

ICS 11.020
C59
备案号: 20486—2007

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 268—2007

淋病诊断标准

Diagnostic criteria for Gonorrhoea

2007-04-17 发布

2007-10-15 实施



中华人民共和国卫生部 发布

前 言

根据《中华人民共和国传染病防治法》制定本标准。

按照国家质检总局国家标准委公告(2005年第146号)、GB 15975-1995《淋病诊断标准及处理原则》自本标准实施之日起废止。

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由卫生部传染病标准专业委员会提出。

本标准由中华人民共和国卫生部批准。

本标准起草负责单位:中国医学科学院北京协和医院。

本标准主要起草人:郑和义、王宝玺、连石、王千秋、苏晓红。

淋病诊断标准

1 范围

本标准规定了淋病的诊断依据、诊断原则和诊断。

本标准适用于全国各级各类医疗卫生机构及其工作人员对淋病的诊断和报告。

2 诊断依据

2.1 流行病学史

有不安全性接触史或多性伴史,或性伴淋病感染史,或新生儿的母亲有淋病史。

2.2 临床表现

2.2.1 无合并症淋病

2.2.1.1 男性淋菌性尿道炎:潜伏期 1d~10d,常为 3d~5d。最初症状为尿道口红肿、发痒、有稀薄或黏液脓性分泌物。24h 后症状加剧,出现尿痛、烧灼感,排出黏稠的深黄色脓液。也可有尿频、尿急。查体可见尿道口红肿、充血及脓性分泌物。

2.2.1.2 女性泌尿生殖系统的淋病

2.2.1.2.1 淋菌性尿道炎:潜伏期 2d~5d,有尿频、尿急、尿痛、尿血及烧灼感。尿道口充血发红,有脓性分泌物;症状比男性淋菌性尿道炎轻,部分患者可无明显症状。

2.2.1.2.2 淋菌性宫颈炎:为女性淋病的主要表现,出现白带增多、阴道口有黏液脓性分泌物排出,外阴瘙痒,阴道内轻微疼痛和烧灼感。妇科检查可见阴道口充血、水肿,子宫颈口充血、糜烂,有黏液脓性分泌物。

2.2.1.2.3 女童淋病:表现为弥漫性阴道炎继发外阴炎,可见阴道口、尿道口、会阴部红肿,病变部位可出现糜烂、溃疡和疼痛。阴道有脓性分泌物,排尿困难。多数是因为与患淋病的父母密切接触而感染,少数因性虐待所致。

2.2.2 有合并症淋病

2.2.2.1 男性淋病合并症

2.2.2.1.1 淋菌性附睾炎、睾丸炎:发病急,初起时阴囊或睾丸有牵引痛,进行性加重,且向腹股沟处扩散。常有全身症状,体温可升高至 40℃。检查可见附睾、睾丸肿大、压痛,病情严重时可触及肿大的精索及腹股沟淋巴结。病变晚期可引起附睾结缔组织增生、纤维化和输精管闭锁,导致不育。

2.2.2.1.2 淋菌性前列腺炎:表现为发热、尿痛、尿频、尿急,有排尿不尽感和会阴胀痛,前列腺肛检有明显压痛和肿大。前列腺分泌物中有大量脓细胞,卵磷脂小体减少。

