivos, a maioria dos quais foram incluídos nas PCV. Os danos nas mucosas que eles causam podem favorecer infecções por bactérias com menor patogenicidade, como os sorotipos pneumocócicos menos invasivos e o *H. influenzae* NT.³³ Infecção mista devido aos sorotipos pneumocócicos mais comumente transportados por indivíduos saudáveis em associação com *H. influenzae* NT isolado ou em combinação com outros patógenos foram significativamente mais comuns em crianças mais velhas com OMA bilateral, episódios recorrentes e timpanocenteses prévias. Por outro lado, os casos devidos a infecções por *S. pneumoniae* foram associados a sorotipos com maior patogenicidade. O tipo de dano causado pelos sorotipos pneumocócicos invasivos e se a PEMT pode ocorrer como consequência desta lesão são problemas que atualmente ainda não foram resolvidos.

Haemophilus influenzae* não tipável e *Moraxella catarrhalis

Dados que sugerem uma relação direta entre a infecção da orelha média com patógenos diferentes do *S. pyogenes* e *S. pneumoniae* e o desenvolvimento de OMA com PEMT não existem. No entanto, há evidências de dominância de *H. influenzae* NT na otorreia de crianças indígenas australianas com OMA com PEMT³⁴. Achados semelhantes foram relatados por Grevers *et al.*⁸, que encontraram que o *H. influenzae* NT foi o agente etiológico mais comum no grupo de pacientes com STMP e no grupo de crianças que foram submetidas à timpanocentese (18% e 13% das amostras, respectivamente). Geralmente, as OMA não pneumocócicas desenvolvem-se em crianças mais velhas do que as causadas por *S. pneumoniae* ou, se forem diagnosticadas durante a infância, ocorrem após uma primeira OMA pneumocócica grave. Os principais patógenos associados a esses episódios de OMA são *H. influenzae* NT isolados ou uma mistura de patógenos da orelha. No entanto, co-infecções entre esses patógenos e *M. catarrhalis* ou *S. pyogenes* também podem ser detectadas, particularmente quando métodos moleculares de identificação bacteriana são utilizados^{24,35}.

O estudo italiano

No nosso estudo mais recente, tivemos como objetivo avaliar o papel etiológico dos patógenos bacterianos mais comuns com otite média aguda (OMA) em crianças com OMA e perfuração espontânea da membrana timpânica (PEMT). Entre 01 de Maio de 2015 e 30 de Abril de 2016, 177 crianças de 6 meses a 7 anos de idade com OMA complicada por PEMT, dentro de 12 horas após a perfuração, foram inscritas prospectivamente. O fluido da orelha média (MEF) foi testado pela reação em cadeia da polimerase em tempo real para *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* não tipável, *Streptococcus pyogenes*, *Moraxella catarrhalis* e *Staphylococcus aureus*. Entre as 177 crianças com OMA e PEMT, 92/100 (92,0%) daquelas com OMA recorrente e 13/77 (16,9%) sem OMA recorrente apresentaram PEMT recorrente ($p < 0,001$). Um único patógeno foi identificado em 70 (39,5%) amostras de MEF, enquanto 2, 3 e 4 bactérias foram detectadas em 54 (30,5%), 20 (11,3%) e 7 (4,0%) casos, respectivamente. O *H. influenzae* não tipável (NT) foi o mais comum e foi identificado em 90 crianças (50,8%), seguido por *M. catarrhalis* (62 casos, 35,0%) e *S. pneumoniae* (48 casos, 27,1%). O *H. influenzae* não tipável foi o patógeno mais frequente em crianças com co-infecções. As crianças com co-infecções, incluindo *H. influenzae* não tipável, tiveram OMA recorrente significativamente com maior frequência (*odds ratio* ajustada 6,609, intervalo de confiança de 95% 1,243-39,096, $p = 0,03$). Os episódios recorrentes de OMA parecem estar associados a um aumento do risco de OMA com PEMT. Na OMA com PEMT, a etiologia parece diferente daquela comumente encontrada em OMA não complicada, com *H. influenzae* não tipável detectado em alta frequência, especialmente em crianças com PEMT recorrente, e frequentemente em associação com outros patógenos.

