



Лабораторная диагностика гонореи

План лекции

- Этиология и патогенез гонореи.
- Техника взятия материала от больных.
- Бактериоскопические, серологические и молекулярно-генетические методы исследования гонореи.
- Оценка результатов лабораторных исследований.

Гонорея. Определение.

- **Гонококковая инфекция (гонорея)** - инфекционное заболевание человека, вызываемое гонококками.
- **Гонококковое воспаление приводит к дегенеративным и инфильтративным процессам слизистой оболочки** органов уrogenитальной системы, прямой кишки, ротоглотки, конъюнктивы, в воспалительный процесс могут вовлекаться парауретральные и бульбоуретральные (куперовы) железы, семенные пузырьки, яички и их придатки, семявыносящие протоки, большие вестибулярные железы, стенки матки, яичники, маточные трубы и другие органы.
- **При прогрессировании процесса** в подслизистом слое образуется сначала поверхностный, а затем более глубокий инфильтрат из лимфоидных элементов, который может замещаться рубцовой тканью.
- **Гонорея – одна из частых причин женского бесплодия**

Показания к обследованию на гонорею (1)

- * Все больные мужчины с диагнозом уретрит, парауретрит, баланопостит, простатит, везикулит, орхоэпидидимит, эпидидимит,
- * Женщины с диагнозом уретрит, цистит, кольпит, бартолинит, цервицит, эндоцервицит и проктит должны быть обследованы на наличие возбудителей.
- * Женщины, обращающихся с различными воспалительными заболеваниями мочеполовой сферы, с жалобами на появившиеся субъективные расстройства в области половых органов (зуд, жжение при мочеиспускании, боли внизу живота, усиление белей, кровянистые выделения и пр.),

Показания к обследованию на гонорею (2)

- * Женщины с эрозиями шейки матки; страдающих бесплодием, привычными выкидышами, с преждевременными родами в анамнезе; обращающихся для установления беременности с целью дальнейшего продолжения ее; направляемых на прерывание беременности.
- * Необходимо обследовать на гонорею и трихомониаз девочек с вульвовагинитами, а также бывших в контакте с больными гонореей.
- * Лица, у которых диагностирован трихомониаз, после лечения последнего также обследуются на гонорею

Серологическая диагностика гонореи.

- * При обследовании пациентов можно использовать реакцию Борде-Жангу, которая является ориентировочным тестом.
- * Ее положительный результат указывает на необходимость более тщательного обследования на гонорею с использованием бактериологического метода исследования.
- * Постановка реакции Борде-Жангу возможна во всех серологических лабораториях, работники которых владеют методикой постановки реакции связывания комплемента.
- * Кроме данной реакции используют прямую иммунофлюоресценцию и иммуноферментный анализ

Реакция Борде-Жангу. Принцип.

- * Специфические антигонококковые антитела вступают в соединение со специфическим антигеном (убитая культура гонококка, содержащая 3 млрд микробных тел в 1 мл по оптическому стандарту).
- * Образовавшиеся комплексы сорбируют вводимый в реакцию комплемент.
- * Индикация образовавшихся комплексов достигается введением гемолитической системы (эритроциты барана+гемолитическая сыворотка).
- * Применяется для выявления больных гонореей, в основном при хронических и осложненных формах заболевания.

Недостатки серологических методов диагностики гонореи

- * **Методики не нашли широкого применения, так как:**
 - * служит для установления предполагаемого, а не окончательного диагноза ИППП;
 - * не выявляет период «серологического окна», когда иммунный ответ на внедрение возбудителя еще не развился;
 - * выявляемые антитела могут свидетельствовать о ранее перенесенной, а не активной инфекции;
 - * недостаточно высокая чувствительность и специфичность отдельных тест-систем не позволяет избежать ложноотрицательных и ложноположительных результатов.
- * **Поэтому, для верификации диагноза гонореи определение содержания антител к возбудителю не рекомендуется и может быть использовано только для проведения эпидемиологических исследований**

Первичное клиническо-лабораторное обследование больных с подозрением на гонорею

- * Мужчин и женщин обследуют на наличие клинических синдромов, типичных для гонореи (уретрит, баланопостит, кольпит, лимфаденопатия и т.д.)
- * У мужчин макроскопически исследуется свежевыпущенная моча (двухстаканная проба), а у женщин и у мужчин (при клиническом подозрении заболевания почек) - микроскопически общий анализ мочи.
- * Обследование следует проводить при условии воздержания от мочеиспускания не менее 4-5 часов (лучше всего с ночной задержкой мочи).
- * При показаниях производят инструментальное обследование: проведение бузей, уретроскопия и пр

Бактериологическое обследование у больных с подозрением на гонорею

- * После клинического обследования больных при первом посещении из всех возможных очагов поражения берут отделяемое для бактериоскопического исследования.
- * Если у больного, или больной, имеется остропротекающий воспалительный процесс, требующий незамедлительного начала лечения, необходимо взять отделяемое для бактериоскопического исследования, а при возможности и произвести посев его, и только после этого начать соответствующее лечение.

