

前 言

软下疳是一种经典性病,由杜克雷嗜血杆菌感染所引起。80年代以来,随着其他性病的流行,本病也有个别散在临床类似的病例报告。为了对软下疳患者提供可靠的诊断,进行合适的治疗,以及了解国内软下疳的流行情况和流行趋势,为防治工作提供可靠的依据,特制定本标准。

在制定本标准的过程中,认真研究了我国卫生部制定的《性病诊断标准与治疗方案(暂定)》,参阅了美国疾病控制中心1996年6月修订的软下疳诊断标准,以及1998年的《性传播疾病治疗指南》的有关部分。

本标准的附录A是标准的附录。

本标准的附录B是提示的附录。

本标准由中华人民共和国卫生部疾病控制司提出。

本标准起草单位:中国医学科学院皮肤病研究所。

本标准主要起草人:邵长庚、龚匡隆。

本标准由卫生部委托卫生部传染病防治监督管理办公室负责解释。

中华人民共和国卫生部行业标准

软下疳诊断标准及处理原则

WS 191—1999

Diagnostic criteria and principles of management of chancroid

1 范围

本标准规定了软下疳的诊断标准及处理原则。

本标准适用于全国各级医疗保健机构和卫生防疫机构及性病防治机构。

2 诊断标准

软下疳必须根据病史、体检和实验室检查结果进行综合分析,慎重作出诊断。

2.1 接触史

有非婚性行为史及性伴感染史,对来自流行区的感染者更应询问性接触史。

2.2 临床表现

本病为杜克雷嗜血杆菌感染所引起,潜伏期3~7天。病损主要发生于性接触中组织易损伤的部位,男性多在冠状沟、包皮、龟头、会阴等处;女性多在小阴唇、大阴唇和后联合处。生殖器外可见于肛门、大腿上部、口腔和手指部。初发为外生殖器部位的炎性小丘疹,1~2天后迅速变为脓疱,破溃形成疼痛性溃疡,溃疡呈圆形或卵圆形,边缘不整,可潜行穿凿,周围皮肤潮红。溃疡基底柔软,为肉芽组织,易出血,覆以脓性分泌物。单个溃疡3~20 mm大小,也可发生多发的卫星状溃疡,伴有不同程度的疼痛,有时发生于女性阴道和宫颈部位的溃疡可以不痛。约半数患者发生急性、疼痛性腹股沟淋巴结炎(横痃),表面皮肤红肿,可破溃。由于自身接种,感染也可播散到身体其他部位的皮肤和粘膜。

2.3 实验室检查

2.3.1 涂片:从溃疡或横痃处取材涂片作革兰染色,镜下可见到革兰阴性短杆菌,呈长链状排列,多条链平行,似“鱼群”状,可考虑为杜克雷嗜血杆菌,但涂片的敏感性大约为50%。另外溃疡中其他革兰阴性菌可造成假阳性。

2.3.2 培养:标本在选择性培养基上培养,可出现典型菌落,取典型菌落作细菌涂片,可见到革兰阴性短链杆菌。细菌经分离鉴定,可明确为杜克雷嗜血杆菌(见附录A)。

临床诊断:根据2.1、2.2进行,2.3.1只作参考,但应符合:(1)发生7天以上的溃疡,用暗视野显微镜检查溃疡组织液查不到梅毒螺旋体,或梅毒血清学试验阴性;(2)临床上排除溃疡为单纯疱疹病毒(HSV)感染,或HSV培养阴性。

确诊病例:符合2.1、2.2和2.3.2条件的病例。

3 治疗原则

应遵循及时、足量、规则用药的原则,根据不同的病情采用相应的治疗方案(见附录B)。注意在未排除梅毒之前不要应用能掩盖梅毒诊断的药物。治疗期间应避免性生活,性伴如有感染的可能,应同时接受治疗。治疗后应进行随访。

4 临床治愈

判断是否痊愈时,应根据临床和病原学检查,一般两者是一致的,如病原体持续存在应判未愈。临床上开始治疗后7~14天,溃疡疼痛减轻、脓液消失,一般在28天内上皮再生完全愈合。横痃的愈合时间稍长。少数患者由于病原体存在,在治疗的10天内原损害部位可有复发。而再感染一般发生在新的性接触之后,通常损害发生在新的部位。