Biofilme

O principal fator do papel desempenhado pelo *H. influenzae* NT e outros patógenos na determinação de OMA recorrente e falhas de tratamento parece ser sua capacidade de formar um biofilme na orelha média. Todos os patógenos da orelha são capazes de formar biofilme, embora os dados para o fenótipo formador de biofilme de *H. influenzae* NT sejam mais extensos, enquanto os do *S. pneumoniae* e da *M. catarrhalis* estejam evoluindo. Isolados clínicos de *H. influenzae* NT são capazes de formar um biofilme bem desenvolvido na orelha média de um hospedeiro de chinchila em até 5 dias após a inoculação direta da cavidade da orelha média³⁶. Os biofilmes são detectáveis na orelha média de crianças com OMA recorrente e persistem mesmo após o tratamento durante a remissão clínica³⁶. Juntamente com a barreira física fornecida pela matriz, todas as modificações funcionais explicam por que as bactérias do biofilme apresentam resistência aumentada aos mecanismos humorais e celulares da imunidade do hospedeiro e aos antibióticos³⁶. Além disso, essas alterações favorecem a persistência de bactérias no local da infecção, mesmo após o tratamento, resultando em recidivas e, possivelmente, em doenças crônicas. Não se sabe se a sinergia entre patógenos específicos pode levar à PEMT. Mais evidências são necessárias para explicar por que, apesar de numerosas recidivas, muitas crianças nunca experimentam PEMT, enquanto outras com características semelhantes desenvolvem PEMT, em associação com vários novos episódios de OMA.

Conclusão

Os episódios recorrentes de OMA parecem estar associados a um aumento do risco de OMA com PEMT. Na OMA com PEMT, a etiologia parece diferente daquela comumente encontrada em OMA não complicada, com o *H. influenzae* não tipável (NT) sendo detectado em alta frequência, especialmente em crianças com PEMT recorrente e frequentemente em associação com outros patógenos.

Referências bibliográficas

1. Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiologia da otite média durante os primeiros sete anos de vida em crianças na Grande Boston: um estudo de coorte prospectivo. *J Infect Dis* 1989; 160: 83-94.
2. Ngo CC, Massa HM, RB Thornton, Cripps AW. Bactérias predominantes detectadas a partir do fluido do ouvido médio de crianças com otite média: uma revisão sistemática. *PLoS One* 2016; 11: e0150949.
3. Berger G. Natureza da perfuração espontânea da membrana timpânica na otite média aguda em crianças. *J Laryngol Otol* 1989; 103: 1150-3.
4. Marchisio P, L Bellussi, Di Mauro G, et al. Otite média aguda: do diagnóstico à prevenção. Resumo da diretriz italiana. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010; 74: 1209-16.
5. Kitamura K, Iino Y, Kamide Y, et al. Diretrizes de prática clínica para o diagnóstico e manejo da otite média aguda (OMA) em crianças no Japão - atualização de 2013. *Auris Nasus Larynx* 2015; 42: 99-106.
6. Lieberthal AS, Carroll EA, Chonmaitree T, et al. O diagnóstico e tratamento de otite média aguda. *Pediatrics* 2013; 131: e964-99.
7. Shaikh N, Hoberman A, Kearney DH, Yellon R. Vídeos em medicina clínica. Timpanocentese em crianças com otite média aguda. *N Engl J Med* 2011; 364: e4.
8. Grevers G, Wiedemann S, Bohn JC, et al. Identificação e caracterização da etiologia bacteriana da otite média aguda clinicamente problemática após timpanocentese ou otorreia espontânea em crianças alemãs. *BMC Infect Dis* 2012; 12: 312.
9. Marchisio P, Bianchini S, Baggi E, et al. Avaliação retrospectiva da microbiologia da otite média aguda complicada por otorreia espontânea em crianças residentes em Milão, Itália. *Infeção* 2013; 41: 629-35.
10. Leibovitz E, Se rebro M, Givon-Lavi N, et al. Características epidemiológicas e microbiológicas da otorreia espontânea com cultura positiva em crianças com otite média aguda. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 381-384.
11. Palmu AA, Herva E, Savolainen H, Carma P, Mäkelä PH, Kilpi TM. Associação de sinais e sintomas clínicos com achados bacterianos na otite média aguda. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 234-42.
12. Marchisio P, Consonni D, Baggi E, et al. A suplementação de vitamina D reduz o risco de otite média aguda em crianças propensas a otite. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32: 1055-60.
13. Marchisio P, E. Esposito, Bianchini S, E Dusi, Fusi M, E. Nazzari Eficácia da inativável vacina contra influenza trivalente injetivada virossomal injetável na prevenção de otite média aguda em crianças com otite recorrente aguda complicada ou não complicada. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 855-9.
14. Mygind N, Meistrup-Larsen KI, Thomsen J, Thomsen VF, Josefson K, Sorensen H. Penicilina na otite média aguda: um estudo duplo-cego controlado por placebo. *Clin Otolaryngol* 1981; 6: 5-13.

