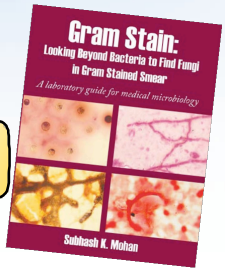
Poly Facts

第 6 卷 | 第 1 号　　生物科学



Polysciences, Inc.
Chemistry beyond the ordinary

新闻 | 观点 | 愿景

Fungi-Fluor®在医学微生物学及真菌学中的广泛应用

专栏作者

作者：Subhash K. Mohan

目录

特约作者 …… 1
Fungi-Fluor®在医学微生物学及真菌学中的广泛应用

荧光染色试剂盒 …… 4
Fungi-Fluor®试剂盒、Fungi-White 及 TB 荧光染色试剂盒

产品聚焦 …… 5
荧光显微镜染色试剂盒

Polysciences, Inc 所生产的 Fungi-Fluor®有何优点？

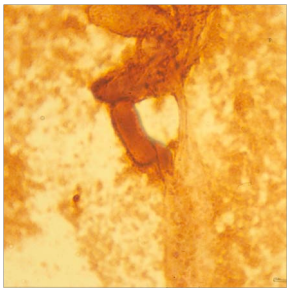
Fungi-Fluor 是一种用于微生物实验室及其他诊断实验室的染色用试剂，用于对临床样本进行直接检测，以检测其中所存在的微生物。较之其他常用医学微生物试剂，本试剂具有多种优点。Fungi-Fluor 能够使视野更清晰，及增强标本与背景之间的对比度，因而能使显微镜视野增亮。因此，可使观察者更清楚地观察涂片。非特异性荧光试剂存在一些缺陷，其会与样本中的其他材料结合，因而会导致对微生物的结构判断失误。能否对涂片进行正确解读关键取决于知晓真菌的形态结构，从而能够将非真菌判断出来。Polysciences, Inc 所生产的 Fungi-Fluor 不仅能够检测出真菌成分，同时还可检测出 *Pneumocystis jiroveci*（俗称 *Pneumocystis carinii*），这是其他公司所生产的类似试剂所不能做到的。

技术方案 1

计划对一名中年男性患者实施一项肺移植手术。这就需要进行初步的常规实验室检查，包括痰液 C&S 检查。不需要对痰液样本进行真菌培养。处理样本，然后制备革兰氏染色涂片，检查并作出 NBS 报告。在为期 48 小时的培养过程中，分离出一个霉菌群落，并制备成真菌学检查切片。经过乳酸-苯酚棉蓝色（lacto- phenol cotton blue，LPCB）检查鉴定，该霉菌应归类为接合菌纲。该类真菌是常见的环境污染物或感染源。若在免疫受损的个体中检查出接合菌，应提醒医生立即采取治疗措施，因为接合菌很可能会侵入血液系统，引起严重坏死，并造成致命威胁。需要再次检查患者的痰液样本，因为 C&S 培养是唯一一种鉴定方法。检查得出相同的实验结果，且革兰氏染色仍为 NBS。医生不希望冒此风险，决定将肺移植手术延期，直至肺部感染被治愈。第三次采得 BAL 样本，送去进行微生物学检查。这一次，需要进行 C&S 及真菌培养。革兰氏染色结果为阴性，但 Fungi-Fluor 真菌涂片染色结果却为 *Aseptate hyphae* 阳性，说明仍存在接合菌*(图 1.1)*。在观察革兰氏染色涂片时，其实已经观察到了 *Aseptate hyphae (图 1.2)*，但当时并未引起观察者的注意，因为其当时只关注细菌而未关注真菌。该实例已记述在我的另一本早先出版的关于利用革兰氏染色寻找真菌的书籍中。

接第 2 页

1.1 Fungi-Fluor® 400x *Aseptate Hyphae*



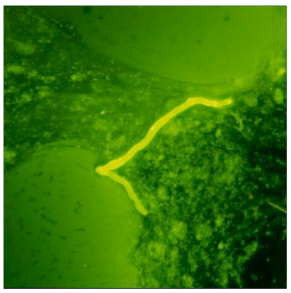
1.2 革兰氏染色 1000x *Aseptate Hyphae*

美國總部 | 400 Valley Road, Warrington, PA 18976 | 1(800) 523-2575 / (215) 343-6484 | 传真 1(800) 343-3291 | info@polysciences.com
Polysciences (總部) | Handelsstrasse 3 D-69214 Eppelheim, Germany | +(49) 6221-765767 | 传真 +(49) 6221-764620 | info@polysciences.de
Polysciences (亞太地區) | 2F-1, 207 DunHua N. Rd. Taipei, Taiwan 10595 | (886) 2 8712 0600 | 传真 (886) 2 8712 2677 | info@polysciences.tw

