

初級檢驗人員訓練班用

細菌學

上海市立医学化驗所編



科技卫生出版社

前　　言

1957年本所奉上海市卫生局指示，連續举办了初級檢驗人員訓練班三班次，共220余人。以初中毕业生为对象，經六个月到一年的理論教學，与参加实际工作相結合的培养，使成为具有专业基本理論知識，以及能完成一般临床檢驗工作（以血、尿、粪便、体液四大常規为主）水平。

本書系办班过程中所編寫之細菌學講義，現應科技卫生出版社之約，刊印出版。虽然我們知道它不够完备，还不成熟，或甚至有不当与錯誤之处；但为了迎接全国跃进再跃进的形势，愿意将其外傳以供参考。

本書是存在着缺点和不够地方的，希望大家无保留地指出和給予批評；我們將热忱欢迎和仔細考慮每个寶貴意見，以便改进和提高我們的工作。

目 次

第一章 緒論	1
第二章 細菌的形态学	2
第一节 細菌的种类	2
第二节 細菌的大小	2
第三节 細菌的形状	2
第四节 細菌的构造	4
第五节 細菌菌落的形态	5
第三章 研究細菌的方法	7
第一节 显微鏡及其应用	7
第二节 細菌的显微鏡檢查法	9
第三节 細菌的染色檢查法	11
第四节 細菌的培养	17
第五节 血清学方法	26
第六节 致病性試驗	26
第四章 环境对細菌的影响	27
第一节 环境中因子对細菌的影响	27
第二节 物理因子	28
第三节 化学因子	30
第四节 生物因子	31
第五节 实际应用	32
第五章 几种常見致病菌的鉴定法	36
第一节 化膜球菌	37
一、葡萄球菌	37
二、鏈球菌	39
三、肺炎双球菌	41
四、脑膜炎球菌	42
五、淋球菌	44
第二节 腸道杆菌	45

一、非致病性細菌	46
二、伤寒与副伤寒杆菌	48
三、痢疾杆菌	50
第三节 白喉杆菌	52
第四节 分枝杆菌屬	54
一、結核分枝杆菌	54
二、麻风分枝杆菌	56
第五节 嗜血杆菌屬	57
一、嗜血流行性感冒杆菌	57
二、嗜血百日咳杆菌	58
第六章 几种常見标本的細菌学檢驗	59
第一节 血液及骨髓的細菌学檢驗	59
第二节 脑脊液的細菌学檢驗	60
第三节 各种体液及膽汁的細菌学檢驗	63
第四节 眼、鼻、喉与口腔拭子的細菌学檢驗	65
第五节 痰的細菌学檢驗	66
第六节 尿的細菌学檢驗	67
第七节 粪的細菌学檢驗	68
附录 細菌学檢驗法	71

第一章 諸論

在地球上极其繁多的有机体中，除用肉眼所能見到的以外，还有无数的、看不見的、极微小的、结构简单的单細胞生物，叫做微生物。細菌就是微生物里面的一类。研究細菌的一般生活規律和它們在自然界中所起作用的科学，就是細菌学。

細菌在自然界中分布的范围极广，在自然界中各种物质轉化过程中所起的作用是非常重大的；同时它們也是引起許多人类及动植物傳染病的一种病原。

学习細菌学的目的，就是要彻底了解病原菌的生活規律和它們在一定条件下与人体的相互关系，把它应用于傳染病的診斷，治疗及預防，更进一步人工的改变致病菌以征服一切傳染病，我們才能有效的消灭它們对人类的危害性。

