



Brazilian Journal of OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org



ARTIGO ORIGINAL

Qual é a eficácia do beta-glucano no tratamento da otite média aguda?☆

Erdem Atalay Cetinkaya ^{ib a,*}, Osman Ciftci ^{ib b}, Saadet Alan ^{ib c},
Mustafa Namık Oztanır ^{ib d} e Nese Basak ^e

^a University of Health Sciences, Antalya Training and Research Hospital, Department of Otorhinolaryngology and Head & Neck Surgery, Antalya, Turquia

^b University of Pamukkale, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Denizli, Turquia

^c University of Inonu, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Malatya, Turquia

^d University of Inonu, Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Malatya, Turquia

^e University of Inonu, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, Malatya, Turquia

Recebido em 24 de julho de 2019; aceito em 5 de fevereiro de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Beta-glucano;
Otite média aguda;
Exame histológico;
Citocinas;
Ratos

Resumo

Introdução: Como suplemento, o beta-glucano apresenta vários efeitos terapêuticos gerados pelas células imunológicas. Cientificamente aprovado, mostrou ser um modificador de defesa biológica.

Objetivo: Investigar os efeitos do beta-glucano nos tratamentos administrados em um modelo de otite média aguda induzida em um modelo animal. A eficácia foi avaliada imunológica e histologicamente.

Método: A amostra do estudo foi composta por 35 ratos adultos, divididos aleatoriamente em 5 grupos de 7: grupo 1 (controle), grupo 2 (otite média aguda, sem tratamento), grupo 3 (otite média aguda + antibiótico), grupo 4 (otite média aguda + beta-glucano) e grupo 5 (otite média aguda + beta-glucano + antibiótico). Foram feitas análises dos resultados dos exames histopatológicos e imunológicos em relação ao espessamento da membrana timpânica, dano ao epitélio, inflamação e esclerose. Os níveis séricos de TNF- α , IL-4, IL-6 e IL-1 β foram avaliados em todos os grupos.

DOI se refere ao artigo: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.02.004>

☆ Como citar este artigo: Cetinkaya EA, Ciftci O, Alan S, Oztanır MN, Basak N. What is the effectiveness of beta-glucan for treatment of acute otitis media? Braz J Otorhinolaryngol. 2021;87:683–8.

* Autor para correspondência.

E-mail: drerdemcetinkaya@gmail.com (E.A. Cetinkaya).

A revisão por pares é da responsabilidade da Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial.

Resultados: Todos os níveis séricos de citocinas foram significativamente mais baixos nos grupos tratados com beta-glucano e antibióticos em comparação com o grupo otite média aguda. Diferenças significativas na espessura da membrana timpânica, inflamação, dano do epitélio e esclerose foram observadas entre os grupos otite média aguda + antibiótico e otite média aguda + beta-glucano. De acordo com esses parâmetros, os valores no grupo otite média aguda + antibiótico + beta-glucano foram acentuadamente inferiores aos dos demais grupos. Houve uma diferença significativa no grupo otite média aguda + antibiótico + beta-glucano em comparação ao grupo otite média aguda ($p < 0,001$).

Conclusão: Ambos os tratamentos com antibiótico e com beta-glucano reduziram os sinais de inflamação da otite média aguda em um modelo de rato com otite média aguda induzida, diminuíram os danos histológicos e os níveis de citocinas. A administração concomitante de antibiótico e beta-glucano levou a uma redução significativa na espessura da membrana timpânica, inflamação e danos ao epitélio. O tratamento com antibióticos + beta-glucano resultou em maior diminuição na espessura da membrana timpânica, inflamação e danos ao epitélio do que nos outros grupos. A partir desses resultados, pode-se sugerir que o beta-glucano, em combinação com antibióticos, pode fornecer uma opção para o tratamento da otite média aguda.