5 管理及预防

加强性病防治宣传教育,减少传染及播散。早期发现病人给予合理治疗并注意耐药菌株的出现。要追踪病人的传染源及接触者,对患者发病前10天内的性接触者,不论其有无症状,均应同时接受治疗。特别要注意在高危人群中发现病人。在软下疳多发地区,可开展生殖器溃疡的病征处理。在疾病未彻底治愈之前,除避免性生活外,还应注意个人卫生,分开使用毛巾、面盆、浴盆、床单等可致传染的媒介物品,污染物可煮沸消毒。个人预防可使用避孕套。

附录 A

(标准的附录)

杜克雷嗜血杆菌的实验室诊断

A1 标本的采集

本病病损主要发生于性接触中组织易损伤的部位。男性多发生在冠状沟、包皮、龟头、会阴部等处；女性多发生于小阴唇、大阴唇和后联合等处。生殖器外可见于肛门、大腿上部、口腔和手指等处。

用无菌的干纱布将溃疡表面的痂皮和分泌物擦去。用涤纶拭子采取分泌物或从溃疡底部或边缘取材。或用 1 mL 无菌注射器从波动的腹股沟淋巴结中抽取淋巴液作检查。

A2 分泌物涂片检查

应将拭子均匀轻轻地涂在干净的玻片上，然后在空气中干燥，火焰固定，革兰染色，镜检。

A2.1 革兰染色

A2.1.1 将经过固定的涂膜铺满结晶紫溶液，染 1 min。迅速在流水中洗净。

A2.1.2 用碘液铺满涂片，染 1 min。用流水洗净。

A2.1.3 用丙酮-乙醇液脱色，直到涂片无紫色脱下为止。通常要 10~20 s，取决于涂膜的厚薄。避免脱色过分，否则革兰阳性可误认为阴性菌。

A2.1.4 很快在流水中淋洗停止脱色，将过量的水用吸水纸吸干。

A2.1.5 用沙黄或复红液复染 1 min。

A2.1.6 用流水淋洗，用吸水纸吸干。

A2.1.7 镜检

使用 10×100 倍油镜检查。杜克雷嗜血杆菌为革兰阴性，菌体长约 1.6~2.0 μm，宽约 0.5~0.6 μm，呈短杆菌，两端圆，常单独存在，成堆或链状排列，有两极浓染现象。无芽胞。

A2.1.8 注意事项

标本采集时应在溃疡的基底部。涂片检查易产生假阳性和假阴性，故不推荐用涂片检查作确诊。

A3 杜克雷嗜血杆菌分离培养

标本取后应立即接种于改良 Thayer-Martin 培养基或 BM-SGA 运送培养基上。

初代分离时应在 5%~10% 二氧化碳环境(烛缸)，培养温度 33℃~35℃ 为宜，相对湿度 80% 以上。培养 48~72 h 观看结果。

A3.1 改良的 Thayer-Martin 培养基制备

A3.1.1 成分

A3.1.1.1 GC 基础培养基

将蛋白胨 1.5 g、玉米粉 0.1 g、磷酸氢二钾(K₂HPO₄) 0.4 g、磷酸二氢钾(KH₂PO₄) 0.1 g、氯化钠(NaCl) 0.5 g 和琼脂 1.2 g 混合而成。国外有成品出售。

A3.1.1.2 VCN 抑菌剂

1 mL 溶液中含万古霉素 300 μg、多粘菌素 E750 μg 和制霉菌素 1 250 单位。为抑制变形杆菌可加三甲氧苄氨嘧啶 500 μg。制成后立即用完或贮存 -20℃ 以下于 2 周内用完。

A3.1.1.3 Iso-Vitalex 增菌剂

每升蒸馏水中加入维生素 B₁₂ 0.01 g、L-谷酰胺 10.0 g、P-氨基苯甲酸 0.012 g、腺嘌呤 1.0 g、鸟嘌呤 0.03 g、二磷酸吡啶核苷酸 0.25 g、硫酸焦磷酸 0.1 g、硝酸铁 0.02 g、硫酸 0.003 g、L-半胱氨酸

25.9 g、L-胱氨酸 1.1 g 和葡萄糖 100 g。

A3.1.1.4 2% 血红蛋白。

A3.1.1.5 5% 胎牛血清

胎牛血清用蔡氏滤器或用 0.45 μm 滤膜除菌。

A3.1.2 配制法

A3.1.2.1 配制双倍浓度的基础培养基：将 GC 基础培养基 7.2 g 溶于 100 mL 蒸馏水中（用 500 mL 烧瓶）充分混匀，100℃ 水浴并不断搅动，使之充分溶解，经高压灭菌后放 50℃ 水浴待用。

