

ТВЕРЖДАЮ

Руководитель Департамента государственного
контроля лекарственных средств и медицинской
техники Минздрава РФ



В.Е.Акимочкин

2002 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Комплекта реагентов для
окраски микроорганизмов по методу Циль-Нильсена

(Микро-Циль-Нильсен-НИЦФ)

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

(протокол № 1 от 28 января 2002 г.)

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов Микро-Циль-Нильсен-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 Ф. Нильсеном метод дифференциации микробных клеток основан на различии в химическом составе их клеточных оболочек.

Сущность метода заключается в том, что клетки одних видов микроорганизмов после прогревания фиксируют основной краситель, а у других видов микроорганизмов краситель после обработки кислотным спиртом растворяется. Фиксированный мазок микроорганизмов окрашивается фуксином основным, краситель фиксируется прогреванием, мазок обесцвечивается кислотным спиртом и дополнительно прокрашивается красителем метиленовым синим. Те микроорганизмы, которые способны фиксировать первый краситель (фуксин), относятся к кислотоустойчивым, те же, которые окрашиваются дополнительно (метиленовым синим) – к кислотонеустойчивым.

СОСТАВ

В состав комплекта Микро-Циль-Нильсен-НИЦФ входят следующие компоненты:

- фуксин основной карболовый концентрированный, готовый к применению
- 1 флакон (100 мл);
- Спирт кислотный (концентрат)¹, для последующего разведения – 1 флакон (10 мл);

¹ Приготовление рабочего раствора 3% солянокислого спирта

В пластиковый флакон вместимостью 100 мл внести 90 мл этилового спирта 96° и прилить концентрат спирта кислотного в объеме 10 мл. Полученный раствор тщательно перемешать и закрыть пробкой.

- метиленовый синий, готовый к применению – 1 флакон (100 мл).

ОБРАЗЦЫ

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения комплекта — 2А.

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

Компоненты комплекта в используемых концентрациях являются нетоксичными, за исключением серной кислоты; серная кислота обладает раздражающим свойством, поэтому при попадании на кожу и слизистые немедленно смыть большим количеством проточной воды.

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

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 (+18 – 25°C), 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 фуксина основного карболового, и подогревать на небольшом пламени горелки до появления паров. Остудив до комнатной температуры (+18 - 25°C), снять бумагу, промыть мазок дистиллированной водой. Мазок обесцветить 3% раствором солянокислого спирта в течение 3 минут, затем тщательно промыть дистиллированной водой. Докрашивать в течение 1 минуты метиленовым синим, вновь промыть проточной водой. Высушить стекло с помощью фильтровальной бумаги или естественной сушкой в наклонном положении при комнатной температуре и провести микроскопию с использованием иммерсионной системы при увеличении X (900-1000). Кислотоустойчивые микроорганизмы окрашиваются в красный цвет, кислотонеустойчивые - в синий.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Комплект реагентов Микро-Циль-Нильсен-НИЦФ следует хранить при комнатной температуре в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте в течение всего срока годности.

Срок годности комплекта- 12 мес.

Метиленовый синий и раствор солянокислого спирта после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре не более 6 мес.

Фуксин основной карболовый концентрированный после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре (+18 – 25°C) в течение всего срока годности комплекта.

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

По вопросам, касающимся качества комплекта Микро-Циль-Нильсен-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, ФГУ⁴ НЦ ЭСМП Минздрава РФ по адресу:

117246 Москва, Научный проезд д. 14 а

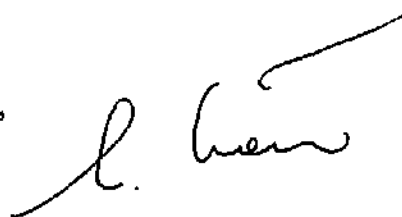
тел: (095) 120-60-95; 120-60-96

Генеральный директор
ЗАО «НИЦФ»



Е.Г.Плинер

Зав.лабораторией химиотерапии
и экспериментальной микробиологии,
докт.мед.наук, проф.



М.С.Поляк

копия верна

ген. директор:

Плимер Е. Г.

