

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Зав.кафедрой: профессор, д.м.н. Матюшин Г.В.
Проверил: доцент, к.м.н. Анисимова Е.Н.

РЕФЕРАТ

Тема: Гонорея, лабораторная диагностика

Выполнил: врач-ординатор Николаева А.А.

Специальность: Клинико-лабораторная диагностика

г. Красноярск 2017 г.

Содержание

Введение	3
История.	4
Этиология.....	5
Эпидемиология	5
Патогенез	6
Клинические проявления.....	8
Диагностика.....	12
Профилактика.....	25
Литература.....	27

Введение

Гонококковая инфекция является одной из наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП).

Заболевание регистрируется у лиц обоего пола в любом возрасте.

Возбудителем гонореи является грамотрицательный диплококк *Neisseria gonorrhoeae*, относящийся к семейству *Neisseriaceae*. У больных гонореей мужчин, как правило, имеются симптомы заболевания, вынуждающие их обращаться в медицинское учреждение; у женщин заболевание нередко характеризуется бессимптомным течением, что может приводить к развитию осложнений.

Инфицирование детей может происходить при прохождении через родовые пути матери, больной гонореей, путем прямого полового контакта, в редких случаях - при нарушении правил ухода за детьми. Некоторые авторы указывают на возможность так называемого бытового пути инфицирования *N. gonorrhoeae* у детей старше 1 года, но большинство специалистов относят это к последствию сексуального насилия.

При гонококковой инфекции поражаются слизистые оболочки, в частности, мочеиспускательного канала, влагалища, прямой кишки, полости рта, носа, гортани, глаз. Процесс может распространяться на парауретральные железы, бульбоуретральные (куперовы) железы, семенные пузырьки, яички и их придатки, семявыносящие протоки, большие вестибулярные железы, матку, яичники, маточные трубы, брюшину и другие органы.

Гонококковая инфекция у новорожденных, как следствие контакта с инфицированной матерью, диагностируется на 2-5-й день жизни и

может характеризоваться офтальмией, ринитом, уретритом, вульвовагинитом, сепсисом, менингитом, дерматитом и др. У детей и подростков гонококковая инфекция чаще проявляется уретритом, вульвовагинитом, цервицитом, проктитом и фарингитом.

Этиология.

Возбудитель гонореи - гонококк - грамотрицательный диплококк бобовидной формы. Размеры его варьируют от 1,25– 1,6 мкм в длину и 0,7–0,9 мкм в ширину. Гонококки хорошо окрашиваются всеми анилиновыми красителями. При остро протекающих процессах в окрашенных мазках выявляют большое количество гонококков внутри лейкоцитов. В более поздних (хронических) стадиях болезни, когда отделяемое становится скудным, гонококки встречаются реже, и для их обнаружения иногда необходимо прибегать к провокации и культуральной диагностике. В сканирующем электронном микроскопе гонококки имеют вид шаровидных или диплококковых образований со слегка бугристой поверхностью.

При изучении ультратонких срезов удается выявить у гонококков клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазму с многочисленными рибосомами, мезосомы, нуклеоид с нитями ДНК. На поверхности гонококков выявляются тонкие трубчатые нити - пили, с которыми связывают способность их передавать генетически некоторые свойства, в частности устойчивость к антибиотикам. Выявленная в электронном микроскопе капсулоподобная субстанция обеспечивает адаптацию возбудителя к неблагоприятным условиям и персистенции его в организме больного. Цитоплазматическая мембрана имеет отношение к метаболизму клетки.

При неблагоприятных условиях возможна L-трансформация гонококков, при которой наблюдается утрата клеточной наружной оболочки.

Гонококки растут на искусственных питательных средах в присутствии человеческого белка (асцитический агар), при температуре 37⁰С.

Отдельные штаммы гонококков вырабатывают пенициллиназу, что способствует их резистентности к пенициллину и его дериватам. Во многих странах в последнее время при неудачном лечении все чаще выделяются гонококки, продуцирующие пенициллиназу или В-лактамазу.

Эпидемиология. Гонококки являются паразитами человека. Вне человеческого организма они быстро погибают. На них губительно действуют различные антисептические препараты, нагревание свыше 5Б⁰С, высушивание, прямые солнечные лучи. Температуру ниже оптимальной гонококки переносят плохо и быстро погибают при 18⁰с. В гное ГО110- кокки сохраняют жизнеспособность и патогенность, пока не высохнет патологический субстрат (т. е. от 30 мин. до 4-5 ч). Заражение, как правило, происходит половым путем при непосредственном контакте здорового человека с больным (или внешне здоровым носителем).

