

Российские рекомендации по клинической микробиологии

Микробиологическое исследование биоматериалов со слизистой зева и задней стенки глотки

Документ 4/25

Год утверждения: 2025

Разработчики рекомендаций:

Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины» (Ассоциация «ФЛМ»);

Межрегиональная ассоциация общественных объединений «Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии» (МАКМАХ)

Оглавление

1. ВВЕДЕНИЕ	4
2. ОБЩАЯ ЧАСТЬ	4
2.1 Нормальная микробиота	4
2.2 Классификация и этиология болезней верхних дыхательных путей.....	5
2.2.1 Фарингит и тонзиллит	5
2.2.2 Эпиглоттит	7
2.2.3 Ларингит.....	8
3. КЛЮЧЕВЫЕ МОМЕНТЫ ДИАГНОСТИКИ.....	8
4.1 Правила взятия биоматериала	9
4.2 Правила хранения и транспортировки.....	10
4.3 Оформление направления	10
5. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП	13
5.1 Микроскопическое исследование	13
5.2 Культуральное исследование.....	13
5.4 Определение чувствительности к антимикробным препаратам	15
6. ПОСТАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП.....	15
6.1 Результаты микроскопии	15
6.2 Результаты культурального исследования	16
6.2.1 Интерпретация и формулировка результата	16
6.2.2 Сроки выдачи результатов.....	17
7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	17
Приложение.....	20

Список сокращений

АБТ	Антибактериальная терапия
АМП	Антимикробный препарат
БП	Агар Байрд-Паркера
БГСА	Бета-гемолитический стрептококк группы А
ВДП	Верхние дыхательные пути
ЖСА	Желточно-солевой агар
КА	Кровяной агар
МИС	Медицинская информационная система
МКБ	Международная классификация болезней десятого пересмотра
МСА	Маннит-солевой агар
ОТФ	Острый тонзиллофарингит
EUCAST	Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам

Список сокращений микроорганизмов

<i>A. haemolyticum</i>	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>
<i>B. pertussis</i>	<i>Bordetella pertussis</i>
<i>B. vincentii</i>	<i>Borrelia vincentii</i>
<i>C. pneumoniae</i>	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
<i>C. diphtheriae</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>M. pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>N. meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. dysgalactiae</i> ssp. <i>equisimilis</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp. <i>equisimilis</i>
<i>S. dysgalactiae</i> ssp. <i>dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp. <i>dysgalactiae</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>F. necrophorum</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>

1. Введение

Исследования образцов со слизистой оболочки зева и с задней стенки глотки – одни из наиболее часто выполняемых исследований от пациентов с инфекциями верхних дыхательных путей (ВДП). В большинстве случаев данные исследования проводятся у амбулаторных пациентов.

При инфицировании ВДП в инфекционный процесс могут быть вовлечены полость носа, придаточные пазухи носа, глотка, гортань, трахея и крупные бронхи.

Значительное количество острых инфекций ВДП имеют вирусную этиологию. Острые и хронические инфекции ВДП могут быть вызваны бактериями и грибами. Симптомы, сопровождающие инфекции верхних дыхательных путей, являются общими для большинства наиболее распространенных возбудителей: лихорадка, боль в месте воспаления, увеличение регионарных лимфатических узлов. Установить возбудителя на основании клинической картины чаще всего невозможно. Таким образом, бактериологическое исследование является ключевым моментом в решении вопроса об этиологии заболевания и назначении антибактериальной терапии (АБТ). В случае вирусной инфекции применение АБТ нецелесообразно, в то время как при острой бактериальной инфекции отсрочка в назначении адекватной АБТ может привести к серьезным осложнениям [1].

В настоящем разделе Руководства представлены рекомендации по микробиологической диагностике материалов со слизистой зева и задней стенки глотки бактериальной и частично грибковой этиологии от момента взятия проб до выдачи результатов с интерпретацией полученных данных.

Для настоящего раздела руководства доказательная база и микробная таксономия на момент выпуска являются максимально полными. Любые упущения будут рассмотрены и изменения внесены при следующей актуализации документа. Данный раздел руководства может быть заменен или дополнен новыми сведениями, дополнительными методами микробиологической диагностики только пересмотром данного раздела или законодательным документом.

2. Общая часть

2.1 Нормальная микробиота

Нормальная микробиота глотки включает в себя большое число различных видов как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов, полную идентификацию которых проводить не рекомендуется и о выделении которых также не обязательно сообщать клиницисту:

- стрептококки группы *Viridans*;
- непатогенные *Neisseria* spp.;
- *Staphylococcus* spp. (за исключением *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*));
- *Corynebacterium* spp. (за исключением *Corynebacterium diphtheria* (*C.diphtheriae*));
- *Haemophilus* spp. (за исключением *Haemophilus influenzae* (*H.influenzae*));
- *Candida* spp.;
- анаэробные грамположительные кокки и грамотрицательные палочки спиралеобразной формы.

