

Artículo original

Bacteriología y sensibilidad antibiótica en otitis media aguda

Dres. Rubén D. Commisso*, Roque G. Romero Díaz*, Fernando M. Romero Moroni*, Fernando M. Romero Orellano*, Diana M. Centeno* y José M. Escalera (h)*

RESUMEN

Introducción. La otitis media aguda es uno de los diagnósticos más frecuentes en niños menores de dos años.

Objetivos. Los objetivos de este estudio fueron conocer los microorganismos más frecuentes causantes de otitis media aguda y su sensibilidad antibiótica; y valorar la prevalencia de los agentes patógenos según la edad de los pacientes.

Población, material y métodos. El trabajo se llevó a cabo mediante el análisis de 249 muestras de oído medio obtenidas por timpanocentesis en 174 niños que asistieron al Servicio de Otorrinolaringología Infantil de la Clínica Universitaria Reina Fabiola con diagnóstico de otitis media aguda en el período comprendido entre los años 2001-2004. El grupo de pacientes incluyó ambos sexos (91 varones; 83 mujeres) entre las edades de 18 días y 24 meses con un promedio de edad de 9 meses. Además, se dividieron en dos grupos: niños menores de 6 meses y niños mayores de 6 meses.

Los perfiles de sensibilidad antibiótica de los agentes etiológicos más frecuentes se estudiaron de acuerdo con los principios establecidos por el Comité Nacional para Estandarizaciones de Laboratorios Clínicos (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Resultados. El *Streptococcus pneumoniae* y el *Haemophilus influenzae* surgieron como los agentes predominantes. Estos resultados fueron similares a los encontrados en previas publicaciones. El *Haemophilus influenzae* predominó en los niños menores de 6 meses y el *Streptococcus pneumoniae* en los mayores de esa edad. Con respecto a la sensibilidad a la penicilina, el *Streptococcus pneumoniae* presentó un 77,6% de sensibilidad y el *Haemophilus influenzae*, un 85,5%.

Conclusión. El *Streptococcus pneumoniae* fue el germen más frecuente en los niños mayores de 6 meses y el *Haemophilus influenzae* en los menores de esa edad.

Palabras clave: resistencia bacteriana, timpanocentesis, patógenos prevalentes.

SUMMARY

Introduction. Acute otitis media is one of the most frequent diagnoses in children under two years old. **Objectives.** The aims of this study were: to identify the most common microorganisms that cause AOM and their antibiotic sensitivity, and evaluate the prevalence of pathogenic agents according to patients ages.

Population, material and methods. This study was based on the analysis of 249 middle-ear samples obtained by tympanocentesis in 174 children with a

diagnosis of acute otitis media who attended to the Pediatric Otolaryngology Department of the "Clínica Reina Fabiola" at the Catholic University of Córdoba, Argentina, between 2001-2004.

The group of patients comprised 91 males and 83 females between 18 days and 24 months of age (average age: 9 months). These patients were divided into two other groups: 1) children under 6 months of age, and 2) children over 6 months of age.

Results. Predominant agents were *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. These results were similar to those found in previous publications. *Haemophilus influenzae* was predominant in children under 6 months and *Streptococcus pneumoniae* prevailed in older children. With regard to penicillin susceptibility pattern, *Streptococcus pneumoniae* had a response of 77.6% and *Haemophilus influenzae*, of 85.5%.

The patterns of antibiotic sensitivity of the most frequent etiological agents were studied according to the principles of the National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Conclusion. A long-term longitudinal follow-up will allow us to detect the emergence of resistant strains and new etiological agents. By these means it will be possible to improve the therapeutic efficacy and reduce complications and costs of this frequent pathology.

Key words: bacterial resistance, tympanocentesis, prevailing pathogens.

INTRODUCCIÓN

La otitis media aguda (OMA) es uno de los diagnósticos más frecuentes en niños menores de dos años. Uno de cada tres pacientes presenta al menos un episodio de OMA durante sus tres primeros años de vida.¹ En Escandinavia y Estados Unidos, entre 40 y 90% de los niños tuvieron un episodio de OMA en ese lapso.²

El tratamiento se basa en la elección correcta del antibiótico según el organismo causante de la patología, su sensibilidad antibiótica, la tolerabilidad y eficacia de la medicación elegida, su costo y el cumplimiento del tratamiento. La bacteriología de la OMA ha sido bien definida por varios autores.^{3,4} En la primera mitad

* Clínica Universitaria Privada Reina Fabiola. Servicio de Otorrinolaringología. Centro de Otorrinolaringología Infantil COI SRL. Córdoba, Argentina.