Повышенная восприимчивость слизистых оболочек мочеполовых органов, прямой кишки, носоглотки, рта, миндалин, конъюнктивы объясняется биохимическими гормональными, иммунными и анатомо-физиологическими особенностями организма мужчин, женщин и детей. Гонококки паразитируют и предпочтительно поражают слизистые оболочки, покрытые цилиндрическим эпителием.

Иммунитет. При гонококковой инфекции имеет место как гуморальная, так и клеточная реакция, но не развивается защитный иммунитет, способность предотвратить реинфекцию.

Обнаруживаемые в сыворотке крови противогонококковые антитела относятся к разным классам иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA).

Значительная часть переболевших гонореей заражается ею повторно и даже многократно, иногда несмотря на высокий титр специфических антител в сыворотке крови и наличие выраженной сенсibilизации лимфоцитов к гонококкам. Кроме реинфекции возможна и суперинфекция при сохранении гонококка в организме. Известна относительная невосприимчивость к гомологичному штамму гонококка при «семейной гонорее», при которой гонококки не вызывают у своих постоянных носителей сколько-нибудь заметной воспалительной реакции, но обуславливают острое заболевание при заражении третьих лиц. Суперинфекция чужими возбудителями таких супругов сопровождается клинической картиной острой гонореи.

Патогенез

При гонорее патологический процесс чаще ограничивается местом первоначального внедрения возбудителя. В связи с этим принято различать:

- гонореею мочеполювых органов (генитальная),
- экстрагенитальную (гонорея прямой кишки, глотки, глаза)
- метастатическую (диссеминирован-ную), являющуюся осложнением двух первых.

Гонококки паразитируют главным образом в мочеполювых органах на слизистых оболочках, выстланных цилиндрическим или железистым эпителием (уретра, канал шейки матки, нижняя часть прямой кишки, конъюнктива глаз и др.). Слизистые оболочки, покрытые многослойным плоским эпителием, а также кожа поражаются редко, лишь при особых благоприятствующих обстоятельствах (механическая, химическая и термическая травма,

мацерация, гормональная перестройка организма со снижением естественной резистентности).

После попадания на слизистую оболочку гонококки своими ворсинками (пили) и «зонами прикрепления» прочно фиксируются на эпителиальных клетках. Это происходит настолько быстро, что мочеиспускание сразу после полового акта не предотвращает возможности заболевания.

Гонококки проникают внутрь клеток эпителия и в межклеточные пространства, где могут быть обнаружены уже через 24—48 ч. Фагоцитоз гонококков эпителиальными клетками, как правило, носит незавершенный характер, а жизнеспособные возбудители продвигаются к базальной стороне клетки и появляются в субэпителиальной ткани. Там они образуют микроколонии, могут вызывать деструкцию эпителиального слоя и получают доступ к поверхностным лимфатическим и кровеносным сосудам половых органов. Хемотаксис обуславливает миграцию нейтрофилов, лимфоцитов и плазматических клеток к месту локализации гонококков, в результате чего в уребре появляется экссудат — выделения, содержащие возбудителей, а в подэпителиальном слое — инфильтрат. В последнем постепенно начинают преобладать мононуклеарные элементы. Инфильтрат может длительно сохраняться и после гибели гонококков. В некоторых случаях круглоклеточная инфильтрация замещается рубцовой тканью и формируются сужения — стриктуры.

Время, необходимое для проникновения гонококков в подэпителиальную ткань и развития воспалительной реакции, определяет продолжительность инкубационного периода, который составляет от 1 дня до 1 мес и более.

Гонококки не обладают способностью к активному движению, но вызванный ими воспалительный процесс постепенно захватывает все новые участки поверхности слизистой оболочки. Необычайно быстрый переход воспаления на задний отдел уретры у мужчин и быстрое развитие аднекситов у женщин, скорее всего, являются результатом лимфогенного распространения возбудителей.

Наиболее частые клинические проявления гонококковой инфекции

Гонококковая инфекция у мужчин

Наиболее частая форма гонококковой инфекции у мужчин - *уретрит*, характеризующийся дизурией и слизисто-гнойными уретральными выделениями различной степени интенсивности. В зависимости от выраженности данных симптомов течение уретрита может быть *острым, подострым, торпидным и хроническим*.

Острый уретрит характеризуется отеком и гиперемией наружного отверстия уретры, обильными гнойными выделениями желтовато-зеленого цвета из канала, дизурией. При *остром переднем гонорейном уретрите* болезненность появляется в начале мочеиспускания, а при *остром тотальном уретрите* боль усиливается в конце мочеиспускания. При тотальном уретрите нередко отмечаются болезненные эрекции, поллюции, гемоспермия. При *подострой стадии уретрита* клинические признаки заболевания выражены умеренно. При *торпидном и хроническом уретрите* симптомы заболевания, как правило, отсутствуют. При хроническом уретрите отмечается тотальное поражение мочеиспускательного канала. При этом выделения из уретры имеют настолько вязкую консистенцию, что остаются в канале, и их можно обнаружить в виде патологических дериватов при визуальном исследовании мочи.