У лиц преклонного возраста и пациентов с иммунодефицитом, ротоглотка может быть колонизирована микроорганизмами порядка *Enterobacterales* (*Escherichia coli* (*E.coli*), *Klebsiella* spp. и др.), неферментирующими грамотрицательными бактериями (*Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp.), *S. aureus*, *Candida* spp.

2.2 Классификация и этиология болезней верхних дыхательных путей

Болезни верхних дыхательных путей классифицируются в соответствии с локализацией воспаления. Выделяют четыре основных нозологических формы:

- Фарингит (J02)
- Тонзиллит (J03)
- Эпиглоттит (J05.1)
- Ларингит (J05.0)

Примечание: Коды болезней, в соответствии с Международной классификацией болезней десятого пересмотра (МКБ-10), представлены в качестве справочной информации.

2.2. 1 Фарингит и тонзиллит

Фарингит – это острое воспаление слизистой оболочки глотки обычно вирусного, реже бактериального, происхождения. **Тонзиллит** (ангина) - острое воспаление небных миндалин, обычно возникающее в результате стрептококковой, реже вирусной инфекции [14].

Острый тонзиллофарингит (ОТФ) – острое инфекционное воспаление слизистой оболочки и лимфатических структур ротоглотки (небные миндалины, лимфоидные фолликулы задней стенки глотки). Термин ОТФ является объединяющим для острого воспаления небных миндалин (острый тонзиллит) и острого воспаления задней и боковой стенок глотки (острый фарингит), однако в подавляющем большинстве случаев, особенно при вирусной этиологии процесса, имеет место воспаление обеих локализаций (за исключением фарингита у пациента, перенесшего тонзиллэктомию) [1].

Наиболее частыми возбудителями ОТФ являются респираторные вирусы: аденовирус, риновирус, респираторно-синтициальный вирус, метапневмовирус, коронавирусы, вирусы гриппа и парагриппа, вирус Эпштейна-Барра, вирус Коксаки и др. [1]. Отличить вирусный фарингит от бактериального только по данным физикального исследования трудно, поэтому для диагностики важное значение имеют экспресс-методы выявления антигена бета-гемолитического стрептококка группы А (БГСА) и культуральное исследование.

Чаще всего бактериальные ОТФ вызывает БГСА или *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*). Стрептококковый тонзиллит опасен развитием осложнений, которые можно разделить на ранние (гнойные) осложнения, развивающиеся на 4-6-й день от начала заболевания (отит, синусит, паратонзиллярный абсцесс, шейный лимфаденит), и поздние (негнойные) осложнения, развивающиеся в стадии реконвалесценции – 8-10-й дни от начала заболевания (постстрептококковый гломерулонефрит, токсический шок) или через 2-3 недели после купирования симптомов (ревматическая лихорадка).

Помимо *S. pyogenes* признанными этиологическими агентами в возникновении тонзиллитов являются стрептококки серогрупп С и G: *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* и *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *dysgalactiae*, которые обладают различными серогрупповыми антигенами и у которых выявлены факторы вирулентности, подобные *S. pyogenes*. [3,4,8]

Реже острый тонзиллит и фарингит вызывают *Arcanobacterium haemolyticum* (*A. haemolyticum*) – ранее *Corynebacterium haemolyticum*, *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), *C.diphtheriae*, анаэробы и спирохеты (ангина Венсана), редко - *Mycoplasma pneumoniae* (*M.pneumoniae*) и *Chlamydophila pneumoniae* (*C. pneumoniae*) [1,3,16].

Другие бактериальные возбудители фарингита

Виды *Borrelia vincentii* (*B. vincentii*) и *Fusobacterium* spp. могут быть связаны с инфекцией, известной как **ангина Венсана** (А69.1) или острый некротический язвенный гингивит с некротическими изъязвлениями глотки и формированием (или без) псевдодифтерийных пленок. Такое состояние характеризуется наличием обильной смешанной анаэробной флоры с преобладанием грамотрицательных веретенообразных палочек и спирохет, которые представлены в основном *B. vincentii* и *Fusobacterium* spp., возможно также присутствие других видов микроорганизмов. Несмотря на то, что оба рода принадлежат к представителям нормальной микробиоты ротовой полости, при их обнаружении в большом количестве в мазке из материала с изъязвленных участков и окрашенном по методу Грама, сообщают об обнаружении большого количества веретенообразных палочек и спирохет.

Примечание: *Данный диагноз не нуждается в подтверждении культуральным методом, требующего создания анаэробных условий и продолжительного времени исследования.*

Вместе с тем, наличие такого комплекса не исключает необходимости поиска других патогенов, особенно *S. pyogenes* [8].

