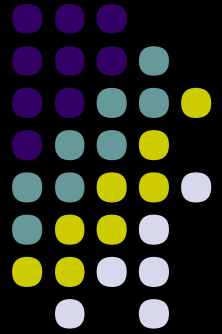


细菌的基本形态 和革兰染色法



目的要求



- 1、熟悉细菌涂片的制备；
- 2、掌握革兰染色法和细菌的基本形态。

革兰染色（Gram Stain）



- 革兰染色是在1884年由丹麦医师革兰（Gram）氏所发明的，当时发现革兰阳性菌的细胞壁有一层比阴性菌厚的肽聚糖（Peptidoglycan），能与结晶紫紧密结合，不容易被脱色液脱掉，在此基础上形成了革兰染色液试剂。
- 革兰是临床检验最基本的染色方法之一，可用于标本涂片或菌落涂片，染色结果将细菌分为革兰阳性（紫色）和革兰阴性（红色）两大类。



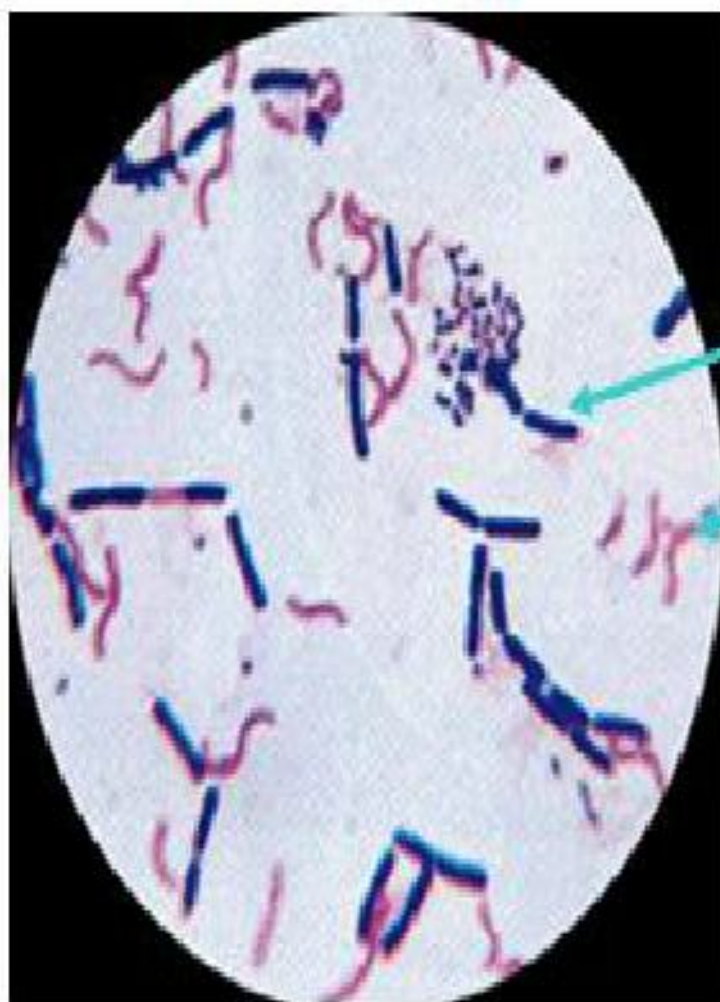
革兰染色原理

- ★革兰阳性菌细胞壁的结构比较致密，肽聚糖层厚，脂质含量少，乙醇不易渗入；而革兰阴性菌细胞壁的结构比较疏松，肽聚糖层少，脂质含量多，乙醇易渗入。
- ★革兰阳性菌的等电点低（ $pI_{2\sim3}$ ），革兰阴性菌的等电点高（ $pI_{4\sim5}$ ），在相同的pH条件下，革兰阳性菌所带负电荷比革兰阴性菌多，与带正电荷的结晶紫染料结合牢固且不易脱色。



