

线虫染色液(多色蓝法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

病原线虫在病组织中可通过挑针直接挑取、漏斗分离或将病组织捣碎分离等方法取得活线虫虫体。为了识别常见线虫，对其形态和结构做一般性观察，可以用活体线虫制作临时玻片。为了进一步仔细观察、认识其分类学特征，需将活体线虫杀死和固定，有时还需染色，制成玻片标本。

线虫染色液(多色蓝法)主要由次甲蓝、乙醇、甘油等组成，根据线虫在固定时体内各器官的氢离子浓度和生理状态不同，可区分线虫和植物组织，游离的线虫经过染色后内部器官染成不同颜色，便于观察识别。该染色液仅用于科研领域，不用于临床诊断或治疗。

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、载玻片
- 3、酒精灯
- 4、显微镜
- 5、水浴锅、恒温箱

操作步骤(仅供参考)：

1、杀死：一般采用加热固定的方法，先在载玻片上滴加一滴蒸馏水，挑取一部分线虫在载玻片上，在酒精灯上加热 5-6s，同时不断转动玻片，并随时在显微镜下观察。当线虫扭曲忽伸直时立即停止加热，否则会破坏线虫内部器官。亦可把线虫放入一滴水中，再加入 0.5% 热乙酸杀死线虫。也可以用 0.1% 碘液杀死线虫（线虫悬浮液与碘液等量混合，数秒钟即可杀死线虫）。

2、固定：采用 TAF 固定液或 4% 福尔马林固定液。

3、(备选)脱水：将固定好的线虫置于盛有 0.5ml 线虫脱水剂 I 的小玻皿中，将玻皿放在盛有过量 95% 乙醇的密闭容器中，放入 35~40℃ 恒温箱内，孵育 12h 以上，玻皿内加入少量线虫脱水剂 II。然后将玻皿放在半密闭培养皿中，置于 40℃ 恒温箱，待脱水剂中的乙醇完全蒸发后(一般需要 2-3h)，将处理好的线虫置于无水甘油内，可长期保存。

4、将经固定的线虫，直接移入 3ml 蒸馏水和 3~5 滴多色蓝染色液的离心管中，在 55-60℃ 水浴加热染色 3-5min。

5、挑取数条线虫置于放大镜或显微镜下观察，如果已经均匀染成暗紫色，其内部器官几乎看不清楚，则染色程度已经足够；如果还有空隙或染色不均，则要继续延长染色时间。

6、镜检：置于甘油中，加盖玻片观察。

注意事项：

- 1、玻片应洁净，无油污。
- 2、线虫的染色标本置于无水甘油中可保存 2-5 个月，之后会逐渐褪色。
- 3、一般情况下，线虫被染成蓝紫色，但并不是所有特征都能染出来，即染色结果不一定完全符合上述表格。
- 4、固定时不宜用高热火焰固定。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。