© 2020 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

A otite média aguda (OMA) é observada com extrema frequência durante a infância e foi relatado que 75% das crianças em idade pré-escolar já tiveram pelo menos um episódio. A disseminação intracraniana da infecção está entre as complicações que podem ocorrer. Os mecanismos da OMA dentro da cavidade da orelha média (COM), que podem tornar um indivíduo suscetível ao desenvolvimento de inflamação, são apenas parcialmente conhecidos.^{1,2} Os 5 tipos de bactérias mais comuns associadas à OMA são *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*. Os vírus mais comuns que podem contribuir para a OMA são o rinovírus humano, o influenza vírus, o vírus sincicial respiratório, o adenovírus e o enterovírus. Pacientes com OMA têm a qualidade de vida reduzida devido à dor, perda auditiva, dores de cabeça e comprometimento cognitivo.^{3,4} Um fator contribuinte importante para a fisiopatologia da OMA é a deficiência da função da mucosa da orelha média e a subsequente estase das secreções infectadas e que tem sido associada à inflamação local.^{4,5}

Como os patógenos da OMA podem ser resistentes aos antibióticos comumente usados, isso representa um desafio no tratamento.⁶ Alguns pacientes com OMA usam terapias opcionais e suplementares, particularmente ervas medicinais, além de tratamentos convencionais. O uso não prescrito de ervas medicinais para infecções do trato respiratório superior é comum em todo o mundo. O beta-glucano (β -G) é um constituinte de plantas amplamente difundido, estudado há décadas em relação aos efeitos benéficos para os seres humanos. Foi cientificamente aprovado e demonstrou ser um modificador da defesa biológica.^{6,7} Como suplemento, o β -G tem vários efeitos terapêuticos gerados pelas células imunológicas. Ele pode desencadear o processo de atração de células imunes, inclusive macrófagos, neutrófilos, monócitos, células do tipo *natural killer* e células

dendríticas, e pode inibir o crescimento de tumores no estágio de promoção.⁷⁻⁹ O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do β -G nos tratamentos administrados em um modelo de rato com OMA induzida experimentalmente e avaliar os resultados imunológicos e histológicos.

Método

Animais e OMA induzida experimentalmente

Os grupos foram separados para tratamento da seguinte forma: nos grupos 2, 3 e 4, *Staphylococcus aureus*, cepa ATCC 25923, em solução estéril ($0,5 \pm 1 \times 10^8$ UFC / mL) foi administrada bilateralmente, usou-se uma agulha odontológica (0,1 mL), por via transtimpânica. A OMA desenvolveu-se dentro de 48 h. Hiperemia da membrana timpânica foi observada macroscopicamente no dia 2 e o crescimento de *S. aureus* foi confirmado por cultura. (Número de aprovação do comitê de ética: 2015/ A-56).

Grupos de tratamento

O total de 35 ratos foi separado aleatoriamente em 5 grupos de 7 animais. O grupo 1 (controle) recebeu 0,1 mL de solução salina por via intratimpânica, seguido por 0,01% de carboximetilcelulose (CMC) por gavagem. No grupo 2 (OMA), 0,1 mL de solução de *S. aureus* foi administrada por via intratimpânica para induzir a OMA, seguida por 0,01% de CMC por gavagem. No grupo 3 (OMA + antibiótico), após indução da OMA, 50 mg/kg de ampicilina foram administrados por gavagem. No grupo 4 (OMA + β -G), após indução da OMA, 50 mg/kg β -G foram administrados por gavagem. No grupo 5 (OMA + β -G + antibiótico) após indução da OMA, 50 mg/kg de antibiótico e 50 mg/kg de β -G foram administrados por gavagem. A ampicilina foi administrada duas vezes ao dia por 14 dias e o β -G também foi administrado por 14 dias.

No 14º dia, todos os animais foram sacrificados sob anestesia geral. Os ratos foram pesados e então a anestesia com cloridrato de cetamina (75 mg/kg) e xilazina (8 mg/kg) foi aplicada. Amostras de sangue foram obtidas do ventrículo esquerdo para análise imunológica. Após centrifugação do sangue total ($3.000 \times g$, 20 min, a 4°C), as amostras de soro foram obtidas. As amostras de tecido e de soro foram armazenadas a -45° C até análise posterior.