Correspondencia: dianicenteno@hotmail.com

Aclaración de intereses: Ninguno para declarar.

del siglo 20, el *Streptococcus* beta-hemolítico del Grupo A fue el microorganismo más frecuente, mientras que actualmente tiene una incidencia del 1-3%. En los últimos 50 años, el *Streptococcus pneumoniae* ha sido el germen predominante en los cultivos de oído medio.⁵ En Francia, por ejemplo, se lo halló en 20-50% de los cultivos.⁶ Distintos estudios realizados en las tres últimas décadas indican que el *Streptococcus pneumoniae*, el *Haemophilus influenzae* y, en menor grado, el *Streptococcus pyogenes* constituyen los principales agentes etiológicos de la OMA. Sin embargo, a mediados de la década de los '80, la incidencia de *Moraxella catarrhalis* se tornó más importante.^{7,8} Su rol patogénico fue cuestionado inicialmente, ya que este germen aparece como una bacteria saprófita en la piel del conducto auditivo externo.⁹

Por otro lado, la resistencia de los agentes patógenos, como *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, ha aumentado de manera notable en los últimos años. Esto es un problema de repercusión mundial debido a que muchas fallas terapéuticas no solamente pueden atribuirse a la aparición de mecanismos de resistencia como la producción de beta-lactamasas y modificación de las proteínas ligadoras de penicilina (PBP), sino también a cadenas resistentes a rifampicina, eritromicina y trimetoprima-sulfametoxazol.⁷⁻⁹

El objetivo de este estudio fue conocer la bacteriología y la sensibilidad bacteriana de los microorganismos causantes de OMA y valorar la prevalencia de los agentes patógenos según la edad de los pacientes.

POBLACIÓN, MATERIAL Y MÉTODOS

Se cultivaron 249 muestras de oído medio obtenidas mediante la realización de timpanocentesis en 174 niños que asistieron al Servicio de Otorrinolaringología Infantil COI de la Clínica Universitaria Reina Fabiola con diagnóstico de OMA en el período comprendido entre los años 2001 y 2004. Se incluyeron pacientes de ambos sexos (91 varones, 83 mujeres) entre las edades de 18 días y 24 meses, con un promedio de edad de 9 meses y además, se dividieron en dos grupos: niños mayores de 6 meses y menores de esa edad.

Con respecto a la timpanocentesis, ésta se realizó en el oído enfermo; es decir, no siempre se punzaron ambos oídos en el mismo paciente en la misma fecha de la consulta. En algunos pacientes pudo haberse realizado más de una punción a lo largo de 2 años. Sin embargo, esto no fue objeto de nuestra investigación. No se investigó la recurrencia de la patología.

Criterios diagnósticos, de inclusión y de exclusión

Se realizó un examen otorrinolaringológico a todos aquellos pacientes que concurrían a nuestro servicio con síntomas de OMA, como irritabilidad, fiebre, vómitos, diarrea o signos y síntomas de patología de la vía aérea superior.

Los criterios diagnósticos de otitis media se basaron en signos observados en la otoscopia neumática (disminución de la movilización de la membrana), signos de inflamación aguda de la membrana timpánica, como cambio en la posición (abombamiento) y coloración (enrojecimiento del cuadrante posterosuperior), modificación (borramiento) de las estructuras anatómicas normales. Uno o más especialistas siempre realizaron los diagnósticos. No se incluyeron en este estudio niños con otitis media con derrame, pacientes HIV (+) o inmunocomprometidos.

Timpanocentesis y técnica de la toma de muestra

El procedimiento se llevó a cabo con adecuada inmovilización del paciente. Se limpió de manera cuidadosa el conducto auditivo externo para extraer el cerumen y así poder obtener una correcta y completa visualización de la membrana timpánica. Luego se realizó asepsia con alcohol al 70% para evitar contaminaciones de gérmenes saprófitos (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). A continuación se realizó la miringocentesis con guantes estériles, cánula de aspiración, espéculos de oído, jeringa y una aguja intramuscular angulada en 45°. La timpanocentesis se realizó en los cuadrantes inferiores de la membrana.

