

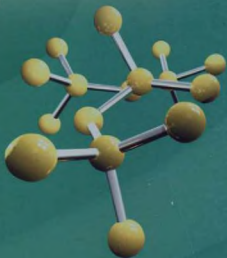
《全国高等学校教材

供临床医学、药学、护理、检验、生物技术等专业使用

医学微生物学 与免疫学实验指导

.....陈森洲 袁桂峰 黄大林◎主编◀

YIXUE
WEISHENGWUXUE
YU MIANYIXUE
SHIYANZHIDAO



GUANGXI NORMAL UNIVERSITY PRESS
广西师范大学出版社

《全国高等学校教材

供临床医学、药学、护理、检验、生物技术等专业使用

医学微生物学与免疫学 实验指导

主 编 陈森洲 袁桂峰 黄大林

编 者(以姓氏笔画为序)

王险峰 刘 菁 陈森洲 陈建宏

骆耐香 袁桂峰 梁 爽 黄大林



GUANGXI NORMAL UNIVERSITY PRESS

广西师范大学出版社

·桂林·

图书在版编目 (CIP) 数据

医学微生物学与免疫学实验指导 / 陈森洲, 袁桂峰,
黄大林主编. — 桂林: 广西师范大学出版社, 2010.8
ISBN 978-7-5633-6085-7

I. 医… II. ①陈…②袁…③黄… III. ①医药学:
微生物学—实验—医学院校—教学参考资料②医药学:
免疫学—实验—医学院校—教学参考资料
IV. ①R37-33②R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 165814 号

广西师范大学出版社出版发行

(广西桂林市中华路 22 号 邮政编码: 541001)
(网址: <http://www.bbtpress.com>)

出版人: 何林夏

全国新华书店经销

桂林广大印务有限责任公司印刷

(广西桂林市临桂县金山路 168 号 邮政编码: 541100)

开本: 787 mm × 1 092 mm 1/16

印张: 8.5 字数: 190 千字

2010 年 8 月第 1 版 2010 年 8 月第 1 次印刷

印数: 0 001~5 000 册 定价: 17.20 元

如发现印装质量问题, 影响阅读, 请与印刷厂联系调换。

前 言

医学微生物学实验与医学免疫学实验是两门十分重要的基础实验课程。其目的在于使学生加深和巩固所学的基本理论和基本知识。通过实验,培养和训练学生形成严格的“无菌观念”,使学生学习和掌握微生物学与免疫学最基本的操作技术,培养学生理论联系实际、综合运用知识、解决实际问题的能力和创新性思维素质。

为了适应学科的迅速发展和教学改革的要求,我们编写了《医学微生物学与免疫学实验指导》。实验指导由医学微生物学与医学免疫学两部分组成,微生物学方面主要包括细菌学总论、临床常见病原菌的分离培养与鉴定、病毒学实验、医院内感染的微生物学检测、卫生细菌学检查、部分药学专业实验等。免疫学部分主要包括凝集反应、沉淀反应、补体参与的反应、免疫标记技术、免疫细胞检测技术、其他免疫学实验等。实验指导对于每项实验的目的、实验原理、结果判断与注意事项等都进行了详细的描述,有利于学生学习与掌握。本实验指导中既有验证性实验,也有综合性实验。其目的是让学生在有限的时间内学到微生物学与免疫学常用的实验方法和技术,使学生通过实验课的学习进一步认识和巩固课堂所学的知识,在强化基本技能训练的同时,加强学科知识的横向联系,并为学生开展设计性、探索性实验提供思路 and 空间,进而提高学生的综合素质,为今后临床实践和科学研究打下良好的基础。

本实验教材由陈森洲、袁桂峰、黄大林主编,教研室全体教师均参加编写。该教材可供临床医学、药学、生物技术、检验、护理学、口腔等专业不同层次的学生使用。由于水平和时间有限,难免有不当之处,欢迎予以批评指正。

编者

2010年6月

医学微生物学与免疫学实验室规则

应该牢记,本门实验课的主要实验对象大多是病原微生物或病人标本,具有传染性。而且空气、物体表面等自然环境以及正常人体表与外界相通的腔道中也存在许多微生物。如操作不慎,可能导致实验室感染或使实验材料被污染。为防止感染,也为提高实验课效果,实验过程中,必修严格无菌操作并严格遵守下列规则:

1. 进入实验室做实验要穿白大衣,必要时戴帽子与口罩。
2. 除实验中必用的学习用品外,其他物品不要放在实验台上。书包放抽屉内,衣帽挂衣架上。非必需物品勿携入室内。
3. 保持实验室内安静、整洁和有序,不得高声谈笑或随便走动。实验室内禁止饮食、吸烟、用嘴湿润铅笔和标签等。
4. 实验过程要按照实验指导所示或教师要求进行操作,如有疑问要请教指导教师。
5. 各种实验物品应按指定地点存放。被污染过且需要回收的吸管、滴管、试管、玻片等,用完后立即放入含有消毒液的容器内,禁止随意放于桌上或水槽内。
6. 若有传染性材料污染桌、凳、地面、衣物或书等,应及时报告老师,并用消毒液处理。
7. 爱护仪器设备,节约使用实验试剂材料,不得将实验室任何物品私自带走。器材等如不慎损坏,应报告老师,在登记本上登记,并按有关规定酌情赔偿。
8. 实验完毕,按要求摆好实验桌上固定存放的物品,交还使用的显微镜等器材,收齐各种试剂,废弃物则集中送至指定地点,统一处理。
9. 实验完毕,用消毒液或肥皂及自来水洗手。值日生打扫室内卫生,最后离开同学应注意关好水电、门窗。

医学微生物学与免疫学实验目的和要求

医学微生物学与免疫学实验课,是这两门课程学习的重要环节。其目的在于,使学生加深和巩固所学的基本理论和基本知识。同时通过整个实验过程,培养和训练学生形成严格的“无菌观念”,使学生学习和掌握微生物学和免疫学的基本操作技术,培养学生独立思考的能力,为今后的临床实践及科学研究工作打下良好的基础。

实验要求:

1. 每次实验前必须做好预习,明确实验目的、原理、方法及操作中的注意事项等,避免和减少发生错误。

2. 实验过程中必须持严肃认真的科学态度,并注意合理地分配和利用时间。

3. 遵守实验室规则,在整个实验过程中,严格无菌操作。

4. 实验结果需真实记录,进行分析,得出结论。如实验结果与理论不符,应探讨原因,训练科学思维的能力。实验完成后,要独立认真地完成实验报告。

5. 实验报告书写要求包括以下主要内容:

(1)实验目的。

(2)实验原理(简要叙述)、实验原理图。

(3)实验内容和主要步骤。

(4)记录实验结果,与判断值进行比较,得出结论。

(5)实验总结和心得体会。总结实验收获或不足,对实验中出现的反常现象或疑难问题提出自己的见解,对实验内容和方法可提出自己的看法。

(6)字迹要清楚,语言简练,表格清晰。

(7)必须在认真观察多个标本并基本掌握所观察标本的典型结构之后再绘图。绘图要求:

①画图应力求反映实际标本的原状。

②绘图要用规定的报告纸和铅笔画点线构成的轮廓图(部分绘图用彩色笔,革兰染色阳性细菌用蓝色笔绘图,革兰染色阴性细菌用红色笔绘图)。

③图下注明细菌的名称、染色方法和放大倍数。

目 录

医学微生物学部分

绪论	1
第1章 细菌的形态与结构	4
第2章 细菌的生理	11
第3章 消毒灭菌与病原微生物实验室生物安全	19
第4、第5章 噬菌体、细菌的遗传与变异	25
第6章 细菌的耐药性	32
第7章 细菌的感染与免疫	35
第8章 细菌感染的检查方法与防治原则	45
第9章 球菌	50
第10章 肠杆菌科	58
第11、第12章 弧菌属、螺杆菌属	64
第13章 厌氧性细菌	67
第14章 分枝杆菌属	74
第16章 动物源性细菌	81
第17章 其他细菌	85
第19章 支原体	88
第20章 立克次体	90
第21章 衣原体	93
第22章 螺旋体	96
第23章 病毒的基本性状	101
第24章 病毒的感染与免疫	108
第25章 病毒感染的检查方法与防治原则	115
第26章 呼吸道病毒	121
第27章 肠道病毒	127
第29章 肝炎病毒	134

第30章	虫媒病毒	141
第31章	出血热病毒	145
第32章	疱疹病毒	148
第33章	逆转录病毒	153
第34章	其他病毒	160
第35章	朊粒	163
第36章	真菌学总论	165
第37章	主要病原性真菌	169