Análise de citocinas

A produção de citocinas foi determinada com ensaio de imunoabsorção enzimática (Elisa, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assays*) com kits comerciais de acordo com as instruções do fabricante. Os níveis de interleucina-1beta (IL-1 β) (cat. nº: EK0393) e IL-4 (cat. nº: EK0406) foram medidos com kits Elisa anti-rato da BosterBio (Pleasanton, CA, EUA). A IL-6 (cat. nº: KHC0061) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (cat. nº: KRC3011) foram obtidos da Invitrogen (Carlsbad, CA, EUA). As placas de microtitulação foram lidas a 450 nm, com o leitor de microplacas CA-2000 Elisa (CIOM Medical Co., Ltd., Changchun, China). Com análise de regressão linear, os níveis de citocinas foram calculados a partir de curvas padrão de citocinas recombinantes.

Análise histopatológica

Após o sacrifício dos ratos, o osso temporal foi dissecado do crânio. Após a abertura da bula timpânica, os tecidos foram fixados em formalina tamponada a 10%, depois incubados em ácido fórmico a 5% e o processamento rotineiro dos tecidos foi feito para a descalcificação. Os cortes de 4 μ m de espessura foram feitos em blocos de parafina e corados com hematoxilina e eosina (H&E). Todas as lâminas foram examinadas sob microscopia óptica (Olympus BX-51; Olympus, Tóquio, Japão) e as imagens foram capturadas com uma câmera digital DP70 acoplada ao microscópio (Olympus). No exame histológico, foram avaliados o espessamento da membrana timpânica (EspMT), dano ao epitélio (DanEpit), inflamação (Inf) e esclerose (Esc). A gravidade das alterações foi pontuada da seguinte forma: nenhuma (-), leve (+), moderada (++) e grave (+++).^{10,11} O escore de nenhuma (-) foi definido como tecido epitelial e conjuntivo normal; leve (+), como infiltração leve de células inflamatórias individuais ou seus aglomerados, degeneração leve de células epiteliais, proliferação leve de células fibroblásticas do tecido conjuntivo; moderada (++) , como infiltração moderada de células inflamatórias, perda epitelial focal e proliferação moderada de células fibroblásticas do tecido conjuntivo; e grave (+++), como infiltração densa de células inflamatórias e perda de integridade epitelial e acentuada proliferação de células fibroblásticas do tecido conjuntivo.

Para análise estatística, esses escores foram equiparados aos escores numéricos (-) / 0, leve (+) / + 1, moderada (+ +) / + 2, grave (+++) / + 3. A avaliação quantitativa foi feita da espessura da MT (EspMT) a partir da medida da espessura da membrana timpânica na borda externa voltada para o espaço do canal auditivo externo e da largura da membrana timpânica voltada para a cavidade timpânica em 10 pontos diferentes.¹¹ O dano epitelial foi avaliado através da perda e da erosão do epitélio que reveste a superfície da

membrana timpânica. O aumento das células inflamatórias foi examinado para avaliar a inflamação. Havia aumento dos vasos capilares, congestão e edema. No processo de esclerose, foram observados aumento de células fibroblásticas e degeneração mixoide.

Análise estatística

A análise estatística dos dados do estudo foi feita no *software* SPSS for Windows (versão 18.0; SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Os resultados foram apresentados como média $\pm$ desvio-padrão (DP). Os níveis de TNF- α , IL-4, IL-6 e IL-1 β foram comparados entre os grupos de tratamento com a análise de variância (Anova) unidirecional (*one-way*) e o teste *post hoc* de Duncan. A análise de variância de Kruskal-Wallis foi aplicada aos resultados histológicos. Quando foram detectadas diferenças entre os grupos, os valores médios dos grupos foram comparados pelo teste U de Mann-Whitney. Um valor de $p < 0,01$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Os níveis séricos de TNF- α , IL-4, IL-6 e IL-1 β para todos os grupos de tratamento são mostrados na [tabela 1](#). No grupo OMA, os níveis séricos de TNF- α , IL-4, IL-6 e IL-1 β aumentaram significativamente em comparação com os outros grupos ($p < 0,01$). Os níveis séricos de TNF- α , IL-4, IL-6 e IL-1 β diminuíram significativamente nos grupos tratados com β -G e com antibióticos em comparação com o grupo OMA. Não foram determinadas diferenças significantes entre os grupos tratados com antibióticos β -G, antibióticos e β -G + antibióticos em relação aos níveis de citocinas. Os níveis de citocinas nesses grupos foram semelhantes aos do grupo controle.