Хронический гонококковый уретрит, как правило, имеет торпидное течение с периодическими обострениями.

Диагноз уретрита у мужчин устанавливается на основании обнаружения 5 и больше полиморфно-ядерных лейкоцитов в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$ и исследовании не менее 5 полей зрения при наличии или отсутствии клинических проявлений.

Осложнения гонококкового уретрита у мужчин

Литтреит - воспаление находящихся в уретре альвеолярных трубчатых желез. В случае перекрытия воспалительным инфильтратом устьев желез последние могут пальпироваться в виде плотных болезненных узелков (псевдоабсцессы). Иногда псевдоабсцесс достигает значительных размеров, в ряде случаев с формированием периуретрального абсцесса.

Морганит - воспаление лакун Морганьи, клинические проявления которого сходны с таковыми при литтреите.

Тизонит - воспаление тизониевых желез, расположенных латерально от уздечки полового члена с обеих сторон. При пальпации железы определяются в виде воспалительных узелков. При сдавливании из выводных протоков может выделяться гнойное содержимое. Также может сформироваться абсцесс железы при непроходимости выводного протока.

Парауретрит - воспаление парауретральных желез - проявляется в виде инфильтрации в проекции парауретрального хода и гиперемии устья выводного отверстия. При закрытии отверстия может сформироваться парауретральный абсцесс.

Периуретрит развивается вследствие инвазии гонококков в

периуретральную клетчатку и кавернозное тело уретры при слиянии нескольких псевдоабсцессов желез Литтре. Определяется в виде инфильтрата с нечеткими контурами, который может приводить к абсцедированию, нарушению мочеиспускания, формирования стриктур уретры.

Колликулит возникает при распространении воспалительного процесса на область семенного бугорка и проявляется в виде болевого синдрома различной степени выраженности с иррадиацией в поясничную область, бедра, нижнюю часть живота, половой член. Нередко колликулит сопровождается половыми расстройствами в виде преждевременной или поздней эякуляции. Выделяют катаральный, интерстициальный и атрофический колликулит.

Куперит - воспаление бульбоуретральных желез. Острый куперит характеризуется пульсирующими болями в промежности, усиливающимися при дефекации, движении и давлении, дизурией.

Простатит - распространенное осложнение при гонорее. Инфицирование предстательной железы происходит каналикулярно при поражении гонококками задней уретры. Различают острый и хронический простатит. При остром простатите отмечаются симптомы, характерные для острого тотального уретрита, дизурия, пульсирующие боли в промежности и над лобком, симптомы интоксикации. При пальпации железа или одна из ее долей увеличена, инфильтрирована и уплотнена, резко болезненна. Может сформироваться абсцесс предстательной железы. При хроническом простатите пациенты предъявляют жалобы на периодические незначительные выделения из уретры, учащенное мочеиспускание, парестезии. Нередко хронический простатит протекает бессимптомно, и диагноз может быть установлен только на основании данных

лабораторного исследования.

Везикулит - воспаление семенных пузырьков, часто сопровождает простатит. Острая форма встречается редко и характеризуется общими явлениями интоксикации, лихорадкой, гематурией, гемоспермией. Чаще диагностируется хронический везикулит, который может протекать бессимптомно. При обострении возникают тазовые боли с иррадиацией в уретру, промежность, прямую кишку, болезненные поллюции, гемоспермия, преждевременная эякуляция.

Эпидидимит - воспаление придатка яичка, как правило, характеризуется односторонним поражением. Одновременно с придатком в воспалительный процесс вовлекается семявыносящий проток и окружающая семенной канатик клетчатка (фуникулит). Острый процесс характеризуется наличием общих явлений интоксикации, лихорадкой (до 39-40° С). На фоне выраженного болевого синдрома возникают гиперемия и отек соответствующей половины мошонки, что видно по сглаживанию складок. Одновременно отмечаются клинические признаки острого тотального уретрита с наличием выделений и дизурии. При пальпации определяется увеличенный и болезненный придаток яичка, который в виде шлема охватывает яичко по его нижней и задней поверхности. Возможно формирование гидроцеле и периорхита, а при вовлечении в воспалительный процесс ткани самого яичка возможно развитие эпидидимоорхита. При хроническом эпидидимите происходит разрешение воспалительного процесса с исходом в фиброз и рубцевание, следствием чего может стать рубцовая обструкция семявыносящего протока и формирование обтурационного бесплодия.