細菌学与临床医学各科都有密切的关系，尤其是傳染病学、流行病学的基本知識，在預防医学中占很重要的位置，是医务工作者必須懂得的學識。

医学檢驗員的任务，首先做好临床檢驗工作，以配合协助医师对病員病情的診斷与治疗。因此研究細菌檢驗及診斷之要求与目的为：

(1) 須注意各种重要病原菌之特性及免疫反应，为識別病原种类之根据。

(2) 須熟練細菌学中的各項基本技术方法，为担负工作之基础。

(3) 須了解病原細菌之分布及危害情况，为担任临床檢驗时更好的运用。

(4) 須貫彻理論与实际相結合，要做好实验診斷工作，就要掌握全部操作過程的知識，着重每一技术細节之正确操作。

細菌学学习范围与內容方面，分三部分：第一部分講解細菌的

形态学、研究細菌的方法、外界环境对細菌的影响等各項基本知識；第二部分講解几种常見致病菌的鉴定法；第三部分講解几种常見标本的細菌学檢驗。

复习提綱

1. 为什么我們要学习細菌學？細菌學与临床各科有何关系？
2. 我們應該如何來学好細菌學？为什么？

第二章 細菌的形态学

第一节 細菌的种类

細菌包括真細菌，螺旋体，立克次体与病毒，列表于下：

名 称	显微鏡下一般外表
真 細 菌	杆状球状或略弯
螺 旋 体	螺旋状
立 克 次 体	类似双球菌或杆状
病 毒	通常极微小显微鏡下也不可見

第二节 細菌的大小

細菌之大小单位为微米(μ)，一微米为千分之一毫米(m m)。細菌之大小很不一致，最大者可达5~6微米，而最小者則仅0.5微米。螺旋体之大小相差更大，由2~500微米。立克次体較細菌为小，直徑約0.35微米。病毒因体积太小，其单位为毫微米(m μ)即千分之一微米，最大的病毒有450毫微米，經特殊方法染色后，在普通显微鏡下能看到，最小的为10毫微米与大型蛋白质分子相似。

第三节 細菌的形状

細菌的基本形状：可分为球菌、杆菌及螺旋菌三种：

一、球菌 菌体圆如球，形态最简单。在分裂过程中，新生的幼稚的菌体细胞能保持着彼此间的联系，形成各种不同的联合形态，接着各个球菌彼此间的排列，在形态学上又可分为以下几种：

(一) 双球菌 分裂后两两成双的排列，两球的接触面比较平坦排成两个半月形或肾脏形。

(二) 链球菌 呈一个平面分裂菌体排列成链条状。

(三) 葡萄球菌 呈数个平面分裂，堆聚象一串葡萄样。

(四) 四联球菌 呈两个平面分裂排列成田字形。

(五) 八叠球菌 呈三个平面分裂排列呈立方体，类似捆扎的包裹。

二、杆菌 此类细菌的形态类似杆状。其中能形成芽胞的称为芽孢杆菌，不形成芽胞的简称杆菌。杆菌也能形成各种不同的联合，两两相接的杆菌称为双杆菌；连结成链状的杆菌称为链杆菌；但大部为单独分散。各杆菌间的长短粗细差别很大；菌体两端多为钝圆也有呈方形的；两侧或平行，或中央部较粗，或有一处或数处突出。有些粗短而两端钝圆，近乎球菌，而实际上也是杆菌称球杆菌。

三、螺旋菌

(一) 弧菌 菌体略弯呈弧状，如霍乱弧菌。

(二) 螺菌 螺旋硬，弯状，如水内非致病性螺菌。

细菌的多形性：细菌的形态与大小随着营养和



图 1 各种细菌的基本形态

培养的条件，及各种不同的物理和生化因素的影响而变更。例如霍乱弧菌在老培养物中能呈球形，巨大的螺旋体形，阿米巴型等等。结核杆菌倾向于出现分枝形，而白喉杆菌则具有能形成分枝的特性，并能在末端形成别针样膨大。细菌这种改变普通形态与正常大小的倾向，称为多形性。

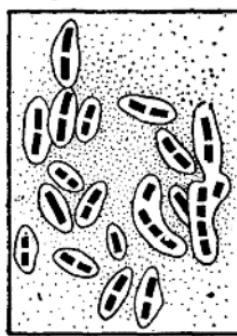


图2 细菌荚膜



图3 细菌的鞭毛

图4 细菌芽胞的位置和形状

第四节 细菌的构造

细菌的构造和其他生物细胞相似，也有原浆、细胞膜、核及内部构造。除了这些基本要素外，有些细菌还有荚膜、鞭毛、芽胞等等。

一、原浆与膜 细菌的原浆是蛋白质，为一种透明的胶状液体。外包一膜，此胞膜分二层，其内层较致密，其外层则疏松而包有粘液。此胞膜薄而无色，也不能染色，但可用特殊方法处理。在电子显微镜下能看出细菌可借此膜吸收营养排泄废物。

二、核 细菌因折光率很低，在普通显微镜下，不能看见内部的构造。以前均认为细菌无核，最近已可用特别之酶将原浆中之核酸分解，再以某种染色法染之，能将核染出，但在某些细菌内则不能发现。