Resultados histopatológicos

No exame histológico, observou-se que o grupo controle apresentava COM e canal auditivo externo (CAE) livres e um revestimento mucoso e fino na cavidade. Nos grupos OMA, observou-se CAE normal, mas havia efusão na COM e mucosa espessada, com lâmina própria que incluía leucócitos polimorfonucleares, histiócitos, fibroblastos e tecido de granulação. Observou-se que a efusão da cavidade nos ratos afetados continha macrófagos e neutrófilos.

Os resultados do exame histopatológico das alterações na membrana timpânica em relação ao espessamento da mesma (EspMT), dano ao epitélio (DanEpit), inflamação (Inf) e esclerose (Esc) são apresentados na [tabela 2](#) e nas [figuras 1–5](#). Os cortes corados com H&E demonstraram que os valores de EspMT, DanEpit, Inf e Esc aumentaram significativamente no grupo OMA em comparação com o grupo controle ([tabela 2](#) e [figs. 1–2](#); $p < 0,001$).

Os valores desses parâmetros no grupo OMA + antibiótico foram acentuadamente inferiores aos do grupo OMA ([tabela 2](#) e [figs. 2–3](#); $p < 0,001$). No grupo OMA, a EspMT aumentou com a migração de células inflamatórias e edema na camada subepitelial da mucosa da bula timpânica. Os níveis mais altos de DanEpit e Esc foram determinados no

Tabela 1 Níveis de várias citocinas em ratos de diferentes grupos de tratamento (n = 7, média ± DP)

	IL-1 β	IL-4	IL-6	TNF- α
Controle	10,5 ± 6,31 ^a	22,3 ± 5,37 ^a	27,6 ± 2,16 ^a	5,61 ± 2,54 ^a
OMA	38,3 ± 7,96 ^b	41,7 ± 8,44 ^b	38,2 ± 2,25 ^b	11,5 ± 2,57 ^b
OMA + antibiótico	14,5 ± 1,43 ^{ac}	25,1 ± 6,83 ^a	27,9 ± 3,12 ^a	3,54 ± 2,43 ^a
OMA + β -G	16,2 ± 3,33 ^c	27,7 ± 7,68 ^a	32,0 ± 8,91 ^c	5,01 ± 2,28 ^a
OMA + antibiótico + β -G	16,8 ± 2,16 ^c	26,9 ± 5,93 ^a	33,6 ± 6,24 ^c	4,95 ± 1,32 ^a

^{a,b,c} Sobrescritos diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,01$).

DP, desvio-padrão; OMA, otite média aguda; IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral; β -G (beta-glucano)

Tabela 2 Comparação histopatológica de todos os grupos de acordo com os valores da espessura da membrana timpânica, inflamação, esclerose e dano epitelial

	EspMT	DanEpit	Inf	Esc
Controle	15,25 ± 1,53 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
Otite média aguda	100,35 ± 2,12 ^b	2,50 ± 0,51 ^b	2,83 ± 0,40 ^b	1,60 ± 0,54 ^b
Otite média aguda + antibiótico	24,41 ± 4,13 ^a	0,60 ± 0,51 ^c	0,60 ± 0,51 ^c	0,50 ± 0,54 ^c
Otite média aguda + β -G	55,34 ± 4,29 ^c	1,3 ± 0,70 ^d	1,60 ± 0,51 ^d	1,50 ± 0,44 ^b
Otite média aguda + antibiótico + beta-glucano	46,25 ± 3,22 ^c	0,50 ± 0,70 ^c	0,50 ± 0,70 ^c	0,50 ± 0,70 ^c

^{a,b,c} Sobrescritos diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,01$).