医学免疫学部分

第一章	免疫学概论	173
第二章	免疫器官和组织	177
第三章	抗原	181
第四章	免疫球蛋白	187
第五章	补体系统	194
第六章	细胞因子	201
第七章	白细胞分化抗原和黏附分子	206
第八章	主要组织相容性复合体及其编码分子	210
第九章	B淋巴细胞	216
第十章	T淋巴细胞	220
第十一章	抗原提呈细胞与抗原的处理及提呈	225
第十二章	T淋巴细胞介导的细胞免疫应答	230
第十三章	B淋巴细胞介导的体液免疫应答	235
第十四章	固有免疫系统及其应答	240
第十五章	免疫耐受	244
第十七章	超敏反应	247
第二十二章	免疫学检测技术的基本原理	253
第二十三章	免疫学防治	258

医学微生物学部分

第一篇 细菌学总论

细菌属于原核细胞型微生物。因其种类多,数量大,在自然界中分布很广。

掌握细菌形态结构的知识,对鉴别细菌、诊断和防治细菌感染性疾病,以及研究细菌的致病机制、免疫学特性等均有重要的理论和实际意义。本实验要求掌握显微镜油镜的使用、细菌涂片的制作、革兰染色法、鞭毛染色法、荚膜染色法和芽胞染色法等。

实验一 细菌形态与结构观察

一、显微镜油镜的使用和保护

【目的】

熟练掌握显微镜的使用方法,尤其是油镜的使用方法。

【材料】

普通光学显微镜、细菌染色片。

【方法】

1. 使用前必须对所用显微镜进行详细检查,如发现问题应及时向老师报告。
2. 调光:检查未染色标本时,以弱光线为宜,此时可将集光器下降或缩小光圈;检查染色标本时,以强光线为宜,此时应将集光器升到最高位置,将光圈完全打开。

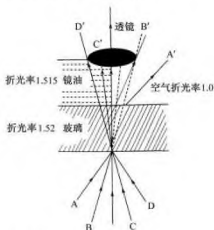


图 1-1 显微镜结构示意图

3. 标本观察:将标本置于载物台上,用弹簧夹或标本推进器固定,将待检标本移于物镜下。先用低倍镜找出标本的位置,然后降低载物台,在标本欲检部位滴 1 滴香柏油,然

后转换成油镜。眼从侧方看,调节粗螺旋,使载物台上升,将镜头浸入镜油中至接近玻片时为止(注意勿压碎玻片)。眼看目镜,缓慢调节粗螺旋使载物台下降,至看到模糊物像时,再调节细螺旋,至可清楚看到标本为止(如果油镜末端已离开油面,应按上述过程重复操作)。观察标本时应两眼同时睁开,以减少眼睛疲劳。最好用左眼观察,右眼配合绘图和记录。观察完毕,应先降低载物台,使镜头与载物台分开,并将高倍镜(或油镜)头扭向一侧,再取下玻片。

4. 显微镜的保护:显微镜是精密的光学仪器,在使用时应注意爱护,各部分结构不得随意拆卸,以免损坏。取送搬移显微镜时,要一手持镜臂,一手托镜座,平端在胸前,轻拿轻放。避免强酸、强碱、氯仿、乙醚、酒精等对机件有损伤作用的化学药品与显微镜接触。细螺旋是显微镜最精细、最脆弱的机械部分,每旋转一周使载物台上升或下降0.1mm,只能做往返回转,不要向单一方向转动数周。观察悬滴片标本时,载物台应放平,注意勿将物镜头头接触悬滴液。观察封片标本时,勿使镜头与盖玻片接触,以免压坏标本或损伤镜头。油镜头使用完毕,应用擦镜纸蘸少许二甲苯擦拭,再用干燥擦镜纸擦去残存的二甲苯。最后将物镜头头转成“人”字形,上抬载物台,稍微下降集光器,对号送入镜盒内。

【思考题】

1. 如何识别普通光学显微镜的油镜头? 怎样正确使用油镜?
2. 油镜的原理是什么? 为什么要选用香柏油作为镜油?

