

## «ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної  
служби України з лікарських засобів  
13 липня 2012 р. **І.Б. Демченко**

## «ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”  
Державного управління справами  
І.П. Семенів 22 червня 2011р.

**ТУ У 24.4-24607793-024:2011**

**REF № НР030.01**

# ІНСТРУКЦІЯ ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ НАБОРУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ЗАБАРВЛЕННЯ ЗА ГРАМОМ (НАБІР «ЗАБАРВЛЕННЯ ЗА ГРАМОМ»)

## ПРИЗНАЧЕННЯ

**IVD**

Набір призначений для диференціального забарвлення, дослідження структури клітинної стінки і виявлення приналежності бактерій до грампозитивних або до грамнегативних груп в клініко-діагностичних лабораторіях і науково - дослідницькій практиці.

Набір розрахований на проведення **500 аналізів** (при витраті кожного з робочих розчинів реагентів 50 мкл на визначення).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Зберігати в захищеному від світла місці.

Набір призначено для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

## ПРИНЦИП МЕТОДУ

Забарвлення за Грамом застосовується для забарвлення бактерій в мазках з культур, ексудатів, тканин і т.д. Принцип методу заснований на різниці в хімічному складі клітинної стінки прокаріотичних мікроорганізмів. Сутність методу полягає в тому, що при слаболужній реакції бактерії забарвлюються основними барвниками трифенілметанової групи (кристалвіолет, генціанвіолет, метилвіолет). Обробка йодом приводить до міцної фіксації барвника в грампозитивних бактеріях. Подальше промивання забарвленого препарату нейтральним спиртом або ацетоном не знебарвлює грампозитивні бактерії. У грамнегативних бактеріях під впливом йоду не утворюється міцного комплексу, і обробка ацетоном або спиртом приводить до їх обезбарвлення. Грамнегативні бактерії діагностуються шляхом дофарбовування контрастною фарбою.

Кристалвіолет забарвлює бактерії в синьо-фіолетовий колір. Розчин Люголя реагує з кристалвіолетом, формуючи комплекс кристалвіолет-йодид. Знебарвлюючий агент усуває синій колір в грамнегативних бактеріях, які забарвлюються в рожевий колір після забарвлення фуксином.

## СКЛАД НАБОРУ

- |  |                              |
|--|------------------------------|
| 1 Карболовий розчин генціану фіолетового | - 1 флакон з (5,0 ± 0,5) мл; |
| 2 Розчин Люголя                          | - 1 флакон з (25 ± 1) мл;    |
| 3 Карболовий розчин фуксину Ціля         | - 1 ампула з (2,5 ± 0,1) мл. |

## АНАЛІЗУЄМИЙ МАТЕРІАЛ

Рідини, секрету з нижніх дихальних шляхів і тканинні секрету, спинномозкова рідина. Не використовувати зразки, обсіменені нормальною бактерійною флорою.

## ОБЛАДНАННЯ

- 1 Раковина або спеціальний місткий лоток для фарбування.
- 2 Спеціальний штатив («рейки») для фарбування мазків на предметних стеклах.
- 3 Пінцет або щипці для взяття предметних стекол.
- 4 Газовий або спиртовий пальник.
- 5 Фільтрувальний папір розміром < 4 x 1,5 см для фарбування мазків.

6 Дистильована вода для промивання мазків.

7 Штатив для просушування забарвлених стекол на повітрі у вертикальному або похилому положенні.

### **ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ**

**1 Робочий розчин генціану фіолетового** одержують додаванням к вмісту флакона з **Карболовим розчином генціану фіолетового** 20 мл дистильованої води кімнатної температури. Енергійно струшують флакон протягом 30 с. Витримують протягом 1 години. Розчин стійкий при зберіганні протягом 2-х місяців при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С.

**2 Розчин Люголя** готовий до використання. Придатний для роботи до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

**3 Карболовий розчин фуксина** одержують розведенням вмісту ампули з Карболовим розчином фуксина Ціля з 22,5 мл дистильованої води. Розчин дуже не стійкий, тому його готують в невеликих кількостях безпосередньо перед використанням.

### **ПРОВЕДЕННЯ АНАЛИЗУ**

Предметне скло перед дослідженням знежирюють і роблять на ньому мазок досліджуваних культур. Мазок слід робити тонким, щоб клітини рівномірно розподілялися на поверхні скла і не утворювали скупчень. Препарат висушують на повітрі, фіксують над полум'ям пальника (спиртівки) і виконують наступні дії:

- на мазок кладуть смужку фільтрувального паперу;
- наносять 2 - 3 краплі з крапельниці (50 – 75 мкл) **Робочого розчину генціану фіолетового**;

**фіолетового**;

- витримують протягом 2 хв;
- видаляють фільтрувальний папір;
- не промиваючи препарату водою, наносять 2-3 краплі з крапельниці (50 - 75 мкл) розчину Люголя;

- витримують протягом 1-2 хв до почорніння препарату;

- зливають залишки фарбника і розчину Люголя;

- знебарвлюють протягом 30-45 сек 96° етиловим спиртом; *(Предметне скло для знебарвлення мазка занурюють кілька разів в склянку із спиртом, процес знебарвлення вважається завершеним, коли від мазка перестають відділятися забарвлені у фіолетовий колір цівки рідини);*

- ретельно промивають водою;

- наносять 2-3 краплі з крапельниці (50-75 мкл) карболового розчину фуксину (забарвлювач);

- витримують протягом 2 хв;

- зливають забарвлювач;

- промивають препарат водою;

- висушують на повітрі;

- мікроскопують з імерсійною системою.