Поражение кожи встречается при диссеминированной гонококковой инфекции и проявляется в виде умеренно болезненных эрозий или

язв, покрытых корочкой, с венчиком гиперемии по периферии. Высыпания располагаются преимущественно на головке и коже полового члена, лобке, бедрах.

Гонококковая инфекция у женщин.

Гонококковая инфекция у женщин характеризуется малосимптомным течением и многоочаговостью поражения, что обусловлено анатомо-физиологическими особенностями строения мочеполовых органов. У женщин гонококковое поражение может возникнуть одновременно в нескольких локализациях (цервицит, уретрит и т. д.) И не сопровождается субъективными симптомами. В зависимости от топографии поражения различают:

- 1) гонококковую инфекцию нижних отделов мочеполовой системы: цервицит, уретрит, цистит, вульвовагинит;
- 2) гонококковую инфекцию верхних отделов мочеполовой системы: воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) - эндометрит, сальпингит, оофорит, пельвиоперитонит.

Гонококковая инфекция нижних отделов мочеполовой системы

Цервицит - воспаление слизистой оболочки шейки матки - наиболее частая форма гонококковой инфекции у женщин, характеризующаяся слизисто-гнойными выделениями из цервикального канала, гиперемией и отеком влагалищной части шейки матки. Иногда сопровождается развитием циркулярной эрозии, межменструальными или посткоитальными кровотечениями. При хроническом цервиците отмечаются незначительные выделения из цервикального канала.

Диагноз цервицита устанавливается на основании одновременного присутствия двух критериев: обнаружение более 10 полиморфно-

ядерных лейкоцитов в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$ и исследовании не менее 5 полей зрения и наличии слизисто-гнойных выделений из цервикального канала.

Клинические проявления гонококкового *уретрита* у женщин характеризуются дизурией, уретральными выделениями, гиперемией и отеком наружного отверстия уретры.

Диагноз уретрита у женщин устанавливается на основании обнаружения 10 и более полиморфно-ядерных лейкоцитов в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 1000$ и исследовании не менее 5 полей зрения при наличии или отсутствии клинических проявлений.

Вагинит (вульвовагинит) развивается у девочек, беременных и женщин в менопаузе или после гистерэктомии и проявляется обильными вагинальными выделениями, болевым синдромом, жжением, зудом в области наружных половых органов, гиперемией и отеком слизистой оболочки влагалища.

Вестибулит - воспаление больших вестибулярных желез характеризуется двусторонним поражением, которое может быть ограничено выводным протоком, распространяться на железу в целом или за ее пределы. В случае нарушения оттока секрета железы может сформироваться ложный абсцесс, который не вызывает нарушений общего состояния и через некоторое время самопроизвольно разрешается. При присоединении вторичной инфекции образуется истинный абсцесс, что сопровождается симптомами интоксикации и резкой болезненностью в области поражения.

Гонококковая инфекция верхних отделов мочеполовой системы

Эндометриит - следствие восходящей инфекции из цервикального канала, приводящей к поражению слизистой оболочки шейки матки. При остром воспалительном процессе появляются схваткообразные боли внизу живота, повышение температуры тела до 39° С, обильные кровянисто-гнойные выделения, нарушается менструальный цикл. При хроническом процессе отмечаются боли внизу живота, периодические кровянистые «мажущие» выделения (скудные, слизисто-гнойные).

Сальпингит - воспаление маточных труб, при распространении воспалительного процесса на яичники развивается *сальпингоофорит*. Острый воспалительный процесс характеризуется выраженным болевым синдромом внизу живота, усиливающимся при движении, мочеиспускании, дефекации. Отмечаются симптомы общей интоксикации, нарушения акта дефекации, менструального цикла, дизурия. Хронический процесс сопровождается умеренным болевым синдромом внизу живота, нарушением менструального цикла, скудными слизистыми выделениями. Сальпингит может привести к бесплодию вследствие нарушения проходимости маточных труб из-за развития спаечного процесса. Хронический воспалительный процесс в данной локализации может быть причиной эктопической беременности.

Пельвиоперитонит - грозное осложнение гонококковой инфекции, связанное с воспалением тазовой брюшины. Характеризуется резкими, схваткообразными болями внизу живота. Развиваются диспепсия, дизурия, нарушение акта дефекации, явления интоксикации. При пальпации передняя брюшная стенка напряжена, определяется положительный симптом Щеткина-Влюбберга, в клиническом анализе крови отмечается увеличение СОЭ при нормальном количестве лейкоцитов.