接第 1 页

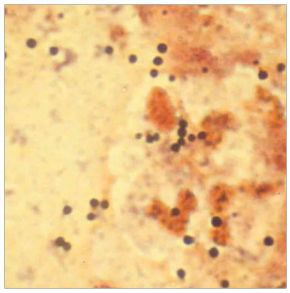
在临床微生物学检查中，通常会在对临床样本进行 C&S 分析之前首先进行革兰氏染色。在常规细菌学检查中，革兰氏染色通常只用于检查临床样本中的细菌。技术人员从未意识到其他菌类其实也可以利用革兰氏染色法进行鉴定，只因为他们只关注了较小的细菌而未注意到其他微生物，例如真菌。虽然真菌远较细菌为大，甚至常常已经观察到了它们，但它们还是被观察者所忽视。当临床样本被送去进行 C&S 微生物学检查时，并未专门针对样本中的真菌进行检查。从而导致实验结果不全面，因而造成患者不能得到全面的治疗。

技术方案 2



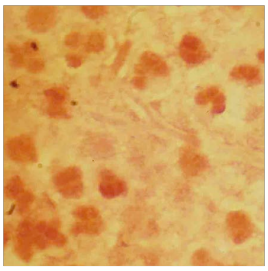
2.1 Fungi-Fluor® 400x *Septate Hyphae*

在患者接受肺移植手术后，采集其肺吸出物样本，送至微生物实验室进行 C&S、真菌培养、TB 及病毒研究。革兰氏染色及真菌染色均显示阴性。然而，从 C&S 及真菌培养介质中还是发现了一至两个菌落，经鉴定此菌落为 *Aspergillus fumigatus*，并将此结果报告至医生处。在 24 小时内，再次采取肺吸出物样本并进行 C&S 及真菌分析，同样发现了类似的一至两个真菌菌落，但革兰氏染色及真菌染色仍显示为阴性。在进行 C&S 及真菌培养后，第三次采集肺吸出物样本。革兰氏染色实验显示不存在细菌或真菌，然而，在经 Fungi- Fluor（一种由 *Polysciences, Inc* 制造的试剂）染色的真菌涂片中却显示出了真菌成分（*图 2.1*），但究竟该种真菌是三种真菌（*Pseudohyphae*、*septate hyphae 或 Aseptate hyphae*）中的哪一种则需要再进一步进行鉴定。若是 *septate hyphae*，则其菌落应透明，若是 *phaeomycotic*，其菌落应是深色的。判断菌落的种类对于医生作出诊断非常重要。因此，我们决定重新观察革兰氏染色涂片。在观察革兰氏染色涂片时，作者突然意识到该革兰氏染色涂片的产生过程较一般过程有所不同。该革兰氏染色涂片是在脱色不足的情况下产生的。而涂片观察者并未指出该问题，也未要求更换一份涂片。在对最初的革兰氏染色涂片重新进行显微镜检查时，发现该涂片由于脱色不足因而非常模糊，难以辨别出那些真菌样细胞（*图 2.2*）。



2.2 脱色不足的革兰氏染色涂片 1000x

所有获自该染色不佳的涂片的图片均难以辨识。因此，对该涂片重新进行染色：首先利用丙酮-醇试剂使该脱色不全的革兰氏染色涂片脱色，随后滴加碱性藏花红试剂。由于该涂片较厚，因此脱色过程持续了超过 20 秒，但脱色后还是难以分辨掩藏其中的细胞及有机体。经过重新染色的革兰氏涂片的清晰度得到提高，使得 *septate hyphae* 清晰可见*(图 2.3)*。



2.3 初始的革兰氏涂片 1000x

Fungi-Fluor®在快速检测临床样本方面能发挥什么作用？

由 Polysciences, Inc 所生产的 Fungi-Fluor (Calcofluor White) 含有荧光素（一种织物增亮剂），可与真菌细胞壁上所存在的多糖及几丁质（类似于纤维素）非特异性结合。当在荧光显微镜下暴露于长波长紫外线时会产生苹果绿色的荧光。Fungi-Fluor 可使显微镜视野增亮，并增强对比度，因而会使由于经过革兰氏染色或其他直接染色方法处理的涂片的清晰度有所提高。Polysciences, Inc 所生产的 Fungi-Fluor 不仅能够检测出真菌成分，同时还可检测出 *Pneumocystis jiroveci* ，这是其他公司所生产的类似试剂所不能做到的。

