

淋病诊断

Diagnosis for gonorrhoea

2019 - 01 - 02 发布

2019 - 07 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准第5章为强制性条款，其余为推荐性条款。

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准代替WS 268—2007《淋病诊断标准》。

本标准与WS 268—2007相比，主要技术变化如下：

- 增加了术语和定义；
- 修改了临床表现的描述（见3.2, 2007年版的2.2）；
- 增加了实验室检查淋球菌核酸检测（见3.3.3）；
- 修改了疑似病例和确诊病例的判定（见第5章, 2007年版的第4章）；
- 增加了淋病的鉴别诊断（见第6章）；
- 增加了附录B淋球菌核酸检测。

本标准起草单位：中国医学科学院北京协和医院、中国医学科学院皮肤病研究所、首都医科大学宣武医院、天津医科大学总医院、复旦大学附属华山医院。

本标准主要起草人：郑和义、李军、王千秋、王宝玺、苏晓红、连石、刘全忠、徐金华。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- WS 268—2007。

淋病诊断

1 范围

本标准规定了淋病的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。
本标准适用于全国各级各类医疗卫生机构及其医务人员对淋病的诊断。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

淋球菌 gonococcus

淋病奈瑟菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)的简称,又称淋病双球菌,是奈瑟(Albert Neisser)于1879年首先在淋病患者的脓性分泌物涂片中发现,为革兰阴性菌,常成对排列,菌体呈肾形或蚕豆形,大小 $0.6\ \mu\text{m}\sim 0.8\ \mu\text{m}$ 。在淋球菌培养基孵育后,可形成圆形稍隆起、光滑、半透明的露滴状菌落。淋球菌的生化反应只分解葡萄糖,产酸不产气,不分解麦芽糖、蔗糖和乳糖。

2.2

淋病 gonorrhoea

由淋球菌感染泌尿生殖系统、肛门直肠、咽部等所致的,以化脓性炎症为主要特征的一种性传播疾病。主要通过性接触传播,引起尿道炎、宫颈炎、直肠炎、咽炎等,如不及时治疗可向周围组织扩散引起相应的并发症和后遗症,甚至通过血行播散引起脑膜炎、心内膜炎等;也可通过母婴传播引起新生儿眼炎等。

3 诊断依据

3.1 流行病学史

有不安全性行为史,或性伴感染史,或多性伴史。新生儿患者的母亲有淋病史。

3.2 临床表现

3.2.1 潜伏期

1 d ~10 d, 常为3 d~5 d。

3.2.2 无合并症淋病

3.2.2.1 男性淋菌性尿道炎最初症状为尿道口痒、有稀薄或黏液脓性分泌物,多数患者24 h后症状加剧,出现尿痛、烧灼感,分泌物增多,为黏稠的深黄色脓液,可伴有尿频、尿急。严重者可出现龟头、包皮内板红肿,有渗出物或糜烂,包皮水肿,可并发包皮嵌顿。查体可见尿道口红肿充血及脓性分泌物。

3.2.2.2 女性症状比男性轻，部分患者可无明显症状。在成年女性淋病主要引起宫颈炎，可同时或单独有尿道炎，有症状者常出现白带增多、发黄，有的伴下腹痛、尿痛、尿频和尿急。妇科检查时宫颈充血、红肿，易接触出血，宫颈口有黏液脓性分泌物。女童患者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，排尿困难等。

3.2.3 有合并症淋病

3.2.3.1 治疗不及时部分患者可出现合并症，男性主要为附睾炎、睾丸炎和前列腺炎。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，常有发热、全身不适。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。病变后期可引起附睾结缔组织增生、纤维化和输精管闭锁，引起不育。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。此外，男性还可并发其他并症如尿道旁腺炎、尿道周围脓肿、海绵体炎、龟头炎或龟头包皮炎、尿道狭窄等。