A3.1.2.2 将 2 g 血红蛋白粉放入研钵，加 2~3 mL 蒸馏水研成糊状，逐步加入蒸馏水直到 100 mL，高压 121℃ 20 min 灭菌。

A3.1.2.3 配制增菌剂：每安瓿增菌剂加入稀释液 2 mL，使充分溶解。

A3.1.2.4 配制抑菌剂：每安瓿增菌剂加入蒸馏水 2 mL，摇动，使充分溶解。

A3.1.2.5 以无菌操作将 100 mL GC 基础培养基、100 mL 2% 血红蛋白液、2 mL 增菌剂和抑菌剂混合后倒入平皿。4℃ 冰箱保存、待用。

A3.2 杜克雷嗜血杆菌运送培养基(BM-SGA)制备法

A3.2.1 BM 成分

磷酸二氢钠(NaH_2PO_4) 10.0 g、硝酸镁[$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$] 0.1 g、磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 2.0 g、氯化钠(NaCl) 5.0 g、氯化钙(CaCl_2) 0.1 g、血红素 0.2 g、巯基乙酸钠 1.0 g、Bacto 琼脂 5.0 g 溶解在 990 mL 蒸馏水中，pH7.5。

A3.2.2 SGA 成分

二氧化硒 0.003 mg、万古霉素 3 mg、L-谷酰胺 3 mg、白蛋白 V 成分 2.0 g，溶解在 10 mL 蒸馏水中。

A3.2.3 配制方法

SGA 成分采用 0.45 μm 的滤膜过滤除菌备用。BM 成分于 121℃ 灭菌 15 min，待冷至 50℃，无菌操作加入 SGA 溶液混匀，分装于带螺旋盖的无菌试管内，每管 6 mL，放 4℃ 可用 30 天。

A3.3 结果

杜克雷嗜血杆菌经 48~72 h 培养后，可形成光滑的半球形（小扁豆样），较小的如针尖大或直径 2 mm 的菌落。有些菌落呈半透明，有的呈浅灰色，有的呈黄灰色，高起呈颗粒状，每一菌落本身紧密结合在一起，用接种环在琼脂上推动能保持完整性。培养法培养杜克雷嗜血杆菌的敏感性为 70% 左右，但培养仍是目前世界卫生组织推荐和诊断软下疳病人的主要实验室方法。经培养的杜克雷嗜血杆菌用盐水涂片为革兰阴性短杆菌，平行成“鱼群状”排列。应对生长的细菌进行生化反应鉴定（见表 A1）。

表 A1 杜克雷嗜血杆菌几种生化试验鉴定结果

试 验	杜克雷嗜血杆菌反应
革兰染色	阴性
氧化酶试验	阳性
过氧化氢酶试验	阴性
吡啉试验	阴性
硝酸盐还原试验	阳性

A3.4 注意事项

为了抑制标本中的某些细菌的过度生长，更易发现杜克雷嗜血杆菌，分离时应采用加抗生索的选择性培养基。但某些抗生索如万古霉素能抑制某些杜克雷嗜血杆菌，因此，培养基中是否加入万古霉素及其加入量的多少应予注意。杜克雷嗜血杆菌对环境的抵抗力很弱。为提高培养的成功率，标本离体时间越短越好。如不能及时培养，应将标本先接种于运送培养基中，但必需在一周内转种到生长培养基上。

A4 鉴定

A4.1 氧化酶试验

杜克雷嗜血杆菌酶系统不完善,但能产生弱氧化酶,它产生的氧离子能将氧化酶试剂(盐酸四甲基对苯二胺)氧化成醌类化合物,出现弱颜色反应。但也有报告氧化酶试验阴性的菌株。

A4.1.1 方法

将氧化酶试剂配制成0.5%~1%水溶液。将溶液滴加于可疑菌落上,观察颜色变化。也可先将试剂滴在一张滤纸上(纸片法),然后挑取可疑菌落与之接触;或将菌落涂在滤纸上,再滴加试剂,观察有无颜色出现。