《革兰氏染色》

书中主要论述了对革兰氏染色涂片中的真菌成分的检测及分类。本书中已增加了有关结构鉴定方面的新近发展出来的流程、理论知识及关键细节，旨在为读者提供正确的指导方向。在多年的实验操作中，作者遇到过多次起先在革兰氏染色检测法中未检测出真菌成分，但在培养后生长出真菌并在复检中呈阳性结果的情况。在这本书的最后还包括一个有关实际检测操作的章节，其中含有在临床微生物实验室中比较常见的具有代表性的显微镜图像。

若能够将革兰氏染色法的检测范围扩大到真菌及丝状真菌，则将大大扩展革兰氏染色法在临床微生物学当中的应用范围。在革兰氏染色涂片中辨识出丝状真菌可能并不十分容易，但若有丰富经验，再加上一点点想象，则可检测出真菌成分。

在检测真菌方面，革兰氏染色并不是一种最佳的方法。然而，利用革兰氏染色就可寻找到真菌的这一优势使得革兰氏染色法在进行直接临床样本检测方面大大优于其他任一种适于检测真菌的特异性方法。

美國總部 | 400 Valley Road, Warrington, PA 18976 | 1(800) 523-2575 / (215) 343-6484 | 传真 1(800) 343-3291 | info@polysciences.com
Polysciences (總部) | Handelsstrasse 3 D-69214 Eppelheim, Germany | +(49) 6221-765767 | 传真 +(49) 6221-764620 | info@polysciences.de
Polysciences (亞太地區) | 2F-1, 207 DunHua N. Rd. Taipei, Taiwan 10595 | (886) 2 8712 0600 | 传真 (886) 2 8712 2677 | info@polysciences.tw

作者在经 NeatStain 革兰氏染色试剂盒（商品编号 25036）染色的涂片中发现了真菌，从而帮助医生改变了对患者的诊断，并改变了治疗方法。作者指出，若在对临床样本进行显微镜检查时，未特别针对革兰氏染色涂片中的菌类（除细菌外）进行检查，则很多病例很可能还是无法作出诊断。

Fungi-Fluor®作用实例

- IFA 结果为+/- PC；然而技术人员对这一 PC 阳性结果并不十分确定，建议作者咨询真菌学专家。在对涂片进行荧光染色后，结果显示不存在 PC 囊肿，但存在 1 个以上真菌菌落。IFA 制造商已经指出，真菌可能会导致产生假阳性。结果再一次证实，Fungi-Fluor 更优。

- 经自动血液培养仪培养，显示一血液瓶具有极高的菌落指数。血液培养技术人员进行了革兰氏染色，发现其中存在真菌样结构。真菌学专家重新检视了这一涂片，注意到其中存在一些与真菌形态结构较符合的结构。为了排除假阳性结果，于是便向阳性血液培养物添加了 Fungi-Fluor，发现这份在革兰氏染色实验中显示为存在真菌的血液中并不存在真菌成分。结果再次证实，Fungi-Fluor 更优。因为如果这些结构真是真菌的话，则即使在革兰氏染色涂片中存在大量真菌结构，它们也同样会在显微镜视野中发亮。

- 在不同时间，从两名不同患者获取痰液样本及 BAL，其真菌成分检测结果为阴性，但却显示出类似于分支杆菌的较弱的荧光，真菌专家立即猜测该菌群为 *Nocardia*。革兰氏染色实验仅指出样本中存在脓胞和共生菌群，却未指出存在分支杆菌，而 Fungi-Fluor 染色实验却指出样本中存在分支杆菌。再次观察革兰氏染色涂片，则发现其中存在类似于 *Nocardia* 的革兰氏阳性串珠杆菌和分支杆菌。采集一些样本，并在 *Nocardia* 选择性培养基（丙酮酸钠琼脂）上进行培养。结果发现有 *Nocardia* 菌群生长，并作了报告。

