

石蜡切片革兰氏染色实验报告

一、实验原理

革兰氏染色法是微生物学中广泛使用的一种鉴别染色法，可用来区分革兰氏阳性菌（G+）和革兰氏阴性菌（G-），基本原理是基于细菌细胞壁化学组分不同。细菌经结晶紫初染和碘液媒染后，在细胞壁内形成不溶于水的结晶紫-碘复合物。革兰氏阳性细菌由于细胞壁较厚，不含类脂，富含肽聚糖并交联形成致密网格结构，在用乙醇处理时肽聚糖网孔收缩，能将结晶紫-碘复合物阻留在细胞壁内，使其呈现结晶紫的紫色。而革兰氏阴性细菌因其细胞壁薄，肽聚糖含量低且交联松散。遇乙醇时富含类脂的外膜溶解，在细胞壁上出现较大缝隙，结晶紫-碘复合物流出，因此经乙醇脱色后细胞又成无色。此时再经番红复染，革兰氏阴性细菌将被染成红色。

二、实验器材及试剂

1. 实验器材

名称	厂家	型号
脱水机	武汉俊杰电子有限公司	JT-12S
生物组织自动包埋机	武汉俊杰电子有限公司	JB-P5
石蜡包埋机（冷台）	武汉俊杰电子有限公司	JB-L5
组织摊片机	武汉俊杰电子有限公司	JK-5
转轮式切片机	徕卡显微系统上海有限公司	HistoCoreBIOCUT
烤箱	天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司	GFL125
载玻片	海门市神鹰实验仪器厂	188109
盖玻片	江苏汇达医疗器械有限公司	710510



显微镜	NIKON	ECLIPSE E100
江丰扫描仪	宁波江丰生物信息技术有限公司	KF-PRO-120

2. 主要实验试剂

试剂	厂家	货号
无水乙醇	杭州宏达化工仪器有限公司	SJ003614
二甲苯	国药集团化学试剂有限公司	10023418
革兰氏染色试剂盒	杭州浩克生物技术有限公司	HK2046
中性树胶	国药集团化学试剂有限公司	10004160

三、实验步骤

- 1. 石蜡切片脱蜡至水：**依次将切片放入二甲苯 I 20min-二甲苯 II 20min-无水乙醇 I 5min-无水乙醇 II 5min-75%酒精 5min，自来水洗。
- 2. 革兰氏染色：**切片滴加革兰氏染液 A 滴染 10s-30s，水洗，甩干；滴加革兰氏染液 B 1min，水洗，甩干；巴氏吸管吸取革兰氏染液 C 从载玻片磨砂面一端冲洗组织进行分化，至切片流下的革兰氏染液 C 呈无色即可，水洗，甩干；将切片浸革兰氏染液 D 溶液 1s 水洗，镜检，烤箱烤干。
- 3. 脱水：**将烤干的切片快速入三缸无水乙醇快速脱水，依次 1s、3s、5s。
- 4. 透明封片：**切片放入干净的二甲苯 5min 透明，中性树胶封片。
- 5. 显微镜镜检：**图像采集分析。

四、结果判读

革兰氏阳性菌呈紫色，革兰氏阴性菌呈红色。



五、注意事项

1. 染色过程中的革兰氏染液 C 分化是关键步骤，需注意分化程度。
2. 尽量不要重复染色，分化液在脱去片子颜色的同时也改变了细胞壁的通透性，影响了最后结果的准确性。
3. 冬季气温较低时，染色时间可适当延长。