3.2.3.2 女性合并症主要为盆腔炎，包括子宫内膜炎、输卵管炎、输卵管卵巢脓肿、腹膜炎等。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、双下腹痛。检查可见下腹压痛、触痛和肌紧张，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窿处触及肿物，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。此外女性还可并发前庭大腺炎，表现为前庭大腺红肿、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。

3.2.4 泌尿生殖道外的淋病

3.2.4.1 淋菌性眼炎

新生儿淋菌性眼炎常为经患淋病母亲产道分娩时感染所致，多为双侧性，一般于生后3 d内出现症状。成人淋菌性眼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。

3.2.4.2 淋菌性咽炎

主要由于口交所致。多数患者无症状或症状轻微，少数可表现为咽部疼痛、灼热，吞咽困难。查体可见咽黏膜充血，扁桃体红肿，有脓性分泌物附着于咽后壁。

3.2.4.3 淋菌性直肠炎

多见于肛交后。多数患者为无症状感染，少数表现为肛门瘙痒、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、充血、糜烂、渗血。

3.2.5 播散性淋球菌感染

淋球菌通过血行播散至全身，临床罕见。表现为发热、寒战、皮损、关节疼痛等。皮损初起为红色小丘疹、红斑，继而出现水疱或脓疱。关节受累好发于膝、肘、腕等关节，表现为关节疼痛、局部肿胀、关节腔内积液和关节活动受限，即为淋菌性关节炎。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、肝周炎甚至败血症等。

3.3 实验室检查

3.3.1 涂片革兰染色镜检

临床疑似患者取分泌物，涂片，做革兰染色镜检，可见典型的多形核白细胞内革兰阴性双球菌。有明显尿道症状的男性淋菌性尿道炎尿道分泌物标本镜检阳性有确诊价值。见附录 A。

3.3.2 淋球菌培养

取尿道或宫颈分泌物，或其他临床标本做淋球菌培养，可从临床标本中分离到形态典型、氧化酶试验阳性的菌落。取菌落做涂片检查，可见革兰阴性双球菌，糖发酵试验分解葡萄糖，不分解其他糖。

3.3.3 淋球菌核酸检测

取尿液、尿道或宫颈分泌物标本做淋球菌核酸检测阳性，见附录 B。

4 诊断原则

依据流行病学史、临床表现及实验室检查进行综合分析，做出诊断。

5 诊断

5.1 疑似病例

男性淋菌性尿道炎病例符合3.1和3.2；其他病例符合3.1、3.2和3.3.1。

5.2 确诊病例

男性淋菌性尿道炎病例符合3.1和3.2，同时符合3.3中任一项；其他病例符合3.1和3.2，同时符合3.3.2或3.3.3。

6 鉴别诊断

6.1 生殖道沙眼衣原体感染

潜伏期长，平均1周~3周，症状较轻微或无症状。主要表现为尿道刺痛或痒感，部分伴有轻重不等的尿频、尿急、尿痛。尿道口或宫颈充血、水肿，可有少量稀薄浆液性或浆液脓性分泌物。沙眼衣原体检查阳性。

6.2 其他

6.2.1 非特异性尿道炎

与性病无关的细菌性尿道炎，如继发于包茎的尿路感染，或继发于尿道导管插入术和其他尿道器械操作引起的损伤后感染。镜检常为革兰阳性球菌。

6.2.2 念珠菌性阴道炎

外阴、阴道瘙痒，白带增多，呈白色凝乳样或豆腐渣样，可有异味，大小阴唇潮红肿胀，阴道黏膜充血水肿，有乳白色薄膜粘附，除去薄膜可见轻度糜烂，白膜镜检可见大量卵形孢子及假菌丝。

6.2.3 滴虫性阴道炎

外阴瘙痒，有大量黄白色或黄绿色分泌物，呈泡沫状，有腥臭味，阴道黏膜及宫颈明显充血并有斑点状出血，宫颈可呈特征性草莓状外观，分泌物镜检可见毛滴虫。

6.2.4 细菌性阴道病

白带增多，呈灰白色或灰绿色，均匀一致如面糊状粘附于阴道壁，有鱼腥样恶臭，pH增高，胺试验阳性，涂片可见乳酸杆菌减少，革兰阴性菌增多，有大量椭圆形短杆状加特纳菌，可查见线索细胞。

