

РЕАГЕНТ

“ПОГОДЖЕНО”

Директор ДП «Український
медичний центр сертифікації»
Лебідєв М.С.
від 31.01.2017 р.

Технічна документація перевірена
Державним підприємством «Український
медичний центр сертифікації»:
Сертифікат перевірки технічної документації
№ UA.TR.039.264-17
від 31.01.2017 р.



ДВ	057
31.01.2017	

ТУ У 21.2-13433137-057:2013

IVD

REF

МБ 18.1-07

Інструкція
до набору реагентів для мікроскопічного дослідження мазків
«Мікроскопія мазків-40»

Призначення

Набір призначений для забарвлення мікроорганізмів та їх капсул з метою диференціювання. Набір застосовують у мікробіологічній діагностиці інфекційних захворювань, в науково-дослідницькій практиці (систематиці, описі морфологічних властивостей). 40 проб.

Комплектність

Номер	Скорочена назва	Склад набору
МБ 18.1-07	«Мікроскопія мазків-40»	Карболовий фуксин Ціля: 1 x 20 мл; Олія імерсійна: 1 x 3 мл; Карболовий генціанвіолет: 1 x 20 мл; Фарба за Ребігером: 1 x 20 мл; Фарба за Романовським-Гімза: 1 x 10 мл; Фарба за Міхіним: 1 x 10 мл; Сафранін: 1 x 2 г; Фарба за Муромцевим: 1 x 10 мл; Калій йодистий: 2 x 1,0 г; Йод кристалічний: 2 x 0,5 г

Термін придатності та умови зберігання нерозпакованого набору

Гарантійний термін придатності з дати виготовлення 12 місяців при температурі 15-30 °С.

Обладнання та додаткові реагенти

1 Мірні циліндри ємністю 100 мл та 250 мл; 2 Мірна колба на 100 мл; 2 Предметні скельця; 3 Шліфоване скло (або бактерійна петля); 4 Пінцет; 5 Пальник або спиртівка скляна лабораторна; 6 Штативи (лотки) для сушки незабарвлених мазків; 7 Підставка («рельси») для фіксації та забарвлення; 8 Фільтрувальний папір; 9 Піпетка або скляна паличка; 10 Секундомір механічний; 11 Мікроскоп бінокулярний оптичний; 12 Розчин знежирювача для предметних скелець – додатковий реагент, до складу набору не входить; 13 Етиловий спирт 96 %, формалін – додаткові реагенти, до складу набору не входить.

Приготування та збереження робочих реагентів

1 Карболовий генціанвіолет, фарба Ребігера, фарба Міхіна, фарба Муромцева, олія імерсійна – придатні до застосування. Реагенти стабільні при зберіганні в темному місці при температурі 15-30 °С.

2 Водний розчин фуксину Ціля (фуксин Пфайфера). Змішують 1 частину карболового фуксину Ціля з 9 частинами дистильованої води (співвідношення 1:9). Розчин готують перед проведенням забарвлення. Стабільний до 12 годин при кімнатній температурі.

3 Водний розчин фарби Романовського-Гімза. Розводять фарбу Романовського-Гімза дистильованою водою у співвідношенні (1:9). Розчин готують безпосередньо перед фарбуванням.

4 Фарба для забарвлення капсул за методом Ольта (2 % водний розчин сафраніну). Кількісно переносять наважку сафраніну в мірну колбу об'ємом 100 мл. Розчинюють наважку в 40–50 мл дистильованої води та доводять до мітки дистильованою водою. Розчин готують перед фарбуванням.

5 Розчин Люголя. В 10 мл дистильованої води розчиняють 1,0 г йодистого калію і додають 0,5 г кристалічного йоду. Розчин витримують герметично закритим в термостаті при температурі 37 - 45 °С до повного розчинення йоду, після чого додають 140 мл дистильованої води і перемішують. Розчин зберігають в тарі з темного скла, стабільний до 3 місяців в темному місці.

Застережні заходи

- Використовують тест-набір тільки для діагностики in vitro.
- Генціанвіолет, карболовий фуксин Ціля та фарба Романовського-Гімза – отруйні речовини. Фарба Ребігера – їдка речовина. Йод кристалічний, пари розчину Люголю – їдкі летючі речовини, не вдихати пару.

1 Фарбування мазків за методом Грама

Принцип методу

Диференціювання на групи обґрунтовується хімічними та фізичними властивостями клітинної оболонки бактерій. При фарбуванні за Грамом на бактерії впливають двома фарбниками, основним (барвник трифенілметанової групи) та додатковим (фуксин Ціля). Грам-позитивні (Грама (+)) мікроорганізми набувають синьо-фіолетове (темно-синє) забарвлення в наслідок міцного з'єднання з генціанвіолетом і йодом, яке не обезбарвлюється під дією спирта. Грам-негативні (Грама (-)) мікроорганізми утворюють з основним барвником сполуки, які легко руйнуються, тому під дією спирту вони обезбарвлюються. При додатковому фарбуванні карболовим фуксином Ціля Грам (-) мікроорганізми набувають рожево-червоне, червоне або коричневе забарвлення.

