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 02.4-07

Інструкція
до набору реагентів для забарвлення мікроорганізмів за Грамом з фуксином Ціля
«Фарби за Грамом з фуксином Ціля-2000»

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 2000 проб при використанні 0,05 мл розчинів на 1 пробу.

Комплектність

Номер за каталогом	Скорочена назва	Склад набору
МБ 02.1-07	«Фарби за Грамом з фуксином Ціля-400»	Карболовий генціанвіолет: 1 х 20 мл; Розчин Люголя: 1 х 20 мл; Карболовий фуксин Ціля 1 х 2 мл; Олія імерсійна: 1 х 5 мл
МБ 02.2-07	«Фарби за Грамом з фуксином Ціля-500»	Карболовий генціанвіолет: 1 х 25 мл; Розчин Люголя: 1 х 25 мл; Карболовий фуксин Ціля 1 х 2,5 мл; Олія імерсійна: 1 х 5 мл
МБ 02.3-07	«Фарби за Грамом з фуксином Ціля-1000»	Карболовий генціанвіолет: 1 х 50 мл; Розчин Люголя: 1 х 50 мл; Карболовий фуксин Ціля 1 х 5 мл; Олія імерсійна: 1 х 5 мл
МБ 02.4-07	**«Фарби за Грамом з фуксином Ціля-2000»**	**Карболовий генціанвіолет: 1 х 100 мл; Розчин Люголя: 1 х 100 мл; Карболовий фуксин Ціля 1 х 10 мл; Олія імерсійна: 1 х 10 мл**
МБ 02.5-07	«Карболовий фуксин Ціля-1000»	Карболовий фуксин Ціля: 1 х 1000 мл

Термін придатності та умови зберігання нерозпакованого набору

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

Склад набору

1 Карболовий генціанвіолет - 1 флакон з (100 ± 2) мл
2 Розчин Люголя - 1 флакон з (100 ± 2) мл
3 Карболовий фуксин Ціля - 1 флакон з (10,0 ± 0,2) мл
4 Олія імерсійна - 1 флакон з (10,0 ± 0,2) мл

Обладнання та додаткові реагенти

1 Мірний циліндр ємністю 100 мл, для приготування розчину Пфайфера.
2 Предметні скельця.
3 Шліфоване скло (або бактерійна петля – в залежності від типу біоматеріалу).
4 Пінцет для фіксації скла з препаратом.
5 Пальник або спиртівка скляна лабораторна.
6 Фільтрувальний папір.
7 Піпетка або скляна паличка для видалення бульбашок повітря.
8 Секундомір механічний.
9 Мікроскоп бінокулярний оптичний.
10 Розчин знежирювача для предметних скелець – додатковий реагент, до складу набору не входить.
11 Етиловий спирт 96 % – додатковий реагент для прополіскування, до складу набору не входить.

Приготування і збереження робочих реагентів

1 Карболовий генціанвіолет, розчин Люголя, 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 6 годин при кімнатній температурі.

РЕАГЕНТ ОТК

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 (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 карболовим фуксином Ціля Грам (-) мікроорганізми набувають рожево-червоне, червоне або коричневе забарвлення.

Методика проведення фарбування

№	Етап	Тривалість	Результат забарвлення		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 забарвлений комплекс, локалізований на цитоплазматичній мембрані
4	Етиловий спирт (з наступним промиванням водою)	20 сек	синє	безбарвне	Знебарвлення Грам (-) бактерій
5	Водний розчин фуксину Ціля	2-3 хв	синє	червоне	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 фарбування грампозитивні бактерії набувають синьо-фіолетове (темно-синє) забарвленя, грамнегативні бактерії – рожево-червоне, червоне або коричневе забарвлення.

Застережні заходи

1 Використовують тест-набір тільки для діагностики in vitro.

2 Карболовий генціанвіолет, карболовий фуксин Ціля – токсичні, розчин Люголю – подразнююча речовини. 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. — T. 2. — (1884) C. 185-89.

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

Дата останнього перегляду 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.
Моб. телефони: (050)452-20-76/85; (067)638-11-37; (050)481-75-46; (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