附 录 A
(规范性附录)
淋球菌感染的实验室诊断方法

A.1 标本的采集

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，但核酸检测应采用试剂盒配套拭子。

A.1.2 取材部位

淋球菌的易感细胞是柱状上皮细胞。应根据患者的年龄、性别、性接触方式、临床表现及诊断试验的方法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；对男男性行为者应采集尿道、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 不同类型标本的采集方法

A.1.3.1 尿道拭子

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2 cm~3 cm，稍用力转动，保留5 s~10 s后取出。对女性患者，可用手指自耻骨联合后沿女性尿道走向轻轻按摩尿道，用同男性相似的方法取材。在采集尿道拭子前患者应至少1 h没有排尿。

A.1.3.2 宫颈拭子

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，先用无菌棉拭清除过多的分泌物。将女用取材拭子插入宫颈管内1 cm~2 cm，稍用力转动，保留5 s~10 s后取出。

A.1.3.3 直肠拭子

将取材拭子插入肛管内2 cm~3 cm，接触直肠侧壁10 s，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。有条件时可在直肠镜的直视下采集直肠黏液脓性分泌物。

A.1.3.4 阴道拭子

青春期前女孩可采集阴道标本。将取材拭子置于阴道后穹窿 10 s~15 s，采集阴道分泌物。如果处女膜完整，则从阴道口取材。

A.1.3.5 咽拭子

将取材拭子接触咽后壁和扁桃体隐窝采集分泌物。

A. 1.3.6 眼结膜拭子

翻开下眼睑，用取材拭子从下眼结膜表面采集分泌物。

A. 1.3.7 尿液

在采集尿液标本前患者应至少1 h没有排尿，用无菌、无防腐剂的塑料容器收集前段尿液10 mL~20 mL。24 h以内检测的尿液，应置于4℃冰箱保存，超过24 h检测时，应冻存于-20℃或 -70℃冰箱。

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于分离培养基，需置于运送培养基中。Amies培养基及Stuart培养基为常用的两种非营养型运送培养基。置于运送培养基中的标本应在12 h内送到实验室，接种于选择性的分离培养基，分离阳性率可达90%以上。超过24 h则分离阳性率下降。

A. 2 实验室诊断方法

A. 2.1 革兰染色镜检

A. 2.1.1 仪器和材料

显微镜及革兰染液。

A. 2.1.2 革兰染色方法

A. 2.1.2.1 涂片固定：取材后将拭子在玻片上轻轻滚动一下，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次~3次，加热固定。应避免加热过度使细胞形态扭曲。

A. 2.1.2.2 革兰染色步骤如下：

- 1) 将结晶紫溶液铺满在涂片的涂膜面上，染色 30 s~60 s，流水轻轻冲洗。
- 2) 将碘液铺满涂膜面上，染色 30 s~60 s，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 10 s~20 s（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 60 s，流水冲洗后用吸水纸轻轻吸干。

A. 2.1.2.3 结果观察：在光学显微镜（100倍物镜或油镜）下检查涂片。检查时注意观察细胞类型（如上皮细胞、多形核白细胞），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，二菌长轴平行，接触面平坦或稍凹，位于多形核白细胞内。