Методика проведення фарбування

№	Етап	Час	Результат		Мета етапу
			Грам(+)	Грам(-)	
1	Фіксують мазок	до 2 сек	-	-	Підготовчий етап. Фіксація
2	Карболовий генціанвіолет	1-2 хв	синє	синє	Забарвлення Грам (+) та Грам (-) бактерій
3	Розчин Люголя	1-2 хв	синє	синє	Розчин Люголя формує з генціанвіолетом забарвлений комплекс, який локалізується на цитоплазматичній мембрані
4	Етиловий спирт (з наступним ретельним промиванням водою)	20 сек	синє	без барвне	Знебарвлення Грам (-) бактерій
5	Водний розчин фуксину Ціля	2-3 хв	синє	червоне	Дофарбовування. Рекомендується більш тривалий час, тому що після знебарвлення спиртом бактеріальна клітинна стінка потребує довшого часу фарбування
6	Мікроскопують	-	-	-	Дослідження. Інтерпретація результатів

2 Фарбування капсул

Принцип методу

У деяких видів бактерій (видова ознака) зовні навколо тіла клітини утворюється капсула, яка являє собою слизову речовину, що містить муцин і полісахариди. У зв'язку з особливостями хімічної структури капсула слабо зафарбовується. Залежно від методу фарбування вона набуває іншого кольору, ніж протоплазма мікробної клітини, і це дозволяє встановити її наявність. Фарбування капсул має практичне значення при лабораторній діагностиці деяких захворювань, збудники яких утворюють капсули. У патогенних видів мікробів капсула утворюється, як правило, в інфікованому організмі. Для дослідження капсулоутворюючих бактерій з досліджуваного матеріалу (шматочки органів, кров) готують мазки-відбитки. Методів фарбування капсул є декілька: Ребігера, Романовського-Гімзи, Міхіна, Муромцева, Ольта та ін.

2.1 Фарбування за методом Ребігера.

Мазок не фіксують. Забарвлюють нефіксовані мазки фарбою Ребігера протягом 15-20 секунд, швидко промивають водою і висушують фільтрувальним папером.

2.2 Фарбування за методом Романовського-Гімза

Фіксований препарат (шляхом проведення скла над полум'ям пальника) кладуть мазком донизу, під мазок підливають водний розчин фарби Романовського-Гімза та забарвлюють 40-50 хв, обережно промивають водою та просушують.

2.3 Фарбування за методом Міхіна

Фіксований препарат (шляхом проведення скла над полум'ям пальника) забарвлюють фарбою Міхіна протягом 6-7 хв з легким підігріванням над полум'ям до появи пари. Обережно промивають водою і швидко просушують фільтрувальним папером.

2.4 Фарбування за методом Муромцева

Мазок фіксують 10 хв в суміші спирту з формаліном у співвідношенні 4:1, забарвлюють 30 секунд фарбою Муромцева, змивають та висушують.

2.5 Фарбування за методом Ольта

Забарвлення капсул за методом Ольта. Мазки забарвлюють 2 % водним розчином сафраніну протягом 1-3 хв і швидко змивають водою.

Інтерпретація результатів

№	Метод фарбування	Забарвлення бактерії	Забарвлення капсули
1	Забарвлення мазків за методом Грама	Г ⁺ - синьо-фіолетове; Г ⁻ - червоне	-
2	Забарвлення мазків за Ребігером	темно-фіолетове	червоно-фіолетове
3	Забарвлення мазків за Романовским-Гимза	синє	рожеве
4	Забарвлення мазків за Міхіним	синє	рожеве
5	Забарвлення мазків за Муромцевим	темно-синє	червоне
6	Забарвлення мазків за Ольтом	темно-червоне	жовте

Утилізація відходів

Утилізація відходів повинна здійснюватися у відповідності з правилами безпеки Вашого підприємства.

Дата останньої перевірки інструкції інструкції з використання 08.01.2026 р.

З питань контролю якості та придбання реактивів звертатися за адресою:



ПрАТ «РЕАГЕНТ», 49019, Україна, м. Дніпро, вул. Ударників, 27

Телефон (0562)-33-72-18; (056)-372-35-54; (050)-452-20-76(85); (067)-638-11-37

Факс (056) 372-35-56; E-mail: reagent@ukr.net; reagenttn@ukr.net