### **ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ**

При правильному фарбуванні грамозитивні бактерії мають синьо-фіолетовий колір, а грамнегативні — рожево-червоний.

## **ДЖЕРЕЛА ПОМИЛОК**

Забруднення проби нормальною мікробною флорою, кров'ю або фарбувальними речовинами можуть порушити фарбування.

## **ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ**

- 1 При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
- 2 Генціан фіолетовий: можливий канцероген. Небезпечний для водних організмів, може викликати довгострокові негативні ефекти у водному середовищі. Необхідне застосування спеціального захисного одягу і рукавичок. Необхідно уникати попадання мікроорганізмів в оточуюче середовище. Необхідно ретельно дотримуватися спеціальних інструкцій та техніки безпеки.
- 3 Розчин Люголя: не вдихати пари розчину Люголя.

## **УТИЛІЗУВАННЯ**

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

## **ЛІТЕРАТУРА**

- 1 Lillie, R.D., H.J.Conn's Stain, ed.9th 1977.
- 2 Lehtonen, O-P., Gram-variayksen tekemisesta, Moodi, 2/1993.
- 3 Balows, A. et al., Manual of Clinical Microbiology, ed.5th.1991.

**FELICIT**

CP	10618/2011
	13.07.2012



**ТОВ НВП «Філіцит-Діагностика»**,  
Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32  
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34  
Тел.:(093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54  
E-mail: felicit\_d@ua.fm <http://www.felicit.com.ua>

Предлагаем Вашему вниманию ассортимент выпускаемой нами  
продукции

- для выполнения скрининга и количественного определения аналитов на латексных системах:

Для качественного и полуколичественного определения анти-стрептолизин О (АСЛ-О), ревматоидного фактора (РФ) , С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека (“Филисит- АСЛ-О- латекс”, “Филисит- РФ - латекс”, “Филисит- СРБ – латекс”).

- контрольные материалы для оценки выполнения исследований обмена веществ: “Филисит-СКВ”, “ФилоНорм”, “ФилоПат”, “Калибратор альбумина 1000 мг/л”, “Калибраторы белка”, “Фило-БФК”, “Калибраторы креатинина», “Калибраторы гемихрома», “МультиКалибратор”, “Филисит-КГБС”, “Калибраторы глюкозы”, “Билирубин-калибратор», “Калибраторы гемоглобина”, “Калибраторы цианметгемоглобина», “Креатинин-калибратор”

- наборы реактивов для клинической биохимии для анализаторов открытого типа различных изготовителей:

**КИНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ:** “Креатинин-КИН”, “ЛДГ”, “ЛДГ1”, «АЛАТ-КИН», «АсАТ-КИН», ”Щелочная фосфатаза ДЕА”, ”Щелочная фосфатаза АМП”, “ $\alpha$ -Амилаза КИН”, **“ГГТ-КИН”, “Холинестераза- КИН” и (МОНОРЕАГЕНТНЫЕ МЕТОДИКИ** (подходят как для ручных методик, так и для анализаторов открытого типа различных изготовителей): “Триглицериды - Ф”, “Кальций АРС”, ”Фосфор-UV”, “Альбумин”, “Общий белок”, “Холестерин Ф”, “Холестерин-HDL”, “Глюкоза Ф”, “Общий белок-УЛ”, “Калий”, “Кальций”, **“Магний”, “Хлориды-Ф”, “Гемоглобин”, «Гемоглобин-ГХ», “Мочевая кислота Ф”, “Глюкоза МОНО”.**

- наборы реактивов для клинической биохимии для ручных методик:

“Железо (ОЖСС)”, “Серогликоиды”, “Холестерин”, “Триглицериды”, “Общие липиды”, «Фруктоза», “Билирубин”, “Фосфор”, “Хлориды-Г”, “Натрий”, “Креатинин”, “Мочевая кислота”, “Мочевина-Д”, “Мочевина-У”, “Мочевина-ОФА”, “Тимоловая проба”, “АЛАТ”, “АсАТ”, “ГГТ”, “Щелочная фосфатаза”, “ $\alpha$ -Амилаза”, ”Щелочная фосфатаза НФФ”, “Холинестераза-АХХ”, **“Холестерин-HDL Ф”, “Холестерин-LDL Ф”.**

- наборы реактивов для микробиологических исследований: «Набор для окраски по Граму» (три модификации: с Карболовым фуксином по Цилю, **с нейтральным красным и с Сафранином**), «Карболовый фуксин (1% раствор)», «Набор для окраски по Цилю-Нильсену», «ЛейкоФарб» (набор для дифференциальной окраски лейкоцитов), **«РетикулоФарб»** (набор для дифференциальной окраски ретикулоцитов и эритроцитов).

А так же в ассортименте выпускаемой нами продукции:

- реактив Эрлиха.