Грибковые инфекции ротоглотки

Данные инфекции распространены у пациентов с ослабленным иммунитетом, особенно во время эпизодов тяжелой нейтропении. Пациенты, получающие антибиотики, также склонны к грибковым инфекциям ротоглотки.

Инфекция, вызванная *Fusobacterium necrophorum*

Инфекция *Fusobacterium necrophorum* (*F.necrophorum*) может характеризоваться острым фарингитом и лихорадкой, иногда сопровождаемой мембранозным тонзиллитом. При отсутствии терапии у небольшого числа таких пациентов может развиваться бактериемия и метастатическая инфекция, характерные для болезни Лемьера, которые могут быть опасными для жизни.

F. necrophorum был выделен в случаях рецидивирующей или постоянной боли в горле и является распространенной причиной паратонзиллярного абсцесса или ангины. У некоторых людей данный микроорганизм входит в состав нормальной микробиоты верхних дыхательных путей [3,8].

Примечание: *Справочная информация. В соответствии с МКБ 10 диагноз острые респираторные инфекции верхних дыхательных путей включают в себя острый назофарингит (J00), острый синусит (J01), острый фарингит (J02) в том числе стрептококковый фарингит (J02.0), острый тонзиллит (J03) в том числе стрептококковый тонзиллит (J03.0). При необходимости идентифицировать инфекционный агент используют дополнительные коды (B95-B98).*

2.2.2 Эпиглоттит

Острый эпиглоттит – это быстро прогрессирующее воспаление надгортанника и окружающих тканей, которое может привести к резкой полной обструкции дыхательных путей. Эпиглоттит наиболее часто встречается у детей до 5 лет и сопровождается болью в горле, повышенной температурой тела, дисфонией и дисфагией.

Основным возбудителем эпиглоттита является *H. influenzae* типа В, которая может быть выделена при бактериологическом исследовании мазков с надгортанника и из крови. С момента введения вакцины *H. influenzae* типа b (Hib) наблюдается снижение числа случаев острого эпиглоттита у детей [2].

У взрослых пациентов заболевание могут вызывать грамположительные микроорганизмы (*Streptococcus pneumonia* (*S. pneumonia*), *S. pyogenes*, *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), анаэробы, виды *Pseudomonas* spp.. Грибы рода *Candida* и *Aspergillus* выделяются у пациентов с ослабленным иммунитетом.

2.2.3 Ларингит

Воспаление гортани чаще всего возникает как осложнение вирусного или бактериального заболевания, либо инфекционной болезни – скарлатины, коклюша, кори, туберкулеза, стафилококковой, стрептококковой инфекции и т.д. Ларингит редко развивается обособленно, обычно воспаление гортани возникает на фоне заболеваний других ЛОР-органов – ринита, фарингита, трахеита или бронхита. [2]

Примечание: *Справочная информация. В соответствии с МКБ 10 диагноз диагноза острый обструктивный ларингит и эпиглоттит относятся к J05 (J05.0 и J05.1, соответственно). При необходимости идентифицировать инфекционный агент используют дополнительные коды (B95-B98).*

3. Ключевые моменты диагностики

1. Бактериологическая диагностика фарингитов затруднена тем, что нормальная микрофлора ротоглотки содержит большое количество различных видов аэробных и анаэробных бактерий. Задача бактериолога заключается в том, чтобы определить этиологическую значимость выделенного микроорганизма;

2. *S. pyogenes* – наиболее часто встречающийся возбудитель тонзиллитов и фарингитов, выделение которого требует немедленного назначения антимикробных препаратов (АМП). Задержка с назначением АМП или их неадекватное применение может привести к тяжелым осложнениям, в том числе в виде острой ревматической лихорадки и гломерулонефрита [1, 5]. В связи с этим, рекомендуется применение экспресс-методов обнаружения *S. pyogenes* или его антигенов: латекс-агглютинации, иммунохроматографического теста [1];

3. При положительных результатах иммунохроматографического теста нецелесообразно проводить бактериологическое исследование отделяемого из зева на стрептококк группы А (*Streptococcus gr. A*) из-за высокой специфичности экспресс-диагностики БГСА-инфекции [1,6,7]. Отрицательные результаты экспресс-тестов на антиген *S. pyogenes* у детей и подростков должны быть подтверждены с помощью культурального или молекулярно-генетического метода [1,3,5];

4. Мазки со слизистой зева и задней стенки глотки могут быть использованы для выявления носительства *S.aureus*, например, у предоперационных кардиологических

пациентов, а также для скрининга на носительство метициллин-резистентного *S. aureus* (MRSA);

