

教学用细菌染色方法的改良

陈菊滢 陈文娟 赵桂芳

(上海铁道大学医学院微生物学与免疫学教研室 上海 200070)

摘要 常用细菌染色有革兰氏染色,抗酸染色及检测细菌特殊结构的特殊染色法,本文对改良了的染色法进行比较和进一步改进,实验结果证明有操作简单,染色效果好等优点。

关键词 革兰氏染色,抗酸染色,芽孢染色,荚膜染色,鞭毛染色

分类号 Q93-333 **文献标识码** D **文章编号** 0253-2654(1999)-02-0128-29

MODIFICATION OF STAINING TECHNIQUES IN MICROSCOPIC EXAMINATION

Chen Juyan Chen Wenjuan Zhao Guifang

(Department of Medical Microbiology and Immunology, Medical College, Shanghai Tiedao University
Shanghai 200070)

Abstract As the size of the bacteria is very tiny, they are not easily seen without proper staining. The most commonly stains used are Gram's stain and Acid-fast stain. Some of the bacteria possess special structures. They are capsules, flagella and spores. These special structures can not be stained by the ordinary methods, and special stain will have to be employed to visualize them. Modification of staining techniques were evaluated in this study. It seems that these techniques are easier to be grasped and will be helpful to medical students.

Key words Gram's stain, Acid-fast stain, Spore stain, Capsule stain, Flagella stain

细菌为无色透明的微小物体,其形态学检查均须先经染色,常用的鉴别染色法有革兰氏染色法和抗酸染色法。细菌的特殊染色法用于检测特殊结构——芽孢、荚膜和鞭毛。多年来,以上染色方法经多次改进,现对各种改良染色法的评估如下。

1 材料与方 法

1.1 革兰氏染色^[1~2]

1.1.1 材料:表皮葡萄球菌,大肠杆菌,结晶紫染液, Gram's 碘液, 0.4% 复红乙醇液。

1.1.2 方法:结晶紫液染 1min,水洗,革兰氏碘液染 1min,水洗,复红乙醇液复染 30s,水洗,干

后镜检。

1.2 抗酸染色

1.2.1 材料:结核杆菌,石炭酸复红染液, 3% 盐酸酒精,碱性美兰染液。

1.2.2 方法:石炭酸复红染液沸水浴作用 10min,染 5min,水洗, 3% 盐酸酒精脱色 30s,水洗,碱性美兰复染 30s,水洗,干后镜检。

1.3 芽孢染色^[3~4]

1.3.1 材料:枯草杆菌,石炭酸复红染液,硷性美兰染液, 5% 孔雀绿, 1% 沙黄染液。

1.3.2 方法:A 组:菌液和等量石炭酸复红染液

混合,沸水浴作用15min,制备涂片,固定,碱性美兰复染1min,水洗,干后镜检。B组:菌液和等量5%孔雀绿水溶液混合,沸水浴作用20min,制备涂片,固定,1%沙黄复染1min,水洗,干后镜检。

1.4 荚膜染色^[5]

1.4.1 材料:肺炎球菌,石炭酸复红染液,95%酒精溶液,20%鞣酸水溶液,0.8%孔雀绿水溶液。

1.4.2 方法:石炭酸复红染1min,水洗,95%酒精脱色2s,水洗,20%鞣酸溶液媒染10min,水洗,0.8%孔雀绿染1min,水洗,干后镜检。

1.5 鞭毛染色^[6~7]

1.5.1 材料:变形杆菌,饱和明矾20mL,20%鞣酸10mL,95%酒精15mL,饱和复红酒精液3mL,蒸馏水10mL(白氏法:I液)。美兰0.05g,硼砂0.5g,蒸馏水100mL(白氏法:II液)。鞣酸5g,50%氯化铁2mL,1.5%甲醛2.0mL,1%NaOH 1.0mL,蒸馏水100mL(镀银法:I液)。2%硝酸银溶液,氨水少量(镀银法:II液)。

1.5.2 方法:白氏法:I液染3min,水洗,II液染1min,干后镜检。镀银法:I液染5min,水洗,II液染1min,水洗,干后镜检。

2 结果与讨论

2.1 革兰氏染色

表皮葡萄球菌呈深紫色,大肠杆菌呈红色。革兰氏染色是细菌学中常用和十分重要的方法。自从1884年,微生物学家Gram发明著名革兰氏染色法以后,100多年来,虽经后来学者多次改进,但仍沿用原来四步法,由于脱色时间影响,常使初学者操作失败。现改用三步法,在复染步骤中,采用从30s到5min不同时间,结果一致良好,表明该法稳定,从而达到减少操作步骤,缩短时间,提高效率目的。

2.2 抗酸染色

结核杆菌呈红色,背景清晰。抗酸染色常用方法为染液覆盖标本后加温,该方法染液用量多,并容易流到玻片外,沾污手或实验台。为此我们改为将初染液加温,再进行染色,发现结

果理想,可避免以上缺点。

2.3 芽孢染色

石炭酸复红,碱性美兰组菌体蓝色,芽胞红色。孔雀绿,沙黄组菌体红色,芽胞绿色。传统染色法存在和抗酸染色同样问题。现改为菌液和染液混合加温,然后制备涂片,染色,该法简便,省时,特别适用于大批教学标本的制作,节约染液。本文中两种芽孢染色法,以孔雀绿初染,沙黄复染组效果较好,菌体,芽孢对比鲜明。

2.4 荚膜染色

菌体为红色,荚膜为绿色。以往荚膜染色,用沙黄或石炭酸复红,荚膜着色差,初学者鉴别有困难,甚至出现把涂片中空泡误认为是荚膜的现象。在改良法中,加入了媒染剂鞣酸,染色结果,荚膜着色佳,和菌体之间着色反差大,容易观察,用于教学实验,学生容易掌握。

2.5 鞭毛染色

饱和明矾组菌体蓝色,鞭毛红色,清晰,真实感强。镀银法菌体,鞭毛均为黄色,视野清晰。由于染色过程中,用鞣酸作媒染剂,沉积于鞭毛上,使鞭毛增粗,容易观察。操作中,要注意,采用新鲜培养菌,短期内反复移种,玻片干净,使菌液在玻片上迅速展开,保持自然状态,本文介绍二种方法,鞭毛完整性,伸展性都较理想,而镀银法底衬清晰,视野效果好。

参 考 文 献

- [1] Boyd R F. Laboratory Manual to Accompany Basic Medical Microbiology. USA, 1981, 42~47.
- [2] 黄元桐, 崔杰. 微生物学报, 1996, 36(1): 76~77.
- [3] 范秀云, 沈萍. 微生物学实验. 北京: 人民教育出版社, 1980, 20~21.
- [4] 钱存柔, 李玲君, 梁崇志等. 微生物学实验. 北京: 北京大学出版社, 1985, 21~22.
- [5] 刘启富, 胡承香. 第三军医大学学报, 1993, 15(4): 361~362.
- [6] 白毓谦, 方善康, 高东等. 微生物实验技术. 济南: 山东大学出版社, 1986, 50~52.
- [7] 狄文英, 张联壁, 杨仁洪等. 临床检验杂志, 1995, 13(1): 37.