При наличии гонококковой инфекции у беременных возможен преждевременный разрыв плодных оболочек, развитие преждевременных родов, анте- или интранатальное инфицирование плода. В послеродовом периоде возможно развитие гонококкового эндометрита. Наиболее частым проявлением гонококковой инфекции у новорожденных является офтальмия. При аспирации инфицированных околоплодных вод поражаются верхние дыхательные пути, при контактном пути инфицирования развивается вульвит или проктит.

Диагностика гонококковой инфекции

Диагноз гонококковой инфекции базируется на оценке анамнеза заболевания и результатах клинических и лабораторных методов обследования.

Таблица 1

Рекомендуемые методы диагностики гонореи

Клинический материал для исследования	Метод диагностики	Комментарии
Отделяемое уретры (мужчины) Отделяемое Эндоцервикса, уретры (женщины)	Микроскопический с окраской по Г рамму	Выявление грамтрицательных диплококков, расположенных вне и внутри полиморфно-ядерных лейкоцитов, и степени выраженности воспалительной реакции. может быть использован в качестве единственного метода диагностики
	Культуральный (бактериологический)	Для выделения и идентификации <i>N. gonorrhoeae</i> и оценки антибиотикочувствительности. Выделение <i>N. gonorrhoeae</i> при культуральном исследовании является бесспорным доказательством наличия гонококковой инфекции
	Молекулярно-	Метод скрининга. При выявлении ДНК,РНК <i>N. gonorrhoeae</i> требуется подтверждение

	биологический (ПЦР)	культуральным методом или альтернативным методом амплификации нуклеиновых кислот
	Молекулярно-биологический (реакция транскрипционной амплификации - NASBA)	Метод используется при несовпадении результатов обследования некультуральными методами (микроскопия, ПЦР)
Отделяемое ротоглотки , Конъюнктивы, прямой кишки	Культуральный (бактериологический)	для выделения и идентификации <i>N. gonorrhoeae</i> и оценки антибиотикочувствительности. Основной метод диагностики. Микроскопический метод с окраской по Граму не применяется
	Молекулярно-биологический (ПЦР)	Метод скрининга. При выявлении ДНК, РНК <i>N. gonorrhoeae</i> требуется подтверждение культуральным методом или альтернативным методом амплификации нуклеиновых кислот
Моча (мужчины и Женщины)	Молекулярно-биологические (ПЦР, реакция транскрипционной амплификации - NASBA)	Метод скрининга. При выявлении ДНК,РНК <i>N. gonorrhoeae</i> требуется исследование клинического материала, полученного у мужчин из уретры, у женщин из уретры и цервикального канала. Возможно исследование клинического материала из других анатомических областей

Интерпретация результатов лабораторного исследования

Диагноз гонококковой инфекции ставится при:

- выделении и идентификации *N. gonorrhoeae* при бактериологическом исследовании,

или

- обнаружении грамотрицательных диплококков при микроскопическом исследовании с одновременным выделением и идентификацией *N. gonorrhoeae* при бактериологическом исследовании или выявлением нуклеиновых кислот (ДНК/РНК) *N. gonorrhoeae* молекулярно-биологическими методами,

или

- выявлении нуклеиновых кислот *N. gonorrhoeae* молекулярно-биологическими методами с одновременным выделением и идентификацией *N. gonorrhoeae* при бактериологическом исследовании или выявлением *N. gonorrhoeae* молекулярнобиологическими методами с использованием альтернативной технологии амплификации нуклеиновых кислот.

Наиболее информативным может быть результат лабораторного исследования при соблюдении следующих условий:

- пациенту не назначались антибактериальные препараты системного или местного действия за 7-8 дней до обследования;
- пациенты должны воздерживаться от мочеиспускания не менее 2 ч до обследования;
- необходимым является получение клинического материала с учетом субъективных и объективных клинических проявлений заболевания и рекомендуемого диагностического метода (см. табл1);
- пациенты должны воздерживаться от незащищенных половых контактов в течение суток до обследования.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Преимущества:

- быстрота получения результата;
- простые условия транспортировки;
- несложность в выполнении;
- низкая стоимость;
- возможность оценки степени выраженности воспалительного процесса.

Недостатки:

- субъективность оценки результата - зависит от опыта специалиста, проводящего микроскопическое исследование, качества взятия материала, качества окраски, используемого микроскопа;
- низкая чувствительность;
- фарингеальные, конъюнктивальные и ректальные пробы не исследуются микроскопическим методом;
- микроскопический метод не должен быть использован в решении юридических вопросов.

Микроскопическое исследование окрашенных препаратов

При проведении микроскопического исследования последовательно оцениваются препараты, окрашенные двумя способами: метиленовым синим и по Граму. Нельзя выносить заключение по результатам исследования лишь одного препарата.