三、胞浆内颗粒 菌体内常见有颗粒状物存在。最显著的颗

粒为白喉杆菌的异染粒，此种颗粒能被某种颜料着成与菌体不同之颜色；又以其位置常在细菌之极端，故又名极体。此种颗粒在鉴别细菌上甚有帮助。

四、荚膜 有些细菌的外层膜非常粘稠，为一种粘液性胶样物质，这层物质特别增厚时即形成荚膜。荚膜不易着色，须要用特殊染色法才能染出。荚膜的宽窄很不一致，有的很狭不易显示，有的很宽，甚至比菌体要宽四、五倍。荚膜的存在与其所处的环境有关，如刚由人体或动物体分离的时候，有荚膜存在；但在人工的培养基上时，荚膜即消失。荚膜和细菌的毒力有关，荚膜的存在对细菌有益，它可以保护细菌免受宿主的侵害。

五、鞭毛 鞭毛为细菌的运动器官，凡有鞭毛的细菌在液体中能自由行动改变位置，这种运动方式称真正运动。至于无鞭毛的细菌，在液体中仅见不改变位置之上下左右摆动称为分子运动。鞭毛可位于细菌之一端两端或周围，用普通染色法也不易看出，要用特殊的方法染色。一般球菌皆无鞭毛，而杆菌及螺旋菌大部分有鞭毛。

六、芽胞 有些细菌在生活过程中，能构成芽胞。芽胞之形态和大小要看细菌的种类而有所不同，大致分圆形与椭圆形两种，大小可比菌体大，也可比菌体小，如果芽胞大于菌体，可使细菌改变形态。芽胞在菌体内所居的位置亦各有不同，有的在菌体中央，也有位于菌体次端或极端，例如破伤风杆菌之芽胞位于极端，圆形、凸出极似鼓锤状。细菌芽胞之形态、大小，与位置在鉴别上有其重要性。

芽胞是细菌的休止状态，通常在繁殖旺盛时，遇有不适之条件影响，就形成芽胞。产生芽胞时，先由原浆集合，构成芽胞基质，以后逐渐生成芽胞膜，此膜很厚，不易染色，对热力、干燥或消毒剂之抵抗力亦强，故能保护细菌以渡过不良环境。芽胞形成后，菌体失去生命，不久即与芽胞脱离；以后环境适合时，芽胞能再发育为细菌（繁殖体）。

芽胞之存在，在消毒灭菌时极为重要。

第五节 细菌菌落的形态

细菌在固体培养基上生长繁殖，聚集成堆，形成了肉眼可见的

集落，叫做菌落。菌落是由一个细菌連續进行二分裂繁殖而成，有时细菌接近菌落互相連接，成为一片。混合或接連生长之细菌菌落，可用划線接种法，分出单个菌落及純种。

菌落之大小、凸度、形态、堅度、结构、色澤等，各菌属不同，互相差异，在鉴别診断上有重要的意义。

一、菌落形态 可从以下几方面觀察：

- (一) 形状 圓形、絲形、根基形或不規則形等。
- (二) 表面 光滑、粗糙、中心凸起环形等。
- (三) 边緣 整齐、不整齐、弥散。
- (四) 高低 高起、扁平、凹入。
- (五) 透光度 透明、半透明、不透明等。
- (六) 粘液 湿潤、干燥、粘性等。
- (七) 色澤 許多细菌产生色素，但此等色素不能在单个细菌表現出来。菌落有紅色、綠色、黃色、白色等；大多细菌为无色。
- (八) 溶血 溶血、半溶血(綠色溶血)、不溶血等。
- (九) 大小 大小与细菌的种类有关，但也能受到培养基的性質与培养时的温度和時間所影响。

二、菌落分型

从表面觀察可分二型：

(一) 光滑型菌落 菌落表面光滑，边缘整齐，湿润，一般细菌菌落为光滑型。细菌有荚膜者，属光滑型，并呈粘液状，粘度甚大，如肺炎杆菌为粘液型。

(二) 粗糙型菌落 菌落表面粗糙不平，边缘不整齐，干燥；有少数细菌如結核杆菌，炭疽杆菌在正常情况下，菌落为粗糙型。

复习提綱

1. 细菌的形态可分那几种？各有什么特点？
2. 细菌的构造有那些？在鉴别上有何意义？
3. 芽胞是什么？有何重要性？
4. 什么叫做菌落？它有那些特性？

第三章 研究細菌的方法

細菌為極微小的生物，不能以肉眼觀察，須將其放大後方能看見，故必須用放大鏡，才能研究細菌的形態與構造等。

第一节 显微鏡及其應用

一、显微鏡之种类 普通所用的有三种：1)普通复式显微鏡；2)暗視野显微鏡；3)电子显微鏡。

(一) 普通复式显微鏡 光源為日光或灯光，其放大倍數為1000～2500倍，用于細菌與立克次體之檢查。应用此显微鏡時，物体之直徑不得小於可見光線波長(546微毫米)之二分之一，否則不能投影或見到。

