

革兰氏染色液使用说明书



扫码查询质检报告

【试剂盒组成】

1. 结晶紫染色液：5ml×1 支
2. 碘液：5ml×1 支
3. 脱色液：5ml×2 支
4. 沙黄复染液：5ml×1 支

【原理】

通过结晶紫初染和碘液媒染后，在细胞壁内形成了不溶于水的结晶紫与碘的复合物，革兰氏阳性菌由于其细胞壁较厚、肽聚糖网层次较多且交联致密，故遇乙醇或丙酮脱色处理时，因失水反而使网孔缩小，再加上它不含类脂，故乙醇处理不会出现缝隙，因此能把结晶紫与碘复合物牢牢留在壁内，使其仍呈紫色；而革兰氏阴性菌因其细胞壁薄、外膜层类脂含量高、肽聚糖层薄且交联度差，在遇脱色剂后，以类脂为主的外膜迅速溶解，薄而松散的肽聚糖网不能阻挡结晶紫与碘复合物的溶出，因此通过乙醇脱色后仍呈无色，再经沙黄等红色染料复染，就使革兰氏阴性菌呈红色。

【操作方法】

1. 准备好革兰氏染色所需试剂、玻片、吸水纸、镊子、接种环、废液缸、洗瓶、去离子水、酒精灯等，待检测的菌株一般应为新鲜培养物；
2. 以酒精擦拭玻片，在酒精灯上干燥后，用接种环挑取一环灭菌的去离子水或生理盐水到载玻片上，挑取少量纯培养物在水滴上涂抹至均匀分散，将涂片在酒精灯火焰上灭活、固定；
3. 加结晶紫溶液 1-2 滴，染色 1 分钟，用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗；
4. 待干，加革兰氏碘液，作用 1 分钟，用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗；
5. 加脱色液（95%酒精），不时摇动玻片，直至无紫色脱落为止（约 10-20 秒），用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗；
6. 待干，加复染液，复染 30 秒。用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗，待玻片干燥后镜检；
7. 油镜镜检。菌体呈紫色者为革兰氏阳性菌；呈红色者为革兰氏阴性菌。

【注意事项】

1. 培养物要新鲜，以免对结果的判断造成影响；
2. 酒精洗脱为关键步骤，不可长时间洗脱，以免对结果判断造成影响；
3. 碘液容易挥发，平时应拧紧瓶盖、避光保存；
4. 涂片可采用自然风干、干燥箱等方法进行干燥；
5. 每一步水洗时，注意不要直接对着涂片冲洗，水流应从上方流经涂片，轻轻水洗。