Finalmente, se obtuvo el material en la jeringa; se la selló con calor y se envió inmediatamente al laboratorio de Microbiología.

Técnica del laboratorio de Microbiología

Se realizó examen directo de las muestras mediante coloración de Gram. Se consideró como respuesta inflamatoria positiva (RIP) a más de 5 leucocitos por campo de 1.000x.

Los cultivos se prepararon en agar chocolate (para microorganismos con crecimiento insidioso) y en agar sangre de carnero. Todas las pruebas se desarrollaron con cadenas de referencia como control (ATCC).

El método del disco de difusión se aplicó para medir la sensibilidad del *S. pneumoniae* a trimetoprima-oxacilina, eritromicina, trimetoprima-sulfametoxazol, cloranfenicol, rifampicina y vancomicina. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) en un medio líquido para penicilina y ceftriaxona cuando el disco de oxacilina marcó un

halo de inhibición menor de 20 mm.

El método microbiológico se aplicó a las cadenas de *H. influenzae* para demostrar la presencia de beta-lactamasas y acetil-cloranfenicol transferasas (CAT) con el fin de predecir la sensibilidad bacteriana a ampicilina y cloranfenicol.

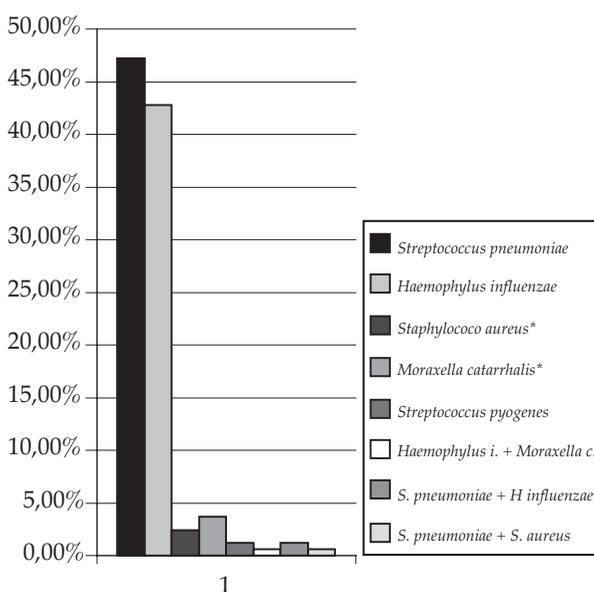
La sensibilidad antibiótica de los microorganismos se estudió de acuerdo con los principios establecidos por el NCCLS (Comité Nacional para Estandarizaciones de Laboratorios Clínicos, National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Criterios de evaluación aplicados a los resultados

Para poder analizar los resultados, las muestras se dividieron en tres grupos, según las siguientes variables.

- Grupo A o agentes patógenos
 - Respuesta inflamatoria positiva (RIP) o negativa y desarrollo de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* o *M. catarrhalis*,
 - RIP positiva, examen directo positivo y cultivo positivo de cualquier microorganismo que no corresponda a los anteriormente mencionados.
- Grupo B o contaminado
 - Cuando el conducto auditivo externo y el oído medio presentaron los mismos microorganismos, sin RIP y examen directo negativo,
 - Cultivo con desarrollo tardío (+48 h),

FIGURA 1. Agentes patógenos identificados en oído medio de pacientes correspondientes al Grupo A (n= 161)



* $p < 0,0001$ al comparar con *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.

- Cultivo de *S. aureus* coagulasa negativo (SCN) y/o difteroides (*Corynebacterium spp*).

- Grupo C o negativo, no se identificaron microorganismos en las muestras de oído medio ni se observó RIP.

De esta manera, los agentes etiológicos obtenidos en el grupo A se analizaron en relación con la edad de los pacientes. Los niños mayores de 6 meses se diferenciaron de los menores de 6 meses.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis para datos categóricos (X^2) y se consideraron significativos cuando el valor de p fue menor de 0,05.