2.2.2.1.3 其它合并症:还可并发尿道旁腺炎、尿道周围脓肿、海绵体炎、淋菌性阴茎头炎或阴茎头包皮龟头炎、尿道狭窄等。

2.2.2.2 女性淋病合并症

2.2.2.2.1 淋菌性盆腔炎:包括淋菌性子官内膜炎、输卵管炎、输卵管卵巢脓肿、腹膜炎等。

多由于淋菌性宫颈炎未及时治疗或不规则治疗,炎症上行感染引起。好发于育龄妇女。

多数病人有白带增多,且为脓性或血性。全身症状明显,如畏寒、发热、头痛、厌食、恶心、呕吐、双侧下腹痛。

检查可见下腹压痛和肌紧张,尿道、宫颈等处有脓性分泌物。

可发展为输卵管卵巢脓肿或盆腔脓肿,此时可在附件和阴道后穹隆处触及肿物,触痛明显,按之有波动感。如果脓肿破裂,则有腹膜炎甚至中毒性休克等表现。

以后可造成输卵管粘连、阻塞以至不孕或异位妊娠。

2.2.2.2 淋菌性前庭大腺炎：出现前庭大腺红肿、疼痛，腺体开口处有脓性分泌物，大阴唇下 1/2 肿胀明显，还可伴有全身症状和腹股沟淋巴结肿大。

2.2.3 泌尿生殖器外的淋病

2.2.3.1 淋菌性眼结膜炎：新生儿淋菌性眼结膜炎常为经患淋病母亲产道分娩时感染所致，多为双侧性。多于生后 3 天出现症状。而成人淋菌性眼结膜炎多为自我接种感染，或密切接触被分泌物污染的物品所致，单侧或双侧。临床表现为睑结膜充血、水肿，有较大量黄白色脓性分泌物，治疗不及时角膜可失去光泽，继而溃疡，甚至发生穿孔及全眼球炎，最后可导致失明。

2.2.3.2 淋菌性咽炎：主要由于口交所致。表现为咽部疼痛、灼热，吞咽困难。查体：咽黏膜充血，扁桃体红肿，有脓性分泌物附着于咽后壁。

2.2.3.3 淋菌性直肠炎：多见于肛交后，表现为肛门瘙痒、疼痛或坠胀感，排便时加重，有脓性分泌物排出。查体可见直肠黏膜肿胀、糜烂、渗血。

2.2.4 播散性淋病

淋球菌通过血行播散至全身。表现有高热、寒战、关节疼痛、皮损等。关节疼痛好发于膝、肘、腕等关节，局部肿胀，关节腔内积液，关节活动受限，即为淋菌性关节炎。皮损初起为红色小丘疹、红斑，继而出现水疱或脓疱。可发生致命的并发症如淋菌性脑膜炎、心内膜炎、心包炎、心肌炎等。

2.3 实验室检查

2.3.1 涂片革兰染色

男性无合并症患者取尿道分泌物，涂片，作革兰染色，可见典型的细胞内革兰阴性双球菌。

2.3.2 淋球菌分离培养

女性患者、有合并症患者及泌尿生殖器外的淋病患者，应作淋球菌分离培养以确定诊断。从临床标本中分离到形态典型、氧化酶试验阳性的菌落，取菌落作涂片检查，可见革兰阴性双球菌。如标本取自泌尿生殖器外淋病患者或在法医学上有重要意义时，则应对培养的菌株经糖发酵试验或荧光抗体试验以进一步鉴定确证。

2.3.3 按患者临床类型选择检查项目，实验室检查方法见附录 A。

3 诊断原则

应根据流行病学史、临床表现及实验室检查做综合分析，以确定诊断。

4 诊断

4.1 疑似病例

符合 2.1 以及 2.2 中的任何一项者。

4.2 确诊病例

同时符合疑似病例和 2.3 者。

附录 A
(规范性附录)
淋球菌感染的实验室诊断

A.1 标本的采集

取材部位正确与否以及采集的标本质量的好坏对病原学检测的可靠性十分重要。淋球菌的易感细胞是柱状上皮细胞。男性尿道舟状窝及女性宫颈外膜和阴道壁为复层扁平上皮,不是淋球菌的易感部位。