5. Рутинное исследование на *A.haemolyticum* проводить не рекомендуется за исключением случаев рецидивирующего тонзиллита и при отсутствии ответа на антибактериальную терапию;
6. Исследование при некоторых инфекциях ВДП должно носить направленный характер, в частности, в отношении *F.necrophorum* и других анаэробных бактерий (*Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*), а также вирусов, поскольку ряд питательных сред и методов диагностики нерационально применять рутинно;
7. Инфекции ВДП, связанные с *C.diphtheriae*, *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*), *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) и *N.gonorrhoeae*, как правило, имеют специфический эпидемиологический анамнез. Проводить исследования для выделения данных микроорганизмов в рутинной практике нецелесообразно;
8. Для диагностики дифтерии, гонореи, коклюша и паракоклюша требуются особые условия сбора, транспортировки, а также культивирования образцов биоматериалов. Медицинский работник, назначивший данные исследования, должен четко обозначить цель исследования в направительных документах или при создании назначения на исследование в медицинской информационной системе (МИС);
9. Бактериологические исследования для диагностики дифтерии, гонореи, коклюша и паракоклюша выполняются в соответствии с действующими нормативными документами.

4. Преаналитический этап

4.1 Правила взятия биоматериала

Материал из ротоглотки рекомендуется собирать материал натошак или через 3-4 ч после приема пищи. Перед взятием пробы пациент должен прополоскать рот теплой кипяченой водой.

- Аккуратно одной рукой прижимают язык пациента шпателем;
- Другой рукой сухим стерильным зонд-тампоном вращательными движениями собирают материал, поочередно обрабатывая тампоном правую миндалину, правую небную дугу, левую миндалину, левую небную дугу, заднюю стенку глотки на уровне язычка;
- При наличии очагов воспалений или изъязвлений на слизистой относятся к сбору пробы особенно внимательно и собирают отдельным тампоном дополнительно материал из очага (очагов);
- Извлекают тампон, не касаясь слизистой оболочки щек, языка, язычка;

- Помещают зонд-тампон в пробирку (в составе транспортной системы с транспортировочной средой или без неё).

Примечание: *При необходимости выполнения экспресс-метода и культурального исследования, материал может быть взят двумя тампонами.*

Внимание! Не допускается собирать материал из ротоглотки при наличии признаков воспаления надгортанника. Это может привести к жизнеугрожающей респираторной обструкции [9,10].

4.2 Правила хранения и транспортировки

Материал в контейнере или на тампоне в пробирке без транспортной среды должен быть доставлен в лабораторию немедленно после получения (в течение 2 часов). При невозможности соблюсти указанные сроки транспортировки, материал допустимо хранить при комнатной температуре (18-22° С) не более 24 часов.

Материал, помещенный в пробирку с транспортной средой, хранят в соответствии с инструкцией производителя, оптимально – не более 24-48 часов [9,10,11,12].

4.3 Оформление направления

В направлении, кроме обязательных сведений, врач должен указать цель исследования: «Исследование на носительство *S.aureus*», «Исследование на *S.pyogenes*» или «Исследование на микробиоту и чувствительность к антибиотикам». В случае подозрения на ангину Венсана, необходимо указать предполагаемый диагноз и оформить направление на микроскопию мазка. При необходимости исследования на грибы или анаэробные возбудители, это также необходимо указать в направлении.

При необходимости исследования на выявление возбудителей дифтерии, менингококковой инфекции и коклюша, необходимо указать цель исследования для проведения лабораторией специальных исследований.

Правила взятия биоматериала, транспортные системы, время хранения и условия транспортировки, в соответствии с предполагаемым методом диагностики, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Микробиологическая диагностика при исследовании мазков со слизистой зева и задней стенки глотки

Этиологически значимый микроорганизм	Выбор методов диагностики	Биоматериал	Транспортные системы, условия и время хранения образца	Техника сбора проб
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.Экспресс-тест-ИХТ(с последующим культивированием при негативном экспресс-тесте) ^a 2.Культуральное исследование	Мазок со слизистой зева, задней стенки глотки	Два отдельных тампона ¹ без транспортной среды обычная атмосфера, 18-22°C ≤ 2 ч Транспортная система с двойным тампоном обычная атмосфера 18-22 °C Время хранения в соответствии с инструкцией производителя транспортных систем от 24 до 48ч	Внимание! Не допускается собирать материал из ротоглотки при наличии признаков воспаления надгортанника. Это может привести к жизнеугрожающей респираторной обструкции. 1. Рекомендуется собирать материал натошак или через 3-4 ч после приема пищи. Перед взятием пробы больной должен прополоскать рот теплой кипяченой водой. 2. Аккуратно одной рукой прижимают язык пациента шпателем. 3. Другой рукой сухим стерильным зондом с тампоном вращательными движениями собирают материал, поочередно обрабатывая тампоном правую миндалину, правую небную дугу, левую миндалину, левую небную дугу, заднюю стенку глотки на уровне язычка. 4. При наличии очагов воспалений или изъязвлений на слизистой относятся к сбору пробы особенно внимательно и собирают отдельным тампоном дополнительно материал из очага (очагов). 5. Извлекают тампон, не касаясь слизистой оболочки щек, языка, язычка. 6. Помещают тампон в пробирку / транспортную систему. Примечание. 1.Для взятия материала предпочтительнее использовать зонд с вязким тампоном, т.к. вязкоза адсорбирует меньше
<i>Streptococcus pyogenes</i> β-гемолитические стрептококки групп С и G, <i>H.influenzae</i> <i>A. haemolyticum</i> <i>S.aureus</i> ²	Культуральное исследование (в аэробных условиях)	Мазок со слизистой зева, задней стенки глотки	Транспортная система (зонд-тампон в стерильной пробирке) обычная атмосфера 18-22°C ≤ 2 ч Транспортная система (зонд-тампон в стерильной пробирке с транспортной средой) обычная атмосфера 18-22 °C Время хранения в соответствии с инструкцией производителя от 24 до 48ч	