(二) 暗視野显微鏡 以一特殊集光器代替普通显微鏡之集光器。觀察時可用強光照射，此集光器的中央部分為黑色，不透光，而邊緣處則能反射光線，使由下而上的光線從斜角度射進來。光線遇到物体後為之分散，因此物体發亮而背景為黑色，較在普通显微鏡下之影象為明顯。此法用于觀察螺旋體之形狀與運動。

(三) 电子显微鏡 其光源為電子，影象放大的方法，則采用磁性圈以代放大鏡；電子由頂部鎢絲管放出，經真空管向下通過磁圈(以代集光器)；其次通過標本，再其次又通過二道磁圈(物鏡與目鏡)；最後射影於真空管底部之螢光片上，可以用肉眼觀察或用照片攝影。此法主要用於觀察病毒之形狀。

二、显微鏡的构造 分机械部分与光学部分。

(一) 机械部分

鏡筒：在显微鏡前方，為一空心直立圓筒。光線可从此通過。

鏡柱：為弓形金屬柱，在鏡筒之後。

鏡頭回轉板：裝于鏡筒下端，為裝制接物鏡用。

載物台：鏡柱下端的平台，台上有推動器以移動標本片。

調節器：有粗細二種，司鏡筒的升降。

(二) 光學部分

接物鏡：由數片透鏡合成。有低倍、高倍及油鏡三種，上刻有號碼如 $10\times$ 、 $45\times$ 、 $97\times$ ，代表映大倍數。

接目鏡：也由數片透鏡合成，上刻有號碼，如 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 。

聚光器：由數個凸透鏡所組成，它把由反射鏡送上的光線集中到研究對象的平面上去。

光圈：裝在集光器下面，可自由放大、縮小，利用它能增強或減弱物体的照明度。

反光鏡：裝于鏡之最下方，有兩面一凹一平。用以采光，能把光線通過聚光器反射到接物鏡中去。

三、顯微鏡的使用法 細菌檢驗主要是用油鏡。

(一) 油鏡的用法 油鏡的放大倍數較高倍鏡更大，染色的細菌標本片都用它觀察。由於其透鏡直徑小，視野往往很暗，在標本片及鏡頭間加一滴折光系數與玻璃相同的油即可克服此缺點；因為這樣，通過聚光器而來的光線都能不被曲折分散，而直接射入接物鏡中。

使用油鏡時要特別小心。因為油鏡的焦距短，鏡頭須接近被檢驗的物体面上，稍不小心即可壓碎標本片，或更嚴重的損壞鏡頭。使用時，先在標本片上放一滴油，用粗調節器徐徐放下鏡筒，使油鏡浸入油中，幾乎與標本相接觸，然後用眼在接目鏡中觀察，並徐徐用粗調節器使鏡筒上升，直至看到模糊的物影，再用細調節器上、下調整至物影清晰。

(二) 使用油鏡應注意點 (1)先用低倍鏡覓得最亮之光源(注意反光鏡、聚光器、光圈)；(2)標本片必須全干後，始可加油；(3)徐徐升降鏡筒，不可急躁；(4)用完後，即用擦鏡紙揩干淨鏡頭上之油，若油已干，可用少許二甲苯(Xylol)擦淨之，隨即用干擦鏡紙揩去二甲苯，否則固定透鏡的膠質可被溶解，日久鏡片脫落；(5)避免強烈日光直接照射鏡頭；(6)用完後，將物鏡移成八字形，以免損壞鏡頭；(7)歸入鏡箱，放於干燥處，以免鏡頭受潮長霉。

第二节 細菌的顯微鏡檢查法

細菌的顯微鏡檢查，可分二種，一種為不染色標本檢查法即活菌檢查；一種為染色標本檢查法即固定標本檢查。

一、不染色標本的檢查 本方法主要觀察活細菌的活動力及若干其他特性。

(一) 懸滴檢查 懸滴法用以觀察細菌的活力，有的細菌在液体中因分子的互擊而產生顫動；有的細菌有真正運動，常從一個位置移動到另一個位置並改變其運動之方向。懸滴製備不僅能防止液体蒸發，並給以充分地區，使其能往來運動。

