



ГЕМСТАНДАРТ
ПРОИЗВОДСТВО РЕАГЕНТОВ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набора реагентов для окраски микроорганизмов по Граму (с фуксином Циля)

«ГЕМСТАНДАРТ-ГРМ»

Назначение

Набор реагентов для окраски по Граму «ГЕМСТАНДАРТ-ГРМ» (с фуксином Циля) предназначен для окраски микроорганизмов и выявления принадлежности бактерий к грамположительным или к грамотрицательным группам.

Принцип реакции

Для окраски по Граму чаще используют красители трифенилметановой группы: генциановый, метиловый фиолетовый или кристалвиолет. Грамположительные Грам (+) микроорганизмы дают прочное соединение с указанными красителями и йодом. При этом они не обесцвечиваются при воздействии на них спиртом, вследствие чего при дополнительной окраске фуксином Грам (+) микроорганизмы не изменяют первоначально принятый фиолетовый цвет.

Грамотрицательные Грам (-) микроорганизмы образуют с основными красителями и йодом легко разрушающееся под действием спирта соединение. В результате микробы обесцвечиваются, и затем окрашиваются сафранином, приобретая красный цвет.

Реагенты

- Карболовый раствор генцианвиолета 1 фл (100 мл)
 - Раствор Люголя 1 фл (100 мл)
 - Фуксин Циля 1 фл (10 мл)
- Набор обеспечивает 200 исследований (исходя из 0,5 мл на одно исследование).

Оборудование

- термостат;
- секундомер;
- микроскоп;
- рН-метр;
- цилиндры мерные вместимостью 25-500мл;
- разделительная воронка;
- колбы вместимостью 500,1000мл;
- стаканчики химические;
- чашки Петри;
- стеклянные палочки;
- пипетки;
- стекла предметные;
- рельсы для окраски мазков;
- воронка;
- бумага фильтровальная;
- перчатки резиновые.

Подготовка к анализу

Предметное стекло перед проведением исследования должно быть тщательно вымыто и обезжирено смесью для обезжиривания предметных стекол ГЕМСТАНДАРТ-Glasol.

Для фиксации мазков применяют метиловый спирт, ацетон, смесь Никифорова, жидкость Карнуа. Предметное стекло с высушенным мазком погружают в склянку с фиксирующим веществом на 10-15 минут и затем высушивают на воздухе. Либо полученные мазки тщательно высушивают и затем фиксируют сухим жаром. Фиксация достигается посредством несильного нагревания (примерно до 70°C) предметного стекла, которое для этого трижды проводят над пламенем спиртовки мазком вверх.

Приготовление рабочего раствора фуксина Циля

Перед использованием фуксин Циля разводят в 10 раз дистиллированной водой. (Из расчета – к 1 мл фуксина добавляют 9 мл дистиллированной воды).

Методика окраски

1. Помещают на мазок полоску фильтровальной бумаги и наносят на фиксированный мазок несколько капель карболового раствора генцианвиолета (реагент 1) и выдерживают 2-3 минуты. Сливают краску, удаляют фильтровальную бумагу и споласкивают в проточной воде (до 30 сек).
2. Мазок заливают на 1-2 мин раствором Люголя (реагент 2) до почернения препарата.
3. Раствор сливают, мазок промывают водой (водопроводной или дистиллированной).
4. Дифференцируют 96° спиртом, наливая и сливая его, пока отходит синяя краска и не обесцветится мазок (приблизительно 20-60 секунд). Во время дифференцировки препарат все время покачивают. Если вместо спирта использовать ацетон, то промывание продолжается 30 сек. Можно дифференцировать смесью спирта и ацетона (1:1) 30 с.
5. Тщательно промывают стекло в проточной или дистиллированной воде 1-2 мин.
6. Для выявления грамтрицательной группы бактерий препараты дополнительно окрашивают рабочим фуксином Циля (несколько капель) в течение 1-3 минут.
7. Промывают в проточной воде и высушивают фильтровальной бумагой. Окрашенные мазки исследуют в масле, с иммерсионным объективом; при желании заключают в бальзам, в таком случае на окрашенный и хорошо высушенный мазок кладут каплю бальзама и покрывают покровным стеклом.

Результат окраски

Грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый цвет (темно-синий), а грамтрицательные - розово-красный, красный или коричневый.

Меры предосторожности

Меры предосторожности — соблюдение “Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР”, Москва, 1981 г.

При работе следует одевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита В, или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Условия хранения и эксплуатации

Хранение реагентов при t° 2-25° С в темном месте.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам качества *Набора для окраски микроорганизмов по Граму с фуксином «ГЕМСТАНДАРТ-ГРМ»*, следует обращаться в ООО “ГЕМСТАНДАРТ” по адресу: 196641, Санкт-Петербург, пос. Металлострой, промзона «Металлострой», дорога на Металлострой д.5, лит.А.

Тел. (812) 46-46-144, e-mail: gemstandart@mail.ru