



“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 03.1-07

Інструкція до набору реагентів для забарвлення мікроорганізмів за Грамом з сафраніном «Фарби за Грамом з сафраніном-400»

Призначення

Набір призначений для забарвлення мікроорганізмів з метою їх диференціювання на дві групи: Грам-позитивні і Грам-негативні. Набір застосовують у мікробіологічній діагностиці інфекційних захворювань, в науково-дослідницькій практиці (систематиці, опис морфологічних властивостей). Набір розраховано на проведення 400 проб при використанні 0,05 мл розчинів на 1 пробу.

Комплектність

Номер за каталогом	Скорочена назва	Склад набору
МБ 03.1-07	«Фарби за Грамом з сафраніном з-400»	Карболовий генціанвіолет: 1 x 20 мл; Розчин Люголя: 1 x 20 мл; Розчин сафраніну 1 x 20 мл; Олія імерсійна: 1 x 5 мл
МБ 03.2-07	«Фарби за Грамом з сафраніном з-1000»	Карболовий генціанвіолет: 1 x 50 мл; Розчин Люголя: 1 x 50 мл; Розчин сафраніну 1 x 50 мл; Олія імерсійна: 1 x 5 мл
МБ 03.3-07	«Розчин Люголя-1000»	Розчин Люголя: 1 x 1000 мл
МБ 03.4-07	«Фарби за Грамом з сафраніном з-2000»	Карболовий генціанвіолет: 1 x 100 мл; Розчин Люголя: 1 x 100 мл; Розчин сафраніну 1 x 100 мл; Олія імерсійна: 1 x 10 мл
МБ 03.5-07	«Розчин сафраніну-1000»	Розчин сафраніну 1 x 1000 мл

Термін придатності та умови зберігання нерозпакованого набору

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

Склад набору

1 Карболовий генціанвіолет	- 1 флакон з (20 ± 0,4) мл
2 Розчин Люголя	- 1 флакон з (20 ± 0,4) мл
3 Розчин сафраніну	- 1 флакон з (20 ± 0,4) мл
4 Олія імерсійна	- 1 флакон з (5,0 ± 0,1) мл

Обладнання та додаткові реагенти

- 1 Предметні скельця. 2 Шліфоване скло (або бактерійна петля – в залежності від типу біоматеріалу). 3 Пінцет для фіксації скла з препаратом. 4 Пальник або спиртівка скляна лабораторна. 5 Папір фільтрувальний. 6 Піпетка або скляна паличка для видалення бульбашок повітря. 7 Секундомір механічний. 8 Мікроскоп бінокулярний оптичний.
- 9 Розчин знежирювача для предметних скелець – додатковий реагент, до складу набору не входить.
- 10 Етиловий спирт 96 % – додатковий реагент для прополіскування, до складу набору не входить.

Приготування і збереження робочих реагентів

- 1 Карболовий генціанвіолет, розчин сафраніну, розчин Люголя, олія імерсійна – придатні до застосування. Реагенти стабільні при зберіганні в темному місці при температурі 15-30 °С.

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 (розчин сафраніну). Грам-позитивні (Грам (+)) мікроорганізми набувають синьо-фіолетове (темно-синє) забарвлення в наслідок міцного з'єднання з генціанвіолетом і йодом, яке не обезбарвлюється під дією спирта. Грам-негативні (Грам (-)) мікроорганізми утворюють з основним барвником сполуки, які легко руйнуються, тому під дією спирту вони обезбарвлюються. При додатковому фарбуванні розчином сафраніну Грам (-) мікроорганізми набувають рожево-червоне, червоне або коричневе забарвлення.

Приготування і збереження робочих реагентів

Карболовий генціанвіолет, розчин Люголя, розчин сафраніну, олія імерсійна – придатні до застосування. Реагенти стабільні при зберіганні в темному місці при температурі 15-30 °С.

Методика проведення фарбування

№	Етап	Тривалість	Результат		Мета етапу
			Грам (+)	Грам (-)	
1	Фіксують мазок над верхньою частиною полум'я пальника	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 абарвлений комплекс, який окалізується на цитоплазматичній мбрані
4	Етиловий спирт (з наступним промиванням водою)	20 сек	синє	безбарвне	Знебарвлення Грам (-) бактерій
5	Розчин сафраніну	2-3 хв	синє	червоне (рожеве)	Дофарбовування. Рекомендується триваліший час, тому що після дії спирту бактеріальна клітинна стінка довше забарвлюється
6	Мікроскопують з імерсійною системою	-	-	-	Дослідження. Інтерпретація результатів

Інтерпретація результатів

При суворому дотриманні режиму забарвлення грампозитивні бактерії набувають синьо-фіолетове (темно-синє) забарвлення, грамнегативні бактерії - рожево-червоне, червоне або коричневе забарвлення.

Застережні заходи

1 Використовують тест-набір тільки для діагностики *in vitro*.

2 Карболовий генціанвіолет, розчин сафраніну – токсичні, розчин Люголю – подразнююча речовина. При випадковому потраплянні всередину – промити шлунок; при потраплянні в очі – промити проточною водою; при потраплянні на шкіру – вимити теплою водою з миючим засобом. У випадку загрози пошкодження здоров'я має надаватися медична допомога.

3 Необхідно дотримуватись правил техніки безпеки при роботі з біологічним матеріалом, зразки крові розглядати як потенційно інфіковані (ВІЛ, віруси гепатиту В, С).

Утилізація відходів

Утилізація відходів повинна здійснюватися у відповідності з правилами безпеки Вашої установи.

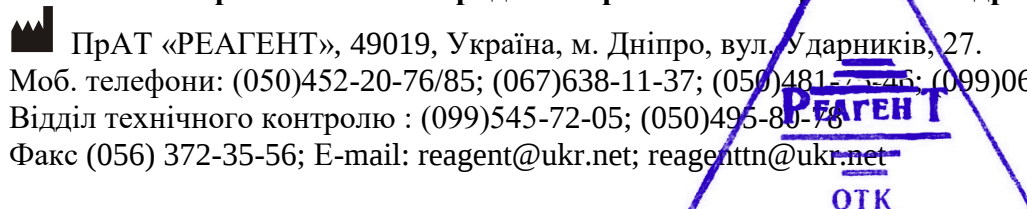
Літературні посилання

1. Gram HC Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten // *Fortschritte der Medizin*. — Т. 2. — (1884) С. 185-89.

2. Нормативні директивні правові документи. Клінічна лабораторна діагностика. Київ. 2003. МВЦ «Медінформ».

Дата останнього перегляду інструкції з використання 08.09.2020 р.

З питань контролю якості та придбання реактивів звертатися за адресою:

 ПрАТ «РЕАГЕНТ», 49019, Україна, м. Дніпро, вул. Ударників, 27.
Моб. телефони: (050)452-20-76/85; (067)638-11-37; (050)481-77-46; (099)065-32-59 .
Відділ технічного контролю : (099)545-72-05; (050)495-80-78
Факс (056) 372-35-56; E-mail: reagent@ukr.net; reagenttn@ukr.net