

## 改良 Gram-Weigert 革兰染色液(苯胺结晶紫法)

### 产品简介:

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, 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  $pH2.0\sim3.0$ , Gram 阴性细菌等电点为  $pH4.0\sim5.0$ ), 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。

Leagene 改良 Gram-Weigert 革兰染色液(苯胺结晶紫法)是在经典的革兰染色配方进行改进, 使用苏木素和 Weigert 碘液加强染色, 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。

### 产品组成:

名称	编号	DM0017 4×50ml	Storage
试剂(A): Lea 苏木素染色液		50ml	RT
试剂(B): 伊红染色液		50ml	RT
试剂(C): 苯胺结晶紫染色液		50ml	RT 避光
试剂(D): Weigert 碘液		50ml	RT 避光
使用说明书			1 份

### 自备材料:

- 1、10%福尔马林固定液
- 2、温箱或水浴锅/显微镜

### 操作步骤(仅供参考):

- 1、组织固定于 10%福尔马林固定液中, 常规脱水包埋。
- 2、切片厚  $4\sim5\mu m$ , 常规二甲苯或 Leagene 脱蜡透明液脱蜡至水。

- 3、Lea 苏木素染色液复染胞核 3~5min, 倾去染液, 流水冲洗 10min。
- 4、入伊红染色液加盖 56°C 浸染 5~10min, 倾去染液, 稍水洗。
- 5、苯胺结晶紫染色液滴染于切片上 5min, 倾去染液, 用滤纸稍吸干切片周围余液。
- 6、Weigert 碘液滴染于切片上 2~3min, 倾去碘液, 用滤纸反复吸干切片上的水分。
- 7、用苯胺二甲苯溶液(1:2)分化, 并不时轻轻摇动, 至切片无紫色脱出, 立即用二甲苯或 Leagene 脱蜡透明液洗涤, 并在镜下观察。
- 8、如果分化不够可再次滴加苯胺分化液, 直至切片上革兰阳性细菌显示清楚为止。
- 9、滴入新的二甲苯或 Leagene 脱蜡透明液反复洗涤多次, 彻底把苯胺洗去, 中性树脂胶封固。

### 染色结果:

革兰阳性细菌和纤维素	蓝紫色
革兰阴性细菌	不着色
细胞核	蓝色
其他	淡红色

### 注意事项:

- 1、经 Weigert 碘液和水洗后, 必须滤纸反复吸干切片上的水分, 再滴加苯胺二甲苯溶液(1:2), 否则可能导致分化不均匀。
- 2、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溶液(1:2)继续分化, 至阳性菌清晰为止, 但注意不要分化过度。
- 3、最后用二甲苯或 Leagene 脱蜡透明液反复洗涤切片, 把苯胺彻底清除, 切片若残留少量苯胺, 以后就容易褪色。
- 4、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。

### 相关产品:

产品编号	产品名称
CC0130	胰蛋白酶-EDTA 溶液(0.25%:0.02%)
DC0032	Masson 三色染色液
PS0013	RIPA 裂解液(强)
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(硝基水杨酸法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)