Обследование больных при хроническом или торпидном воспалительном процессе

- * При хроническом или торпиднопротекающем воспалительном процессе, если гонококки в отделяемом после первого исследования мазков не обнаружены, производят комбинированную провокацию с последующим 3-х дневным (через 24-48-72 часа) бактериоскопическим исследованием отделяемого слизистой оболочки тех же очагов.
- * Если при этом исследовании гонококки не удастся обнаружить, производят бактериологическое исследование.
- * Его необходимо применять также во всех случаях, когда при помощи последующих бактериоскопических исследований (повторная провокация с забором материала в течение 3-х дней) не удастся определить наличие гонококка.

Забор материала при подозрении на гонорею у мужчин (1)

- * У мужчин необходимо исследовать выделения из мочеиспускательного канала и парауретральных ходов, а при показаниях - из прямой кишки, глотки и миндалин.
- * Перед взятием материала из мочеиспускательного канала больной не должен мочиться в течение 4-5 часов для накопления в уретре достаточного количества отделяемого слизистой оболочки.
- * Головку полового члена в области наружного отверстия уретры протирают стерильным ватным тампоном, смоченным стерильным изотоническим раствором хлорида натрия.
- * Первые капли свободно стекающих выделений, появляющихся при надавливании на уретру, удаляют, а последующие наносят на предметные стекла и делают мазки или используют для посева на питательную среду.

Забор материала при подозрении на гонорею у мужчин (2)

- * При скудных выделениях или при их отсутствии предварительно проводят массаж уретры, а затем - соскоб со слизистой ее передне-боковых стенок с помощью ушной ложки, ложки Фолькмана, а для посева - бактериологической петли.
- * Для этого дистальная часть полового члена берется между третьими и четвертыми пальцами левой руки, указательным и большим той же руки раздвигаются губки наружного отверстия уретры.
- * Тупая ложка или петля вводится в мочеиспускательный канал примерно на 3-4 см и легким покабливанием берется соскоб.
- * Материал из парауретральных ходов (при их поражении) получают при надавливании на них.

Забор материала при подозрении на гонорею у женщин (1)

- * При обследовании женщин на гонорею обязательно берут мазки из уретры, цервикального канала и прямой кишки.
- * Из парауретральных ходов, больших вестибулярных желез, а также ротоглотки материал забирают по показаниям.
- * Перед взятием мазков область уретры и парауретральных ходов вытирают сухим стерильным тампоном. Затем уретру массируют пальцем со стороны влагалища, прижимая ее к лобковой кости.

Забор материала при подозрении на гонорею у женщин (2)

- * Ложечкой Фолькмана или желобоватым зондом забирают материал, вводя инструмент вглубь уретры на 1,5-2 см и стараясь получить отделяемое легким поскабливанием передней и боковых стенок уретры.
- * Манипуляцию проводят осторожно, чтобы не поранить слизистую.
- * После того, как шейка матки открыта в зеркалах и протерта сухим ватным тампоном, отделяемое забирают длинным гинекологическим пинцетом, вводя его в цервикальный канал на глубину 1 см и захватывая отделяемое со стенок канала.

Забор материала у девочек

- * У девочек исследуется отделяемое слизистой оболочки уретры, влагалища и прямой кишки.
- * Методика взятия материала та же, что и у женщин, только материал из влагалища берут осторожно, без зеркал, ушной ложкой или желобоватым зондом через гименальное отверстие.

Окраска по Граму (1)

- * Фиксированный, высушенный мазок покрывают полоской фильтровальной бумаги, на которую наливают 1% раствор кристаллвиолета на 1 минуту.
- * Бумагу снимают, мазок промывают водопроводной водой и заливают раствором Люголя, который выдерживают несколько секунд до почернения мазка.
- * Затем раствор Люголя сливают, мазок промывают водой и приступают к обесцвечиванию, которое проводят под контролем глаза, каждый раз погружая, вынимая и вновь погружая мазок в стакан с 96% этиловым спиртом; мазок обесцвечивают до тех пор, пока с более тонких участков перестанут стекать фиолетовые струйки спирта и участки мазка в этом месте станут бледно-серого цвета.

