

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1248—2015
代替 SN/T 1248—2003

国境口岸淋病检验规程

Inspection codes for gonorrhea at frontier port

2015-05-26 发布

2016-01-01 实施



中 华 人 民 共 和 国 发 布
国家质量监督检验检疫总局

中华人民共和国出入境检验检疫

行 业 标 准

国境口岸淋病检验规程

SN/T 1248—2015

*

中国标准出版社出版

北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)

北京市西城区三里河北街16号(100045)

总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 10 千字

2016 年 1 月第一版 2016 年 1 月第一次印刷

印数 1—1 100

*

书号: 155066 • 2-29506

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 SN/T 1248—2003《国境口岸淋病检验规程》。

本标准与 SN/T 1248—2003 相比,主要技术变化如下:

——引用了 WS 268—2007《淋病诊断标准》中附录 A 的部分内容。

——对样本的采集及运送等方面进行了调整,增加了对标本采集的取材部位和取材方法等内容的细节描述。

——对淋球菌检验的方法进行了规定,包括涂片染色直接显微镜检查、分离培养淋球菌的细胞成分。

——在淋球菌的分离培养上,补充完善了常用的 2 种培养基。

——将淋球菌的鉴定细化为“初步鉴定”和“确认试验”,描述了鉴定淋球菌的方法。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国山东出入境检验检疫局、中华人民共和国江苏出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:闫荣军、邵柏、于长友、刘福奎、杨启生。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——SN/T 1248—2003。

国境口岸淋病检验规程

1 范围

本标准规定了国境口岸实验室淋病检验标本的采集及运送,检验方法和结果报告。
本标准适用于国境口岸对淋球菌感染的实验室诊断。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

WS 268—2007 淋病诊断标准

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

淋病 gonorrhea

由淋病奈瑟菌引起的泌尿生殖系统的化脓性感染。

3.2

淋球菌 gonococcus

引起淋病的病原体,属奈瑟菌属,学名为淋病奈瑟菌。

4 标本的采集及运送

4.1 标本的采集

4.1.1 取材拭子

藻酸钙拭子、普通棉拭子及涤纶拭子均可采用。

4.1.2 取材部位

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。

4.1.3 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:

——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如 2 cm~3 cm,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。

——宫颈:取材前用温水或生理盐水湿润扩阴器,如果宫颈口外面的分泌物较多,先用无菌棉拭子

清除过多分泌物。将女用取材拭子插入宫内 1 cm~2 cm,稍用力转动,保留 10 s~30 s 后取出。

- 直肠:将取材拭子插入肛管 2 cm~3 cm,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。
- 阴道:对子宫切除的妇女和青春期前女孩可采集阴道标本。将取材拭子置于阴道后穹隆 10 s~15 s,采集阴道分泌。如果处女膜完整,则从阴道口取材。
- 咽部:从咽后壁或扁桃体隐窝采集分泌物。
- 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。

4.2 标本的运送

取材后标本应立即接种。如果不能立即接种,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 12 h 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 24 h 则分离阳性率下降,见 WS 268—2007 中 A.1.4 的规定。

5 检验方法

5.1 直接显微镜检查

5.1.1 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(涂抹面向上)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。

5.1.2 革兰氏染色

将结晶紫溶液铺满在涂片的涂膜面上,染色 1 min,流水轻轻冲洗。将碘液铺满涂膜面上,染色 1 min,流水轻轻冲洗。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。用碱性复红或沙黄染液复染 1 min,流水冲洗后用吸水纸轻轻吸干。

5.1.3 观察结果

在光学显微镜(1 000×油镜)下检查涂片,菌为革兰氏阴性菌,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。

5.1.4 结果报告

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

5.2 淋球菌的分离培养

5.2.1 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。培养基的成分及配制,按照 WS 268—2007 中 A.3 的规定。

5.2.2 培养条件

淋球菌为需氧菌,初代分离需要 CO₂,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。

5.2.3 检验结果

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 48 h,仍无菌生长才可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做进一步鉴定。

5.3 淋球菌的鉴定

5.3.1 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,在巧克力培养基平皿上培养 24 h 后菌落直径大约为 0.5 mm~1 mm,呈圆形、凸起、湿润、光滑、半透明或灰白色菌落。培养 48 h 后菌落直径可达 3 mm,边缘平滑或锯齿状,表面粗糙。

5.3.2 氧化酶试验

将氧化酶试剂滴加于可疑菌落上,10 s~15 s 内出现深紫红色(二甲基对苯二胺)或深紫蓝色(四甲基对苯二胺),即为阳性反应。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。

5.3.3 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。24 h 新鲜菌落可见到呈典型肾形的革兰氏阴性双球菌(约占 25%),其余呈单球、四连或八叠形,为阳性结果。超过 48 h 的较老培养物,因细菌自溶,革兰氏染色常难以说明问题。

5.4 确认试验

5.4.1 总则

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。

5.4.2 糖发酵试验

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 缓冲平衡盐指示溶液中制成浓厚菌悬液。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 0.05 mL。第 5 管不加糖,作为阴性对照管。每管加入 0.1 mL 缓冲平衡盐指示溶液。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。淋球菌只发酵葡萄糖,不发酵其他糖类。仅葡萄糖管颜色由红变为黄色为淋球菌,为阳性结果。

5.4.3 荧光抗体染色法

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 μL 荧光抗体试剂加于涂膜上,放于一湿盒中,置 37 ℃ 15 min,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。在荧光

SN/T 1248—2015

显微镜下见到发苹果绿色荧光的双球菌为链球菌阳性。

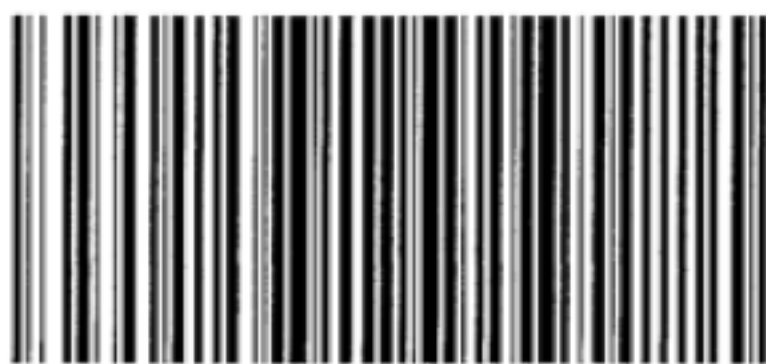
6 结果报告

6.1 淋球菌阳性感染的报告

符合 5.3.1、5.3.2、5.3.3,可对淋病作出初步诊断,如有某些形态不符合淋球菌的特点时,利用5.4.2、5.4.3,可对淋病作出明确诊断。

6.2 淋球菌阴性感染的报告

与 5.3.1、5.3.2、5.3.3、5.4.2、5.4.3,各项均不符合,应报告为淋球菌阴性感染。



SN/T 1248-2015

书号:155066 • 2-29506