EspMT, espessamento da membrana timpânica; DanEpit, dano ao epitélio; Inf, inflamação; Esc, esclerose.



Figura 1 Grupo controle, estrutura da membrana timpânica e martelo ligado à membrana; H&E $\times$ 100. (CAE, canal auditivo externo; CT, cavidade timpânica; MT, membrana timpânica; M, martelo; H&E, hematoxilina e eosina).

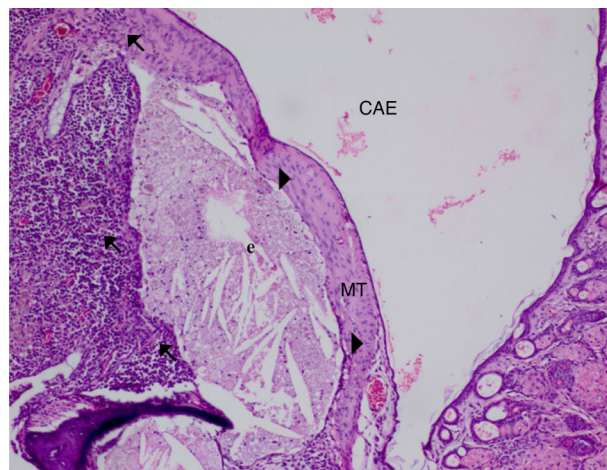


Figura 2 Grupo otite média aguda. EspMT, DanEpit, Inf. (seta do tecido conectivo, e CAE), e Esc. (cabeça de seta), exsudato (e), EspMT (pontuação + 3), DanEpit (pontuação + 3), Inf. e Esc. (pontuação + 3). H&E $\times$ 100.

grupo OMA em comparação com todos os outros grupos (fig. 2).

Nenhuma diferença significativa foi determinada entre os grupos OMA e OMA + β -G em relação aos valores de Esc, mas uma diferença significativa foi observada em relação aos valores de EspMT, DanEpit e Inf (tabela 2, figs. 2–4; $p < 0,001$).

Uma diferença significativa foi determinada entre os grupos OMA + antibiótico e OMA + β -G em relação aos valores de EspMT, Inf e DanEpit. Não houve diferença significativa nos valores de Esc (tabela 2, figs. 3–4).

Os valores desses parâmetros no grupo OMA + antibiótico + β -G foram inferiores aos dos outros grupos, com uma diferença significativa nos valores do grupo OMA + antibiótico + β -G em comparação ao grupo OMA (tabela 2, figs. 2–5; $p < 0,001$).

Foi feita uma avaliação semiquantitativa das alterações observadas. A média aritmética foi obtida com base nos grupos OMA e controle. No grupo controle, DanEpit, Inf e Esc não foram observados. Foi observado um aumento evidente na EspMT no grupo OMA devido ao efeito da inflamação e edema. A inflamação densa foi causada pela infiltração de “neutrófilos e células linfo-histiocíticas” ($2,83 \pm 0,40$). Como resultado da inflamação, foram observadas alterações

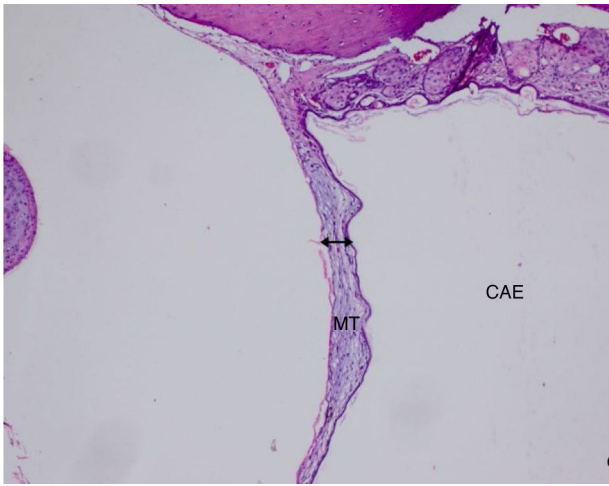


Figura 3 Grupo otite média aguda + antibiótico. Há acentuada diminuição da EspMT, DanEpit, Inf. e Esc. (cabeça de seta). H&E $\times 100$.

