

## «ПОГОДЖЕНО»

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

КОД ЗА НК 024:2023 – 42709

REF № HP030.01

## «ЗАТВЕРДЖУЮ»

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

ТУ У 24.4-24607793-024:2011

## 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 °C до плюс 16 °C.

Гарантійний термін придатності набору - 12 місяців від дня виготовлення.

Зберігати в захищенному від світла місці.

Набір призначено для застосування *in vitro* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

### 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 бактерій 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 дофарбування 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 $(5,0 \pm 0,5)$ мл; |
| 2. Розчин Люголя  | - 1 флакон з $(25 \pm 1)$ мл;    |
| 3. Карболовий розчин фуксину Ціля   | - 1 ампула з $(2,5 \pm 0,1)$ мл. |
| 4. Додатково потрібний реагент <i>Імерсійна олія для мікроскопії</i> (REF HP060.01 або REF HP060.02). <u>До складу набору не входить!</u> |                                  |

### АНАЛІЗУЄМІЙ МАТЕРІАЛ

Рідини, секрети з нижніх дихальних шляхів і тканинні секрети, спинномозкова рідина. Не використовувати зразки, обсіменені нормальнюю 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 °C до плюс 25 °C.
2. **Розчин Люголя** готовий до використання. Придатний для роботи до закінчення терміну, зазначеного на упаковці, за умови зберігання при температурі від плюс 2 °C до плюс 16 °C.
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 готовують в невеликих кількостях безпосередньо перед використанням.

### **ПРОВЕДЕННЯ АНАЛИЗУ**

Предметне скло перед дослідженням знежириють і роблять на ньому мазок досліджуваних культур. Мазок слід робити тонким, щоб клітини рівномірно розподілялися на поверхні скла і не утворювали скучень. 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**;
- 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 фуксина (забарвлювач);
- витримують протягом 2 хв;
- зливають забарвлювач;
- промивають препарат водою;
- висушують на повітрі;
- мікроскопують з імерсійною системою.

### **ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТИВ**

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

## **ДЖЕРЕЛА ПОМИЛОК**

Забруднення проби нормальнюю 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.

## **УТИЛІЗАЦІЯ**

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і разом 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**



**ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,**

Україна, 49051 м. Дніпро, 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: filicit@ukr.net http://www.felicit.com.ua

Пропонуємо до Вашої уваги асортимент продукції, що випускається нами

## **НОВИНКИ 2019-2023**

Набори реактивів та реагентів:

- для контролю якості передстерилізаційного очищення та виявлення прихованої крові у біологічному матеріалі **“ПК АЗОПІРАМ СКРИН”** та **“ПК ТОЛІДІН СКРИН”**.

- для визначення протромбінового часу плазми та визначення концентрації фібриногену (набір **“ФІЛОПЛАСТИН”**).

- для використання в якості допоміжного реагенту для роботи з реагентами на основі неповних антитіл при визначенні групи крові, при визначенні резус-фактору, скринінгу антитіл і пробі на індивідуальну сумісність методом конглютинації (**“ЖЕЛАТИНУ РОЗЧИН 10 %”**).

- для визначення концентрацій загального та/або прямого білірубіну (**“БІЛІРУБІН ДМСО”**) у сироватці або плазмі крові людини з діметилсульфоксидом (ДМСО).

- для визначення гліколізованого гемоглобіну (**“ГЛІКОГЕМОГЛОБІН ТБК”**) у крові людини.

- для визначення сіалових кислот (**“СІАЛОВІ КИСЛОТИ”**) у біологічних рідинах колориметричним методом.

- для визначення сечовини (**“СЕЧОВИНА UV”**) у біологічних рідинах **кінетичним** уреазним методом.

- для визначення метгемоглобіну (**“МЕТГЕМОГЛОБІН”**) у крові людини спектрофотометричним методом.

- для визначення концентрації  $\beta$ -ліпопротеїдів у сироватці крові і плазмі людини (" $\beta$ -ЛІПОПРОТЕЇДИ").
- для рекальцифікації цитратної плазми і цитратної крові ("КАЛЬЦІЙ ХЛОРИСТИЙ 0,025М").
- для визначення концентрації цинку у біологічних рідинах (з 5-Br-PAPS) ("ЦИНК").
- для визначення % карбоксигемоглобіну у крові людини ("КАРБОКСИГЕМОГЛОБІН").
- для визначення концентрації молочної кислоти (лактату) у плазмі та СМР людини ("ЛАКТАТ").
- для клінічного аналізу спинномозкової рідини («СМР СКРИН»).
- для використання в якості допоміжного компонента для мікроскопічних методів («Імерсійна оля для мікроскопії»).