Окраска по Граму (2)

- * Препарат быстро и тщательно промывают водопроводной водой и докрашивают 1% водным раствором нейтрального красного в течение 3 минут, после чего его вновь промывают водопроводной водой и высушивают.
- * При отсутствии нейтрального красного при окраске мазков по способу Грама может быть использован 1% водный раствор сафранина, которым окрашивают мазок в течение 1 минуты.

Диагностическая ценность различных методов окраски

- * Мазки, окрашенные эозином и метиленовым синим или одним метиленовым синим, нужно использовать для изучения морфологии и расположения диплококков
- * Окончательный лабораторный диагноз гонореи ставится на основании мазков, окрашенных по способу Грама.
- * Подобный подход используется из-за возможности ошибок, так как стафилококки и стрептококки могут также располагаться внутриклеточно и напоминать собою гонококки.
- * Форма, расположение и окраска диплококков по способу Грама дают возможность различать диплококки между собой.

Ошибки при окраске по Граму

- * При идентификации гонококков способ Грама является ценным только в том случае, если им правильно пользоваться, т. к. неправильная окраска не только затрудняет диагностику, но и приводит к большому числу ошибок.
- * При правильной окраске по Граму:
 - * ядра клеточных элементов (лейкоцитов, эпителиальных клеток) должны частично удерживать основную фиолетовую краску (критерий правильности окраски), т.е. в центре они должны быть окрашены в фиолетовый цвет, а по периферии в оранжево-красный,
 - * гонококки, расположенные в лейкоцитах и на эпителиальных клетках, обесцвеченные таким образом и окрашенные дополнительной краской, будут оранжево-красные.

Ошибки при окраске по Граму.

Обесцвечивание мазков.

- * Высокое качество окраски обеспечивается своевременным прекращением обесцвечивания мазков.
- * При недообесцвечивании мазков, когда в фиолетовый цвет интенсивно окрашены ядра клеток, гонококки часто сохраняют фиолетовую окраску и могут быть приняты за другие микроорганизмы.
- * В переобесцвеченных мазках стафилококки и стрептококки могут быть окрашены как и ядра клеток в оранжево-красный цвет и приняты за гонококки.

Качество мазка

- * При производстве бактериоскопического исследования врач-лаборант должен оценивать правильность окраски мазков по способу Грама и диагностировать гонорею только по правильно окрашенным участкам мазка.
- * Качество окраски мазков в значительной степени зависит и от их приготовления: материал в мазках из уретры, цервикального канала и ректум на одном стекле должен быть расположен равномерным, тонким слоем, но в то же время содержать достаточно материала для исследования.

Перекраска мазков

- * При неудачной окраске по способу Грама другой мазок, окрашенный метиленовым синим или бриллиантовым зеленым, после его исследования нужно перекрасить по способу Грама.
- * Для этого фильтровальной бумагой с него снимают иммерсионное масло, несколько раз погружают в 96% этиловый спирт для полного удаления масла, а затем красят как неокрашенный.
- * Если мазок недообесцвечен, его повторно обесцвечивают и докрашивают нейтральным красным.

Идентификация гонококка при микроскопии

- * Идентификация гонококка производится на основании его свойств:
 - * Морфологии,
 - * Расположение
 - * Отношение к окраске по Граму.

Морфология и окраска гонококка

- * Основным дифференциальным признаком является отношение гонококка к окраске по способу Грама. Гонококки грамотрицательны, т.е. они легко обесцвечиваются спиртом и окрашиваются дополнительной краской.
- * Гонококк - это парный кокк, имеющий форму кофейного зерна;
- * Кокки обращены друг к другу своей вогнутой стороной.
- * Размножаясь делением в разных плоскостях, гонококки не образуют цепочек.

Расположение гонококка

- * Внутри лейкоцитов они располагаются парами или группами так, что одни диплококки лежат по отношению к другим под различными углами.
- * Внеклеточное расположение гонококков имеет свои характерные особенности:
 - * Часто гонококки лежат на клетках плоского эпителия в большом количестве рядами с расположением диплококков под углом или перпендикулярно друг к другу внутри ряда.
 - * Частота внутри- и внеклеточного расположения гонококков зависит как от периода заболевания, так и от методики взятия материала.

Приказы МЗ РФ по диагностике гонореи

- * № 1570 (04.12.86) «Об улучшении выявления больных гонореей и трихомониазом в акушерских и гинекологических отделениях (палатах, кабинетах), женских консультациях и урологических кабинетах поликлиник». Утратил силу?
- * № 535 (22.04.85) «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений»
- * № 936 (12.07.85) «Об унификации лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомониаза»;
- * № 415 от 20.08.2003 г. «Об утверждении протокола ведения больных «Гонококковая инфекция»



Вопросы?