RESULTADOS

Obtención del microorganismo

Entre las 249 muestras procesadas, se observó colonización bacteriana en 174 (69,8%) de las cuales, 161 (64,6%) fueron positivas (Grupo A) y 13 (5,2%) contaminadas (Grupo B). En 75 (30,1%) muestras no hubo desarrollo de microorganismos (Grupo C) $p < 0,001$ al comparar los grupos A y B.

Grupo A: agentes patógenos

Los agentes etiológicos identificados se muestran en la Figura 1. Los aislados con mayor frecuencia fueron *Streptococcus pneumoniae* (n=76; 47,2%) y *Haemophilus influenzae* (n= 69; 42,8%) en frecuencias similares.

El *Staphylococcus aureus* (2,4%) se consideró como agente patógeno, ya que presentó RIP, examen directo y cultivo positivo. La incidencia de *Moraxella catarrhalis* fue de n= 6 (3,7%). Ambos valores fueron significativamente inferiores que los anteriores ($p < 0,0001$).

No se observó *Pseudomonas aeruginosa* en los cultivos como agente etiológico. El *Streptococcus pyogenes* se halló en dos cultivos (1,2%). Las asociaciones de microorganismos no tuvieron una alta incidencia en nuestro trabajo.

Grupo B: agentes contaminantes

Este grupo incluyó todos los cultivos que desarrollaron algún germen saprófito, inoculado durante la toma de la muestra, que no presentaron RIP. Como ya se mencionó anteriormente, este grupo constituyó el 5,2%.

Los agentes hallados fueron bacilos gramnegativos (*Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* y *Serratia marcescens*); cocos grampositivos en cadena (*Streptococcus viridans*). También se halló en una muestra *Candida albicans* (Tabla 1).

Si bien los porcentajes demostrados parecen diferentes, el escaso número de casos de cada agente

hace que no se observen diferencias significativas.

Sensibilidad bacteriana

Mediante la prueba del disco de difusión de la oxacilina, se observó que el *Streptococcus pneumoniae* presentó una sensibilidad del 77,6% mientras que el 22,3% fue no-sensible.

Con respecto al *Haemophilus influenzae*, se documentó mediante el método microbiológico que el 85,5% fueron sensibles a ampicilina y cloranfenicol, mientras que el 14,5% de las cadenas fueron resistentes.

Relación entre la edad de los pacientes y la presencia de diferentes microorganismos

Los principales microorganismos hallados en el Grupo A se evaluaron en relación con la edad. El punto de referencia fueron los 6 meses.

Según se mencionó en un apartado previo, 71 pacientes (44%) eran menores de 6 meses; mientras que los 90 (56%) pacientes restantes eran mayores de esa edad.

Al relacionar las edades con la bacteriología, surgió que en los menores de 6 meses el *Haemophilus influenzae* fue el predominante (n= 41; 57,7%). El *Streptococcus pneumoniae* se presenta con una incidencia del 32,3% para n= 23.

Con respecto a los niños mayores de 6 meses, a diferencia de los menores de esa edad, predomina el *Streptococcus pneumoniae* (58,8%) sobre el *Haemophilus influenzae* (31,1%).

Se observó una diferencia significativa con respecto a los dos grupos etarios, con $p < 0,02$ para *Haemophilus influenzae* y $p < 0,01$ para *Streptococcus pneumoniae* respectivamente.

DISCUSIÓN

La identificación de microorganismos en derrames del oído medio, presumiblemente purulentos, documentada en este trabajo es comparable a la de otros de características similares llevados a cabo en otros centros hace tiempo.^{3,4,7,8} Estudios previos sugieren que el *Streptococcus pneumoniae* es más virulento que otros agentes bacterianos productores de OMA, el que más predispone a la persistencia de derrame en el oído medio de pacientes tratados incorrectamente y el causante de más complicaciones y secuelas; sin embargo, no se observó diferencia en la signo-sintomatología de la OMA en relación con el *Haemophilus influenzae*.¹⁰

Los resultados negativos pudieron haber sido adjudicados a otitis media con derrame en algunos pacientes, pero el hecho radica en que los niños con derrame habían sido previamente excluidos por no haber reunido los criterios diagnósticos de OMA,

como se describió en la sección "Población, material y métodos".

