



细菌的革兰氏染色法

一、目的要求

学习并掌握革兰氏染色的方法。

二、实验材料

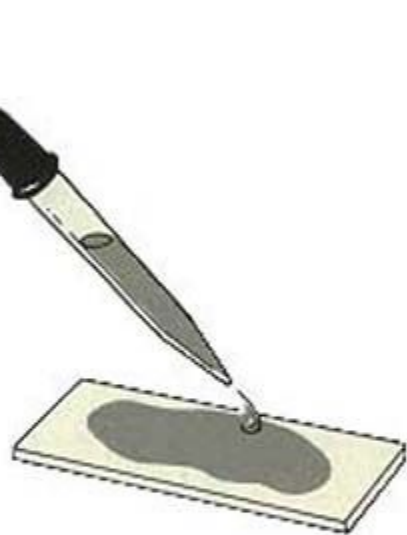
- 1.菌种：大肠杆菌、白色葡萄球菌。
- 2.染料：结晶紫、碘液、95%乙醇、复红。
- 3.其他：显微镜、载玻片、接种环、酒精灯、香柏油、二甲苯、擦镜纸、滤纸等。

三、基本原理

革兰氏染色法是细菌学中广泛使用的一种鉴别染色法。

1884年由丹麦医师Gram创立。

- 结晶紫
- 碘液