- для виконання скринінгу і кількісного визначення аналітів на латексних системах:  
для якісного і напівкількісного визначення анти-стрептолізину О (АСЛ-О), ревматоїдного фактору (РФ), С-реактивного білку (СРБ) в сироватці крові людини ("Філісіт - АСЛ-О - латекс", "Філісіт – РФ - латекс", "Філісіт – СРБ - латекс").

- контрольні матеріали для оцінки виконання досліджень обміну речовин :  
"Філісіт-СКВ", "ФілоНорм", "Філо-БФК", "ФілоПат", "Калібратор альбуміну 1000 мг/л", "Калібратори білку", "Білірубін-калібратор", "Мультикалібратор", "Калібратори креатиніну", "Калібратори геміхрома", "Філісіт-КГБС", "Креатинін-калібратор", "Калібратори гемоглобіну", "Калібратори глюкози", "Калібратори ціанметгемоглобіну".

- набори реактивів для клінічної біохімії для аналізаторів відкритого типу різних виробників:  
**КІНЕТИЧНІ МЕТОДИКИ:** "Креатинін-КІН", "ЛДГ", "ЛДГ1", "АЛАТ-КІН", "АСАТ-КІН", "Лужна фосфатаза ДЕА", "Лужна фосфатаза АМП", "а-Амілаза КІН", "Холінестераза-КІН", "ГГТ-КІН" i

**МОНОРЕАГЕНТНІ МЕТОДИКИ** (підходять як для ручних методик, так і для аналізаторів відкритого типу різних виробників: "Тригліцериди-Ф", "Кальцій ARS", "Фосфор-UV", "Альбумін", "Загальний білок", "Холестерин Ф", "Холестерин-HDL", "Глюкоза Ф", "Калій", "Магній", "Натрій РН", "Хлориди-Ф", "Гемоглобін", "Гемоглобін-ГХ", "Сечова кислота Ф", "Глюкоза МОНО", "Загальний білок-УЛ".

- набори реактивів для клінічної біохімії для ручних методик:  
"Залізо (3333)", "Сіроглікоїди", "Кальцій", "Загальні ліпіди", "АЛАТ", "ГГТ", "Фруктоза", "Білірубін", "Фосфор", "Креатинін", "а-Амілаза", "АсАТ", "Сечовина-Д", "Лужна фосфатаза", "Сечовина-У", "Сечовина-ОФА", "Тимолова проба", "Білкові фракції", "Холінестераза-АХХ", "Сечова кислота", "Холестерин – HDL Ф", "Холестерин – LDL Ф".

- набори реактивів для мікробіологічних досліджень: "Забарвлення за Грамом" (три модифікації: з Карболовим фуксином за Цілем, з Нейтральним Червоним і з Сафраніном), "Карболовий фуксин (1% розчин)", "Забарвлення за Цілем-Нільсеном", "РетикулоФарб" (набір для диференціального забарвлення ретикулоцитів і еритроцитів), "Забарвлювач за Романовським" (набір для диференціального забарвлення формених елементів крові при фарбуванні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів).

При виготовленні нашої продукції використовуються високоякісні реактиви провідних фірм, що спеціалізуються на виробництві сировини для діагностичних і аналітичних цілей, таких країн як Австрія, Великобританія, Німеччина, Швейцарія, Японія (наприклад: MERCK, Sigma - Aldrich).

**Виробник дотримується принципу безперервного розвитку і залишає за собою право вносити (без попереднього повідомлення) зміни і удосконалення в продукцію.**

**ДЛЯ ОТРИМАННЯ ДЕТАЛЬНІШОЇ ІНФОРМАЦІЇ ПРО ПОЛІПШЕННЯ, МОДИФІКАЦІЇ І СПЕЦИФІКАЦІЇ, ЯКЩО У ВАС є ЯКІ-НЕБУДЬ ПИТАННЯ, БУДЬ ЛАСКА, НЕ СОРОМТЕСЯ ЗВЕРТАТИСЯ ДО НАС БЕЗПОСЕРЕДНЬО**