En comparación con el trabajo realizado por Commisso y col.,¹¹ en donde los cultivos negativos ocurrieron en mayor cantidad al inicio del invierno debido a la mayor incidencia de patologías virales,^{12,13} se observó que en nuestro centro no hubo una relación directa con este hecho. Otra razón para los cultivos negativos podría haber sido la presencia de organismos anaeróbicos como agentes causantes de OMA.¹⁴ El tratamiento antibiótico previo a la timpanocentesis y a la toma de muestra, también podría ser otra causa de la negatividad de los cultivos.¹⁵ En este estudio no se pudieron obtener datos acerca de la toma previa de antibióticos.

El aumento de la resistencia del *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina y a otros antibióticos es un problema de repercusión mundial, lo cual muchas veces vuelve ineficaz el uso de terapias antibióticas cotidianas^{16,17} y además, genera aumento de bacterias multirresistentes.¹⁸ Los valores de resistencia varían según la región: por el año 1989, la resistencia era del 71% en Hungría; en 1985, en España, el 51% de los *Streptococcus pneumoniae* fueron resistentes y en el año 1992, la resistencia aumentó a casi 60%.¹⁹ En EE.UU., la resistencia aumentó en los últimos años.^{20,21} Stool describió una tasa de resistencia de 6,6% en ese país en 1993.²²

Nuestro trabajo mostró que el 77,6% de las cepas de *Streptococcus pneumoniae* y 85,5% de las de *Haemophilus influenzae* fueron sensibles. Esta sensibilidad fue mayor que la observada por Commisso y col.,¹¹ quienes tuvieron una resistencia del 40% y 41% en los años 1996 y 1997 para el *Streptococcus pneumoniae*. El dato más actualizado en la bibliografía sobre cepas de *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina, en el sur de Suecia, muestra que es de aproximadamente el 10% y menor del 3% en el resto de ese país.¹⁷ Esta gran diferencia en los resultados podría deberse a distintos criterios sobre el manejo y control del tratamiento antibiótico. Es posible también que exista una relación con las distintas características socioculturales de los pacientes.

TABLA 1. Agentes contaminantes

Gémenes contaminantes	Nº	%
<i>Candida albicans</i>	1	7,7
BG(-) (<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia</i>)	4	30,7
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	6	46,1
<i>Streptococcus viridans</i>	2	15,3
Total	13	100

La principal diferencia entre la información encontrada en la literatura internacional y la de nuestro país se relaciona con el número de *Moraxella catarrhalis* aisladas,⁵ el cual fue considerablemente menor en nuestro estudio que en el realizado en el Hospital de Niños.¹¹ En nuestro servicio, se aislaron 6 agentes patógenos en los cultivos (3,7%).

También observamos diferencias en la incidencia del *Staphylococcus aureus*. En el estudio de Comisso y col.,¹¹ se observó una incidencia de 9%, en el nuestro se aisló en 2,4% de los cultivos. Este valor se acerca al encontrado en los Estados Unidos, en donde se halló un 1% de cultivos positivos.²³

Con respecto a *Pseudomonas aeruginosa*, este microorganismo no apareció en nuestro trabajo como agente patógeno, hecho semejante a lo hallado en el Hospital de Niños de Buenos Aires¹¹ en los años 1996-1997, en donde tuvo una muy baja incidencia (del 0,5%).

La incidencia de varios microorganismos, su sensibilidad antibiótica y sus mecanismos de resistencia son los principales factores para seleccionar un tratamiento empírico para las otitis medias agudas.

La edad de los pacientes generalmente es indicativa del tipo de microorganismo existente.¹¹ La literatura sugiere que *Haemophilus influenzae* es el agente patógeno más frecuente en niños menores de 6 meses y *Streptococcus pneumoniae* lo es en niños mayores de esa edad.²³ Estos datos coinciden con los obtenidos en nuestro servicio en el período 2001-2004, pero no con los del estudio de Comisso y col.,¹¹ en donde el *Haemophilus influenzae* predominó en los mayores de 6 meses y el *Streptococcus pneumoniae* en los menores de esa edad.

CONCLUSIÓN

Sobre la base de los datos obtenidos, concluimos que el *Streptococcus pneumoniae* es el microorganismo más frecuente en las OMA, seguido del *Haemophilus influenzae*; es importante destacar la baja incidencia de *Moraxella catarrhalis* en nuestra casuística.

Con respecto a la sensibilidad a la penicilina, el *Streptococcus pneumoniae* presentó un 77,6% de sensibilidad y el *Haemophilus influenzae*, un 85,5%.