A.1.1 取材拭子 藻酸钙拭子、普通棉拭子及涤纶拭子均可采用。

A.1.2 取材部位 应根据患者的年龄、性别、性接触方式及临床表现决定标本采集的适合部位。同一患者行多部位取材可增加检出阳性率。

对男性异性恋患者一般仅采集尿道标本,有口交史者加取咽部标本;对男性接触患者应采集尿道、直肠及咽部标本;对女性患者常规采集宫颈标本,必要时从尿道、直肠、咽部、前庭大腺和尿道旁腺取材;对幼女采集阴道分泌物,对播散性淋球菌感染者,除泌尿生殖道标本外,还可采集血液、关节液或皮损标本。对新生儿眼炎患者采集眼结膜分泌物,对其母亲采集宫颈、尿道或直肠标本。

A.1.3 取材方法 从不同的解剖部位取材,有一些特殊的注意事项及方法:

(1) 尿道:对男性患者,先用生理盐水清洗尿道口,将男用取材拭子插入尿道内 2cm~3cm,稍用力转动,保留数秒钟再取出,以采集到黏膜上皮细胞。对女性患者,可抵着耻骨联合轻轻按摩尿道后,用同男性相似的方法取材。

(2) 宫颈:取材前用温水或生理盐水湿润扩阴器,应避免使用防腐剂和润滑剂,因为这些物质对淋球菌的生长有抑制作用。如果宫颈口外面的分泌物较多,先用无菌棉拭子清除过多的分泌物。将女用取材拭子插入宫颈管内 1cm~2cm,稍用力转动,保留 10s~30s 后取出。

(3) 直肠:将取材拭子插入肛管 2cm~3cm,向侧方用力,避免接触粪团,从紧靠肛环边的隐窝中取出分泌物。如果拭子碰到粪团,应更换拭子重新取材。

(4) 阴道:对子宫切除的妇女和青春前女孩可采集阴道标本。将取材拭子置于阴道后穹隆 10s~15s,采集阴道分泌物。如果处女膜完整,则从阴道口取材。

(5) 咽部:从咽后壁或扁桃体隐窝采集分泌物。

(6) 其他部位:血液标本抽取后可立即接种于不含多茴香脑磺酸钠(SPS)的血液培养基上,或将经肝素抗凝的血液离心,取白细胞层接种于淋球菌选择性固体培养基上。皮损标本可用针吸、钻孔或刀片刮取的方法采集。关节液可用针吸方法采集并作肝素化处理,以防凝结成块。

A.1.4 标本的运送 淋球菌的抵抗力弱,对热敏感,不耐干燥。取材后标本若不能立即接种,需采用运送系统。Amies 培养基及 Stuart 培养基为常用的两种非营养型运送培养基。置于非营养型运送培养基中的标本应在 12h 内送到实验室,接种于选择性培养基,分离阳性率可达 90%以上。超过 24h 则分离阳性率下降。

A.2 实验室诊断方法

淋球菌感染的实验室诊断技术主要有:①涂片染色直接显微镜检查,观察淋球菌的形态特征;②分离培养淋球菌;③直接检测临床标本中淋球菌细胞成分如抗原或 DNA。

A.2.1 直接显微镜检查 最常用的方法是分泌物涂片作革兰染色,在光学显微镜下观察淋球菌细胞形态。

A.2.1.1 涂片固定:取材后将拭子在玻片上稍用力滚动一下,制成薄而均匀的涂片,自然干燥后将涂

片(涂膜面向上)迅速通过火焰2~3次,加热固定。应避免加热过度使细胞形态扭曲。

A. 2. 1. 2 革兰染色:包括以下四个步骤:

(1) 将结晶紫溶液铺满在涂片的涂膜面上,染色1min,流水轻轻冲洗。

(2) 将碘液铺满涂膜面上,染色1min,流水轻轻冲洗。

(3) 用乙醇或丙酮脱色,至涂膜无蓝色脱下为止。一般需10s~20s(时间长短取决于涂片的厚薄,应避免过度脱色),流水轻轻冲洗。

(4) 用碱性复红或沙黄染液复染1min,流水冲洗后用吸水纸轻轻吸干。

A. 2. 1. 3 结果观察:在光学显微镜(1000×油镜下)下检查涂片。检查时注意观察细胞类型(如上皮细胞、中性粒细胞),病原体的染色特性(革兰阳性或阴性)、形状(球状或杆状)及位置(细胞内或细胞外)等。淋球菌为革兰阴性菌,常成对排列,菌体呈肾形,两菌长轴平行,接触面平坦或稍凹,位于中性粒细胞内。