<i>F. necrophorum</i> другие анаэробы	Культуральное исследование (в анаэробных условиях)	Аспират из абсцесса	Стерильный контейнер с плотно закручивающейся крышкой обычная атмосфера 18-22 °C ≤ 2 ч Транспортная система (зонд-тампон в стерильной пробирке с транспортной средой для анаэробов)	жидкости и больше клеточного материала. 2. Для сбора биоматериала из зева используют тампоны с упругим аппликатором, чтобы избежать неконтролируемого соприкосновения с языком, губами, деснами и зубами.
Возбудители ангины Венсана – <i>Borrelia vincentii</i> <i>Fusobacterium spp.</i>	Микроскопическое исследование (окраска по Граму)	Мазок со слизистой зева, задней стенки глотки	Пробирка без транспортной среды с тампоном, обычная атмосфера, 18-22°C ≤ 2 ч	Внимание! Взятие материала проводится врачом-оториноларингологом. 1. Аспирируют с помощью шприца содержимое абсцесса. 2. Переносят материал в стерильный контейнер для доставки в лабораторию. 3. При подозрении на наличие анаэробной инфекции часть материала помещают в транспортную систему для анаэробов. 4. Доставка в шприце не рекомендуется; при необходимости доставки в шприце – необходимо удалить иглу, закрыть шприц стерильной резиновой пробкой и в таком виде доставить в лабораторию в кратчайшие сроки.
Вирусы: ВЭБ, ВПГ, ЦМВ, ВИЧ коронавирусы	Серологические исследования Иммунофлюоресцентная микроскопия Молекулярно-биологическое исследование (ПЦР ³)	5 мл сыворотки Мазок с изъязвлениями, содержимое везикул, аспират	Центрифужная пробирка, 18-22°C, ≤ 2 ч Пробирка с тампоном без транспортной среды 18-22°C, обычная атмосфера, ≤ 2 ч Стерильный контейнер с плотно закручивающейся крышкой обычная атмосфера 18-22 °C ≤ 2 ч	

Сокращения: ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр, ВПГ – вирус простого герпеса, ЦМВ – цитомегаловирус, ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

Примечания.

1. Для адекватного и быстрого назначения антибактериальной терапии экспресс – тест на *S. pyogenes* рекомендуется проводить в кабинете врача. Отрицательный результат экспресс-тестов на *S. pyogenes* следует подтверждать культуральным исследованием. Поэтому оптимальным выбором для доставки пробы является транспортная система с двумя тампонами, взятыми из одного очага воспаления или два отдельных тампона. В случае положительного экспресс-теста, второй тампон подлежит утилизации, а при отрицательном используется для культурального исследования [1, 4].
2. Исследование мазков на *S.aureus* проводится с целью выявления носительства.
3. Молекулярно-генетический анализ с использованием ПЦР является наиболее чувствительным методом, однако требует специального оборудования. В случае применения этих методик отрицательный результат не требуется подтверждать культуральным методом [1, 4, 5].

5. Аналитический этап

5.1 Микроскопическое исследование

При исследовании мазков со слизистой зева и задней стенки глотки микроскопию нативного материала рекомендуется проводить только при подозрении на ангину Венсана. Для исследования рекомендуется брать материал из некротически изъязвленных участков зева. Приготовление и окраска мазка приведены в документе «Методы окраски».

5.2 Культуральное исследование

Посев проб биоматериала, доставленных в контейнере или на зонд-тампоне в транспортной среде (или без неё), производится на 5% кровяной агар (КА) и шоколадный агар, при необходимости исследования на анаэробы – агар для анаэробов или агар Шедлера, на стафилококки - среды для стафилококков: маннит-солевой (МСА), желточно-солевой (ЖСА), агар Байрд-Паркера (БП), хромогенный агар для стафилококков, для грибов: агар Сабуро с добавками и без добавок, хромогенный агар для грибов (см. документ «Методы посевов»).

