

7. Микробиологична диагностика на бактериални и гъбични инфекции на горни дихателни пътища

7.1. Обща характеристика на инфекциите на горни дихателни пътища

Обикновено засягат ушите, лигавиците, покриващи носа и гърлото над епиглотиса, както и синусите. Повечето инфекции на носа и гърлото са причинени от вируси. Неправилната употреба на антибиотици при вирусни инфекции е основната причина за нарастващата антибиотична резистентност. Правилната микробиологична диагностика на инфекциозните синдроми в тези органи е важна не само за определяне на етиологичния причинител, но и за стартиране на адекватната терапия.

7.2. Ключови моменти в микробиологичната диагностика на инфекциите на горни дихателни пътища (Miller J et al, 2018):

- При среден отит и синусит вземането на проби с тампон не е препоръчително. За изследване се изпраща аспират;
- За правилно взет гърлен секрет се изисква пробата да е снета нежно и старателно от задна фарингеална стена и тонзилите, като се избягва докосване на букална лигавица, венци и зъби;
- *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis* и *Streptococcus pneumoniae* не са етиологични причинители на остър фарингит и не следва да бъдат съобщавани в резултатите от изследванията. Те са предимно обитатели (колонизатори) в назофаринкса;
- Назофарингеалните секрети не могат с точност да определят етиологичния причинител при синусит.

7.3. Микробиологична диагностика при среден отит

Средният отит (СО) е едно от най-честите състояния при децата, налагащо посещение при лекар и прием на антибиотици (Grijalva CG, 2009). Острият среден отит с ексудация е клинична форма на СО, която се характеризира с бактериална етиология и е с най-голям шанс за благоприятно повлияване от антибиотична терапия (Lieberthal AS, 2013; Klein JO, 2014), (Таблица 15). *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* са сред най-честите причинители на СО заедно със *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* и *Pseudomonas aeruginosa*, но последните 3 бактерия се срещат по-рядко (Ngo CC, 2016). *Turicella otitidis* и *Staphylococcus auricularis* също се считат за причинители на СО, но са необходими допълнителни проучвания, които да докажат тяхното етиологично значение (Ngo CC, 2016; Sillanpaa S, 2017). Хроничният супуративен СО се асоциира с по-висок риск от усложнения спрямо острия. *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* са сред най-често срещаните патогени при хроничен СО (Mittal R, 2015). Известно е, че голям брой вируси също могат да са причина за СО. При тях обаче, поради липсата на специфична противовирусна терапия, налагането на подход за етиологична диагностика, не е наложително. Опитите да се

установи етиологичният причинител са най-добре оправдани при пациенти с вероятност за бактериална инфекция (скорошно начало, бомбирана тъпанчева мембрана, болка или ексудат), които не са се повлияли от предходна антимикробна терапия, пациенти с имунни дефицити и пациенти с остро начало на заболяването (Grijalva CG, 2009; Klein JO, 2014). Единственият подходящ материал за микробиологично изследване е течност от средно ухо, получена или чрез тимпаноцентеза, или при пациенти с оторрея или миринготомни дренаже, чрез събиране на дренажната течност с фин тампон, веднага след почистване на ушния канал. Материали от фаринкс, назофаринкс, долни носни конхи или дренаж от носа, са неинформативни при търсенето на етиологичната причина за бактериален СО (Таблица 15), (Baron EJ., 2015).

Таблица 15. Микробиологична диагноза на среден отит (по Miller J et al, 2018)

Етиологичен причинител	Микробиологични диагностични процедури	Подходящ материал	Транспортна среда и оптимално време за транспорт
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Оцветяване по Грам	Течност, взета при тимпаноцентеза	Стерилен контейнер, транспорт при СТ, <2ч
<i>Haemophilus influenzae</i>	Аеробна бактериална култура	Дренажна течност от средно ухо	Транспортна хранителна среда, транспорт при СТ, < 2ч
<i>Moraxella catarrhalis</i>			
<i>Streptococcus pyogenes</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Alloicoccus otitidis</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			