A. 2.1.2.4 结果报告：多形核白细胞内见到形态典型的成对的革兰阴性双球菌为阳性；多形核白细胞外见到形态典型的革兰阴性双球菌为可疑；有或无多形核白细胞但无革兰阴性双球菌为阴性（可仅报告多形核白细胞数）。

A. 2.1.2.5 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的尿道分泌物标本，其敏感性及其特异性可高达95%~99%，具有诊断价值。但检测宫颈标本、无症状男性尿道拭子及取自直肠标本时，其敏感性仅为40%~70%，故应采取分离培养方法鉴定。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，亦不能用于疗后判愈。如果在多形核白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改良的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。分述如下：

a) Thayer-Martin (T-M) 培养基

- 1) 成分。包括 GC 基础培养基，血红蛋白粉，VCNT 抑菌剂（含万古霉素、多粘菌素、三甲氧苄胺嘧啶和制霉菌素），Iso-Vitalex 增菌剂。
- 2) 配制方法。以配制 500 mL 培养基为例，步骤如下：
 - 称取 GC 琼脂粉 18 g，置一烧瓶中，加 235 mL 蒸馏水，摇匀后置沸水浴 15 min~30 min，使琼脂完全溶解；
 - 称取血红蛋白粉 5 g，加于乳钵内，用 250 mL 蒸馏水分次研磨溶解后，置沸水浴 15 min~30 min；
 - 将上述两种溶液置于 121℃ 高压灭菌 15 min，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渣；
 - 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；
 - 取一小瓶 VCNT 抑菌剂，用 5 mL 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；
 - 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，用塑料袋封存，置 4℃ 冰箱保存备用。

b) GC 血液琼脂培养基

- 1) 成分。包括 GC 基础培养基和脱纤维羊血。
- 2) 配制方法：以配制 500 mL 培养基为例，步骤如下：
 - 取 GC 琼脂粉 18 g，置一烧瓶中，加 450 mL 蒸馏水，摇匀后置沸水浴 15 min~30 min，使琼脂完全溶解；
 - 将 GC 琼脂溶液置于 121℃ 高压灭菌 15 min，冷却至 50℃；
 - 在无菌条件下将 50 mL 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。

c) Amies 运送培养基

- 1) 成分。活性炭 5 g，氯化钠 (NaCl) 1.5 g，磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 0.575 g，磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 0.1 g，氯化钾 (KCl) 0.1 g，硫代乙酸钠 0.5 g，氯化钙 (CaCl_2) 0.05 g，氯化镁 (MgCl_2) 0.05 g，琼脂 2 g，蒸馏水 500 mL。
- 2) 配制方法：以配制 500 mL 培养基为例，步骤如下：
 - 将各种成分加到 500 mL 蒸馏水中，充分混合；
 - 121℃ 高压灭菌 15 min，冷却至 50℃，然后分装于小管中，每管 6 mL。在分装时，不时摇动混匀琼脂，以使活性炭末处于均匀混悬状态；
 - 置 2℃~8℃ 可储存 6 个月。

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 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ ，含5%~10% CO_2 ，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 CO_2 。 CO_2 环境可由 CO_2 培养箱、 CO_2 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24 h后检查平皿，此时没有菌生长的平皿应继续培养至72 h，仍无菌生长才可丢弃，做出淋球菌培养阴性的报告。因为某些菌株，如AHU营养型菌株生长缓慢，且菌落小。如果培养时间不足72 h，它们可能会被忽略。对选择性培养基上分离的可疑菌落应做进一步鉴定。

A. 2. 2. 5 淋球菌的初步鉴定

A. 2. 2. 5. 1 菌落特征。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TM平皿上生长24 h后直径大约为0.5 mm~1 mm，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48 h后菌落直径可达3 mm，边缘平滑或呈锯齿状，表面粗糙。

A. 2. 2. 5. 2 氧化酶试验。淋球菌具有氧化酶，能将氧化酶试剂氧化成醌类化合物，出现颜色反应。鉴定事项如下：

- a) 试剂。包括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。
- b) 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(含铁接种环可与氧化酶试剂发生反应，产生假阳性)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。
- c) 结果。在10 s~15 s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。
- d) 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，留一部分菌落做传代培养。
- e) 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. 2. 5. 3 革兰染色。取单个可疑菌落制备涂片做革兰染色，在油镜下检查。24 h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48 h的较老培养物，因细菌自溶，革兰染色常难以说明问题。