Окраска метиленовым синим позволяет сделать заключение о наличии и степени выраженности воспалительной реакции и выявлении морфотипа бактерий. При окраске по Граму возможно выявление грамотрицательных диплококков. При микроскопии препаратов оценивается наличие эпителия, количество лейкоцитов, эритроцитов, морфотип бактерий (лактобациллы, кокки, коккобациллы), наличие вне- и внутриклеточно расположенных

диплококков.

Оценка результатов микроскопического исследования окрашенных препаратов

При микроскопическом исследовании проводится оценка морфологических и тинкториальных свойств диплококков на основании 3 признаков:

- форма (диплококк, имеющий форму кофейного зерна и располагающийся попарно вогнутыми сторонами друг);
- расположение (внутри лейкоцитов и эпителиальных клеток);
- окраска (по методу Грама красно-розовая – грамотрицательный диплококк; при этом ядра лейкоцитов и эпителиальных клеток окрашиваются в фиолетовый цвет).

Только наличие всех трех признаков позволяет предположить гонококковую инфекцию. Для подтверждения диагноза гонококковой инфекции требуется проведение культурального или молекулярно-биологического исследования.

Оценка препаратов, окрашенных метиленовым синим

При микроскопии препарата метиленовым синим определяются:

- ядра клеток, окрашенные в синий цвет;
- цитоплазма, окрашенная в голубой цвет разной интенсивности;
- бактериальная микрофлора, окрашенная в синий цвет разной интенсивности.

Окраска метиленовым синим является ориентировочной и позволяет оценить морфологию (форму) и расположение микроорганизмов в

мазке (внутри лейкоцита и на эпителиальных клетках).

Оценка препаратов, окрашенных по Граму

Методика оценки препарата, окрашенного по Граму, принципиально не отличается от методики оценки мазка, окрашенного метиленовым синим (см. выше). Окраска по Граму позволяет выделять в картине мазка красно-розовые (грамотрицательные) или сине-фиолетовые (грамположительные) элементы. Основной целью исследования является выявление грамотрицательных диплококков со специфической морфологией, а также степени выраженности лейкоцитарной реакции.

При правильной окраске препарат должен быть красно-розового цвета, при этом самые тонкие места мазка окрашены в розовый цвет, наиболее толстые - в фиолетовый, а средние по толщине - в лиловый. Ядра клеточных элементов (лейкоцитов, эпителиальных клеток) должны сохранить фиолетовый цвет, в то время как гонококки, локализирующиеся в лейкоцитах и эпителиальных клетках, окрашиваются в красно-розовый цвет.

При неправильной окраске надо повторить взятие материала и окраску мазка. Высокое качество окраски может быть достигнуто своевременной остановкой процесса обесцвечивания. Когда обесцвечивание недостаточно, ядра лейкоцитов и эпителиальных клеток окрашиваются в темно-фиолетовый цвет и грамотрицательные бактерии могут приобрести фиолетовую окраску, в результате все бактерии будут приняты за грамположительные. В этом случае процесс обесцвечивания спиртом нужно повторить. Если процесс обесцвечивания был слишком долгим, грамположительные микроорганизмы окрасятся в интенсивно красный цвет и будут неправильно расценены как грамотрицательные.

При микроскопии мазка, **окрашенного по Граму**, можно определить следующие морфологические объекты:

- слизь (красноватая аморфная масса/пучки, которая образует фон препарата);
- эпителиальные клетки (в большинстве случаев видны только ядра: они овальные/круглые, мономорфные по своей окраске - ярко-фиолетового цвета);
- сегменто-ядерные лейкоциты (ядра окрашены в фиолетовый цвет, цитоплазма бледно-розовая);
- гонококки (красно-розового цвета, расположены как в лейкоцитах, так и внеклеточно, а также на эпителиальных клетках);
- микроорганизмы (грамотрицательные и грамположительные);
- сперматозоиды (редко);
- эритроциты (редко).

Культуральное (бактериологическое) исследование

Принцип метода

Выделение культуры *Neisseria gonorrhoeae* с использованием специальных питательных сред с последующей их идентификацией.

Преимущества бактериологического метода:

-высокая чувствительность;

-высокая специфичность;

-используется для исследования любых клинических материалов (кроме мочи);

-позволяет проводить исследование чувствительности к антибиотикам.

Недостатки бактериологического метода:

- при нарушении технологии исследования снижается его чувствительность и специфичность;
- требует много времени по сравнению с ДНК (РНК) методами, основанными на амплификации нуклеиновых кислот;
- метод более дорогой, чем микроскопия, однако микроскопия не может применяться для идентификации *N. gonorrhoeae* и постановки окончательного диагноза гонореи.