Съкращения: СТ - стайна температура

7.4. Микробиологична диагностика при синусит

Риносинуситът засяга ежегодно около 12%-15.2% от възрастната популация. Етиологичните агенти, които причиняват остър и хроничен риносинусит, варират в зависимост от продължителността на симптомите и дали инфекцията е придобита в обществото или е с нозокомиален произход (Таблица 16). *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* са най-честите бактериални причинители на острия максиларен синусит. Ролята на респираторните вируси е дискутабилна, но при повечето пациенти с остър синусит се открива респираторен вирус в началото на заболяването (Orlandi RR, 2016). *Staphylococcus aureus*, Грам-негативни бактерии, *Streptococcus spp.* и анаероби се асоциират в по-голяма честота със субакутните, хронични или свързани с медицинско обслужване синусити (Brook I., 2016). Ролята на гъбичките като етиологични причинители е спорна, вероятно заради многобройните публикации, които използват неподходящи методи за събиране на проби, поради което не се откриват гъбичните агенти. В имунокомпетентни гостоприемници гъбичките се асоциират по-често с хроничните синусити, въпреки че значението на гъбичното присъствие при хроничен синусит често е несигурно (Orlandi RR, 2016; DeMuri GP, 2015; Cherry JD, 2014). Инвазивният синусит, поради гъбични инфекции в имунокомпрометирани лица или пациенти с неконтролиран диабет, често протича тежко и е свързан с висока смъртност. Опитите да се постави етиологична диагноза на синуситите основно се правят при пациенти с усложнени инфекции или хронични заболявания (пациенти, които са тежко болни, имунокомпрометирани, както и такива, които продължават да се влошават клинично въпреки продължителните курсове антибиотична терапия, или тези, които имат рекурентни пристъпи на остри

риносинуити). Тампоните не се препоръчват за събиране на синусови проби, тъй като аспиратът е много по-подходящ за установяване на истинския етиологичен агент и затова е средство на избор. От ендоскопски получени тампони могат да се докажат бактериални патогени, но рядко се откриват гъбички (Baron EJ., 2015; Chow AW, 2012; Orlandi RR., 2004). При максиларния синуит антралната пункция със синусова аспирация и тампоните с материала, взет от средния меатус, получени под ендоскопски контрол при възрастни, са единствените подходящи проби. Култури от дренажни проби от средния меатус не се препоръчват при деца поради колонизация с нормална микрофлора, която се припокрива с потенциални патогени на дихателните пътища. Изследването на носния дренажен материал няма съществено значение за определяне на причината за максиларен синуит. Необходими са хирургични процедури, за да се получат проби, представителни за инфекция на предните, сфеноидалните или етмоидалните синуси. За установяване на гъбична етиология се препоръчва ендоскопски аспират от синуса (Orlandi RR, 2004), но често е непродуктивен за гъбичния агент. Тъканната биопсия може да бъде по-подходяща.

Таблица 16. Микробиологична диагностика на синуит (Miller J et al, 2018)

Етиологичен причинител	Микробиологични диагностични процедури	Подходящ материал	Транспортна среда. Оптимално време за транспорт
1. При остър максиларен синуит			
Бактериален			
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> ^a <i>Streptococcus pyogenes</i> ^a	Оцветяване по Грам Аеробно бактериално култивиране	Аспират, взет чрез антрална пункция Материал от среден меатус, взет под ендоскопски контрол (при възрастни)	Вакуум-аспиратор за колекция на синусов секрет Стерилен контейнер, транспорт на СТ, <2ч Транспортна хранителна среда, транспорт на СТ, <2ч.
2. При усложнени (хронични) синуити			
Бактериален			
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i> Смесена (аеробно-анаеробна) флора от устна кухина	Оцветяване по Грам Аеробно и анаеробно бактериално култивиране	Аспират, взет чрез антрална пункция ^b Хирургически взета тъкан или аспират	Вакуум-аспиратор за колекция на синусов секрет Стерилен контейнер за анаероби, транспорт на СТ, <2ч ^c
Гъбичен			
<i>Aspergillus spp</i> <i>Mucormycetes</i> <i>Fusarium spp</i> Други плесени	Оцветяване за гъбички Култивиране на гъбички	Аспират, взет чрез антрална пункция Хирургически взета тъкан или аспират	Вакуум-аспиратор за колекция на синусов секрет Стерилен контейнер за аероби, транспорт на СТ, <2ч

Съкращения: СТ-стайна температура.