A. 2. 2. 6 淋球菌的确认鉴定

A. 2. 2. 6. 1 注意事项

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，准确率98%。但对取自泌尿生殖道以外部位的标本，来自低危人群如儿童的分离株，以及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进一步鉴定确证。

A. 2. 2. 6. 2 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他奈瑟球菌加以鉴别。鉴定事项如下:

- a) 试剂。配制 20% 的葡萄糖、麦芽糖、乳糖及蔗糖,过滤除菌。配制缓冲平衡盐指示溶液(BSS):每 1 L 中含磷酸氢二钾(K_2HPO_4)0.4 g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)0.1 g、氯化钾(KCl)8.0 g、酚红 0.6 g、pH 7.1~pH 7.2。过滤除菌,贮于 4℃ 备用。
- b) 方法。WHO 推荐的微量试管法,步骤如下:
 - 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 0.4 mL BSS 中制成浓厚菌悬液;
 - 2) 取 5 支小试管,在 1 管~4 管中分别加入 20% 过滤除菌的葡萄糖、麦芽糖、乳糖及蔗糖各 0.05 mL。第 5 管不加糖,作为阴性对照管;
 - 3) 每管加入 0.1 mL BSS;
 - 4) 每管加 0.05 mL 菌悬液,充分混匀,置 37℃ 水浴箱中孵育 4 h,观察结果。
- c) 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。
- d) 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。每批试验应有 WHO 或 ATCC 标准菌株做质控。
- e) 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 淋球菌核酸检测

见附录B。

附 录 B
(规范性附录)
淋球菌核酸检测

B.1 基本情况

目前,经国家批准的检测淋球菌核酸的试剂盒有DNA和RNA检测,检测技术为PCR-荧光探针法或荧光PCR。有单独检测淋球菌,也有同时检测沙眼衣原体、淋球菌的试剂盒。

B.2 仪器与材料

B.2.1 仪器

荧光定量PCR仪、高速冷冻离心机、旋涡混合器、加热仪、移液器等。

B.2.2 材料

试剂盒一般提供包括DNA或RNA提取液、PCR反应液(含引物、探针和酶等)、临界阳性质控标准品,阴性和阳性质控品等。

B.3 检测步骤

B.3.1 核酸提取(可使用商品化核酸提取试剂盒按说明进行提取):将标本充分洗脱至无菌生理盐水中,离心沉淀;沉淀中加核酸提取液并充分混匀,沸水浴处理,转至4℃静置以保证充分裂解;离心沉淀,取上清液做PCR反应模板液;质控品处理:取阴、阳性对照质控标准品加核酸提取液混匀,提取核酸方法同标本。

B.3.2 加样:根据待检测样本数量将PCR反应液分装至PCR反应管中,然后分别加入已处理好的待检样品,阴性和阳性质控标准品,以及临界阳性质控标准品,加盖后离心数秒钟。

B.3.3 核酸扩增检测:将各反应管放入实时荧光PCR仪,按对应顺序设置阴阳性质控标准品以及未知标本,并设置样品名称、标记荧光基团种类和扩增条件。设置扩增参数:依据试剂盒和仪器的不同而有所不同,如95℃变性5min,以95℃ 30s、60℃30s扩增40个循环,在60℃进行荧光检测。

B.3.4 检验结果的解释

B.3.4.1 阈值设定:以阈值线刚好超过正常阴性对照扩增曲线的最高点。

B.3.4.2 结果判断:按照不同荧光检测仪和商品化试剂盒设定的结果判断。

B.4 临床意义

泌尿生殖道标本中检测到淋球菌核酸可作为淋球菌感染的依据。

B.5 注意事项

- B. 5.1 核酸扩增试验应在经过省级以上临床检验中心认证的实验室开展。
 - B. 5.2 实验室应严格按照《医疗机构临床基因扩增管理办法》规范管理，实验人员应进行专业培训，严格按照试剂盒说明书要求进行操作。
 - B. 5.3 应使用经国家批准的试剂盒。
-