Посевы необходимо инкубировать при 35–37° С в течение 18–24 часов. Дополнительная инкубация до 48 ч увеличивает вероятность обнаружения значимой микрофлоры, при необходимости исследования на анаэробы посевы инкубируют в анаэробной атмосфере в течение 5–7 дней.

Рекомендации по основным и дополнительным питательным средам для посева в зависимости от клинической информации, условиям инкубации, кратности просмотра посевов представлены в таблице 2 [8].

Питательные среды и условия культивирования для целевых микроорганизмов

Клиническая информация	Биоматериал	Основные питательные среды	Условия инкубации			Просмотр посевов	Целевой микроорганизм/микроорганизмы
			Температура °С	Атмосфера	Время (ч)		
Фарингит Эпиглоттит Тонзиллит Ларингит	Мазок со слизистой зева, задней стенки глотки	5% кровяной агар (КА) ¹	35-37	5-10% CO ₂ или аэробная	18-48 ²	Ежедневно	Стрептококки групп А, С и G, <i>A. haemolyticum</i> ³
Дополнительно:							
Клиническая информация	Биоматериал	Дополнительные питательные среды	Инкубация			Просмотр посевов	Целевой микроорганизм(ы)
			Температура °С	Атмосфера	Время (ч)		
Эпиглоттит	Мазок из зева	Шоколадный агар ⁴	35-37	5-10% CO ₂	18 -48	Ежедневно	<i>H. influenzae</i>
Иммуносупрессия, Кандидоз полости рта	Мазок со слизистой зева, задней стенки глотки	Агар Сабуро/Хромогенный агар для грибов	35-37	Аэробная	40-48	Ежедневно	Дрожжевые и плесневые грибы
Рецидивирующая ангина, паратонзиллярный абсцесс	Аспират или мазок из зева	Агар для анаэробов/Шедлера ⁵	35-37	Анаэробная	5-7 дней	≥48ч Ежедневно	<i>F. necrophorum</i> Другие анаэробы (<i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Peptostreptococcus</i>)
Носительство <i>S. aureus</i>	Мазок со слизистой зева, задней стенки глотки	Среды для стафилококков (МСА, ЖСА, БП и др.)/Хромогенный агар для стафилококков	35-37	Аэробная	18 -48	Ежедневно	<i>S.aureus</i>
1. Для выделения стрептококков можно использовать с добавлением налидиксовой кислоты или азида натрия 2. Может быть продлено до 72 часов для <i>A. haemolyticum</i> 3. После 48-часовой инкубации на кровяном агаре колонии <i>A. haemolyticum</i> образуют узкие зоны β-гемолиза и имеют диаметр около 0,5 мм. При отодвигании в сторону выросшей колонии на ее месте может быть обнаружено углубление. 33. 4. Можно использовать с диском бацитрацина 10 ЕД 5. Можно использовать с диском метронидазола 5 мг							

5.3 Идентификация микроорганизмов

Идентификация микроорганизмов выполняется с использованием биохимических, иммунологических (включая серологические), молекулярно-биологических и физико-химических (включая масс-спектрометрические) технологий [17].

Необходимый минимальный уровень идентификации микроорганизмов, являющихся этиологически значимыми при исследовании биоматериалов со слизистой зева и задней стенки глотки, представлен в таблице 3.

Таблица 3

Необходимый минимальный уровень идентификации микроорганизмов при
фарингитах/тонзиллитах

Микроорганизмы	Минимальный уровень идентификации
<i>H. influenzae</i>	До вида
<u>β-гемолитические стрептококки</u>	До группы по Лансфилд
<i>S.pyogenes</i>	До вида
<i>S. aureus</i>	До вида
Дрожжевые грибы	До рода
<i>F. necrophorum</i>	До вида
Дополнительно могут быть идентифицированы и другие микроорганизмы, если это необходимо по клиническим или эпидемиологическим показаниям. Дрожжевые грибы, выделенные от пациентов с ослабленным иммунитетом, рекомендуется идентифицировать и определять чувствительность к антимикотикам.	

5.4 Определение чувствительности к антимикробным препаратам

1. При обнаружении клинически значимых микроорганизмов проводят определение чувствительности к антимикробным препаратам;

2. Определение чувствительности к антимикробным препаратам изолятов бактерий и грибов необходимо проводить в соответствии с актуальной версией российских рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» и/или актуальной версии документа Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST);

3. Определение чувствительности нормальной микробиоты не проводят.

6. Постаналитический этап

6.1 Результаты микроскопии

Обнаружение большого количества веретенообразных палочек и спирохет подтверждает диагноз «ангина Венсана» при исследовании материала из некротически изъязвленных участков зева.

Сроки предоставления результатов микроскопии

Рекомендуется сообщать результаты микроскопии, как только они будут известны, но не позднее 24 ч после поступления образца в лабораторию.