A4.1.2 结果

在滴加1%盐酸四甲基对苯二胺溶液后,一般于15~20 s内菌落即呈淡红色,然后逐步变成紫色,最后呈黑色。纸片法为在涂布的地方出现淡红色,最后呈黑色。氧化酶试验,菌体形态和菌落形态是初步鉴定杜克雷嗜血杆菌的三个重要标准。

A4.1.3 注意事项

为保证有良好的反应,使用的氧化酶试剂不应过分陈旧,如试剂已呈灰色或黑色则不应再使用。试剂配好后应放在棕色玻璃瓶中保存并尽快用完,试剂放4℃可用15~20天左右的时间。氧化酶试剂遇铁也会出现红色,造成假阳性结果,所以操作用的接种环不可用旧铁丝制成。需传代的菌株应在变黑之前挑取(1 min之内),一旦菌落变黑,多数菌已死亡。

A4.2 触酶(过氧化氢酶)试验

某些细菌(如淋球菌等)具有触酶(即过氧化氢酶),能催化过氧化氢放出初生态氧,继而形成氧分子出现气泡。

A4.2.1 材料

30%过氧化氢(用时新配制成3%~6%、分析纯试剂)、玻片、镍铬合金接种环和酒精灯。

A4.2.2 方法(玻片法)

挑取培养基上的菌落一白金环,置于干净的玻片上,然后加1滴3%~6%过氧化氢,立即观察结果。

A4.2.3 结果

于30 s内有气泡产生者为阳性,杜克雷嗜血杆菌不产生气泡因而为阴性。

A4.3 卟啉试验

卟啉试验用于检测细菌将盐酸 δ -氨基- γ -酮戊酸转变成卟啉及卟吩胆色素原的能力。因为,杜克雷嗜血杆菌是严格依赖氯化血红素生长的一种嗜血杆菌,它没有将盐酸 δ -氨基- γ -酮戊酸转变成卟啉的能力,试验结果为阴性反应。

A4.3.1 试剂的配制

A4.3.1.1 盐酸 δ -氨基- γ -酮戊酸 0.033 51 g(配成试剂的浓度为2 mmol/L)

硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.019 72 g(配成试剂的浓度为0.8 mmol/L)

磷酸盐缓冲液,pH6.9 0.1 mol/L 100 mL

A4.3.1.2 0.1 mol/L pH6.9 磷酸盐缓冲液

磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 6.34 g

磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 14.80 g

蒸馏水 1 000 mL

A4.3.2 方法

A4.3.2.1 在12×75 mm的试管中加入0.5 mL的2 mmol/L盐酸- δ -氨基乙酰丙酸溶液中制备浓菌悬液(1×10^9 /mL)。

A4.3.2.2 将试管放在 35~37℃ 孵箱中 4 h。

A4.3.2.3 将管子于暗室中用 Wood 氏灯(360 nm)照射,出现红色荧光表示有卟啉存在为阳性,而严格依赖氯化血红素的杜克雷嗜血杆菌应呈阴性。

A4.3.3 结果

杜克雷嗜血杆菌呈阴性反应。

A4.3.4 临床意义

A4.3.4.1 用该法结合其他生化试验可把杜克雷嗜血杆菌与其他嗜血杆菌区分开来。

A4.3.4.2 操作要仔细,避免接种时携带氯化血红素因子。

A4.4 硝酸盐还原试验

硝酸盐还原反应包括两个方面:(1)细菌在合成代谢过程中,将硝酸盐还原为亚硝酸盐和氮,再由氮转化为氨基酸和细胞内其他含氮化合物。(2)在分解代谢过程中,硝酸盐或亚硝酸盐替代氧作为呼吸系统终末受氢体。硝酸盐的还原过程因细菌而异,杜克雷嗜血杆菌能还原培养基中的硝酸盐为亚硝酸盐,亚硝酸盐与试剂中的醋酸作用,生成亚硝酸,亚硝酸与试剂中的氨基苯磺酸作用生成重氮苯磺酸,再与试剂中的 α -萘胺结合而成为 N- α -萘胺偶氮苯磺酸(红色)。