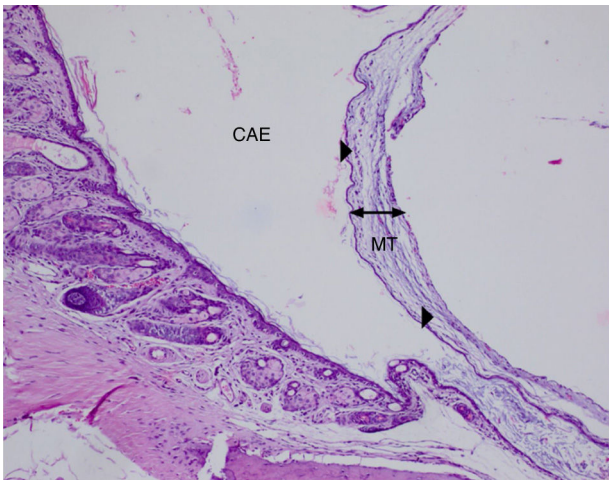


Figura 4 Grupo otite média aguda + beta-glucano. Há acentuada diminuição da EspMT, DanEpit, e Inf. (seta). H&E $\times 100$.

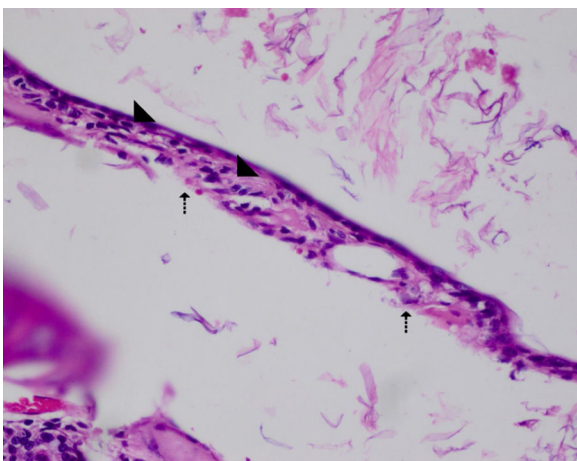


Figura 5 Grupo otite média aguda + antibiótico + beta-glucano. Há acentuada diminuição da EspMT, Inf. e Esc. (cabeça de seta), DanEpit (seta pontilhada). H&E $\times 400$.

degenerativas e aumento da celularidade no tecido conjuntivo da parede da membrana. Essas alterações ocorreram secundariamente à inflamação na orelha média.

Discussão

A OMA é uma infecção comum do trato respiratório superior para a qual geralmente são prescritos antibióticos. Pode afetar todas as idades, com uma frequência maior relatada em crianças. Além disso, a OMA é a doença mais comum associada a consultas médicas em crianças com menos de 5 anos.^{3,4}

A resistência aos antibióticos levou os pesquisadores a investigar novas opções. As ervas medicinais têm sido usadas há muito tempo e, de fato, continuam a ser usadas com mais frequência do que os medicamentos de prescrição médica.⁸⁻¹⁰ As informações atuais propõem que essas ervas medicinais exerçam um efeito biológico na regulação imune ou mecanismos citotóxicos.⁷⁻¹² Um dos produtos fitoterápicos imunologicamente eficazes são polissacarídeos complexos, conhecidos como β -glucanos.^{12,13} Esses polissacarídeos biologicamente ativos encontrados nas paredes celulares bacterianas ou fúngicas aumentam a defesa imunológica do hospedeiro, ativam sistemas complementares e melhoram as funções das células *natural-killer* e macrófagos. De acordo com estudos *in vitro*, o β -G interage com vários receptores da superfície celular imune, inclusive o receptor de complemento 3 (CR3; CD11b/CD18), dectina-1 (bGR), receptores toll-like 2 e 6 (TLR-2/6), receptores de eliminação de macrófagos selecionados e lactosilceramida. Além disso, o β -G pode inibir o crescimento do tumor na fase de promoção.^{8,9,12,14}

