

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Департамента государственного
контроля лекарственных средств и медицинской
техники Минздрава РФ


В.Е.Аквмочкин
« 31 » _____ 2002 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Комплекта реагентов для
окраски микроорганизмов по методу Грама

(Микро-ГРАМ-НИЦФ)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией
по лабораторным реагентам Комитета по новой
медицинской технике Минздрава РФ

(протокол № 1 от 28 января 2002.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект - реагентов Микро-ГРАМ-НИЦФ предназначен для
дифференциально-диагностической окраски микроорганизмов путем
последовательной обработки мазка, взятого из биологического материала
человека (гной, мокрота, моча и др.), компонентами комплекта.

Один комплект рассчитан на проведение окраски 100 мазков.

Инструкция составлена генеральным директором ЗАО НИЦФ
Е.Г.Плинером и зав.лабораторией химиотерапии и экспериментальной
микробиологии НИТИАФ докт.мед.наук, проф.М.С.Поляком

ПРИНЦИП МЕТОДА

Предложенный Г.Х.И.Грамом метод дифференциации микробных клеток основан на различии в химическом составе их клеточных оболочек. Сущность метода заключается в том, что клетки одних видов микроорганизмов образуют нерастворимое в спирте соединение йода с основным красителем, а у других видов микроорганизмов это соединение является временным и после обработки спиртом растворяется.

Фиксированный мазок микроорганизмов окрашивается красителем генциановым фиолетовым, краситель фиксируется раствором Люголя, мазок обесцвечивается этанолом и дополнительно прокрашивается красителем фуксином или сафранином. Те микроорганизмы, которые способны фиксировать первый краситель (генциановый фиолетовый), относятся к грамположительным, те же, которые окрашиваются дополнительно (фуксином или сафранином) – к грамотрицательным.

СОСТАВ

В состав комплекта Микро-ГРАМ-НИЦФ входят следующие компоненты:

- генциановый фиолетовый краболовый, готов к применению – 1 флакон (100 мл);
- фуксин основной краболовый концентрированный — 1 флакон (10 мл);

- раствор Люголя, готов к применению — 1 флакон (100 мл).

ОБРАЗЦЫ

- Биологический материал человека (гной, мокрота, моча и др.).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения комплекта — класс 1.

Комплект реагентов Микро-ГРАМ-НИЦФ предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты комплекта в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с анализируемым материалом необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологического материала человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать возбудители вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Микроскоп с иммерсионной системой;
- секундомер;
- стекла предметные;
- цилиндр мерный вместимостью 10 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 10-15 мл;

- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 1,0 мл;
- петля бактериологическая;
- горелка (спиртовка);
- перчатки резиновые или пластиковые;
- спирт этиловый ректификованный 96°;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Приготовление рабочего раствора фуксина

Внести в пробирку вместимостью 15 мл 1,0 мл фуксина основного карболового концентрированного (раствор фуксина ЦИЛЯ), добавить 9,0 мл дистиллированной воды и перемешать.

Полученный рабочий раствор фуксина (раствор фуксина Пфейфера) можно хранить при комнатной температуре (+18 – 25°С) не более 24 ч.

Приготовление мазков

На обезжиренное предметное стекло в каплю водопроводной воды внести бактериологической петлей небольшую часть материала с посева (чашка Петри или пробирка) анализируемого микробного материала и распределить материал в капле воды равномерно. Подсушить мазок на воздухе при комнатной температуре, предварительно обозначив с обратной

стороны предметного стекла границы мазка с помощью маркера. Фиксировать мазок в верхней трети пламени горелки (спиртовки) в течение 5 сек.

ПРОВЕДЕНИЕ ОКРАСКИ

На фиксированный мазок наложить кусочек фильтровальной бумаги, на который налить избыток генцианового фиолетового карболового и выдержать при комнатной температуре ($+18 - 25^{\circ}\text{C}$) в течение 1 – 2 мин. Снять бумагу, слить краску и, не промывая мазок водой, налить на мазок 0,7 – 1,0 мл раствора Люголя и выдержать мазок при комнатной температуре в течение 1 – 2 мин. Слить раствор Люголя и, не промывая, погрузить стекло с мазком в стакан со спиртом этиловым 96°, покачивая стекло до тех пор, пока с мазка не перестанут отходить струйки краски (не более 30 сек). Извлечь стекло с мазком из спирта, ополоснуть мазок дистиллированной водой, залить поверхность мазка раствором фуксина Пфейфера и выдержать мазок при комнатной температуре в течение 30 – 60 сек. Слить краску со стекла, промыть мазок дистиллированной водой, высушить стекло с помощью фильтровальной бумаги или естественной сушкой в наклонном положении при комнатной температуре и провести микроскопию с использованием иммерсионной систем при увеличении X (900 – 1000). Грамположительные

микроорганизмы окрашиваются в фиолетовый или фиолетовый с синим оттенком цвет, грамотрицательные микроорганизмы — в красный цвет.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Комплект реагентов Микро-ГРАМ-НИЦФ следует хранить при комнатной температуре ($+18 - 25^{\circ}\text{C}$) в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности.

Срок годности комплекта — 12 мес.

Рабочий раствор фуксина основного (раствор фуксина Пфейфера) можно хранить при комнатной температуре не более 24 ч.

Генциановый фиолетовый и раствор Люголя после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре не более 6 мес.

Фуксин основной концентрированный (раствор фуксина ЦИЛЯ) после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре в течение всего срока годности комплекта.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкций по применению комплекта.

По вопросам, касающимся качества комплекта Микро-ГРАМ-НИЦФ, следует обращаться в ЗАО «НИЦФ» по адресу:

198020 Санкт-Петербург, Рижский пр., 41 к. 310

тел/факс: (812) 251-39-20, 251-88-14, 327-55-81

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ^{ФГУ} "НЦ ЭСМП"

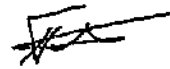
Минздрава РФ по адресу:

117246, Москва, Научный проезд д. 14 а

тел: (095) 120-60-95; 120-60-96

Генеральный директор

ЗАО «НИЦФ»

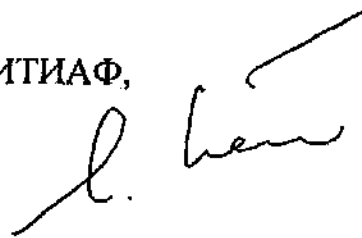


Е.Г.Плинер

Зав.лабораторией химиотерапии

и экспериментальной микробиологии НИТИАФ,

докт.мед.наук, проф.



М.С.Поляк

копия верна

ген. директор: _____


Плавнер Е.Г.