- 类似地，微生物学家也常常会碰到在革兰氏染色涂片中发现了类真菌结构但却无法辨识出到底是哪一种或哪一类菌类的情形。而在 Fungi-Fluor 涂片中也可看到这些结构，并且可明确作出鉴定，这些菌群并非真菌，而是 *Prototheca*、*Microsporidium*、及其他寄生生物。

在这本有关在革兰氏染色涂片寻找真菌的新书中，还记述了大量有关不同种类真菌的实例。其中一些实例在练习中也有提及。

关于《革兰氏染色》这本书的作者

利用革兰氏染色法找到细菌及真菌：医学微生物实验室指南

Subhash Kumar Mohan 出生在印度的旁遮普省。于 1967 年获得医学硕士学位，并在印度工作了五年，随后于 1972 年移民去了加拿大温哥华。在 1974 年至 1967 年期间，他主要生活在英国，在一家从事饮用水微生物分析及化学分析的实验室中工作，并在位于伦敦的艾尔沃斯理工大学从事微生物学研究。Subhash 于 1976 年回到加拿大，在一家私人医学实验室工作，同时在米切纳医科大学中学习，并于 1977 年通过加拿大医学实验室协会(CSMLS)的认证考试，成为一名临床微生物方面的注册技术人员。

在拥有多年实验室从业经验后，Subhash 于是就希望出版一本有关临床微生物实验的医学书籍。Subhash 将革兰氏染色法这一对于细菌学发展有着革命性意义的染色法应用到检测临床样本中的真菌上来。

Subhash 发现了一种新物种(Candida subhashii)，这种菌是分离自一位肾衰竭晚期患者的腹腔液。专家们决定将这一新分离出的菌种命名为 **Subhash Mohan**，以表彰其在真菌学领域所作出的深入的研究。

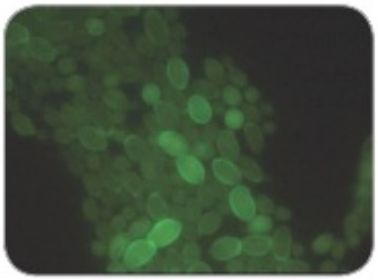
产品编号 #	描述
25043	革兰氏染色试剂：利用革兰氏染色法找到细菌及真菌：医学微生物实验室指南

荧光染色试剂盒

真菌检测用Fungi-Fluor®试剂盒

可对多种真菌进行快速荧光染色及复染。本试剂盒可用于检测血清、皮屑中的多种真菌。

- 快速 – 3 分钟即可完成染色及显示出结果，比 KOH 更快
- 可比 PAS 或银染色剂显示更多细节
- 复染可大幅降低背景的荧光强度

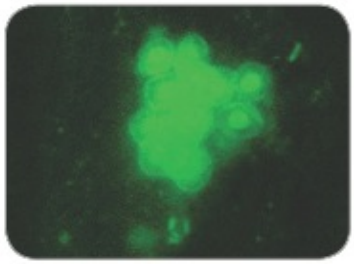


白色念珠菌，100x

Fungi-Fluor®肺孢子菌检测试剂盒

可对肺支气管样本中的 *Pneumocystis jirovecii* 进行快速荧光染色。及早作出诊断有助于及早采取合适的治疗方法，这样就有可能提高患者的生存率。

- 可直接*检测卡氏肺囊虫囊肿*
- 快速 – 3 分钟即可完成染色及显示出结果
- 若切片的荧光变暗，也可重新活化。
- 极少的制备步骤及清洗步骤

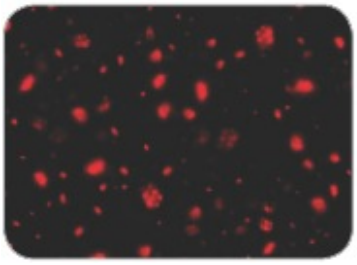


卡氏肺囊虫肺炎

TB荧光染色试剂盒

可使荧光分支杆菌显示在较暗的背景中。利用荧光染色法可很容易地检测出数量较少的分支杆菌。

- 染色过程少于 12 分钟
- 微波处理可减少反应时间以及增强结果
- 减少碱性嫩黄 O 及若丹明 B 的使用量，从而降低成本并且减少有害性
- 复染过程更快速



TB 荧光染色肺组织活检样本，40x

Fungi-White

适用于鉴定荧光真菌组分以及检测滴虫。这是一种快速的化学荧光方法，适用于检测 Microsporidia 及 *Acanthamoeba spp*。当暴露于紫外光下时（波长小于 400 nm），Fungi-White 染料可发出荧光。本方法适用于排泄物涂片、细胞培养物及其他样本材料。若需将本方法应用到塑料切片上，则需要在标准方法的基础上做一些修改。