懸滴標本制備法

1. 用白金耳取生理鹽水一小滴，置潔淨無油之蓋玻片上。
2. 用無菌操作法（白金耳火燄燒灼滅菌，拔塞時管口之滅菌等）。自固体培养物中取菌少許，在鹽水滴中研磨成均勻懸液。
3. 取一潔淨凹玻片，在凹窩周圍塗一薄層凡士林，將凹玻片反置於蓋玻片上，使菌液位於凹窩中央，蓋玻片被粘於凹窩周圍之凡士林上。
4. 迅速反轉，即成懸滴製備。

5. 觀察時，先將顯微鏡之光圈縮小，用低倍鏡覓得懸滴之邊緣，然後換用高倍鏡，適當放大光圈，用細調節器調節至看到細菌。

(二) 暗視野映光檢查 本法最適用於梅毒螺旋體的檢查，因它不易染色，且經過固定後其特殊形態每多改變（此法通常很少做，因檢驗梅毒的實驗診斷，主要依靠血清學試驗，此处从略）。

二、染色標本的檢查 細菌在未染色時，菌體無色比較透明，內部構造均勻，不容易看出形態，因此，必須藉助染色以觀察其形態與構造，染色法都用固定的標本，故為死的細菌而非活菌。

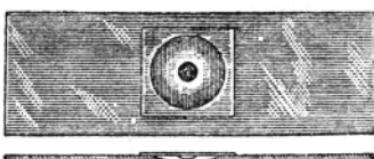


圖 5 懸滴法(上：正面圖；下：側面圖)

染色标本制作法

1. 标本的制备：取一張洁淨玻片，在玻片中央加一小滴盐水，如水滴加于玻片上成为球形，不能均匀分开，表示玻片上有油，必須重新擦净后再加。用白金耳在火焰上灭菌后待冷，从固体培养基上取菌少許，和水混匀，涂布愈薄愈好，但面积不要过大，避免浪费过多染料。若菌为液体培养，可无需加水，直接用灭菌的白金耳取数环放在玻片中央即成。

2. 标本的干燥：制成的涂片置空气中待其自然干燥，或放置离酒精灯或煤气灯火焰半尺高处略烘使干。但切勿貪速，紧靠火焰，以致标本烤枯，不堪檢視。

3. 标本的固定：将干燥后的玻片进行固定。固定目的(1)杀死微生物；(2)使菌体蛋白质凝固在玻片上，在染色时不会被染液或水冲洗掉；(3)使涂片容易染上顏色，因死的原生質比活的原生質易于着色。

固定的方法常用高温，使标本面向上，用大拇指和食指拿住玻片，在火焰上比較迅速地来回通过3~4次；以手触及玻片，稍感到熨手时，标本就已經固定好了。如須研究細菌的结构时，应改用化学固定法，最常用的化学固定剂有酒精、甲醇、丙酮、甲醛液、升汞水溶液、醋酸、混合固定剂等。用本法固定的标本应以水冲洗，方可染色。

4. 标本的染色：經固定后的标本即可进行染色。标本片放在水平的染色架上。滴加染色液于标本上，染料應該复盖满整个标本面。染色的时间长短不一，視标本和染料的性质而定。有时需加热，以促进色素染着于所欲檢視的标本。

5. 水洗和鏡檢：染色經一定的时间后，用細小的水流把染料洗去，至冲下的水不呈色素为度。此时，只是把多余的染料从玻片上冲去，被細菌所吸附着的染料是不会洗去的，水洗毕，将玻片斜立，在空气中任其自干，或将标本片輕压在两层吸水紙間，充分吸干，但注意切不可摩擦；也可在火焰高处略烘而干燥之，最后用油鏡鏡檢。

各种染料在 26°C 下溶于水及酒精内成为饱和液所需之量

染 料 名 称	溶于 100 毫升水内 之重量(克)	溶于 100 毫升 95% 酒精内之重量(克)
結晶紫或龙胆紫	1.68	13.87
美 紫	2.93	15.21
美 藍	3.55	1.48
伊 紅	4.20	2.18
中 性 紅	5.64	2.45
硷 性 复 紅	0.36	8.16
沙 黃	5.45	3.41
甲 苯 胺 藥	3.82	0.87

