

标准革兰氏染色液

简介：

革兰氏染色法是细菌学中广泛使用的一种鉴别染色法，属于复染法，这种染色法是由一位丹麦医生汉斯·克里斯蒂安·革兰（Hans Christian Gram, 1853年-1938年）于1884年所发明，最初是用来鉴别肺炎球菌与克雷白氏肺炎菌之间的关系。未经染色之细菌，由于其与周围环境折光率差别甚小，故在显微镜下极难观察染色后细菌与环境形成鲜明对比，可以清楚地观察到细菌的形态、排列及某些结构特征，而用以分类鉴定。

其染色原理是细菌先经碱性染料结晶紫染色，而后经碘液进行媒染，之后用酒精脱色，在一定条件下有的细菌媒染后的颜色不被脱去，有的可被脱去，因此可把细菌分为两大类，前者叫做革兰氏阳性菌(G+)，后者为革兰氏阴性菌(G-)。为方便进一步观察，脱色后可再用一种红色染料如碱性番红等进行复染。阳性菌仍带紫色，阴性菌则被重新染上红色。有芽孢的杆菌和绝大多数的球菌，以及所有的放线菌和真菌都呈革兰氏正反应；弧菌、螺旋体和大多数致病性的无芽孢杆菌都呈现负反应。

另外，阳性菌菌体等电点较阴性菌为低，在相同pH条件下进行染色，阳性菌吸附碱性染料很多，因此不易脱去，阴性菌则相反。所以染色时的染色液pH和染色时间等条件要严格控制。例如，在强碱的条件下进行染色，两类菌吸附碱性染料都多，都可呈正反应；pH很低时，则都可呈负反应。此外，两类菌的细胞壁等对结晶紫-碘复合物的通透性也不一致，阳性菌透性小，故不易被脱色，阴性菌透性大，易脱色。所以脱色时间、脱色方法也应严格控制。

PERFEMIKER 革兰氏染色液采用最经典的革兰染色配方，临床标本直接涂片，背景干净，胞核胞质对比强烈，胞内吞噬体清晰容易辨认，细菌染色特征典型。该产品仅适用于科研实验，不可做他用。

组成：

产品名称	10ml×4	100ml×4	Storage
试剂(A):结晶紫染色液	10ml	100ml	RT 避光
试剂(B):Gram 碘液	10ml	100ml	RT
试剂(C):脱色液	10ml	100ml	RT
试剂(D):沙黄染色液	10ml	100ml	RT 避光
说明书	一份		

保存条件：

室温避光保存，一年有效。

自备材料：

- 1、 接种环或挑取细菌的其他工具
- 2、 酒精灯
- 3、 载玻片
- 4、 光学显微镜

操作步骤（仅供参考）：

- 1、 涂片：取待检细菌，于载玻片中央涂成薄层或者或在载玻片上滴加少许无菌水，取菌与水混合均匀，涂成一薄层。
- 2、 干燥：涂片后在室温下自然干燥，也可在酒精灯上略加温，使之迅速干燥。
- 3、 固定：手持载玻片一端，标本面朝上，在酒精灯的火焰外侧快速来回移动 3-5 次每次 1s，温度不宜过高，防止菌体蛋白变性，放置待凉后染色。也可以用甲醇或乙醇固定。
- 4、 初染：滴加结晶紫染色液染色 1-2min，清水冲洗去染色液。
- 5、 媒染：滴加 Gram 碘液，并覆盖载玻片，室温放置 1-2min，水洗。
- 6、 脱色：滴加脱色液，摇动 10s-30s，直至流下的脱色液不出现紫色时为止，立即用水冲去脱色液，终止反应。
- 7、 复染：滴加沙黄染色液染色 30-60s，水洗。
- 8、 干燥。镜检：置油镜观察。

染色结果：

革兰氏阳性菌	蓝色至紫色
革兰氏阴性菌	红色

注意事项：

- 1、 涂片之前，应事先在背面做好圆圈标记，以便判断后续试验的位置。
- 2、 取细菌时，应注意自我防护，拔或塞试管塞时，应将试管口通过火焰略加烧灼，最后将接种环在火焰上烧灼灭菌。
- 3、 加热固定涂片时，应注意玻片勿太靠近火焰，一般要求玻片温度不超过 60 °C，以玻片背面触及手背皮肤不觉过烫为宜。
- 4、 革兰氏染色的关键在于严格掌握脱色程度，脱色时间应根据经验判断。脱色过度，阳性菌可被误染为阴性菌；脱色不够，阴性菌可被误染为阳性菌。
- 5 待检细菌培养时间会影响染色 阳性菌培养时间过长或已死亡或细菌溶解 常呈阴性
- 6、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。