

革兰氏染色实验报告

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	
革兰氏染色试剂盒	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0380

二、实验步骤

1、涂片时必须注意细心操作，涂片薄而均匀。制备的涂片应自然干燥，采用加热固定时，固定温度不宜过高，以玻片背面接触手背不烫为准，否则可能使细菌形态改变影响观察结果。若样本为石蜡切片，常规脱蜡至水：依次于环保脱蜡剂(1)、环保脱蜡剂(2)、环保脱蜡剂(3)中分别脱蜡 10 分钟，然后经无水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、75%乙醇各 5 分钟。蒸馏水洗 3 次。

2、加龙胆紫液染色 10 秒，水洗，甩干。

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

- 3、加碘溶液染色 10 秒，水洗，甩干。
- 4、加脱色液脱色 10-20 秒，水洗，甩干。
- 5、最后加沙黄溶液复染 10 秒，水洗，待干。
- 6、环保封片剂封固。
- 7、显微镜下镜检，图像采集分析。

三、结果判读

革兰氏阳性菌呈紫色；革兰氏阴性菌呈红色。

四、注意事项

- 1、染色时间须视何种标本、涂片厚薄等稍作调整；染妇科白带涂片时应稍延长染色时间（不少于 10 秒），可获得更好的染色效果。
- 2、脱色液用完后，可用丙酮作为代用脱色液，脱色时间可稍短。
- 3、血培养标本涂片染色时，因不同品牌血培养瓶所培养细菌的着色性有差异，如发现阴性菌较难区分，建议沙黄溶液的染色时间延长至 60 秒，或者使用纯沙黄 O 溶液（另购）复染，以此增加阴性菌与背景的对比度。
- 4、试剂贮存时，尽量避免高、低温环境及阳光直射。
- 5、冬季室温过低时，染色时间要适当延长。
- 6、涂片过厚、脱色时间不足、龙胆紫染色时间过长有可能导致假阳性的结果；细菌涂片热固定过度、细菌培养时间太长、脱色过度等有可能导致假阴性的结果。