

技术资料 革兰氏染色操作方法

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的培养物。



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、滴加结晶紫染色液 1-2 滴，染 1 分钟，用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗。



4、待干，滴加革兰氏碘液，作用 1 分钟，用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗。



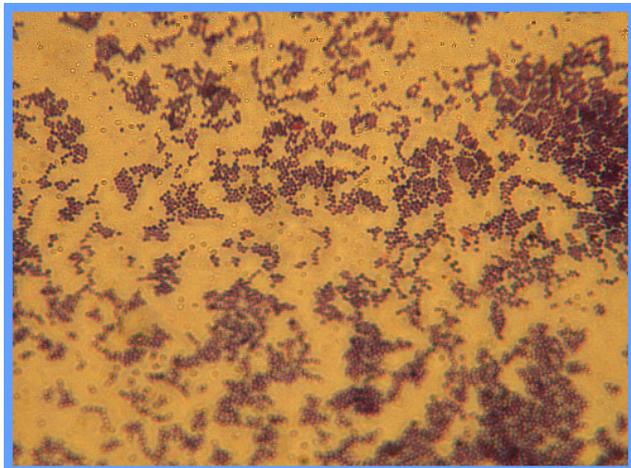
5、滴洗脱色剂（95%酒精），不时摇动玻片，直至无紫色脱落为止（约 10~20 秒），用去离子水轻轻从培养物上方流过水洗。



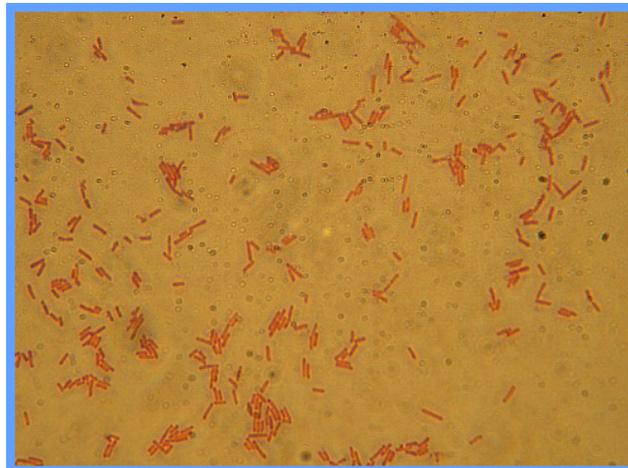
6、待干，滴加沙黄复染液，复染 30 秒。用去离子轻轻从培养物上方流过水洗，待玻片干燥后镜检。



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。



革兰氏阳性球菌



革兰氏阴性杆菌

8、注意事项

- (1) 培养物要新鲜，以免对结果的判断造成影响。
- (2) 产品如出现沉淀，是因为结晶紫与草酸铵混合之后长时间所致，应重新购买染色液。
- (3) 酒精洗脱为关键步骤，不可长时间洗脱，以免造对结果判断造成影响。
- (4) 碘液容易挥发，使用时取适量倒进滴瓶中。平时应拧紧瓶盖、避光保存。
- (5) 涂片可以采用自然风干、干燥箱等方法进行干燥。
- (6) 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。