Neste estudo, avaliou-se a eficácia do uso de um antibiótico convencional (ampicilina) e um medicamento fitoterápico (β -G), usado no manejo de atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas, no tratamento da OMA. Os quatro parâmetros do exame histopatológico usados para avaliar os efeitos do tratamento foram EspMT, DanEpit, Inf e Esc.⁹ Observou-se que, com a migração de células inflamatórias e edema para a camada subepitelial da mucosa da bula timpânica, a EspMT aumentou no grupo OMA. Os maiores valores de DanEpit e Esc foram obtidos no grupo OMA. Comparado ao grupo OMA, todos os quatro parâmetros estavam significativamente reduzidos no grupo OMA + β -G + antibiótico. Os parâmetros no grupo OMA + β -G + antibióticos foram acentuadamente inferiores aos dos outros grupos. Pode-se considerar que esse efeito possa ser devido a efeitos sinérgicos pelo uso combinado do antibiótico e do β -G.

O papel das citocinas na OMA já foi bem estudado anteriormente em modelos animais experimentais.⁸⁻¹¹ Sabe-se que o TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6 são importantes mediadores locais associados à inflamação aguda. O perfil da expressão de citocinas durante episódios de OMA é útil para a avaliação da patogênese da doença.¹⁴⁻¹⁶ Neste estudo, os níveis séricos das quatro citocinas foram medidos nos diferentes grupos de tratamento. Os resultados mostraram que os níveis de citocinas estavam significativamente reduzidos nos grupos tratados com β -G e antibióticos em comparação ao grupo OMA.

Vários estudos revelaram que o β -G regula a produção de várias citocinas inflamatórias. Além disso, o β -G regula a defesa imunológica do hospedeiro, ativa o sistema

complementar e melhora as funções das células *natural-killer* e macrófagos. Essas atividades regulatórias demonstram os potenciais efeitos desse fitoterápico.^{8,17,18}

Além da redução do risco de doenças cardíacas (coronárias) e ações anticâncer, também foi relatado que o β -G tem um papel no tratamento de infecções. β -G foi aprovado pela *Food and Drug Administration* como uma substância segura para o uso em seres humanos. Além disso, em todas as doses testadas, nenhuma toxicidade foi observada.¹⁹⁻²¹ Neste estudo prospectivo em animais, o efeito de β -G foi investigado em um modelo de rato com OMA induzida. Análises histopatológicas e imunológicas foram feitas e os resultados foram analisados. Que seja de nosso conhecimento, não houve estudo anterior que investigasse histologicamente e imunologicamente o impacto de β -G na OMA.

Conclusão

Experimentos com modelos animais relacionados à otite média apresentam grandes vantagens, como a possibilidade de manipulação da amostra e a experimentação controlada de doenças/efeito terapêutico. Os benefícios coletivos dos estudos da otite média em modelos animais expandiram o campo para experimentos contínuos e aprimorados sobre esse tema. Com base nos resultados deste estudo, pode-se sugerir que β -G, em combinação com antibióticos, pode proporcionar um tratamento opcional bem-sucedido para a OMA em comparação com antibióticos usados isoladamente. Os efeitos favoráveis observados com o uso do β -G estão relacionados às suas atividades imunomoduladoras. Portanto, o uso potencial de β -G para o tratamento da OMA deve continuar a ser investigado. Estudos futuros controlados e randomizados em seres humanos que foquem o uso de β -G no tratamento da OMA são necessários.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Harker LA, Shelton C. Complication of temporal bone infections. In: Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT, et al, editors. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 4th edn. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2005. p. 3015-6.
2. Sidell D, Shapiro NL, Bhattacharyya N. Obesity and the risk of chronic rhinosinusitis, allergic rhinitis, and acute otitis media in school-age children. *Laryngoscope*. 2013;123:2360-3.
3. Penido Nde O, Chandrasekhar SS, Borin A, Maranhão AS, Gurgel T. Complications of otitis media - a potentially lethal problem still present. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2016;82:253-62.
4. Spektor Z, Pumarola F, Ismail K, Lanier B, Hussain I, Ansley J, et al. Efficacy and Safety of Ciprofloxacin Plus Fluocinolone in Otitis Media With Tympanostomy Tubes in Pediatric Patients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017;143:341-9.