二、细菌基本形态的观察

【目的】

掌握细菌的三种基本形态。

【材料】

金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、霍乱弧菌的革兰染色示教片。

【方法】

将各示教片置油镜下观察,注意观察其形态、排列及染色性并将观察结果描绘在记录本上。

【结果】

1. 金黄色葡萄球菌:革兰染色阳性,球形,常呈葡萄串状排列,如图1-2(A)。
2. 大肠埃希菌:革兰染色阴性,为两端钝圆的短杆菌,散在排列,如图1-2(B)。



图 1-2(A)



图 1-2(B)

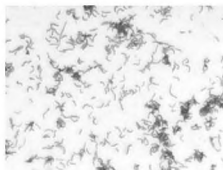


图 1-2(C)

图 1-2 细菌基本形态示意图

3. 霍乱弧菌：革兰染色阴性，菌体只有一个弯曲，呈逗点状，散在排列，如图 1-2(C)。

【思考题】

1. 细菌的基本形态有哪些？
2. 能否根据细菌的形态来鉴别细菌？

三、细菌特殊结构的观察

【目的】

掌握细菌的四种特殊结构。

【材料】

伤寒沙门菌鞭毛染色、肺炎链球菌荚膜染色、破伤风梭菌芽胞革兰染色示教片。

【方法】

将各示教片置于油镜下观察并记录观察结果。

【结果】

1. 伤寒沙门菌鞭毛染色：可见伤寒沙门菌菌体呈紫红色，周身鞭毛呈红色，如图 1-3(A)。
2. 肺炎链球菌荚膜染色：可见肺炎链球菌菌体被染成紫色，成双排列，菌体周围有一圈未着色的环状带，即为荚膜，如图 1-3(B)。



图 1-3(A)

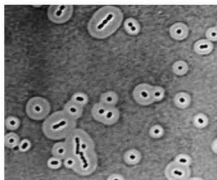


图 1-3(B)

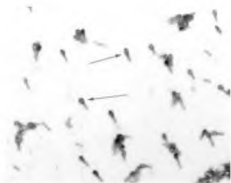


图 1-3(C)

图 1-3 细菌特殊结构示意图

3. 破伤风梭菌革兰染色:可见破伤风梭菌菌体被染成紫色,菌体顶端可见一个比菌体大的正圆形芽胞,整个菌体呈鼓槌状,如图 1-3(C)。

【思考题】

1. 细菌特殊结构中,哪一种在光学显微镜下观察不到?
2. 细菌有哪些特殊结构?各有什么功能?

四、不染色标本的观察

细菌鞭毛与其动力有关,有无鞭毛,细菌的运动方式不同,依其运动特点可间接判定细菌有无鞭毛,这也是鉴定细菌的方法之一。应用不染色标本可直接观察活细菌的形态和运动,且能避免由于某些染色操作而引起细菌变形,常用的不染色标本的制备方法有悬滴法和压滴法。

证明细菌有无鞭毛,除显微镜直接观察其运动特点外,还可以通过鞭毛染色法直接观察其有无鞭毛及其特点,也可以通过半固体穿刺培养法间接证明。

【材料】

变形杆菌 6~12h 肉汤培养物、葡萄球菌 6~12h 肉汤培养物、凡士林、载玻片、凹玻片、盖玻片、接种环、酒精灯。

【方法】

1. 悬滴法。

取清洁的凹玻片和盖玻片各一张,涂少许凡士林于凹玻片窝的周围;取一接种环变形杆菌肉汤培养物滴于盖玻片的中央,将盖玻片迅速翻转,覆盖于凹玻片窝上(图 1-4)。轻压盖玻片,使其固定并密封,防止菌液变干,便于长时间观察。同法再以葡萄球菌肉汤培养物做一悬滴片。

镜检方法:将集光器稍降下,使视野内光线变暗。用低倍镜找出悬滴的边缘,然后换用高倍镜或油镜观察滴内细菌的形态和运动。变形杆菌有鞭毛能运动。它们可向不同方向运动,速度较快,相互间的位移很大。葡萄球菌没有鞭毛不能运动,但由于受水分子的撞击而呈分子运动(布朗运动),只在一定范围内作往复颤动,相互间位移不大。按细菌运动性的不同,可以推知细菌有无鞭毛,这是鉴别菌种的要点之一。



图 1-4 悬滴法示意图

2. 压滴法。

分别取变形杆菌和葡萄球菌肉汤培养物，放于载玻片中央。小心地把盖玻片放于液滴之上，勿使中间产生气泡，中间液层越薄越好。镜检方法与悬滴法相同。本法较悬滴法简单，但标本容易干涸，不能长时间观察(注意：勿将菌液压溢到玻片边缘之外)。