Питательные среды

Гонококки являются весьма требовательными к составу питательных сред микроорганизмами. Они могут расти только на средах, содержащих определенные концентрации аминокислот, пуринов и пиримидинов, а также усваиваемых источников энергии (т.е. глюкозы, пирувата или лактата). Для того чтобы облегчить идентификацию гонококков, в среду для культивирования добавляют антибиотики, подавляющие рост контаминирующих бактерий и грибов, такие как линкомицин и (или) ванкомицин; колистин; нистатин, анизомицин или амфотерицин В; триметоприм. Однако в редких случаях некоторые штаммы гонококков могут быть чувствительны к используемым концентрациям ванкомицина и (или) триметоприма.

При обнаружении колоний с типичной для гонококков морфологией проводится их предварительная идентификация. При необходимости проводят подтверждающую идентификацию для верификации диагноза гонококковой инфекции.

Идентификация нейссерий

Первичная идентификация нейссерий проводится путем:

- визуальной оценки вида колоний;
- окраски материала из подозрительных колоний по Граму;
- проведения оксидазного теста.

Видовая идентификация

Видовая идентификация проводится при выделении оксидазо-положительных грамотрицательных диплококков для окончательной диагностики *N. gonorrhoeae*, специально полученных из экстрагенитальных локализаций, а также для гонококков, которые должны быть характеризованы серологическими методами и методами генетического типирования и (или) затем исследованы на антибиотикочувствительность. Для высокочувствительной и высокоспецифической лабораторной диагностики *N. gonorrhoeae* должны использоваться два подтверждающих метода, основанных на разных принципах.

Для подтверждающей идентификации нейссерий используются следующие тесты:

- изучение ферментативной активности;
- иммунологические тесты (прямая иммунофлюоресценция, коаггутинация) ;
- молекулярно-биологические методы (ПЦР).

Иммунологические (антигенные) подтверждающие тесты

Иммунологические тесты рекомендуется использовать только в

лабораториях для окончательного подтверждения *N. gonorrhoeae*.

Иммунологические тесты с использованием моноклональных антител для прямой иммунофлюоресценции (ПИФ), коагглютинации и иммуноферментного анализа являются высокочувствительными и специфичными для идентификации *N. gonorrhoeae*.

Прямая иммунофлюоресценция

Тест в большинстве случаев основан на использовании флюоресцирующих моноклональных антител к очищенному PorB белку наружной мембраны гонококка (раньше его называли белком 1 или главным белком наружной мембраны гонококка).

Коагглютинационные тесты

Staphylococcus aureus (штамм Cozan) является богатым поверхностным протеином А, который связывается с фрагментом Fc иммуноглобулина G субклассов 2 и 4, оставляя Fab-фрагмент свободным для реагирования с антигеном. Убитые прогреванием стафилококки, покрытые антигонококковыми антителами, смешивают с суспензией исследуемой культуры гонококков, что приводит к появлению хлопьев (агглютинации). Наличие хлопьев свидетельствует о положительной реакции, отсутствие – об отрицательной реакции.

. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГОНОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Общие положения

Молекулярно-биологические методы направлены на выявление

нуклеиновых кислот (НК) - ДНК и (или) РНК *Neisseria gonorrhoeae* и включают методы гибридизации НК (МГНК) и методы амплификации НК (МАНК). Методы гибридизации НК основаны на выявлении возбудителя в результате гибридизации ДНК(РНК-)зондов непосредственно с генетическим материалом возбудителя. МАНК основаны на выявлении генетического материала возбудителя через этап предварительной амплификации (многократного копирования) специфического фрагмента ДНК или РНК. В результате с помощью МАНК можно обнаружить возбудитель в концентрациях много меньших, чем предел обнаружения другими методами, включая методы гибридизации нуклеиновых кислот. В настоящее время молекулярно-биологические методы диагностики гонококковой инфекции представлены как коммерческими тест-системами, так и различными «in house» методиками на основе метода ПЦР.

Серологические методы

Разработано несколько серологических реакций для обнаружения антител к *N. gonorrhoeae*, таких как реакция связывания комплемента, латексагглютинации, иммунофлюоресценции и др. Однако ни одна из серологических реакций не позволяет отличить текущую инфекцию от инфекции, перенесенной в прошлом. Поэтому с целью диагностики гонореи серологические реакции не используются.

Профилактика гонореи:

исключение случайных половых контактов, использование презервативов, соблюдение личной и половой гигиены. Следует информировать больного о необходимости использования презерватива при половых контактах до полного излечения.

