DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.02.021

辣根过氧化物-抗过氧化物酶染色法对念珠菌体内播散的检测

刘明政 罗向东 郭 力 肖光夏（西南医院 烧伤研究所）

内源性感染是近代医学科学发展中的一个重要课题。为研究烧伤后肠源性感染问题，我所已成功应用异硫氰荧光素直接标菌。为了丰富检测手段提供更易于推广的方法，我们将常用的辣根过氧化物－抗过氧化物酶（PAP）法[1]，略加改进用于肠源性白色念珠菌体内播散的检测，获得成功。PAP法用于特定的白色念珠菌在体内播散的检测，至今尚未见有报道，简要介绍如下：

1 材料与方法

实验用Wistar大鼠30只，体重200g～250g。

制备白色念珠菌菌液：该菌分离自烧伤病人的咽部，27℃孵育48h，以光电比浊计（Vitek Colorimeter USA）测得菌液的菌量为7×10^9/ml。动物背部造成30%Ⅱ°烫伤，7天后经胃管注入该菌液2ml/100g体重。

念珠菌抗血清的制备：将所用菌煮沸30min，配成灭活的8×10^9/ml菌液，免疫家兔。制成抗血清[2]。该血清对白色念珠菌的凝集效价为1:6120，在PAP染色工作效价为1:4000。

给菌后24h，取动物的肝、肺用生理盐水洗后，立即用Zambounis液固定6h，再用4%多聚甲醛固定，冰冻切片（KRYOMAT-1700型，Leitz microtone），冻结温度－20℃，切片厚度为10μ，一分为二，每份选择5张完整的组织片。1份做铺片PAP染色，另1份做过碘酸雪夫氏剂（PAS）染色[3]。每份切片均连续观察20个视野。PAS是为了核实PAP染色法的可靠性。

对照染色片一抗用PBS液代替，其它同步进行。在使用中将常用Tritonx的浓度0.25%改为0.5%，镜下更能清晰地看到显棕黄色的菌体。一抗稀释度选用1:4000。最大限度地克服了非特异性念珠菌的着色；糖原、结缔组织也不着色，容易鉴别。

2 结果

30份肝脏检出12份阳性，肺检出6份。用PBS液代替一抗的对照片，结果均为阴性。PAP染色的所有标本均经PAS染色验证，结果完全一致。

3 讨论

我们在烧伤肠源性感染的研究中对烧伤动物的肠道导入白色念珠菌，取肝、肺共60份，用PAP染色法进行了观察。肝脏检出的阳性率为40%，肺为20%，均经PAS染色证实，但就检测的特异性而言，PAS染色在检测霉菌的同时，肝脏的糖原，肺脏的结缔组织均同时着色，对霉菌形态学不熟练的病理工作者，镜下鉴别比较困难，易造成混淆。而PAP染色能排除标准菌以外的其它霉菌，组织细胞不着色，背景清晰，容易识别，不易导致假阳性的错误，重复性好。

PAP法形成的复合物稳定，特异性强、灵敏度高。此法最大限度地保存了抗体的活性，

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

即使组织中仅有少量特异性念珠菌存在也可被检出。由于方法敏感，一抗特异性血清经高度稀释，使特异性抗体处于有效的检测范围，而非特异性抗体可被稀释，避免了非特异性反应的出现。对追踪念珠菌是一种可靠、灵敏、实用的方法。

本法观察不需荧光显微镜，弥补了荧光素标记细菌标本不能长期保存的缺点，易于推广。

参 考 文 献

1. 蔡文琴 王伯沄，主编。实用免疫细胞化学。成都：四川科学技术出版社，1988：94～111
2. 王德旺 肖光夏 张雅萍，等。脆弱类杆菌、产黑类杆菌间接荧光抗体染色法与厌氧菌培养法的对比研究。中华微生物学和免疫学杂志 1984；4（3）：180
3. 刘介眉，著。病理组织染色的理论方法和应用。北京：人民卫生出版社，1983：302

（收稿：1990.08.06；修回：1991.01.14）

一种解决切片染色“发白”的方法

高广正 王 勇（新桥医院 病理科）

常规制片时常出现个别组织切片染色“发白”的现象，各病理技术室都有不同程度的出现，特别在冬季，鼻咽部、直肠粘膜、子宫内膜等组织切片染色“发白”更明显。镜检时，组织结构不清，呈灰白色，医生难以正确诊断。采用下述方法可解决切片染色“发白”的现象，兹将方法介绍如下：

1 方 法

HE染色液按常规方法配制

2 操 作 步 骤

2.1 将“发白”的切片上的盖玻片加热后取下，洗净香胶，入95%酒精中洗，然后，水洗至切片透明为止。

2.2 在切片上滴加苏木素液，盖过组织为度，将滴有染液的切片放在酒精灯上加热，约60℃，时间为30s～40s（可见到热蒸气挥发）。

2.3 倾去苏木素液，水洗。

2.4 用1%酸酒精分化数秒钟，水洗，蓝化。

2.5 用1%伊红液染色数秒钟。

2.6 脱水、透明、香胶封固。

3 结 果

经复染后的切片染色清楚，不会有“发白”现象。

4 体 会

通过多年的实践证明，该方法简单可靠，既解决诊断的需要，又能减轻病人重取活检的痛苦。苏木素加热复染是解决切片染色“发白”的理想方法。

（收稿：1990.04.23；修回：1991.01.16）

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net