6.2 Результаты культурального исследования

6.2.1 Интерпретация и формулировка результата

- **Отрицательный результат**

1. При направлении биоматериала на *S.pyogenes* (БГСА) отрицательный результат исследования рекомендуется выдавать с формулировкой «*S.pyogenes* (бета-гемолитический стрептококк гр А) не выделен/не обнаружен»;

2. При направлении мазка «На носительство *S.aureus*» отрицательный результат исследования рекомендуется выдавать с формулировкой «*S.aureus* не выделен/не обнаружен»;

3. При направлении мазка «На микробиоту с определением чувствительности» при отсутствии значимого роста выдать результат об отсутствии роста этиологически значимых микроорганизмов. Допускается в результате исследования дать информацию обо всех выделенных микроорганизмах и их количестве с обязательной формулировкой о принадлежности данных микроорганизмов к нормобиоте;

4. Если на питательных средах рост микроорганизмов не выявлен за все время наблюдения, необходимо сообщить об отсутствии роста микробиоты в доставленном образце.

- **Положительный результат**

1. При направлении биоматериала на *S.pyogenes* (БГСА) положительный результат исследования рекомендуется выдавать с формулировкой «Выделен *S.pyogenes* (бета-гемолитический стрептококк гр А)»;

2. При направлении «На носительство *S.aureus*» положительный результат исследования рекомендуется выдавать с формулировкой «Выделен *S.aureus*». При необходимости скрининга метициллин-резистентных *S. aureus*, указать чувствительность к цефокситину (оксациллину);

3. При направлении мазка «На микробиоту с определением чувствительности» в случае роста этиологически значимых микроорганизмов, представленных в табл. 3, необходимо указать их вид, количество и чувствительность к антимикробным препаратам;

4. У лиц преклонного возраста и пациентов с иммунодефицитом колонизация глотки микроорганизмами порядка *Enterobacterales* (*E.coli*, *Klebsiella* spp. и др.), неферментирующими грамотрицательными бактериями (*Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp.), *S. aureus*, *Candida* spp. может свидетельствовать о наличии, а иногда и являться

причиной, инфекций нижних дыхательных путей, например, пневмонии или бактериемии. В этом случае необходимо определять чувствительность данных микроорганизмов к антимикробным препаратам.

6.2.2 Сроки выдачи результатов

Предварительные результаты. Предварительные срочные результаты должны быть выданы при обнаружении этиологически значимых микроорганизмов (представленных в табл. 3), как только будет обнаружен рост микроорганизма и проведена его идентификация.

Окончательные результаты. Сроки выдачи окончательных результатов 48-72 часа с момента поступления образца в лабораторию.

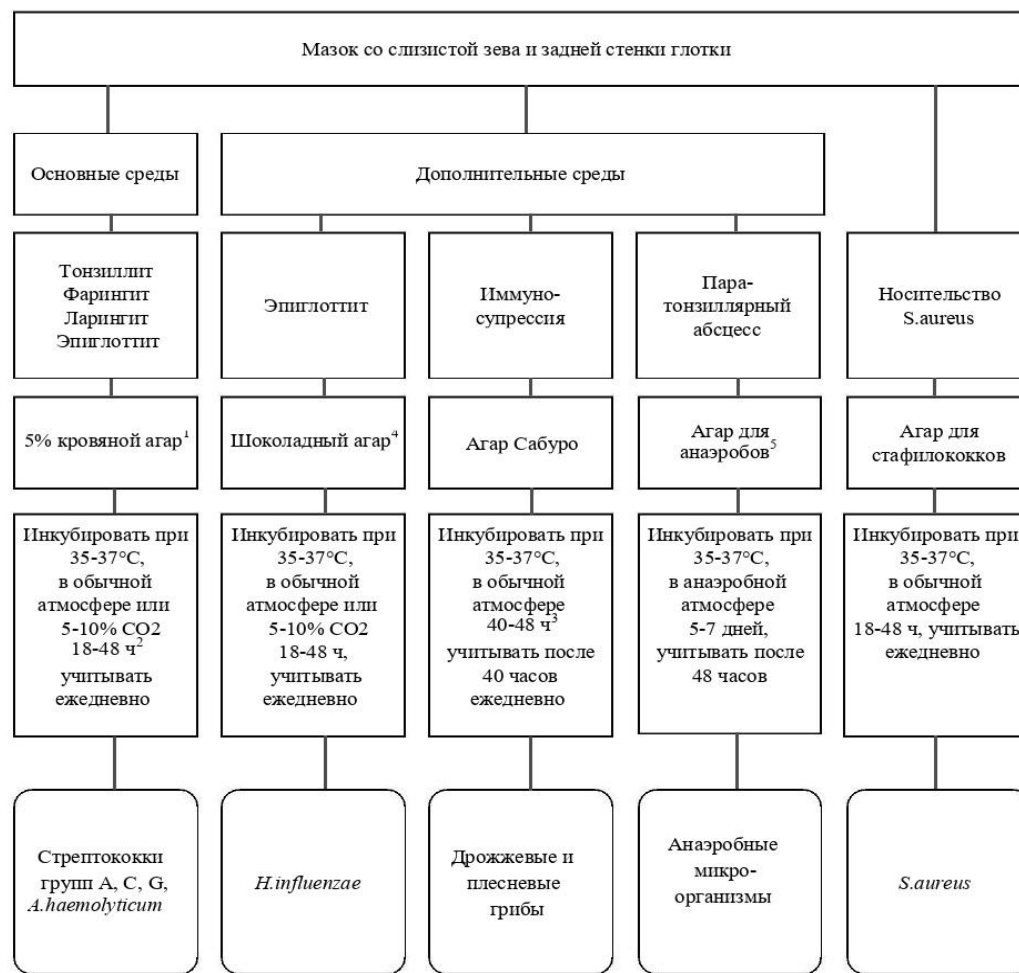
Рост грибов может быть передан как отрицательный после 48 часов инкубации, хотя культуры должны инкубироваться до 5-7 дней и более. В случае роста грибов должен быть выдан дополнительный отчет.