^a*Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes* могат да причинят максиларен синуит, но в редки случаи.

^bАнтралната пункция е полезен метод за вземане на проби от максиларни синуси.

^cТранспортните флакони за анаероби са подходящи както за анаероби, така и за аероби.

7.5. Микробиологична диагностика при фарингит

На острия фарингит се дължат около 1,3% от амбулаторните посещения при лекар в Съединените щати. През 2006 г. с остър фарингит в САЩ са регистрирани 15 милиона пациенти (Wessels MR., 2011). Повечето фарингити са вирусни и не е необходимо да бъдат лекувани с антибиотици, но 10% -15% от фарингитите при възрастни и 15% -30% при деца се дължат на стрептококи от група А (Flores AR, 2015). Съществуват разлики в епидемиологията на различните инфекциозни агенти, свързани с възрастта на пациента, годишния сезон, съпътстващите признаци и симптоми, както и наличието или отсъствието на системно заболяване. За установяване на окончателна етиологична диагноза обаче освен клинични и епидемиологични данни са необходими и микробиологични изследвания (Bourbeau PP., 2003). Резултатите от микробиологичните тестове играят централна роля в насочването на терапията (Таблица 17). Антимикробната терапия е оправдана само при пациенти с фарингит с доказана бактериална етиология (Neuner JM, 2003). *Streptococcus pyogenes* (β-хемолитичен стрептокок, гр. А) е най-честата бактериална причина за фарингит и води до сериозни последици, предимно при деца, ако останат недиагностицирани или неадекватно лекувани. Няколко микробиологични подхода, включително културелно изследване, бързи антигенни тестове и молекулярни методи, се използват за установяване на етиологичната диагноза на фарингит, причинен от този микроорганизъм (Bourbeau PP., 2003, Shulman ST, 2012). През последните няколко десетилетия бързите антигенни тестове за *S. pyogenes* са широко използвани при оценката на пациенти с фарингит. Такива тестове са технически невзискателни, като цяло надеждни и често се извършват в здравното заведение. Точността и клиничната значимост на всеки един от методите зависи от подходящата техника при вземане на пробите. Препоръчва се негативните бързи антигенни тестове за *S. pyogenes* при деца да бъдат потвърдени чрез бактериална култура или молекулярно-биологична проба. За постигане на максимална чувствителност за диагностициране на фарингит от *S. pyogenes* при възрастни трябва да се използва конвенционална култура или потвърждаване на отрицателни резултати от бърз антигенен тест чрез култура (Shulman ST, 2012). Според стандартите за добра лабораторна практика в САЩ (Clinical Laboratory Improvement Amendments-CLIA) молекулярните методи за изследване на стрептококи от група А имат подобрена чувствителност и не изискват културелно потвърждаване на резултата (Cohen DM, 2015; Wang F, 2017), въпреки че те все още не са включени в консенсусите. Ролята на бета-хемолитичните стрептококи от други групи освен гр. А (по-специално групи С и G), като причинители на фарингит, е спорна. Въпреки това се счита, че тези микроорганизми са от значение. Съобщени са редки случаи на постстрептококов гломерулонефрит след инфекция с тези видове. Затова се препоръчва откриване и на β-хемолитични стрептококи от група С и G (те образуват големи по размер колонии за разлика от групата на *Streptococcus anginosus*, която се характеризира с малки по размер колонии, колкото връх на топълъка и не причинява фарингит). Посочва се обаче, че това трябва да се прави само тогава, когато има епидемиологично свързани случаи на фарингит. Изолирането на един и същ микроорганизъм от множество пациенти по време на епидемиологично огнище следва да бъде проучено. *Arcanobacterium haemolyticum* също причинява фарингит, но по-