Обязательному обследованию и лечению подлежат все половые партнеры больных с симптомами, если они имели половой контакт с больными за последние 14 дней, или обследуется и лечится последний половой партнер, если контакт был ранее. При отсутствии симптомов у больного гонореей обследованию и лечению подлежат все половые партнеры за последние 60 дней.

На первичном приеме необходимо убедить пациента в проведении исследований на другие инфекции, передаваемые половым путем (сифилис, хламидиоз, трихомониаз, а также ВИЧ, вирусные гепатиты В и С).

Учитывая частую ассоциацию *N. gonorrhoeae* и *C. trachomatis*, при невозможности проведения лабораторной диагностики хламидиоза схемы лечения гонококковой инфекции дополняются назначением противохламидийных препаратов.

При неустановленном источнике инфицирования гонококковой инфекцией рекомендуется повторное серологическое обследование на сифилис через 3 мес, на ВИЧ, гепатиты В и С - через 3 и 6 мес.

Контрольное клинико-лабораторное обследование проводится через 2 и 14 дней (21 - при использовании молекулярно-биологических методов) после окончания лечения (дальнейшие исследования по показаниям). При установленном источнике инфицирования, разрешении клинических симптомов, отрицательных результатах лабораторного обследования на гонорею дальнейшее наблюдение не проводится.

Список литературы

1. Клиническая лабораторная диагностика. гл. ред. В. В. Долгов, В. В. Меньшиков. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2015. [Электронный ресурс]: нац. рук.Т.1.-Режимдоступа: <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970421291.html>
2. Клиническая лабораторная диагностика. гл. ред. В. В. Долгов, В. В. Меньшиков. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2016. [Электронный ресурс]: нац. рук.Т.2.-Режимдоступа: <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970421314.html>
3. Клиническая лабораторная диагностика. Клиническая ординатура [Электронный ресурс] : сб. метод.указаний для обучающихся к внеаудитор. (самостоят.) работе к практ. занятиям / сост. Е. Н. Анисимова, Т. И. Удовицина, В. А. Бабушкин [и др.] ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск :КрасГМУ, 2013. - 95 с. – ЦКМС.
4. Клиническая лабораторная диагностика. Клиническая ординатура [Электронный ресурс] : сб. метод.указаний для обучающихся к практ. занятиям / сост. Е. Н. Анисимова, Т. И. Удовицина, В. А. Бабушкин [и др.] ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск :КрасГМУ, 2013. - 419 с. – ЦКМС.
5. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы [Электронный ресурс] : рук.для врачей / ред. А. И. Карпищенко. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 696 с. : ил.
6. Кишкун,А. А. Назначение и клиническая интерпретация результатов лабораторных исследований [Электронный ресурс] / А. А. Кишкун. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016.
7. Клиническая и лабораторная диагностика : метод.пособие для студентов, курсантов высш. учеб. заведений, практикующих врачей / сост. Ю. В. Котловский, Т. А. Соколова-Попова, Л. А. Радченко [и др.] ; Красноярский медицинский университет. - Красноярск :КрасГМУ, 2017. - 115 с. : ил. : 500.00 - Рек. УМО РАЕ по класс.универ. и техн. ОбразованиюЮ. Котловский Ю. В., сост. П. Красноярский медицинский университет

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-
Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

КАФЕДРА

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Рецензия <доц. КМН Кафедры кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО Анисимова Елена Николаевна > на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика <Николаевой Аси Андреевны > по теме: <Гонорея, лабораторная диагностика >.

Рецензия на реферат – это критический отзыв о проведенной самостоятельной работе ординатора с литературой по выбранной специальности обучения, включающий анализ степени раскрытия выбранной тематики, перечисление возможных недочетов и рекомендации по оценке. Ознакомившись с рефератом, преподаватель убеждается в том, что ординатор владеет описанным материалом, умеет его анализировать и способен аргументированно защищать свою точку зрения. Написание реферата производится в произвольной форме, однако, автор должен придерживаться определенных негласных требований по содержанию. Для большего удобства, экономии времени и повышения наглядности качества работ, нами были введены стандартизированные критерии оценки рефератов.

Основные оценочные критерии рецензии на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика :

Оценочный критерий	Положительный/ отрицательный
1. Структурированность	+
2. Наличие орфографических ошибок	—
3. Соответствие текста реферата его теме	+
4. Владение терминологией	+
5. Полнота и глубина раскрытия основных понятий темы	+
6. Логичность доказательной базы	+
7. Умение аргументировать основные положения и выводы	+
8. Круг использования известных научных источников	+
9. Умение сделать общий вывод	+

Итоговая оценка: положительная/отрицательная

Комментарии рецензента:

Дата: 19.12.2017

Подпись рецензента:

Подпись ординатора: