

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司  
武汉长衍病理科技有限公司

## 抗酸染色实验报告

### 一、实验器材及试剂

#### 1、实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	常州市中威电子仪器有限公司	TSJ-SD
包埋机	常州市中威电子仪器有限公司	BMJ-A
病理切片机	赛默飞世尔科技有限公司	SHANDON FINESSE 325
冻台	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	常州市中威电子仪器有限公司	PHY-III
防脱载玻片	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0510
正置显微镜	奥林巴斯有限公司	CX-31
成像系统	日本滨松光子学株式会社	NanoZoomer®S360

#### 2、主要试剂及货号

名称	厂家	型号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092683
环保透明剂	武汉同声科技	
环保封片剂	武汉同声科技	
抗酸染色试剂盒	湖北百奥斯生物科技有限公司	

### 二、实验步骤

1、环保脱蜡剂脱蜡，切片脱蜡后不经酒精，将切片周围余液吸干，并待余液完全挥发干后，用流水冲洗至无肉眼可见油状物附着。

2、滴加石碳酸复红溶液于切片上，室温染色 10-15 分钟；或用微火加热至冒蒸汽后停止加热，染色 5-10 分钟（注意：加热时间不宜过长，否则菌体浓染不利于观察）。

3、水洗，将水分沥干或以滤纸吸干。

# 湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司

## 武汉长衍病理科技有限公司

---

- 4、滴加酸性酒精溶液脱色 1-2 分钟。
- 5、水洗（若切片上还有红色残存，则滴加酸性酒精溶液作用至红色消失为止，然后继续水洗）。
- 6、加亚甲基蓝溶液染 20-30 秒，水洗。
- 7、切片水分以滤纸吸干或吹干，中性树胶封固。
- 8、显微镜下镜检，图像采集分析。

### 三、结果判读

在淡蓝色背景下，抗酸性菌（如：结核杆菌、麻风杆菌、分枝杆菌）呈红色，其他细菌及细胞呈蓝色。外观：石碳酸复红溶液呈红色，酸性酒精溶液呈无色透明，亚甲基蓝溶液呈蓝色。

结核分枝杆菌多数为杆状、稍弯曲；菌体宽度 0.3-0.6 $\mu\text{m}$ ；菌体长度不一，在 0.5-8 $\mu\text{m}$  之间，多数为 1.5-3.5 $\mu\text{m}$ ，少数菌体较长者可呈螺旋状；染色良好的结核分枝杆菌菌体内，能够发现着色较深的异染颗粒。

### 四、注意事项

- 1、涂片和切片必须充分固定，石蜡切片要充分脱蜡。
- 2、细胞核如果着色太深，可以再次分化。
- 3、酸性酒精溶液用完后，可自制 5% 盐酸酒精溶液（5ml 浓盐酸与 95ml 95% 酒精混合）作为脱色液。
- 4、在同一个抗酸菌菌体上，有时会出现红色深浅不一的情况，观察时应予注意。
- 5、组织切片脱蜡时切忌使用二甲苯，脱蜡后不经酒精，避免高浓度酒精破坏菌体内的脂质。
- 6、亚甲基蓝溶液复染颜色不宜过深，否则易影响阳性菌的观察。
- 7、冬季室温过低时，染色时间应适当延长。