15. Burke P, Bain J, Robinson D, Dunleavy J. Ouvido vermelho agudo em crianças: ensaio controlado de tratamento não-antibiótico em clínica geral. *Br Med J* 1991; 303: 558-62.
16. Pukander J. Características clínicas de otite média aguda em crianças. *Acta Otolaryngo.* 1983; 95: 117-122.
17. Ingvarsson L otalgia aguda em crianças - achados e diagnóstico. *Acta Paediatr Scand* 1982; 71: 705-10.
18. Liese JG, Silfverdal SA, Giaquinto C, et al. Incidência e apresentação clínica de otite média aguda em crianças com idade ≤ 6 anos em práticas médicas europeias. *Epidemiol Infect* 2014; 142: 1778-88.
19. Venekamp RP, Sanders SL, Glasziou PP, Del Mar, CB, Rovers MM. Antibióticos para otite média aguda em crianças. *Banco de Dados Cochrane Syst Rev* 2015; 6: CD000219.
20. Esposito S, Marchisio P, Orenti A, et al. Polimorfismos genéticos de genes candidatos funcionais e otite média aguda recorrente com ou sem perfuração da membrana timpânica. *Medicina (Baltimore)* 2015; 94: e1860.
21. Van Cauwenberge PB, Declercq G, Kluyskens PM. A relação entre otite média aguda e secretora. In: Sade J (Ed.) *Otite média aguda e secretora*. Kugler, Amsterdam, 1986: 77-82.
22. Ben-Shimol S, N-Givon-Lavi, Leibovitz E, Raiz S, Greenberg D, Dagan R. Impacto da introdução generalizada de vacinas conjugadas pneumocócicas em otite média pneumocócica e não pneumocócica. *Clin Infect Dis* 2016; Epub 25 de maio. Pii: ciw347.
23. Ding Y, Geng Q, Tao Y e outros. Etiologia e epidemiologia de crianças com otite média aguda e otorreia espontânea em Suzhou, China. *Pediatr Infect Dis J* 2015; 34: e102-6.
24. Yatsyshina S, Mayanskiy N, Shipulina O, et al. Detecção de patógenos respiratórios em otite média aguda pediátrica por PCR e comparação dos achados na orelha média e nasofaringe. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016; 85: 125-30.
25. Segal N, N-Givon-Lavi, Leibovitz E, Yagupsky P, Leiberman A, Dagan R. otite média aguda causada por *Streptococcus pyogenes* em crianças. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 35-41.
26. Dagan R, Pelton S, R. Bakaletz, Cohen R. Prevenção de episódios precoces de otite média por vacinas pneumocócicas pode reduzir a progressão para doença complexa. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 480-92.
27. Barkai Kilpi T, Herva E, Kaijalainen T, Syrjinen R, Takala AK. Bacteriologia da otite média aguda em uma coorte de crianças finlandesas acompanhadas pelos dois primeiros anos de vida. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 654-62.
28. Barkai G, Leibovitz E, N Givon-Lavi, Dagan R. Potencial contribuição por *Haemophilus influenzae* não tipável em otite média aguda prolongada e recorrente. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 466-71.
29. Rodriguez WJ, Schwartz RH. O *Streptococcus pneumoniae* causa otite média com maior febre e mais vermelhidão das membranas timpânicas do que *Haemophilus influenzae* ou *Moraxella catarrhalis*. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 942-4.
30. Polachek A, Greenberg D, Lavi-Givon N, et ai. Relação entre contagem de leucócitos periféricos, agentes etiológicos e manifestações clínicas na otite média aguda. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 406-13.
31. Heikkinen T, Ghaffar F, Okorodudu AO, Chonmaitree, T. Interleucina-6 sérica em otite média aguda bacteriana e não bacteriana. *Pediatrics* 1998; 102: 296-9.
32. Jaye DL, Waites KB. Aplicações clínicas da proteína C-reativa em pediatria. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 735-46.
33. Dagan R, Leibovitz E, Greenberg D, L de Bakaletz, Givon-Lavi N. otite média por *Haemophilus influenzae* não pneumocócica mista é uma entidade clínica distinta com características epidemiológicas únicas e distribuição do sorotipo pneumocócico. *J Infect Dis* 2013; 208: 1152-60.

34. Smith-Vaughan HC, Binks MJ, Marsh RL, et al. Dominância de *Haemophilus influenzae* na secreção auricular de crianças indígenas australianas com otite média aguda com perfuração da membrana timpânica. *BMC Ear Nose Throat Disord* 2013; 13: 12.
35. Barkai G, Leibovitz E, Givon-Lavi N, Dagan R. Potencial contribuição de *Haemophilus influenzae* não tipável em otites medianas prolongadas e recorrentes uma. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 466-71.
36. Bakaletz LO. Biofilmes bacterianos na via aérea superior - evidências de papel na patologia e implicações no tratamento da otite média. *Paediatr Respir Rev* 2012;