- 乙醇
- 番红花红



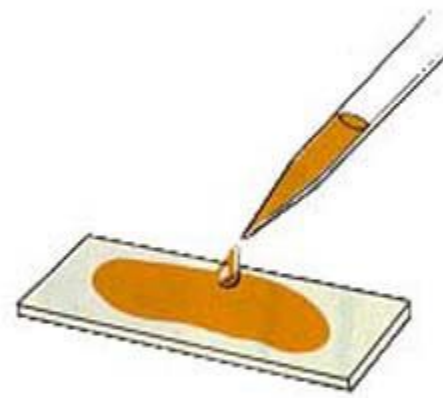
用结晶紫染色



用碘液媒染



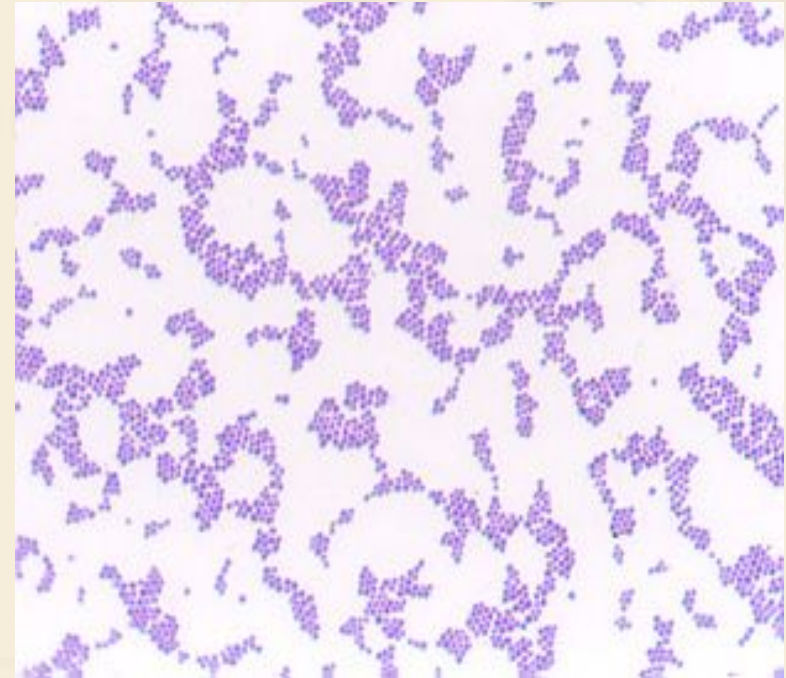
用乙醇脱色



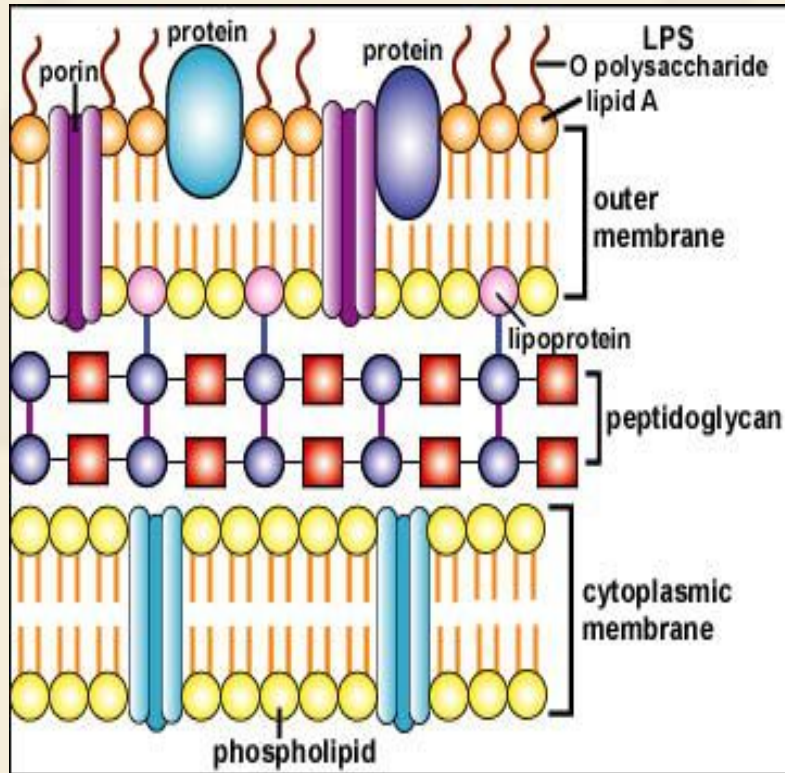
用番红花红复染



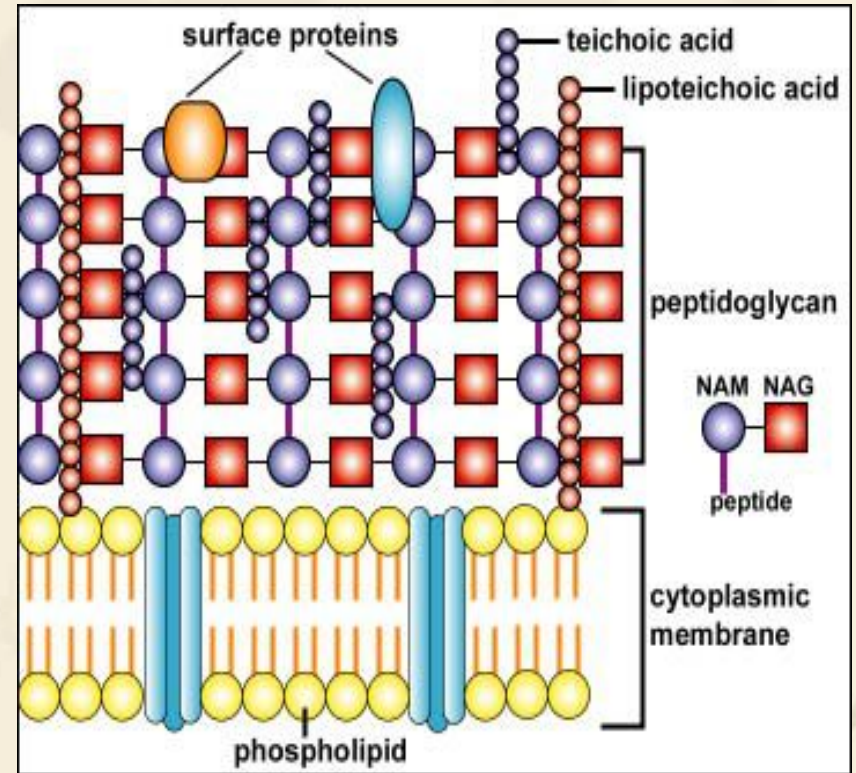
Gram stain of Gram -