产品编号 #	描述	
17442 17442E	Fungi-Fluor®真菌检测试剂盒 *仅供欧洲用户*	1 份试剂盒
22363 22363E	Fungi-Fluor®肺孢子菌试剂盒 *仅供欧洲用户*	1 份试剂盒
22422	TB 荧光染色试剂盒	1 份试剂盒
24692	Fungi-White	1 份试剂盒

我公司可提供全套荧光染色试剂盒及试剂。欲了解更多，请登录www.polysciences.com/fluoro

美國總部 | 400 Valley Road, Warrington, PA 18976 | 1(800) 523-2575 / (215) 343-6484 | 传真 1(800) 343-3291 | info@polysciences.com
Polysciences (總部) | Handelsstrasse 3 D-69214 Eppelheim, Germany | +(49) 6221-765767 | 传真 +(49) 6221-764620 | info@polysciences.de
Polysciences (亞太地區) | 2F-1, 207 DunHua N. Rd. Taipei, Taiwan 10595 | (886) 2 8712 0600 | 传真 (886) 2 8712 2677 | info@polysciences.tw

荧光显微镜

倒置荧光显微镜及直立式荧光显微镜

配备有塔式冷凝器、EWF10x 带眼罩聚焦目镜、克勒可调式 6 伏 30 瓦照明灯、及 FITC/GFP、带 LP 放射型过滤装置的 DAPI。光源为自对准式 200w 金属卤化物，使用寿命为 1500 小时。保证提供高质量的光学性能，绝对超出您的预期。

数码摄影及图片处理软件（*可选*）

可预览所摄视频，且可在不中断显示的情况下快速捕捉影像。CMOS 数码相机 5.0 MP 可全屏显示，允许您将捕捉到的图像以 10 种不同文件格式进行保存。

产品编号 #	描述	
25039	直立式荧光显微镜	1 台
25040	倒置荧光显微镜	1 台
25041	数码摄影及图片处理软件	1 台

Neat Stain染色试剂盒

专为 stat 步骤和/或采用手工染色方法的实验室操作而设计。利用 Neat Stain 染色试剂盒快速染色技术可得到良好的效果，适用于进行常规检查。

我们可提供三种试剂盒：3 步式示差性血液染色试剂盒、革兰氏染色试剂盒、及三色染色试剂盒。

- **清洁** – 容器为预填充式多孔容器，并且采用铝箔密封
- **快速** – 使用时，请将切片依次浸入试剂中一定时间，然后在空气中干燥，最后读出结果
- **方便** – 含有多余的箔片，您能够将容器重新进行密封

产品编号 #	描述	
25034	NeatStain 血液染色试剂盒	1 份试剂盒
25035	NeatStain 三色染色试剂盒	1 份试剂盒
25036	NeatStain 革兰氏染色试剂盒	1 份试剂盒
25033	NeatStain 载玻片	1 套

Polysciences, Inc.
Chemistry beyond the ordinary
400 Valley Road Warrington, PA 18976

Poly Facts

第 6 卷 | 第 1 号

生物科学

POLYSCIENCES
产品目录

处理及包埋试剂、组织学、细胞特殊染色试剂、电泳产品、微生物学试剂等

若需要产品目录，请登录
www.polysciences.com

BactiStop™
除菌洗手液

可有效杀菌，但对皮肤不刺激。
www.polysciences.com/bacti

成为下一位
专栏作者

请向PolyFacts投稿，以让我们看到您的文章。请介绍您在使用Polysciences产品方面的经验及所作的研究。

欲了解更多有关如何成为PolyFacts 专栏作者的信息，请电邮我们：
marketing@polysciences.com

美國總部 | 400 Valley Road, Warrington, PA 18976 | 1(800) 523-2575 / (215) 343-6484 | 传真 1(800) 343-3291 | info@polysciences.com
Polysciences (總部) | Handelsstrasse 3 D-69214 Eppelheim, Germany | +(49) 6221-765767 | 传真 +(49) 6221-764620 | info@polysciences.de
Polysciences (亞太地區) | 2F-1, 207 DunHua N. Rd. Taipei, Taiwan 10595 | (886) 2 8712 0600 | 传真 (886) 2 8712 2677 | info@polysciences.tw