A. 2. 1. 4 结果报告:中性粒细胞内见到形态典型的成对的革兰阴性双球菌为阳性;中性粒细胞外见到形态典型的革兰阴性双球菌为可疑;有或无中性粒细胞但无革兰阴性双球菌为阴性(可仅报告中性粒细胞数)。

A. 2. 1. 5 临床意义:革兰染色的敏感性和特异性取决于标本的类型。对来自男性淋菌性尿道炎患者的尿道分泌物标本,其敏感性及其特异性可高达95%~99%,具诊断价值。但检测宫颈标本、无症状男性尿拭子及取自直肠的涂片时,其敏感性仅40%~70%。革兰染色的特异性较高,宫颈标本如取材正确,没有阴道分泌物污染,检查见到形态典型的细胞内革兰阴性双球菌,则支持淋病的诊断。不推荐用革兰染色直接显微镜检查诊断直肠和咽部淋球菌感染,亦不能用于疗效判断。如果在中性粒细胞外见到形态典型的革兰阴性双球菌,需做培养进行确证。

A. 2. 2 淋球菌的分离培养

A. 2. 2. 1 培养基:分离淋球菌一般选用营养丰富的选择性培养基。常用的选择性培养基有Thayer-Martin(T-M)培养基、含抗生素的血液琼脂或巧克力琼脂培养基。可购买商品化的培养基或实验室自配,培养基应密封在塑料袋中,于4℃冰箱贮存,贮存时间不应超过3周,时间过久则分离率降低。

A. 2. 2. 2 接种标本:取材后标本应尽可能及早接种。培养基应先置于室温中预温。将取材的拭子转动涂布于平皿的上1/4范围,然后用接种环分区划线,以保证获得较纯的单个菌落。

A. 2. 2. 3 培养条件:接种标本后,立即将平皿置于36℃、含5%~10%CO₂、湿润(70%湿度)的环境中培养。淋球菌为需氧菌,但初代分离需要CO₂。CO₂环境可由CO₂培养箱、CO₂产气袋或烛缸提供。使用烛缸时,应使用白色、无芳香味的无毒蜡烛。在烛缸底部放些浸水棉球以保持一定的湿度。

A. 2. 2. 4 观察结果:培养24h后检查平皿,此时没有菌生长的平皿应继续培养至48h,仍无菌生长才可丢弃,作出淋球菌培养阴性的报告。对选择性培养基上分离的可疑菌落应作进一步鉴定。

A. 2. 3 淋球菌的鉴定

A. 2. 3. 1 初步鉴定:菌落特征、氧化酶试验和革兰染色是初步鉴定淋球菌的三个主要依据。

A. 2. 3. 1. 1 菌落:选择性培养基上分离出的淋球菌菌落大小及形态随培养基及培养时间的不同可有差异。一般而言,在巧克力培养基平皿上生长24h时直径大约为0.5mm~1mm,呈圆形、凸起、湿润、光滑、半透明或灰白色菌落,通常有黏性。培养48h后菌落直径可达3mm,边缘平滑或呈锯齿状,表面粗糙。

A. 2. 3. 1. 2 氧化酶试验:淋球菌具有氧化酶,它产生的氧离子能将氧化酶试剂氧化成醌类化合物,出现颜色反应。

(1) 试剂:有两种:盐酸四甲基对苯二胺及盐酸二甲基对苯二胺,前者更敏感。工作液为0.5%~1%水溶液。

(2) 方法:将氧化酶试剂滴加于可疑菌落上,观察颜色变化。也可先将试剂滴在一小张滤纸上,然后用白金耳或塑料接种环挑取可疑菌落与之接触;或先将菌落涂在滤纸上,再滴加试剂,观察有无颜色