实验二 细菌的染色法

形态学检查是鉴定细菌一个重要的环节。细菌个体小，无色半透明，不染色在镜下不易观察清晰，使菌体着色后，即可在镜下清晰地观察其形态特征，有助于菌种的鉴定。

进行细菌染色时因其等电点低(pH 2~5)，细菌在中性、碱性以及弱酸性环境中都带有负电荷，易与带正电荷的碱性染料结合，常用美兰、复红、结晶紫等碱性染料，碱性染料电离后带色离子带正电荷，易与带负电荷的被染物结合，使细菌着色。染色方法有单染色与复染色之分，只用一种染料使细菌着色的方法称单染色法，用两种以上染料染色的方法叫复染色法，主要有革兰染色法、抗酸染色法，此外还有多种特殊染色法。

一、细菌涂片的制作

【目的】

了解细菌常用的一些染色方法，掌握细菌涂片制作的步骤。

【材料】

菌液或固体平板上生长的菌落、载玻片、接种环、酒精灯。

【方法】

1. 涂片。按无菌操作取材法进行，具体步骤如下：

(1) 用肉汤培养物涂片。

① 右手拿接种环的塑料柄部分，左手托持试管。

② 将接种环按 15°角放在酒精灯的外焰中烧灼灭菌，直到把金属丝烧红，然后将铝制的银色柄部也通过火焰略加烧灼(如图 2-1)。对于接种环的使用，必须牢记一句话：使用前和使用后均要烧灼。

③ 用右手小指和手掌的内缘拔掉左手所持试管的棉塞，并立即将试管口用火焰烧灼

灭菌。

④用灭菌后已冷却的接种环伸入试管中取出材料(如图 2-2),此时注意勿使沾有材料的接种环触碰试管壁及试管口。

⑤将试管口再次灭菌,棉塞也要在火焰上略加烧灼(时间要短以免点燃棉塞),塞好棉塞,放回原处。

⑥将接种环上材料涂于载玻片上,随后立即将接种环用火焰烧灼灭菌。为防止细菌溅散污染环境,接种环灭菌前,须先将接种环靠近火焰或放内焰中烤干,然后再在外焰中烧红灭菌,杀死残留的细菌。

(2)用斜面培养物涂片。

用细菌斜面培养物涂片,需预先取一接种环生理盐水放在载玻片上,然后再按无菌操作取材法从斜面培养物上取少量菌苔,在水滴内轻轻研磨将细菌制成菌悬液,再涂成一薄膜,大小约 $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 。无菌操作取材步骤同前。

2. 干燥:放空气中自然干燥。如欲加速,也可把涂片置于火焰上部的热气层中烘烤,但切勿将涂膜烤焦。

3. 固定:用木夹子夹住涂片,在火焰的最热部分连续通过 3 次,以固定之。此时杀死细菌,并使标本固定于玻片上,以免在染色或水洗过程中被冲掉。



图 2-1 接种环灭菌示意图

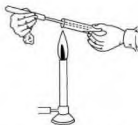


图 2-2 细菌培养物取材示意

二、革兰染色法

【目的】

1. 掌握革兰染色法的步骤。
2. 熟悉革兰染色法的原理。

【原理】

该染色法于 1884 年由丹麦细菌学家 Gram 创建,为最常用的染色法之一。经此法染色后,可将细菌分为两大类,即革兰阳性菌和革兰阴性菌,有助于细菌的鉴别。另外,根据初步染色结果,可以协助临床选择抗菌药物,并对了解细菌的致病性有一定的帮助。该染色法的机理:①细胞壁结构学说:基于革兰阳性菌与革兰阴性菌细胞壁的差异。细

菌经结晶紫初染成紫色。革兰染色阳性菌(G^+)细胞壁肽聚糖层数多,且肽聚糖为空间网状结构,再经乙醇脱水,网状结构更为致密,染料复合物不易从细胞壁内漏出,仍为紫色。而革兰染色阴性菌(G^-)细胞壁脂类含量多,肽聚糖层数少,且肽聚糖为平面片层结构,易被乙醇溶解,使细胞壁通透性增高,结合的染料复合物容易泄漏,细菌被脱色为无色,再经稀释复红染色液复染成红色。②等电点学说: G^- 菌的等电点(pH 2~3)比 G^+ 菌的等电点(pH 4~5)低,在同一pH条件下, G^- 菌比 G^+ 菌所带负电荷要多,与带正电荷的碱性染料结合牢固,不易脱色。③化学学说: G^- 菌含有大量核糖核酸镁盐,与进入胞浆内的结晶紫和碘牢固结合成大分子复合物,不易被95%乙醇脱色;而 G^+ 菌含此种物质量少,故易被乙醇脱色。

