**分支杆菌抗酸染色试剂盒**

**产品编号：5044**

分枝杆菌细胞壁含脂质较多,其中主要成分为分枝菌酸,此物具有抗酸性,染色时与石炭酸复红结合牢固,能抵抗酸性乙醇的脱色作用,因此抗酸菌能保持复红的颜色,达到染色目的。

本试剂盒应用于标本或培养液中分枝杆菌的荧光染色。

**组成**

1. 石碳酸复红染液

2. 酸乙醇溶液

3. 亚甲蓝溶液

**运输、储存和有效期**

常温运输(勿超过30°C)，4°C避光储存，在有效期内使用。正常储存条件下自生产之日起有效期1年。试剂开封后试用期1个月。

**所需器材**

1.计时器；2玻璃吸管和橡皮头；3.玻璃笔或铅笔；4.载玻片；5.竹签；6.口径约2cm玻璃容器；7.振荡器；8.酒精灯；9.50ml离心管；10.离心机；11.染色架；12.带油镜的光学显微镜。

**样本处理**

**直接涂片法**

1.玻片的制备：取经95%乙醇擦拭脱脂过的干燥、洁净、无油污、无划痕的新玻璃片，在玻片左端1/3处注明实验室序号及标本序号（如使用的载玻片一端无磨砂面，应该用玻璃笔编号；如使用的载玻片一端有磨砂面，可用2B铅笔在磨砂面上直接书写）。

2.分枝杆菌标本：取标本约0.05mL～0.1mL，于玻片均匀涂抹成10mm×20mm的卵圆形膜，自然干燥后，染色镜检。

**离心集菌法**

标本经121℃高压灭菌15min，冷却后取5mL～10mL盛于体积为50mL的离心管中，加水至50mL，经3000×g离心20min后，取沉淀涂片检查。

**实验方法**

1.取洁净的竹签沾取标本，在清洁无油脂玻片上涂开。涂抹区约拇指盖大。用过的竹签放到空平皿内待高压灭菌。

2.涂片自然干燥后，用片夹挟住玻片一端，通过火焰固定。

3.涂抹面用滤纸片盖上，然后往滤纸片上滴加石炭酸复红染液，使滤纸片完全被染液浸湿，持玻片在小火上加温片刻然后离开火焰，此时可见到玻片上冒出蒸气。待蒸气消失后再加温，如此反复3～4次，约5min，加温时随时添加染液勿使纸片干涸。

4.玻片冷却后，用接种环挑去滤纸扔到污物盆内，流水冲洗玻片。

5.滴加3%盐酸乙醇脱色，至涂抹均匀部位基本没有红色再脱下为止，水洗。

6.滴加亚甲基蓝染液30sec，水洗。

7.吸干、镜检。

**镜检**

用双目学显微镜（目镜10×，油镜100×）镜检，在淡蓝色背景下，抗酸杆菌呈红色，其他细菌和细胞呈蓝色。

**注意事项**

1.本产品用于分支杆菌研究使用，不作为诊断试剂。

2.处理污染材料，需遵照生物安全相关法规操作。

**可能出现的问题和解决办法**

1．过度加热：在每次玻片在火焰上解热后将玻片的背面与手的背面接触，以避免过热。

2.涂片染色前需要固定。

3.涂片不能太厚，涂片在空气中干燥后，显微镜下进行检查，如果没有细菌的分离，应该加水稀释标本。

4．染色后，玻片的背面要擦干净。

5. 如果蒸馏水洗涤不足，可在染色处形成结晶。