变化。

(3) 结果:在 10s~15s 内出现深紫红色(二甲基对苯二胺)或深紫兰色(四甲基对苯二胺)即为阳性反应。

(4) 注意事项:氧化酶试剂对细胞有毒性,可迅速杀死淋球菌。因此,需保留菌株时应注意不要将试剂滴于全部可疑菌落上,留一部分菌落作转种。

(5) 临床意义:淋球菌氧化酶试验为阳性,但氧化酶反应并非特异性试验。所有奈瑟菌属细菌及许多其他细菌,包括多数弧菌、布氏菌属、绿脓杆菌及嗜血杆菌属等氧化酶反应亦呈阳性。如氧化酶阴性,一般可排除淋球菌。

A. 2. 3. 1. 3 革兰染色:取单个可疑菌落制备涂片作革兰染色,在显微镜下检查。24h 的新鲜菌落可见到呈典型肾形的革兰阴性双球菌(约占 25%),其余呈单球、四联或八叠形。超过 48h 的较老培养物,因细菌自溶,革兰染色常难以说明问题。

A. 2. 3. 2 确诊试验:对于取自泌尿生殖道的标本,在选择性培养基上分离出氧化酶阳性的革兰阴性双球菌,一般可诊断为淋球菌,准确性 98%。但对取自泌尿生殖道以外部位的标本或涉及医疗法律案例的分离株,应对培养的菌株经糖发酵试验或荧光抗体试验进一步鉴定、确证。

A. 2. 3. 2. 1 糖发酵试验:该试验检测奈瑟球菌分解特定糖类(葡萄糖、麦芽糖、乳糖及蔗糖)而产酸的能力。根据淋球菌仅分解葡萄糖,脑膜炎球菌分解葡萄糖和麦芽糖等可将淋球菌与其它奈瑟球菌加以鉴别。

(1) 试剂:配制 20% 的葡萄糖、麦芽糖、乳糖及蔗糖,过滤灭菌。配制缓冲平衡盐指示溶液(BSS):每 1L 中含磷酸氢二钾(K_2HPO_4) 0.4g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 0.1g、氯化钾(KCl) 8.0g、酚红 0.6g、pH7.1~7.2。过滤灭菌,贮于 4℃ 备用。

(2) 方法:WHO 推荐的微量试管法:①取在非选择性(不含抗生素)巧克力琼脂或血液琼脂培养基上过夜生长的纯培养淋球菌(2 接种环),在 0.4mL BSS 中制成浓厚菌悬液。②取 5 支小试管,在 1~4 管中分别加入 20% 过滤灭菌的葡萄糖、麦芽糖、乳糖及蔗糖各 0.05mL。第 5 管不加糖,作为阴性对照管。③每管加入 0.1mL BSS。④每管加 0.05mL 菌悬液,充分混匀。置 37℃ 水浴箱中孵育 4h,观察结果。

(3) 结果观察:淋球菌仅发酵葡萄糖,不发酵其他糖类。仅葡萄糖管颜色由红变为黄色为淋球菌。

(4) 注意事项:用于试验的糖类纯度要高,尤其是麦芽糖应为分析纯级。糖发酵试验中常因杂菌污染导致假阳性反应,或培养物过老自溶而导致假阴性反应。因此,待测菌应为纯培养物,不能用选择性培养基上的初代分离菌(可能含有杂菌)。此外,菌悬液浓度要足够高。

(5) 临床意义:选择性培养基上分离出的氧化酶阳性、革兰阴性的双球菌,若糖发酵试验阳性可确定为淋球菌。糖发酵试验的特异性为 99%~100%,某些淋球菌菌株尤其是 AHU⁻ 分离株反应弱,可呈现阴性葡萄糖反应,需用另外的试验加以鉴定。麦芽糖阴性的脑膜炎球菌也会被误鉴定为淋球菌,对泌尿生殖道外的分离株最好采用一种以上的鉴定方法。