5. Tapiainen T, Kujala T, Renko M, Koivunen P, Kontiokari T, Kristo A, et al. Effect of antimicrobial treatment of acute otitis media on the daily disappearance of middle ear effusion: a placebo-controlled trial. *JAMA Pediatr*. 2014;168:635-41.
6. Beta Glucan Research [Web site]. Disponível em <http://www.betaglucan.org>. Acesso Apr 8, 2019.
7. Chan GC, Chan WK, Sze DM. The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol Oncol*. 2009;2:25.
8. Wasser S. Medical mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2002;60:258-74.
9. Birdane L, Muluk NB, Cingi C, Burukoglu D, Fidan V, Incesulu A. Evaluation of the efficacy of curcumin in experimentally induced acute otitis media in rats. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2014;123:325-32.
10. Cetinkaya EA, Ciftci O, Alan S, Oztanır MN, Basak N. The efficacy of hesperidin for treatment of acute otitis media. *Auris Nasus Larynx*. 2019;46:172-7.
11. Akramiene D, Kondrotas A, Didziapetriene J, Kevelaitis E. Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina (Kau-nas)*. 2007;43:597-606.
12. Shakeel M, Newton JR, Ah-See KW. Complementary and alternative medicine use among patients undergoing otolaryngologic surgery. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009;38:355-61.
13. Barenkamp SJ, Kuroki Y, Ogra PL, Leiberman A, Bakaletz LO, Murphy TF, et al. Recent advances in otitis media. 5. Microbiology and immunology. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*. 2005;194:60-85.
14. Piltcher OB, Swartz JD, Magnuson K, Alper CM, Doyle WJ, Hebda PA. A rat model of otitis media with effusion caused by eustachian tube obstruction with and without *Streptococcus pneumoniae* infection: methods and disease course. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;126:490-8.
15. Liu K, Kaur R, Almudevar A, Pichichero ME. Higher serum levels of interleukin 10 occur at onset of acute otitis media caused by *Streptococcus pneumoniae* compared to *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. *Laryngoscope*. 2013;123:1500-5.
16. Li JD, Hermansson A, Ryan AF, Bakaletz LO, Brown SD, Cheeseman MT, et al. Panel 4: Recent advances in otitis media in molecular biology, biochemistry, genetics, and animal models. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;148:52-63.
17. Ding J, Feng T, Ning Y, Li W, Wu Q, Qian K, et al. β -Glucan enhances cytotoxic T lymphocyte responses by activation of human monocyte-derived dendritic cells via the PI3K/AKT pathway. *Hum Immunol*. 2015;76:146-54.
18. Heinsbroek SE, Williams DL, Welting O, Meijer SL, Gordon S, de Jonge WJ. Orally delivered β -glucans aggravate dextran sulfate sodium (DSS)-induced intestinal inflammation. *Nutr Res*. 2015;35:1106-12.
19. Lee KH, Park M, Ji KY, Lee HY, Jang JH, Yoon IJ, et al. Bacterial β -(1,3)-glucan prevents DSS-induced IBD by restoring the reduced population of regulatory T cells. *Immunobiology*. 2014;219:802-12.
20. Arena MP, Caggianiello G, Fiocco D, Russo P, Torelli M, Spano G, et al. Barley β -Glucans-Containing Food Enhances Probiotic Performances of Beneficial Bacteria. *J Mol Sci*. 2014;15:3025-39.
21. Topalsan SU, Huseynov T, Sarioglu S, Serbetcioglu B. Effects of penicillin and montelukast sodium on middle ear mucosa in rats with experimental acute otitis media. *J Med Updates*. 2012;2:94-9.