рядко. Той се среща най-често при тийнейджъри и млади възрастни и предизвиква силно наподобяващ скарлатина обрив при някои пациенти. *Neisseria gonorrhoeae* и *Corynebacterium diphtheriae* при определени пациенти и специфични епидемиологични условия могат също да причинят фарингит (Flores AR, 2015). Респираторните вируси са най-честата причина за фарингит и при двете популации – на възрастните и на децата. Въпреки това, не е необходимо да се дефинира специфична етиология при пациенти с фарингит, дължащ се на респираторни вируси, тъй като не съществува патогенетична терапия за тези агенти. HSV, HIV и Epstein-Barr вирусът (EBV) също могат да причинят фарингит. Поради епидемиологичните и клиничните последици от инфекция, причинена от HSV, HIV и EBV, могат да възникнат случаи, при които е важно да се определи дали инфекцията на съответния пациент се причинява от някой от тези три агента (Flores AR, 2015). Установена е връзка между *Fusobacterium necrophorum* и фарингит при някои пациенти. В този случай инфекцията на гърлото може да бъде прелюдия към синдрома на Lemierre. *Fusobacterium necrophorum* е анаеробен микроорганизъм и като такъв изисква допълнителни хранителни среди и анаеробни процедури за изолация и идентификация, които повечето лаборатории не са готови да предложат. Затова е важно лабораторията да бъде уведомена за предполагаемата диагноза и етиологичния агент, с оглед осигуряване на възможност за подходяща микробиологична диагностика. При невъзможност за извършване на съответните изследвания материалът следва да бъде изпратен до референтна лаборатория (Klug TE, 2016; Bank S, 2013; Amess JA, 2007).

Таблица 17. Лабораторна диагностика на фарингит (Miller J et al, 2018)

Етиологичен причинител	Диагностични процедури	Подходящ материал	Транспортна среда. Оптимално време за транспорт
I. Бактериален			
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Бърз антигенен тест (при негативен резултат се последва от култивиране или тест за амплификация на НК - NAAT) ^a Директен тест за амплификация на НК ^b ДНК сондиране ^b	Двоен фарингеален секрет Фарингеален секрет Фарингеален секрет	Транспортна хр. среда, СТ, <2ч. Транспортна хр. среда, СТ, <2ч. Транспортна хр. среда, СТ, <2ч.
β - хемолитични стрептококи гр. С и G ^c	Култивиране на гърлен секрет и/или антигенни тестове за стрептококи гр. С и G Тест за амплификация на НК	Фарингеален секрет Следване инструкциите на производителя за използвания метод	Транспортна хр. среда, СТ, <2ч. Следване инструкциите на производителя за използвания метод
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> ^d	Култивиране на гърлен секрет	Фарингеален секрет	Транспортна хр. среда, СТ, <2ч.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ^d	Култивиране на гърлен секрет или тест за амплификация на НК	Фарингеален секрет	Транспортна хр. среда, СТ, <2ч.
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ^d	Оцветяване с метиленово синьо	Псевдомембрана	Стерилен контейнер, СТ, <2ч.

Таблица 17. (продължение)

Етиологичен причинител	Диагностични процедури	Подходящ материал	Транспортна среда. Оптимално време за транспорт
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Анаеробна инкубация. Достъпна е селективна среда	Фарингеален секрет	Транспортна среда за анаероби, СТ, <2ч.
2. Вирусен			
EBV	Моноспот тест [†] ; и/ или серология	5ml серум	Епруветка за серум, СТ, <2ч. или съхранение в хладилник <24ч.
HSV (обикновено тип 1)	Тестове за директна детекция ^g Култивиране ^g HSV IgG и IgM антитела ^g	Материал от фарингеална лезия 5ml серум	Транспортна хр. среда, СТ, <2ч. Епруветка за серум, СТ, <2ч. или съхранение в хладилник <24ч
CMV	CMV IgM антитела	5ml серум	Епруветка за серум, СТ, <2ч. или съхранение в хладилник <24ч
HIV	Виж раздел HIV		

Съкращения: CMV-цитомегаловирус; EBV-Ерstein-Вaгг вирус; HIV-човешки имунодефицитен вирус; HSV- вирус на обикновения херпес; IgG -, имуноглобулин G; IgM - имуноглобулин M; NAAT - тест за амплификация на нуклеинови киселини; СТ-стайна температура.