革兰染色原理

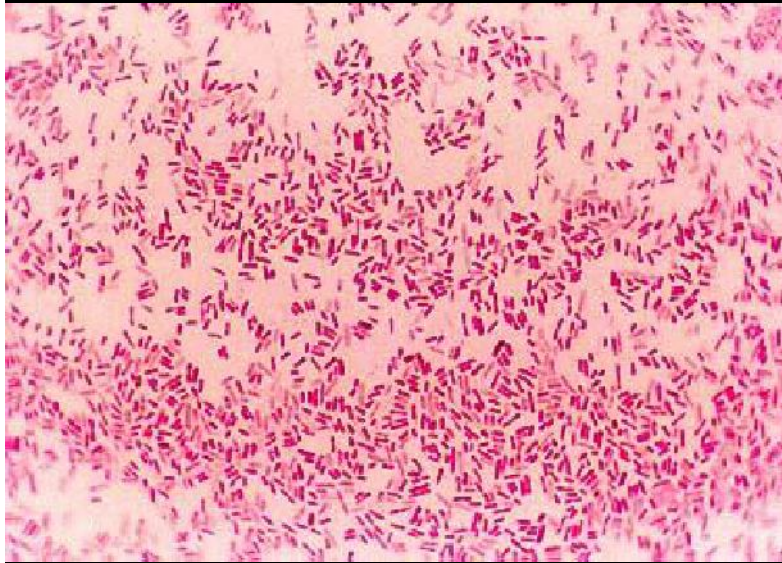
- ★革兰阳性菌细胞内含有大量的核糖核酸镁盐，可与结晶紫和碘牢固的结合成大分子复合物，不易被乙醇脱色；而革兰阴性菌细胞内含有极少量的核糖核酸镁盐，吸附染料量少，形成的复合物分子量也较小，故易被乙醇脱色。



阳性菌——紫色

阴性菌——红色

革兰染色（每人都染两种菌，大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌）

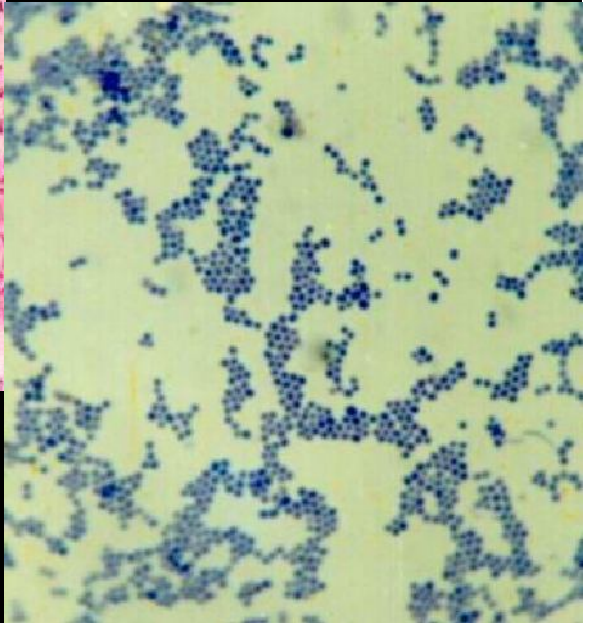


革兰氏阴性菌

大肠杆菌

革兰氏阳性菌

金黄色葡萄球菌



材料



- 1、菌种：金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌
- 2、培养基：普通琼脂培养基
- 3、试剂：革兰染色液
- 4、其他：玻璃铅笔、生理盐水、接种环、载玻片、酒精灯等。

