

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

От _____ 200__ г.

№ _____

«Утверждаю»

Генеральный директор

ООО «НПО «АБРИС+»



В.М. Марковский

2008 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для окраски по Граму

«ДИАХИМ-НАБОР ДЛЯ ОКРАСКИ ПО ГРАМУ»

1. Назначение

Набор реагентов для окраски по Граму предназначен для окраски микроорганизмов и выявления принадлежности бактерий к грамположительным или к грамотрицательным группам.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип метода

Принцип метода окраски по Граму основан на разнице в химическом составе клеточной стенки прокариотических микроорганизмов. Грамположительные микроорганизмы способны удерживать комплекс красителей триметилфенолового ряда с йодом, в то время как грамотрицательные микроорганизмы, имеющие другую химическую структуру клеточной стенки, не обладают способностью удерживать комплекс красителей триметилфенолового ряда с йодом.

2.2. Состав набора:

В состав набора входят следующие компоненты:

1. Реагент 1 (Карболовый раствор генцианвиолета) - 1 флакон 100 мл
2. Реагент 2 (Раствор Люголя) - 1 флакон 100 мл
3. Реагент 3 (Фуксин Циля) - 1 флакон 100 мл.

Набор обеспечивает 100 исследований

3. Меры предосторожности.

Меры предосторожности – соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР», Москва, 1981г.

При работе следует одевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В, или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

4. Оборудование.

- | | |
|---|--|
| - термостат; | - секундомер; |
| - микроскоп; | - pH-метр; |
| - цилиндры мерные вместимостью 25-500мл; | - пробирки хим.; |
| - стаканчики химические; | - перчатки резиновые. |
| - чашки Петри или емкость Лавран-Меснила (для окраски мазков) | |
| - стеклянные палочки; | - воронка; |
| - пипетки; | - стекла предметные; |
| - бумага фильтровальная, | - колба стеклянная вместимостью 100мл. |

Подготовка к анализу.

Предметное стекло перед исследованием должно быть тщательно вымыто и обезжирено смесью для обезжиривания предметных стекол. Для фиксации мазков применяют метиловый спирт, ацетон, смесь Никифорова, жидкость Карнуа. Предметное стекло с высушенным мазком погружают в склянку с фиксирующим веществом на 10–15 минут и затем высушивают на воздухе.

Либо полученные мазки тщательно высушивают и затем фиксируют сухим жаром. Фиксация достигается посредством несильного нагревания (примерно до 70°C) предметного стекла, которое для этого трижды проводят над пламенем спиртовки мазком вверх.



Приготовление рабочего раствора фуксина Циля (реагент 3): Перед использованием фуксин Циля разводят в 10 раз дистиллированной водой. (Из расчета – к 1 мл фуксина добавляют 9 мл дистиллированной воды).

Ход реакции:

Зафиксировать мазки в 10% спирт - формалиновой смеси либо нагреванием над пламенем горелки	10-15 мин смесь (либо 2-3 раза над пламенем)	
Поместить на мазок полоску фильтровальной бумаги и нанести на фиксированный мазок несколько капель карболового раствора генцианвиолета	2-3 мин	
Слить краску, удалить фильтровальную бумагу и сполоснуть в проточной воде	30 сек	
Поместить мазок в раствор Люголя	1-2 мин	
Смыть проточной водой	10сек	
Дифференцировать 96 спиртом, наливая и сливая его, пока мазок не обесцветится	30-60 сек	
Промыть стекло в проточной или дистиллированной воде	1-2 мин	
Докрасить мазок рабочим раствором Циля	1-3 мин	
Промыть стекла в проточной воде	1 мин	
Высушить.		

Результаты окраски:

Грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый цвет, а грамотрицательные - розово-красный.



Условия хранения и эксплуатации.

Хранение реагентов при $t^{\circ} 18-25^{\circ} \text{C}$ в темном месте.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора «ДИАХИМ-Набор для окраски по Граму», следует обращаться в ООО «НПФ Абрис+» по адресу: 196135, г. Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, С.Петербург, пр. Гагарина, 65; тел./факс: (812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>. и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А. Тел: (495) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по производству

ООО НПФ «АБРИС+»

«СОГЛАСОВАНО»



С.Н. Горностаев