A4.4.1 培养基:厌氧菌硝酸盐培养基

硝酸钾 0.2 g
Oxoid 细菌学蛋白胨 5.0 g
蒸馏水 1 000 mL

A4.4.2 试剂

A4.4.2.1 甲液:对氨基苯磺酸 0.8 g 5 mol/L 乙酸 100 mL

A4.4.2.2 乙液:二甲基 α -萘胺 0.5 g 5 mol/L 乙酸 100 mL

A4.4.3 操作方法

A4.4.3.1 培养基加热溶解,滤纸过滤,分装试管后高压灭菌,121℃ 15 min。

A4.4.3.2 将试验菌接种于培养基上后,经 33~35℃ 培养 1~4 天,每天吸取培养液 2 mL 加(甲液与乙液在使用当时混合)0.1 mL,观察结果。

A4.4.3.3 亦可配制 10^8 /mL 菌悬液于小试管中,取 0.04 mL 加入 0.05% 硝酸钠溶液和 0.04 mL 0.025 mol/L 的 pH6.8 的磷酸盐缓冲液。在 35℃ 水浴箱培育 1 h。分别加入甲乙混合试剂 0.1 mL 后观察。

A4.4.4 结果

2~10 min 内显色,出现粉红色为阳性,不出现粉红色为阴性。

A4.4.5 临床意义和注意事项

A4.4.5.1 如硝酸盐还原试验阳性,结合氧化酶试验、触酶试验和卟啉试验等试验可确诊。

A4.4.5.2 嗜血杆菌几乎都有还原硝酸盐的作用,硝酸盐还原试验阳性只能证明试验菌属于嗜血杆菌属。可疑反应者,须重复培养 1、2、3 及 4 天复试。

A4.4.5.3 阴性反应者加入锌粉少许,如显红色,证明硝酸盐未被还原。

A4.5 其他方法鉴定试验

吲哚、尿素酶和碳酸盐利用试验皆阴性。

A5 荧光抗体染色法

抗杜克雷嗜血杆菌单克隆抗体经荧光素标记,与杜克雷嗜血杆菌结合时,可在荧光显微镜下见到发特异荧光的杜克雷嗜血杆菌。

A5.1 方法

取病人分泌物或初代分离的培养物制成涂片,干燥后用丙酮固定。将经稀释的抗杜克雷嗜血杆菌单

克隆荧光抗体滴加于涂膜上。置 37℃ 湿盒内 30 min, 使荧光抗体与杜克雷嗜血杆菌结合。再用磷酸缓冲液充分洗去未结合之荧光抗体, 用甘油封片, 用荧光显微镜检查。

A5.2 结果

如阳性标本, 则在荧光显微镜下可见到发苹果绿色的杜克雷嗜血杆菌。

A5.3 注意事项

本法简便、快速。在洗涤中应将荧光抗体洗涤干净。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。

附 录 B

(提示的附录)

软下疳治疗方案

有效的治疗可治愈软下疳, 缓解临床症状, 缩短病期, 预防传染给他人。病情严重者, 痊愈后可留下瘢痕。由于杜克雷嗜血杆菌出现耐药性, 抗生素的效果随地区而有不同, 因此有条件应作体外药敏试验, 以选择有效药物。

推荐方案

红霉素 500 mg, 每日 4 次, 共 7 天;
或阿奇霉素 1 g 单剂量口服;
或头孢曲松 250 mg 单剂量肌肉注射;
或环丙沙星 500 mg 口服, 每日 2~3 次, 共 3 天。

注: 上述药物并非按选择次序排列, 用药可根据药源、疗效、方便及费用等而定。以上剂量为治疗软下疳的最少剂量, 必要时可适当延长疗程。

环丙沙星禁用于孕妇、哺乳妇女及小于 18 岁者。阿奇霉素用于孕妇、哺乳妇女的安全性尚未确定。

目前杜克雷嗜血杆菌对氨苄西林、阿莫西林、四环素、复方新诺明已广泛耐药。对红霉素及喹诺酮类中度耐药在东南亚已有报告, 但一般还有效; 单剂量头孢曲松在非洲已有失败的报告。

头孢氨噻肟、头孢他啶肟、依诺沙星等喹诺酮类药物、壮观霉素及氯霉素也有效。

包皮过长而未作环切术者或 HIV 感染者, 疗效不如已作环切或 HIV 阴性者。对合并 HIV 感染者应作密切随访, 可用红霉素 7 日疗法; 用阿奇霉素或喹诺酮类药的长期疗法, 经验还有限。

有波动的淋巴结应抽脓, 以防止破溃成慢性溃疡, 方法是从脓肿抽脓, 也有切开引流的报告, 认为更可取。

软下疳患者的性伴, 如果在患者出现症状之前 10 天内与患者有性接触, 不论有无此病的症状, 都必须检查和治疗。