

Conn 改良 Weigert 革兰染色液

简介:

革兰氏染色法是丹麦医生 Christain Gram 于 1884 年所发明, 是细菌学中广泛使用的一种鉴别染色法, 亦是一种复染法, 通过此法染色可将细菌鉴别为革兰阳性菌(G+)和革兰阴性菌(G-)两大类。细菌的不同显色反应是由于细胞壁对乙醇的通透性和抗脱色能力的差异, 主要是肽聚糖层厚度和结构决定的, 经结晶紫染色的细胞用碘液处理后形成不溶性复合物, 乙醇能使它脱色, 在同样染色环境中利用细菌不同的等电点(Gram 阳性细菌等电点为 pH2.0~3.0, Gram 阴性细菌等电点为 pH4.0~5.0), 阳性细菌带的负电荷比阴性细菌带的负电荷多, 与带正电荷的碱性染料如结晶紫结合较牢, 再加入媒染剂(碘)进入菌体后, 与染料结合形成不溶于水的结晶紫-碘-蛋白复合物, 并与阳性菌菌体内的核糖核酸镁盐结合, 使已着色的细菌不易脱色; 而分化剂(苯胺、丙酮等)不易透过阳性菌的细胞壁, 故阳性菌不易退色; 但分化剂容易进入阴性菌菌体内, 溶解染料和碘复合物, 使阴性菌脱色。

Conn 改良 Weigert 革兰染色液是在经典的革兰染色配方进行改进, 使用胭脂红染色液, 该法也是在草酸铵结晶紫法演化过来的; 临床标本直接涂片, 背景干净, 胞内吞噬体清晰易辨认, 细菌染色特征典型, 可以区分 Gram 阳性细菌和阴性细菌, 尤其适用于鉴别细菌和非细菌的蓝色微颗粒状物质(如钙盐)。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称	编号	R20665 4×50ml	Storage
试剂(A): 胭脂红染色液		50ml	RT 避光
试剂(B): 酸性乙醇分化液		50ml	RT
试剂(C): 草酸铵结晶紫染色液		50ml	RT 避光
试剂(D): Weigert 碘液		50ml	RT 避光
说明书			一份

自备材料:

- 1、10%福尔马林固定液
- 2、显微镜

操作步骤(仅供参考):

- 1、组织固定于 10%福尔马林中，常规脱水包埋。
- 2、切片厚 4 μ m，常规二甲苯或脱蜡透明液脱蜡至水。
- 3、胭脂红染色液滴染切片 5min，倾去染液。
- 4、酸性乙醇分化 2~5s，流水冲洗 5min。
- 5、草酸铵结晶紫染色液滴染 5min，倾去染液。
- 6、用滤纸稍吸干切片周围余液。
- 7、Weigert 碘液处理切片 1min，倾去碘液，用滤纸反复吸干切片内水分。
- 8、苯胺二甲苯溶液分化至切片无紫色脱出，立即用二甲苯或脱蜡透明液洗涤，并在镜下观察。
- 9、滴入新的二甲苯或脱蜡透明液反复洗涤多次，彻底把苯胺洗去。
- 10、中性树胶封固。

染色结果:

革兰阳性细菌和纤维素	蓝紫色
革兰阴性细菌	红色
细胞核	红色

注意事项:

- 1、切片在胭脂红染色液中染色后不用水洗，直接滴入酸性乙醇进行分化并固定着染胭脂红的颜色。
- 2、用苯胺二甲苯溶液分化时，可轻轻摇动切片使分化均匀；如分化慢时可更换新的苯胺二甲苯；至切片无紫色脱出，立即倾去苯胺二甲苯，滴入新的二



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

甲苯冲洗。

3、经二甲苯冲洗后，应在镜下观察；如分化不足，可再滴入苯胺二甲苯继续分化，至 Gram 阳性菌清晰为止，但注意不要分化过度。

4、最后用二甲苯反复洗涤切片，把苯胺彻底清除。切片若残留少量苯胺，以后就容易褪色。

5、Gram 染色阳性的细菌必须具有未受损的细菌壁，如细菌壁受破损，则染色呈阴性。

6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 12 个月有效。