Gram stain of Gram +



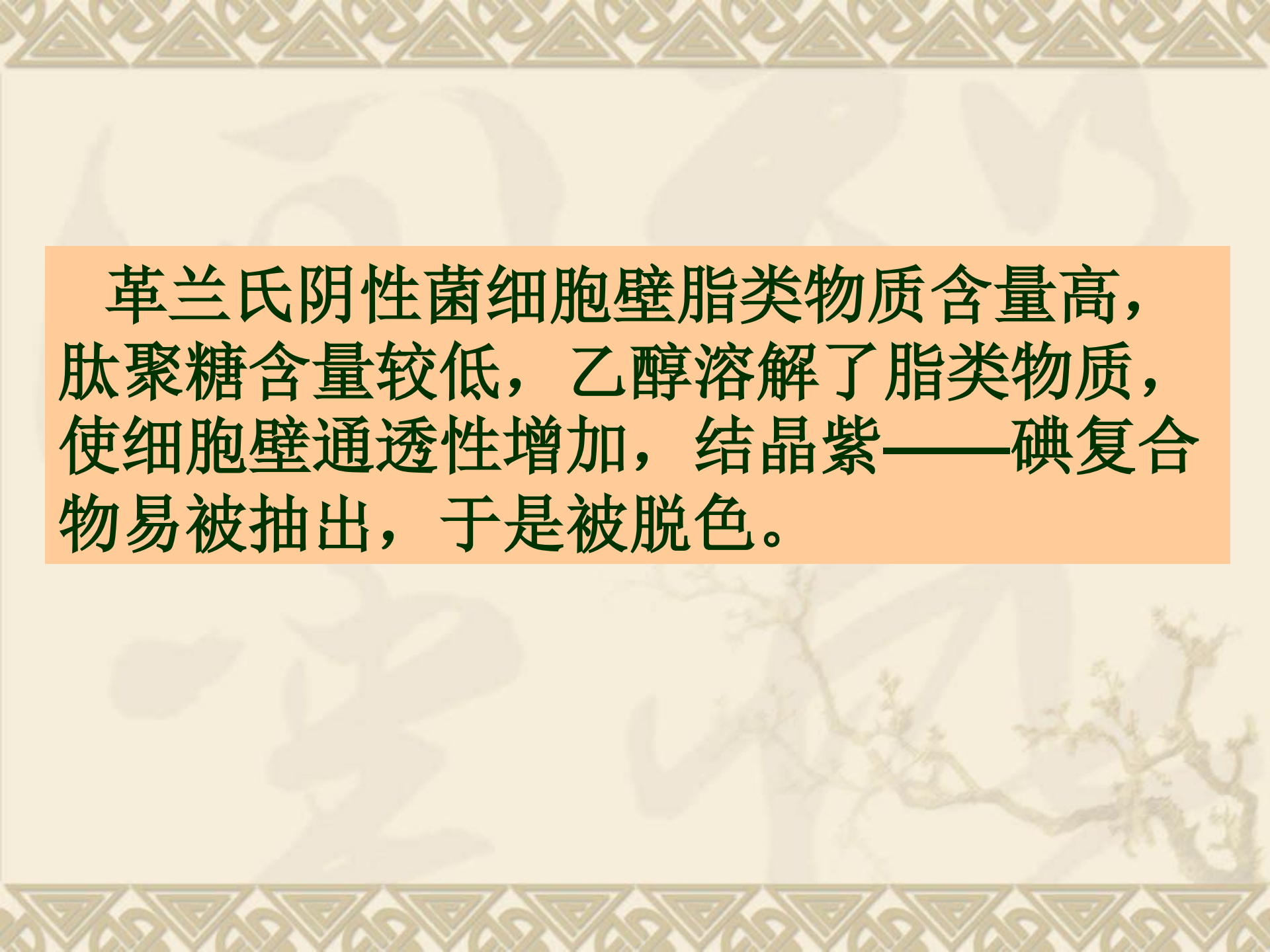
Structure of a Gram-Negative Cell Wall



Structure of a Gram-Positive Cell Wall

革兰氏阳性菌体内含有特殊的核蛋白质镁盐与多糖的复合物，它与碘和结晶紫的复合物结合很牢，不易脱色，阴性菌复合物结合程度低，吸附染料差，易脱色，这是染色反应的主要依据。

