



## 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. 石炭酸复红染液
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°C 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, 持玻片在小火上加热片刻然后离开火焰, 此时可见到玻片上冒出蒸气。待蒸气消失后再加热, 如此反复 3~4 次, 约 5min, 加热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.本产品用于分枝杆菌研究使用, 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。