实验内容



一、观察分区划线的细菌的生长情况。

二、革兰染色（每人都染两种菌，大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌）。

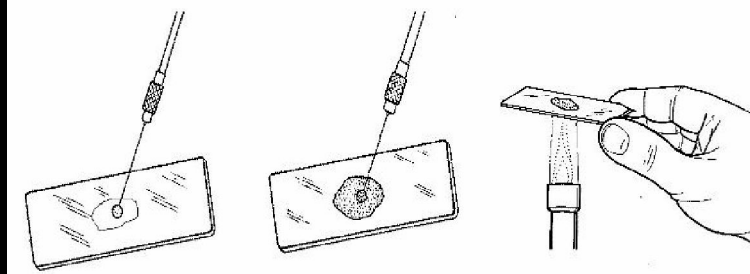
三、接种大肠埃希菌和产气肠杆菌生化管（IMViC和KIA）

[步骤和方法]



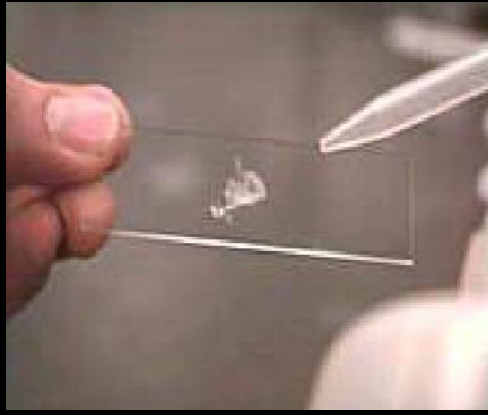
1、细菌涂片标本的制作：

①涂片：



②干燥：室温下自然干燥/ 距离酒精灯火焰高约15cm处微微烘干；

③固定：（火焰加热法）已干燥的涂片在酒精灯火焰上水平迅速来回通过3次。



步骤和方法



2、快速革兰染色法 (Rapid Gram Stain)

(1) 方法:

- | | | |
|-------|---------|--------|
| ①、初染: | (龙胆紫染液) | 10秒 |
| ②、媒染: | (卢戈碘液) | 10秒 |
| ③、脱色: | (脱色液) | 10~20秒 |
| ④、复染: | (沙黄溶液) | 10秒 |



10秒

10秒

10~20秒

10秒

步骤和方法



2、快速革兰染色法 (Rapid Gram Stain)

(2) 影响因素:

- ①操作因素: 涂片厚薄、脱色时间、固定时受热情况等;
- ②染液因素: 染液浓度、保存方式
- ③细菌因素: 菌龄

结果观察

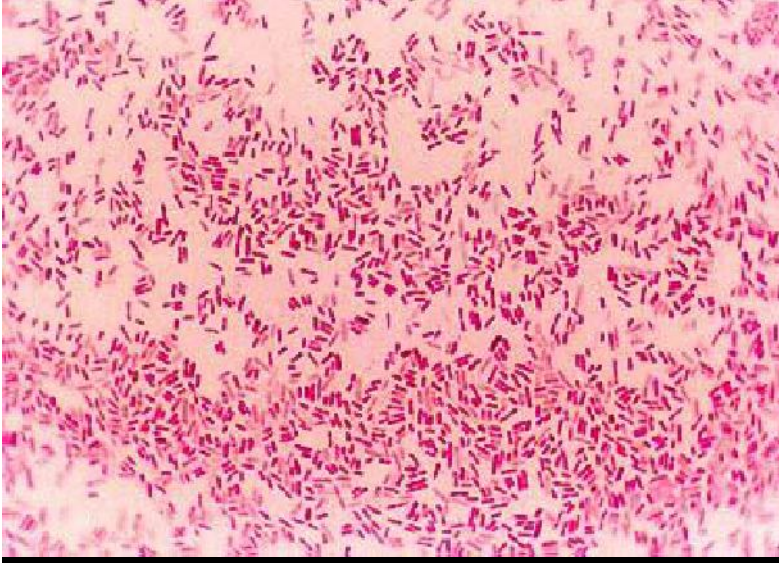


- 1、金黄色葡萄球菌：G+菌（染成紫色），球形，呈葡萄状排列。
- 2、大肠埃希菌：G-菌（染成红色），杆状，呈散在不规则排列



革兰氏阳性菌

金黄色葡萄球菌



革兰氏阴性菌

大肠杆菌