革兰氏阳性细菌由于细胞壁肽聚糖含量高，脂类含量低，乙醇处理使细胞壁脱水，肽聚糖层孔径变小，通透性降低，结晶紫碘复合物被保留在细胞内，细胞不被脱色。



革兰氏阴性菌细胞壁脂类物质含量高，肽聚糖含量较低，乙醇溶解了脂类物质，使细胞壁通透性增加，结晶紫——碘复合物易被抽出，于是被脱色。

四、方法与步骤

操作过程如下：

涂片→干燥→固定→结晶紫初染（1min）
→水洗→碘液媒染（1min）→水洗
→95%乙醇脱色（30s）→水洗→复红复
染（1min）→水洗→干燥→镜检。

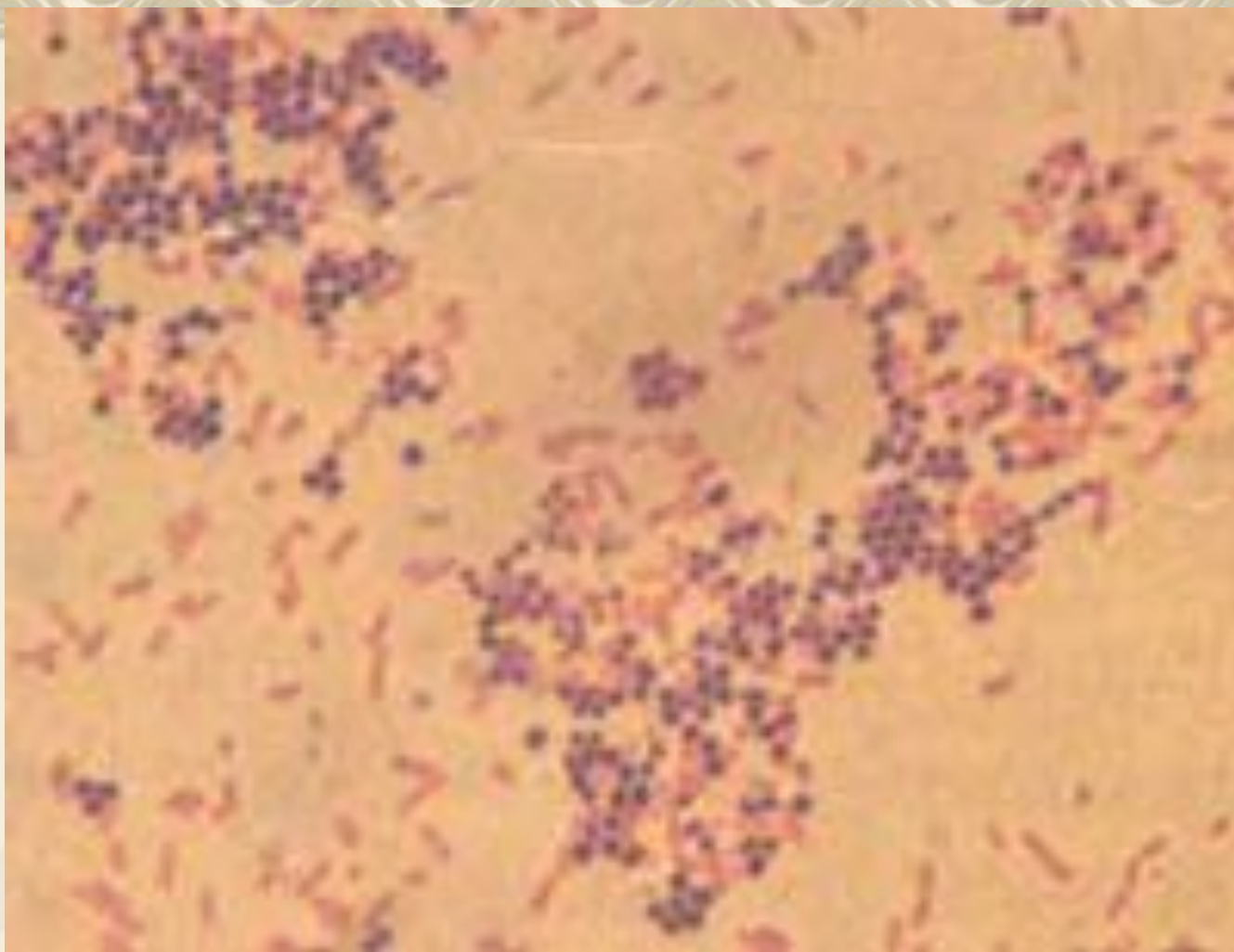
关键点：

严格掌握乙醇脱色程度，如脱色过度，则阳性菌被误染为阴性菌；而脱色不够时，阴性菌被误染为阳性菌。

菌龄也影响染色结果，如阳性菌培养时间很长，或已死亡及部分自行溶解了，都常呈阴性反应。

五、实验内容

- 1.对大肠杆菌、白色葡萄球菌分别进行革兰氏染色。
- 2.对大肠杆菌、白色葡萄球菌混合涂片进行革兰氏染色。



葡萄球菌与大肠杆菌

六、实验记录与思考

1. 绘出大肠杆菌、白色葡萄球菌的形态图，注明放大倍数及颜色。
2. 你的实验结果与课本中所述是否一致？如果不一致，试分析原因。
3. 当你对一株未知菌进行革兰氏染色时，怎样才能确保你的操作正确，结果可靠？