第三节 細菌的染色檢查法

一、染料 染料为煤胶产物(苯胺)有酸性及硷性二种，細菌染色多用硷性染色，可能因細菌体内蛋白质为酸性，故与硷性染料的亲和力大。

(一) 常用的一般染料 硒基性复紅、美藍、沙黃、龙胆紫或結晶紫。染料溶解在水中或酒精中制成液体。

(二) 脱色剂 如有两种細菌，一种对某种染料亲和力大，一种亲和力小，可用脱色剂将亲和力小的細菌的顏色脫去，如此可区别两种細菌。脱色常用甲醇、乙醇、丙酮及酸类。

(三) 媒染剂 媒染剂可增加与促进細胞与染料間的亲和力，并能补助固定作用。使用媒染剂，可在固定以后或在固定时，或加入染液中，亦可在染色后用。媒染的方法，可用加热、硷、金属盐或碘等。

媒染剂可固定色素，使細胞与染料結合得更牢固，增加細胞与染料間的作用力，常用的媒染剂有碘、鞣酸等。

二、染色法 可分为三类，简单染色法，鉴别染色法及特殊染

色法：

(一) 简单染色法 此法仅能显示细菌之形态，而不能显示特别构造如荚膜、芽胞、鞭毛等。常用者为结晶紫、硷性复红与美蓝，经染色后一般细菌着色均匀。

(二) 鉴别染色法

1. 革兰氏染色法：此法之步骤为先用龙胆紫或结晶紫染色，次以碘溶液作为媒染剂，后以酒精脱色，末以沙黄或稀释复红复染。染后，凡细菌能为酒精脱色者为红色，称为革兰氏阴性；不能退色者为紫色，称为革兰氏阳性。以此法能将所有细菌分为二大类，此两类细菌除染色性质不同外，在对化学疗剂之感受性亦有不同。

革兰氏染色之原理至今尚未完全明了，有谓革兰氏阳性细菌较为酸性，故与硷性染料之结合较牢；再者此类细菌含有多量核酸镁盐能吸收染料与碘综合物。如将核酸镁盐设法除去，则革兰氏阳性即为红色，而革兰氏阴性细菌无此物质存在。

2. 抗酸性染色法：结核菌及其他分枝状杆菌，不易染色，但经设法着色后，不易被酸所脱色，谓之抗酸性细菌。使用石炭酸复红，加热染色，随用盐酸酒精脱色，末用美蓝复染，抗酸性菌着红色，其余皆为蓝色。

(三) 特殊染色法 细菌的特殊构造如荚膜、鞭毛或芽胞，不易被普通颜料所着色，须用特殊染色法。螺旋体较细菌难于染色，常以瑞忒或姬姆萨氏染色法染色，或用银浸润法即冯泰勒氏染色法，系由硝酸银处理，银质沉着于螺旋体上，使之粗大清晰可见。

三、染色液的配制及染色方法

(一) 简单染色法：

1. 呂氏美蓝染色法。

(1) 染液：

- | | |
|--|----------|
| 1) 美蓝酒精饱和溶液(约 100 毫升 95% 酒精内加美
蓝 2 克) | 30.0 毫升 |
| 2) 10% 氢氧化钾溶液 | 0.1 毫升 |
| 3) 蒸馏水 | 100.0 毫升 |

将以上各液混合，摇匀即成。

(2) 染法：先将涂片在火焰上通过三次固定后，待冷，滴加染液于其上，经3~5分钟，用水冲洗，待自干或用吸墨水纸印干后，镜检。

(3) 结果：菌体呈蓝色。

2. 稀释石炭酸复红染色法：

(1) 染液：

碱性复红酒精饱和溶液(约100毫升95%酒精内加

复红10克) 10毫升

5%石炭酸水溶液 100毫升

上液即为斐耳-纳耳森氏石炭酸复红液，如用蒸馏水1:10倍稀释，即成稀释石炭酸复红液。

(2) 染法：同上。

(3) 结果：菌体呈浅红色。

(二) 鉴别染色法：

1. 革兰氏染色法(胡革氏改良法)：

(1) 染液：

1) 结晶紫溶液：

结晶紫酒精饱和溶液(2克结晶紫溶于20毫升

95%酒精内) 20毫升

1%草酸铵水溶液 80毫升

两液配制后混合即成。

2) 卢戈氏碘液：

碘 1克

碘化钾 2克

蒸馏水 300毫升

3) 脱色剂：95%酒精。

4) 复染剂：沙黄或稀释石炭酸复红液。

(2) 染法：按常法固定标本。加结晶紫溶液，1分钟后水洗。再加卢戈氏碘液，作用1分钟后水洗；以95%酒精退色，直至不见紫色脱落为止(约半分钟)。最后用复染液染1/2分钟，水洗、吸干，镜检。

(3) 结果：革兰氏染色法在鉴别染色法中占极重要的地位。