

## 六胺银染色液(改良 Grocott-橙黄G 法)

### 产品简介

六胺银染色液是一种经典显示基底膜的方法, 经过 Grocott 改良之后, 组织经铬酸氧化, 使真菌内的黏多糖暴露出醛基, 醛基把六胺银还原为黑色的金属银, 氯化金可使金属银转变为更稳定的金属金, 同时使背景更清晰, 海波可以固定并洗去未还原的银离子。

该六胺银染色采用橙黄 G 复染对各种真菌的显示效果都很好, 特别是马尔尼菲青霉菌的显示特别好, 但必须淡染橙黄 G, 如需显示曲霉和白色念珠菌, 可选用苏木素或者伊红复染, 可看到真菌与周围组织的关系。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称		编号	ADS063DM0 5×50ml	Storage
试剂(A): 氧化剂			50ml	RT 避光
试剂(B): 漂白剂			50ml	RT
试剂(C): 六胺银 工作液	C1: 银溶液		1.5ml	4°C 避光
	C2: 六胺溶液		25ml	4°C 避光
	C3: 硼砂溶液		25ml	RT
C1、C2、C3 按操作说明混合配制。				
试剂(D): 氯化金溶液			50ml	4°C 避光
试剂(E): 海波溶液			50ml	RT
试剂(F): 橙黄 G 复染液			10ml	RT
使用说明书			1 份	

### 自备材料

- 1、蒸馏水、系列乙醇、环保浸蜡脱蜡透明液或二甲苯、中性树脂
- 2、水浴锅或恒温箱

### 操作步骤(仅供参考)

- 1、组织固定于中性甲醛固定液, 常规脱水包埋, 切片 4~5μm, 二甲苯或脱蜡透明液脱蜡至水洗。
- 2、切片入氧化剂氧化 20min, 流水稍洗。
- 3、入漂白剂处理 1min, 以除去氧化剂。
- 4、流水冲洗 5min, 蒸馏水浸洗 2 次, 每次 30~60s。
- 5、配制六胺银贮备液: 银溶液: 六胺溶液=6: 100 混合即成, 会有少量沉淀产生, 充分溶

- 解即可；该试剂可 4℃保存，3 个月有效。
- 6、配制六胺银工作液：六胺银贮备液：硼砂溶液=106：100混合，六胺银工作液是一次性的，不能久放；配制后可放入 60℃温箱中预热 30min，再放入切片进行染色。
  - 7、切片放入配制好的预热至 60℃六胺银工作液中，加盖 60℃恒温染色大约20~60min，切片呈淡黄色即取出经水洗后显微镜观察是否有菌体出现；如有淡棕色菌体出现，应每隔 5~10min 观察一次以控制菌体着色深浅，直至显色理想。
  - 8、蒸馏水洗，氯化金溶液调色 1~2min，蒸馏水洗 1~2 min。
  - 9、置于海波溶液 2 min，流水冲洗 5min。
  - 10、滴加 1 滴橙黄 G 复染液复染 1s，流水冲洗，复染时间不宜过长，否则将影响最终效果。
  - 11、流水冲洗20~60s，常规脱水，二甲苯或环保浸蜡脱蜡透明液透明，中性树胶封固。

### 染色结果

真菌、上皮粘液	黑色或棕黑色
背景	橙黄色

### 注意事项

- 1、实验中所用玻璃器皿应预先用硫酸洗液浸泡并用蒸馏水冲洗干净、烤干。
- 2、六胺银储备液可 4℃保存，3 个月有效。
- 3、配制好的六胺银工作液是一次性的，不宜久置。
- 4、六胺银工作液配制后应先放入温箱中预热，温度要达到 60℃时，再放入切片进行染色；如用水浴锅代替恒温箱，需将温度设定在 48~50℃，否则切片会很快变黑而难以掌握，一般建议在恒温箱中孵育染色。
- 5、在低倍镜检时菌体不宜着色太黑，否则在高倍镜下观察则不够清晰透亮，特别需注意菌体成堆的地方的显色。
- 6、氯化金调色时一定要在显微镜下观察。
- 7、橙黄 G 复染液应淡染，时间不能过长。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**6个月；低温运输，按要求保存。