^aБързият тест за антигени на *Streptococcus pyogenes* може да бъде извършен в лечебното заведение или в лабораторията. Съществуват множество бързи антигенни тестове. Те се различават по чувствителността и предназначението им. При педиатрични пациенти, в случаи на негативен директен антигенен тест, се препоръчва повторно вземане на гърлен секрет, тъй като чувствителността му е <80%. След това се прави тест за амплификация на НК и/или култивиране за избягването на фалшиво-негативните резултати при бързия антигенен тест (Neuner JM, 2003). При възрастни пациенти не се налага такова повторно изследване (Shulman ST, 2012). При педиатрични пациенти за улесняване на този 2-стъпков алгоритъм при изследване за *Streptococcus pyogenes* е уместно да се вземе двоен фарингеален секрет, като в случаи на положителен бърз антигенен тест, ненужният материал се изхвърля.

^bАмплификационните тестове за детекция на нуклеинови киселини (NAAT) на *Streptococcus pyogenes* са по-чувствителни от директните тестове за антигени, затова отрицателните резултати от NAAT няма нужда да бъдат потвърждавани чрез повторно тестване. Използваната транспортна хранителна среда трябва да бъде съвместима с използвания амплификационен тест.

^cПациенти, при които има съмнение за етиологична роля на β-хемолитични стрептококи от гр. С и G, изследването се допълва от култивиране на гърлен секрет. Единствено големи по размер колонии се подлагат на идентификация, тъй като малките колонии (притежаващи антигени на гр. С и G), принадлежат към групата на *Streptococcus anginosus* (*S.milleri*). Проверка за рутинно изследване на последните се прави в съответната лаборатория.

^d*Arcanobacterium haemolyticum*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Corynebacterium diphtheriae* причиняват фарингит само при определени епидемиологични условия. Лабораторията няма рутинна насоченост да търси тези микроорганизми в гърлени секрети. Ако съществува клинична насоченост и се подозира някой от тези причинители, лабораторията трябва да бъде уведомена и да бъдат приложени съответни мерки.

^eТестове за амплификация на НК в гърлени секрети за търсене на гонорея понастоящем не се употребяват, но при нужда могат да бъдат валидирани и използвани в съответната лаборатория.

[†]Положителният резултат от Моноспот тест, може да бъде считан за диагностичен за EBV. До 10% от резултатите обаче могат да бъдат фалшиво отрицателни, като най-често те се срещат при деца, но могат да бъдат наблюдавани във всяка възраст. При пациент с клинично съмнение и отрицателен Моноспот тест, дефинитивната диагноза се поставя със серологично изследване за специфични IgM срещу EBV. За това тестване може да бъде ползвана същата проба, която е дала негативния Моноспот тест. Като алтернатива, Моноспот тестът може да бъде повторен с

проба от серум, взета 7-10 дни по-късно. По този начин, ако пациентът има EBV инфекция, е твърде вероятно за това време тя да доведе до позитивиране на Моноспот теста. Виж Секция XIV за вирусна диагностика.

^aВероятна причина за фарингит у имунокомпрометирани пациенти. Разработени са многобройни бързи тестове, базирани на детекция на HSV специфичен антиген директно в клиничния материал. Оцветяването по Tzanck е много нечувствителен и неспецифичен метод и употребата му не се препоръчва. Материал за изследване се взема с памучен тампон с по-агресивен натиск от основата на няколко от фарингеалните лезии. След това тампонът се поставя в транспортна среда, която е съвместима с теста. Култивирането може да бъде полезно при имунокомпрометирани пациенти.

^bСерологичните тестове при HSV се използват главно за проверка на имуен и експозиционен статус. Серологично изследване на IgM вече не се препоръчва.