La asociación de los microorganismos con los grupos etarios especificados evidencia que el *Haemophilus influenzae* predomina en los menores de 6 meses y el *Streptococcus pneumoniae* en los mayores de esa edad. ■

BIBLIOGRAFÍA

1. Teele WD. Strategies to control recurrent acute otitis media in infants and children. *Pediatr Ann* 1991; 20:11:609-10,612-4,616. Review.
2. Homoe P, Christensen RB, Bretlau P. Acute otitis media and sociomedical risk factors among unselected children in Greenland. *Int J Pediatr Otorhinol* 1999; 49:37-52.
3. Klein JO. Microbiology of acute chronic otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980; 89(Suppl 68):98-101.
4. Trujillo H, Callejas R. Bacteriology of middle ear fluid specimens obtained by tympanocentesis from 111 Colombian children with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8:361-363.
5. Leskinen K, Hendolin P, Virolainen-Julkunen A, Ylikoski J, Jero J. *Alloiooccus otitidis* in acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinol* 2004; 68:51-56.
6. Bidet P, Doit C, Bingen E. Bacteria and resistance to antibiotics in acute otitis media in paediatrics, depending on the geographical origin. *Presse Med* 2003; 32(37 Pt 1):1752-9.
7. Bluestone CD, Stephenson JS, Martin LM. Ten year review of otitis media pathogens. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11(8Supp):S7-11.
8. Sheldon L, Kaplan MD. Antimicrobial agents: resistance patterns of common pathogens. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13(11):1050-1053.
9. Kovatch AL, Wald ER. Beta-lactamase producing *Branhamella catarrhalis* causing otitis media in children. *J Pediatr* 1983; 102:261.
10. Leibovitz E, Satran R, Piglanky L, Raiz S, Press J, Lieberman A, Dagan R. Can acute otitis media caused by *Haemophilus influenzae* be distinguished from that caused by *Streptococcus pneumoniae*? *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:S09-14.
11. Comisso R, Romero Orellano F, Bioch Montanaro P, Romero Moroni F, Romero Díaz R. Acute otitis media: bacteriology and bacterial resistance in 205 pediatric patients. *Int J Pediatr Otorhinol* 2000; 56:23-31.
12. Olli R, Terho H. Otitis media: etiology and diagnosis. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13(8):S23-26.
13. Uhari M, Hietala J. Risk of acute otitis media in relation to the viral etiology of infection in children. *Clin Infect Dis* 1995; 3:521-524.
14. Brook MD. Otitis media in children: a prospective study of aerobic and anaerobic bacteriology. *Laryngoscope* 1979; 89 (8 PT 1):992-7.
15. Pichichero M, Pichichero CH. Persistent acute otitis media I: causative pathogens. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14:178-183.
16. Appelbaum PC. Emerging resistance to antimicrobial agents in gram-positive bacteria. *Drugs* 1996; 51(Suppl. 1):1-5. Review.
17. Fogle-Hansson M, White P, Hermansson A. Pathogens in acute otitis media; impact of intermittent penicillin V prophylaxis on infant nasopharyngeal flora. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003; 67:511-516.
18. Rosenfeld RM. Observation option toolkit for acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001; 58:1-8.
19. Del Castillo F, Baquero F. Influence of recent antibiotic therapy on antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children with acute otitis media in Spain. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17:94-97.
20. Butler JC, Hogmann J. The continued emergence of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the US: an update from the Centers for Disease Control and Prevention's Pneumococcal Sentinel Surveillance System. *J Infect Dis* 1996; 174(5):986-993.
21. Sheldon L, Kaplan MD. *Streptococcus pneumoniae*: impact of resistance in pediatrics. *Curr Probl Pediatr* 1997; 27:187-195.
22. Stool SE, Fiel MJ. The impact of otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8 (Suppl. 1): S11-4.
23. Bluestone CD, Stool SE, Kenna MA. *Pediatric Otolaryngology*, 3^a ed. Philadelphia, WB: Sanders Company, 1996.
24. Tamiyama M. Antibiotic selection for the treatment of pediatric upper respiratory tract infections and the detection rate of drug-resistant strains. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2004; 107(2):156-158. (Abstract).