A. 2. 3. 2. 2 荧光抗体染色法:抗淋球菌主要外膜蛋白 I 的单克隆荧光抗体与淋球菌结合后,在荧光显微镜下可见到发特异荧光的淋球菌。

(1) 试验方法:用接种环取数个菌落(可用初代分离菌)涂布于玻片上,加一滴生理盐水,制备成涂片,干燥后加热固定。将 30 μ L 荧光抗体试剂加于涂膜上,放于一湿盒中,置 37℃ 15min。用蒸馏水轻轻冲洗涂片,洗去未结合的抗体。涂片置空气中干燥,加一滴封固液,盖上盖玻片,在荧光显微镜下观察结果。

(2) 结果观察:在荧光显微镜下见到发苹果绿色荧光的双球菌为阳性。

(3) 注意事项:加试剂后的涂片应放在湿盒内以防干燥,否则干燥的荧光抗体附着在玻片上会产生非特异性荧光。封固剂中甘油的纯度要高,否则其产生的自发荧光会影响结果的正确判断。

(4) 临床意义:选择性培养基上分离出的氧化酶阳性、革兰阴性的双球菌,若荧光抗体染色阳性可

确定为淋球菌。但市售的某些抗淋球菌荧光抗体也可和脑膜炎球菌及其他奈瑟球菌起交叉反应,也有少数淋球菌不与所用试剂起反应。

A.3 培养基

A.3.1 Thayer-Martin(T-M)培养基

A.3.1.1 成分: T-M培养基的组成包括:①GC基础培养基;②血红蛋白粉;③VCNT抑制剂(含万古霉素、多粘菌素、三甲氧苄胺嘧啶和制霉菌素);④Iso-Vitalex增菌剂。

A.3.1.2 配制方法:以配制500ml培养基为例。

(1)称取GC琼脂粉18g,置一烧瓶中,加235ml蒸馏水,摇匀后置沸水浴15min~30min,使琼脂完全溶解。

(2)称取血红蛋白粉5g,加于乳钵内,用250ml蒸馏水分次研磨溶解后,置沸水浴15min~30min。

(3)将上述两种溶液置于121℃高压灭菌15min,冷却至50℃,在无菌条件下将血红蛋白溶液缓慢加入到琼脂液内,弃去可能存在的血红蛋白沉淀。

(4)取1小瓶Iso-Vitalex增菌剂,用所附的一小瓶稀释液溶解后加入到步骤(3)所配的混合液中,边加边摇。

(5)取一小瓶VCNT抑制剂,用5ml无菌蒸馏水溶解后加入到步骤(4)所配的混合液中,边加边摇。

(6)在无菌条件下将配好的培养基分装入无菌平皿中,待凝固后,置塑料袋封存,置4℃冰箱保存备用。

A.3.2 血液琼脂培养基

A.3.2.1 成分:包括:GC基础培养基,脱纤维羊血。

A.3.2.2 配制方法:以配制500ml培养基为例。

(1)取GC琼脂粉18g,置一烧瓶中,加450ml蒸馏水,摇匀后置沸水浴15min~30min,使琼脂完全溶解。

(2)将GC琼脂溶液置于121℃高压灭菌15min,冷却至50℃。

(3)在无菌条件下将50ml脱纤维羊血(羊血在临用前置37℃水浴预热)加入到琼脂溶液中,摇匀后分装于无菌平皿中,待凝固后,置塑料袋封存,置4℃冰箱保存备用。

A.3.3 运送培养基 有商品化或自制的运送培养基,取10g培养基粉,置1L烧瓶中,加500ml蒸馏水,充分混合,121℃高压灭菌15min,冷却至50℃,然后分装于小管中,每管6ml。在分装时不时摇动混匀琼脂,以使活性炭末能处于均匀混悬状态。