

## Wheathley 三色染色液

### 产品简介:

临床寄生虫检验主要是从临床标本中检出寄生虫并进行鉴定,为临床诊断、治疗、预防和流行病学调查提供可靠的依据。检获寄生虫病原体是确诊寄生虫感染的依据,也是目前主要的检查方法。有些寄生虫病因难以检获病原体,可采用免疫学或分子生物学方法辅助诊断。

类便样本是实验室诊断寄生虫感染的最常见样本,可以通过直接涂片法、浓集法及永久染色涂片三个独立的步骤对每个样本进行检查。直接涂片法要求新鲜粪便,可以检获活动的原虫滋养体、原虫包囊、蠕虫虫卵和幼虫;浓集法可提高原虫包囊、球虫卵囊、微孢子虫孢子及蠕虫虫卵和幼虫的检出率,有沉淀法和浮聚法;永久染色涂片更易于进行肠道原虫的鉴定。其中,永久染色法可对湿片中发现的可疑物进行确认,以及鉴定在湿片中未发现的原虫。其他的来自肠道的样本如十二指肠吸取物或引流液,肠检胶囊法获得的黏液,乙状结肠镜获得的样本也可用永久染色法检查原虫。多种染色方法可用,最常用的是铁-苏木素染色法和 Wheathley 三色染色法。

Leagene Wheathley 三色染色液即 Wheatley Trichrome Stain, 又称作惠特利三色染色液,最初由 Gomori 开发并用于染色组织切片和细胞涂片。1951年, Wheatley 通过添加固定和脱水过程改进了 Gomori 的技术,形成了一种简单、快速的肠道变形虫和鞭毛虫染色程序。Chromotrope 2R 可将核染色质、染色质、核体、寄生虫卵和幼虫、细菌以及吞噬的红细胞染为红紫色;淡绿或固绿染料可将包囊、滋养体和其他细胞成分的细胞质染成蓝绿色。本产品常用于从粪便样本中检测、鉴定和区分肠道原生动物与背景材料。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	DZ0280 3×50ml	Storage
试剂(A): 碘酒溶液		50ml	RT 避光
试剂(B): Wheathley 染色液		50ml	RT 避光
试剂(C): 乙酸分化液		50ml	RT
使用说明书			1份

### 自备材料:

- 1、PVA 固定液或肖氏液(Schaudin 溶液)、70%乙醇、95%乙醇、无水乙醇
- 2、二甲苯或环保脱蜡透明液、中性树胶、蒸馏水
- 3、加热器、显微镜、涂抹棒或刷子、吸水纸、载玻片、盖玻片

**操作步骤(仅供参考):**

- 1、涂片制备: PVA 保存的粪便标本必须固定至少 30 分钟。新鲜的实验室标本应与 PVA (1 份粪便对 3 份固定液) 混合并固定 30 分钟。
- 2、彻底混合标本和 PVA, 将少量溶液倒在一张纸巾上以吸收多余的固定液。
- 3、使用涂抹棒、移液器或刷子将一些粪便材料从纸巾转移到两个干净的载玻片上。将混合物涂抹到载玻片的边缘, 以确保标本在染色过程中粘附在载玻片上。涂片厚度以透过玻片可以看到书上(报纸)的字迹为宜。
- 4、让涂片在 35-37°C 下干燥 1 小时或在室温下干燥过夜。涂片也可以在加热器上以 60°C 热固定直至干燥 (约 4 分钟)。
- 5、配制碘酒工作液: 碘酒溶液由过饱和的碘和 70%乙醇配制而成的为黑色浓缩溶液, 使用前, 用 70%乙醇稀释浓缩液, 使外观呈浓茶色或深红棕色(琥珀色)时即可使用。当颜色符合要求时不必更换碘酒工作液, 更换时间取决于染片数量和容器大小。
- 6、涂片处理: 使用非汞固定剂保存的标本不需要用碘酒工作液处理。
  - ①非汞基固定剂固定的新鲜样本: 将玻片放入 70%乙醇中放置 5 分钟。
  - ②汞基固定剂固定的新鲜样本: 先将玻片放入 70%乙醇中放置 5 分钟, 然后浸入碘酒工作液中脱汞处理 1 分钟, 再将玻片依次放入 70%乙醇(I)和 70%乙醇(II)中各 5 分钟。
  - ③汞基固定剂 PVA 固定的风干的样本: 先将玻片浸入碘酒溶液中脱汞处理 5~10 分钟, 再将玻片依次放入 70%乙醇(I)和 70%乙醇(II)中各 5 分钟。
- 7、将玻片置于 Wheatley 染色液中静置染色 10 分钟。
- 8、将玻片放入乙酸分化液中分化 1~3 秒。分化时间不得超过 3 秒。
- 9、95%乙醇中浸提载玻片 5~10 次, 再将玻片依次放入无水乙醇(I)和无水乙醇(II)中各 3 分钟, 二甲苯(I)和二甲苯(II)中各 5~10 分钟。
- 10、滴加中性树脂或环保封片胶, 封片。室温下过夜干燥或在 35~37°C 干燥一小时。
- 11、使用油浸物镜, 在显微镜下检查载玻片的核细节。至少需要检查 200-300 个油浸场。

**染色结果:**

原虫滋养体的胞质	带紫色调的蓝/绿色, 有时呈淡紫色
包囊细胞质	带紫色调的蓝/绿色, 有时呈更淡一些的紫色
核染色质、染色体、细菌、棱锥体、吞噬的红细胞	红色-紫红色
小孢子孢子	红色-粉红色
背景	绿色

**注意事项:**

- 1、碘酒溶液为过饱和溶液，瓶底可能有碘颗粒物，为正常现象。当碘酒溶液不够用时，可加入 70%乙醇，再次溶解碘颗粒，使溶液成深黑色时即可使用。
- 2、配制的碘酒工作液需避光保持。
- 3、每个粪便样本都是传染性物质的潜在来源，使用后，必须对标本、容器和测试材料进行适当灭菌，以防止微生物危害的威胁。
- 4、乙酸分化液为含 0.5~1%乙酸的酒精溶液，如需要量大，可自行配制。
- 5、如果 Weathley 染色液由深蓝色变成紫色或过期，则不应使用并应妥善处理。
- 6、碘酒和乙酸分化液易挥发，使用后应及时拧紧瓶盖。
- 7、试剂可能会刺激眼睛、皮肤和呼吸道。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 12 个月有效。

**相关产品:**

产品编号	产品名称
DC0032	Masson 三色染色液
DF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
DH0005	Mayer 苏木素染色液
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
IH0270	甘油明胶封固液
PW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)