

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

13 липня 2012 р. **І.Б. 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 °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* 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 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 ($5,0 \pm 0,5$) мл;
2. Розчин Люголя - 1 флакон з (25 ± 1) мл;
3. Карболовий розчин фуксину Ціля - 1 ампула з ($2,5 \pm 0,1$) мл.
4. Додатково потрібний реактив *Імерсійна олія для мікроскопії* (REF HP060.01 або REF HP060.02). До складу набору не входить!

АНАЛІЗУЄМИЙ МАТЕРІАЛ

Рідини, секрети з нижніх дихальних шляхів і тканинні секрети, 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**;
- витримують протягом 2 хв;
- видаляють фільтрувальний папір;
- не промиваючи препарат 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 грампозитивні 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.

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.



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 2019-2025

Набори реактивів та реагентів:

- для контролю якості передстерилізаційного очищення та виявлення прихованої крові у біологічному матеріалі (набір **“ПК АЗОПРАМ СКРИН”** та набір **“ПК ТОЛІДІН СКРИН”**).
 - для контролю якості передстерилізаційного очищення шляхом визначення залишків лужних компонентів миючих засобів (набір **“ЛКМЗ фенолфталеїн СКРИН”**).
 - для визначення протромбінового часу плазми та визначення концентрації фібриногену (набір **“ФІЛОПЛАСТИН”** з тромбопластином).
 - 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 (**“БІЛПРУБІН ДМСО”**) у сироватці або плазмі крові людини з диметилсульфоксидом (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 β -ліпопротеїдів у сироватці крові і плазмі людини (**“ β -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 концентрації міді у сироватці крові (з 3,5-DiBr-PAESA) (**“МІДЬ”**).
 - для визначення заліза у сироватці крові (з Хромазуолом В) (**“ЗАЛІЗО САВ”**).
 - 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”**)(з реактивом Самсона).
 - для використання в якості допоміжного компонента для мікроскопічних методів (**«Імерсійна олія для мікроскопії»**).
 - для використання як фіксатор під час оброблення біологічних тканин або клінічних зразків(**«Рідина Карнуа»**).
 - для використання як фіксатор під час оброблення біологічних тканин або клінічних зразків(**«Рідина Карнуа А»**).
 - для використання як промивний розчин для мембран вестерн-блоттингу, для фіксованих PFA (параформальдегід) зразків, для імуногістології та для лунок мікротитраційних планшетів для аналізів ELISA (**«Фосфатно-солевий буфер (ФСБ-Т) pH 7,4»**).
 - для якісного визначення порфобіліногену (ПБГ) у сечі (**«Порфобіліноген (ПБГ)»**).
 - для якісного визначення речовин, реагуючих з п-диметиламінобензальдегідом (**«Реактив Ерліха (альдегідний)»**).
 - для якісного визначення індолу и призначені для тестування мікроорганізмів, виділених із клінічного зразка культивуванням, з метою визначення наявності ферментів, що розкладають індол з амінокислоти триптофан (**«Реактив Ковача»**).
 - для диференціального забарвлення гінекологічних та негінекологічних препаратів при цитологічній діагностиці та скринінгу за Папаніколау (**«Філо-ПАП-тест»**).
 - для швидкої диференціальної оцінки гематологічних, цитологічних, цитобактеріологічних мазків, сперми (**«ЛейкоФарб»**).
 - для застосування як забарвлювач - фіксатор формених елементів крові при забарвленні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів (**«Забарвлювач за Май-Грюнвальдом»**).
 - для застосування набору реагентів - Безводне Монтуюче середовище для мікроскопії (**«ФілоМаунт С»**).
 - для кількісного визначення анти-стрептолізину О (АСЛ-О), ревматоїдного фактору (РФ), С-реактивного білку (СРБ) в сироватці крові людини (**“АСЛ-О - ТурбіЛатекс”, “РФ- ТурбіЛатекс”, “СРБ- ТурбіЛатекс ”**).
- 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 І, ЯКЩО У ВАС Є ЯКІ-НЕБУДЬ ПИТАННЯ, БУДЬ ЛАСКА, НЕ СОРОМТЕСЯ ЗВЕРТАТИСЯ ДО НАС БЕЗПОСЕРЕДНЬО.**