Литература

1. Amess JA, O'Neill W, Giollariabhaigh CN, Dytrych JK. A six-month audit of the isolation of *Fusobacterium necrophorum* from patients with sore throat in a district general hospital. *Br J Biomed Sci* 2007; 64:63–5.
2. Bank S, Christensen K, Kristensen LH, Prag J. A cost-effectiveness analysis of identifying *Fusobacterium necrophorum* in throat swabs followed by antibiotic treatment to reduce the incidence of Lemierre's syndrome and peritonsillar abscesses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32:71–8.
3. Baron EJ. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, et al, eds. *Manual of clinical microbiology*. 11th ed. Washington, DC: ASM Press, 2015:270–315.
4. Bourbeau PP. Role of the microbiology laboratory in diagnosis and management of pharyngitis. *J Clin Microbiol* 2003; 41:3467–72.
5. Brook I. Microbiology of chronic rhinosinusitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35:1059–68.
6. Cherry JD, Mundi J, Shapiro NL. Rhinosinusitis. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinback WJ, Hotez PJ, eds. *Feigin and Cherry's textbook of pediatric infectious diseases*, 7th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2014:193–203.
7. Chow AW, Benninger MS, Brook I, et al. IDSA clinical practice guideline for acute bacterial rhinosinusitis in children and adults. *Clin Infect Dis* 2012; 54:e72–112.
8. Cohen DM, Russo ME, Jaggi P, Kline J, Gluckman W, Parekh A. Multicenter clinical evaluation of the novel Alere i Strep A isothermal nucleic acid amplification test. *J Clin Microbiol* 2015; 53:2258–61.
9. DeMuri GP, Wald ER. Sinusitis. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practices of infectious diseases*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2015:774–83.
10. Grijalva CG, Nuorti JP, Griffin MR. Antibiotic prescription rates for acute respiratory tract infections in US ambulatory settings. *JAMA* 2009; 302:758–66.
11. Flores AR, Caserta MT. Pharyngitis. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practices of infectious diseases*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2015:753–9.
12. Klein JO, Bluestone CD. Otitis media. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinback WJ, Hotez PJ, eds. *Feigin and Cherry's textbook of pediatric infectious diseases*, 7th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2014:209–32.
13. Klug TE, Rusan M, Fuursted K, Ovesen T, Jorgensen AW. A systematic review of *Fusobacterium necrophorum*-positive acute tonsillitis: prevalence, methods of

- detection, patient characteristics, and the usefulness of the Centor score. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35:1903–12.
14. Lieberthal AS, Carroll AE, Chonmaitree T, et al. Clinical practice guideline: the diagnosis and management of acute otitis media. *Pediatrics* 2013; 131:e964–9
 15. Miller J., Binnicker M., Campbell S., Carroll K., Chapin K., Gilligan P. et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology *CID* 2018; 67(6): e1–e94.
 16. Mittal R, Lisi CV, Gerring R, et al. Current concepts in the pathogenesis and treatment of chronic suppurative otitis media. *J Med Microbiol* 2015; 64:1103–16.
 17. Neuner JM, Hamel MB, Phillips RS, Bona K, Aronson MD. Diagnosis and management of adults with pharyngitis. A cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139:113–22.
 18. Ngo CC, Massa HM, Thornton RB, Cripps AW. Predominant bacteria detected from the middle ear fluid of children experiencing otitis media: a systematic review. *PLoS One* 2016; 11:e0150949.
 19. Orlandi RR. Biopsy and specimen collection in chronic rhinosinusitis. *Annals Otol Rhinol Laryngol* 2004; 193(Suppl):24–6.
 20. Orlandi RR, Kingdom TT, Hwang PH, et al. International consensus statement on allergy and rhinology: rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2016; 6(Suppl 1):S22–209.
 21. Sillanpaa S, Kramma L, Oikarinen S, et al. Next-generation sequencing combined with specific PCR assays to determine the bacterial 16s rRNA gene profiles of middle ear fluid collected from children with acute otitis media. *mSphere* 2017; 2:e00006–17.
 22. Shulman ST, Bisno AL, Clegg HW, et al. Clinical practice guideline for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis: 2012 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2012; 55:e86–102.
 23. Wessels MR. Streptococcal pharyngitis. *N Engl J Med* 2011; 364:648–55.
 24. Wang F, Tian Y, Chen L, et al. Accurate detection of *Streptococcus pyogenes* at the point of care using the Cobas Liat Strep A Nucleic Acid Test. *Clin Pediatr (Phila)* 2017; 56:1128–34.