【材料】

细菌涂片、结晶紫染色液、卢戈碘液、95%乙醇、稀释复红染液。

【方法】

1. 将结晶紫染液加于涂片上,染色(初染)1min。
2. 水洗后加卢戈氏碘液处理(媒染)1min。
3. 水洗后用95%酒精脱色,脱色时频频摇动玻片,直至流下的液体无色为止(约需0.5min)。

4. 水洗后加稀释复红染色液染色(复染)0.5min。

5. 水洗,用滤纸轻轻吸干,待标本充分干燥后进行镜检。

染色过程中,水洗要用自来水的细流徐徐冲洗涂片的表面,勿使强水流直接冲到涂片上。

【结果】

革兰阳性菌(G^+ 菌)染成紫色,革兰阴性菌(G^- 菌)染成红色。

【思考题】

1. 细菌染色前,为什么必须进行固定?
2. 在革兰染色过程中,哪个步骤对染色结果影响最显著?
3. 试述革兰染色法的主要步骤、结果及实际意义。

三、荚膜染色法

【目的】

1. 掌握荚膜的概念及观察方法。
2. 了解荚膜染色的方法。

【原理】

荚膜(Capsule)是细菌在生活过程中在细胞壁外面形成的特有黏液物质。具有保护细菌抵抗吞噬和消化的作用,可增加细菌的侵袭力。荚膜与染料间的亲和力弱,不易着色,通常采用负染色法染荚膜,即设法使菌体和背景着色,从而使荚膜在菌体周围呈一透明圈。

【材料】

经腹腔接种肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)后死亡的小白鼠、结晶紫染液、20%硫酸铜溶液、解剖器材、滤纸片。

【方法】

1. 涂片：解剖小白鼠，取小白鼠脏器（肺、肝、脾和肾）、心血或腹腔液涂片，空气中干燥，火焰固定。

2. 染色：

(1) 取一滤纸片覆盖于涂膜上，滴加结晶紫溶液，并在火焰上略加热至出现蒸气为止（约 1min）。

(2) 倾去染液，除去滤纸片，用 20% 硫酸铜溶液冲洗。用滤纸吸干后镜检。

【结果】

此荚膜染色为黑斯(Hiss)氏染色法，荚膜呈淡紫色，菌体呈紫色。在小白鼠组织细胞周围，有散在成对的小尖矛形的紫色细菌，细菌周围有一淡紫色的亮圈，即为荚膜。

四、芽胞染色法**(一) 威—康(Wiltz-Conklin)二氏芽胞染色法****【目的】**

1. 掌握芽胞的概念。
2. 了解芽胞染色的方法。

【原理】

芽胞(Spore)是某些细菌(主要为 G^+ 菌)，在一定的环境条件下，胞浆脱水浓缩在菌体内形成一个圆形或椭圆形小体。芽胞是细菌的休眠状态，对各种理化因素有强大的抵抗力，能耐受恶劣环境的影响。芽胞折光性很强，经特殊染色法染色后，在光学显微镜下观察。芽胞具有厚而致密的壁，通透性低，不易着色，一旦染上色后又难以被脱色，所有的芽胞染色法就是根据这一特点设计的。

【材料】

破伤风杆菌(*Clostridium tetani*) 24h 琼脂斜面纯培养物、3% 孔雀绿水溶液、0.5% 花红水溶液、载玻片。

【方法】

1. 取破伤风杆菌培养物涂膜、干燥、火焰固定。
2. 滴加 3% 孔雀绿水溶液加热染色 3~6min，水洗。
3. 0.5% 花红水溶液复染 0.5~1min，水洗，干燥，镜检。

【结果】

芽胞染成绿色，菌体染成红色。

注意芽胞的形状、在菌体中的位置和大小(与菌体横径比较)。同时可能看到没有芽胞的繁殖体和失掉菌体的芽胞。

(二) Moeller 氏芽胞染色法

经火焰固定的细菌涂片，以 5% 铬酸水溶液处理 2~10min，充分水洗。用石碳酸复红染液加热染色 1min，水洗。用 5% 硫酸短时间脱色(约 5s)，立即水洗。再用美蓝染液染色半分钟，水洗，吸干，镜检。结果芽胞染成红色，菌体染成蓝色。