7. Список литературы

1. Союз педиатров России, Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов, Международная общественная организация "Евро-Азиатское общество по инфекционным болезням", Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Клинические рекомендации «Острый тонзиллит и фарингит (Острый тонзиллофарингит)» у взрослых и детей, год утверждения 2024.
2. Союз педиатров России, Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Клинические рекомендации «Острый обструктивный ларингит, эпиглоттит, постинтубационный отек трахеи» у взрослых и детей, год утверждения 2024.
3. J. Michael Miller,1 Matthew J. Binnicker, Sheldon Campbell, et al. Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM).
4. Брико Н. И., Ещина Л. А., Ряпис Л. А. Лабораторная диагностика стрептококковых инфекций // Пособие для врачей и научных работников. – М.: Хризостом. – 2000. – 64 с.
5. Clinical microbiology procedures handbook / editor in chief, Amy L. Leber, 2016.
6. Shulman S.T., Bisno A.L., Clegg H.W., Gerber M.A., Kaplan E.L., Grace L., Martin J.M., Beneden C.V. Clinical practice guideline for the diagnosis and management of group A Streptococcal pharyngitis: 2012 update by the Infectious Diseases Society of America. 2012: 1-17.

7. Boccazzi A., Garotta M., Pontari S., Agostoni C.V. Streptococcal tonsillopharyngitis: clinical vs. microbiological diagnosis. *Infez Med.* 2011; 19(2):100-105.
8. UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of Throat Related Specimens. Issued by the Standards Unit Microbiology Services, PHE Bacteriology |B 9 | Issue number: 8 | Issue date: 15.04.15 |
9. МУ 4.2.2039-05. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания" (утв. Роспотребнадзором 23.12.2005).
10. Алиева Е.В., Кафтырева Л.А. Преаналитический этап микробиологических исследований. Методические рекомендации. Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины». Москва, 2017.
11. Карамышева А. А., Барканова О. Н. Забор материала для бактериологического исследования как основа успеха антибактериальной терапии // *Лекарственный вестник.* – 2011. - №1 (46). – Т. 6. – с. 41 – 47.
12. М. Н. Зубков Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований. – *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2004. – Т. 6. - № 2. – с. 143 – 154.
13. ГОСТ Р ИСО 15189-2024 «Лаборатории медицинские. Требования к качеству и компетентности». Утвержден и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1741-ст от 22 ноября 2024 г.
14. Отвагин И. В., Соколов Н. С. Современные аспекты диагностики инфекций, вызванных стрептококками группы А // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2011. – Т. 13. - № 3. – с. 223 – 230.
15. European manual of clinical microbiology – 1st edition / editors Cornaglia G., Courcoul R., Herrmann J.-L., Kahlmeter G., Peigue – Lafeuille H., Vila J. – 2012.
16. Гаращенко Т. И. Антибактериальная терапия при заболеваниях глотки у детей // *Лечебное дело.* – 2005. - № 3. – с. 47 – 59.
17. Приказ Минздрава России от 18.05.2021 N 464н "Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований" (Зарегистрировано в Минюсте России 01.06.2021 N 63737).

Блок-схема исследования материалов со слизистой зева и задней стенки глотки



1. Для выделения стрептококков можно использовать с добавлением налидиксовой кислоты или азида натрия
2. Может быть продлено до 72 часов для *A. haemolyticum*
3. Инкубация может быть продлена до 5 дней. В таких случаях чашки с посевами следует просматривать через ≥48 часов, затем оставлять в термостате / шкафу до 5-го дня.
4. Можно использовать с диском бацитрацина 10 ЕД
5. Можно использовать с диском метронидзола 5 мг

