



Для научных исследований

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Отдел Новых Технологий
 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
 телефакс (812) 233-17-03, телефон (812) 325-27-10,
<http://www.dntpasteur.ru>
 e-mail: dntpasteur@ya.ru

Утверждено
 Ученым Советом
 НИИЭМ имени
 Пастера
 18 февраля 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ ГРАМА (Комплект №3 для окраски гонококков с сафранином) (ТУ-005-01967164-2015)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения грампринадлежности бактерий в модификации, когда грамположительная флора имеет зеленую окраску, а грамотрицательная флора – красную. Такое сочетание цветов обеспечивает резкую контрастность при окраске гонококков.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип метода основан на разнице в химическом составе клеточной стенки прокариотических микроорганизмов. Грамположительные бактерии способны удерживать комплекс: "основной краситель – протрава" и приобретают зеленую окраску. Грамотрицательные бактерии теряют комплекс: "основной краситель – протрава" и приобретают красную окраску

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Набор рассчитан на проведение 250 анализов.

Наименование реагента	Внешний вид	Количество в наборе
Раствор бриллиантового зеленого	Жидкость тёмно-зелёного цвета	1 фл. - 25 мл
Раствор йодного спирта	Жидкость светло-коричневого цвета	1 фл. - 25 мл
Раствор сафранина	Порошок розовато-бежевого цвета	1 фл. - 25 мл

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики. Входящие в компоненты набора вещества инактивированы и безопасны. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 и СанПиН 2.1.7.2790-10.

4. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве исследуемого материала используют микробиологические культуры, выращенные на жидких и плотных питательных средах, а также гистологические срезы, подготовленные по рутинной методике (фиксированные в формалине и залитые в парафин).

5. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

5.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ МАЗКОВ.

Предметное стекло перед исследованием обезжиривают и наносят на него каплю 0,9% раствора натрия хлорида, в которой затем растирают бактериологической петлей 24 ч культуру микроорганизмов. Готовят тонкий мазок, чтобы клетки равномерно распределялись на поверхности стекла и не образовывали скоплений.

5.2. ОКРАШИВАНИЕ МАЗКА

В мазок добавляют 1-2 капли (50-75 мкл) раствора бриллиантового зеленого и вновь тщательно перемешивают;

- мазок оставляют до высыхания;
- приготовленный препарат фиксируют жаром, пронося стекло несколько раз через пламя спиртовки (горелки);
- на окрашенный мазок наносят каплями раствор йодного спирта в количестве, необходимом для покрытия препарата;
- позеленевший раствор сливают, время обесцвечивания не более 5-10 с;
- промывают водой;
- наносят 2-3 капли (50-75 мкл) из капельницы раствора сафранина;
- выдерживают в течение 2 мин;
- сливают краситель;
- промывают препарат водой;
- высушивают на воздухе;
- микроскопируют с иммерсионной системой.

6. УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В мазке из клинического материала ядра лейкоцитов, эпителиальных клеток могут частично удерживать зеленую окраску, цитоплазма должна быть оранжево-красного цвета. Гонококки, расположенные на этом фоне, должны быть оранжево-красными. Необходимо обращать внимание и на другие морфологические признаки (парность, отсутствие цепочек, групп и др.). В правильно окрашенных мазках из культур гонококки выглядят в виде как парных, так и отдельных кокков оранжево-красного цвета, собранных в скопления с более плотным центром и беспорядочной, рассеянной периферией. В центре колоний местами может сохраняться зеленая окраска. Интенсивность окраски гонококков может быть разной: от светло-алого цвета до насыщенно-красного.

При наличии сочетанной грамположительной флоры (стафилококков, стрептококков и др.) последняя окрашивается в различные оттенки зеленого цвета (от изумрудно-зеленого до темно-зеленого).

7. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация отходов после использования набора реагентов осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 («Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

Набор хранить в темном месте при температуре не выше 25 °С. Транспортировку осуществлять всеми видами крытого транспорта при температуре не выше 30 °С не более 2 недель.

Срок годности – 1 год.

При нарушении условий хранения, способа приготовления и использования рекламации не принимаются. В остальных случаях рекламации на качество набора направлять по адресу изготовителя: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, дом 14, телефакс (812) 233-17-03, телефон (812) 325-27-10, <http://www.dntpasteur.ru>, e-mail: dntpasteur@ya.ru.



Для научных исследований

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Отдел Новых Технологий
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
телефакс (812) 233-17-03, телефон (812) 325-27-10,
<http://www.dntpasteur.ru>
e-mail: dntpasteur@ya.ru

Утверждено
Ученым Советом
НИИЭМ имени
Пастера
18 февраля 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ ГРАМА (Комплект №3 для окраски гонококков с сафранином) (ТУ-005-01967164-2015)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения грампринадлежности бактерий в модификации, когда грамположительная флора имеет зеленую окраску, а грамотрицательная флора – красную. Такое сочетание цветов обеспечивает резкую контрастность при окраске гонококков.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип метода основан на разнице в химическом составе клеточной стенки прокариотических микроорганизмов. Грамположительные бактерии способны удерживать комплекс: "основной краситель – протрава" и приобретают зеленую окраску. Грамотрицательные бактерии теряют комплекс: "основной краситель – протрава" и приобретают красную окраску

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Набор рассчитан на проведение 250 анализов.

Наименование реагента	Внешний вид	Количество в наборе
Раствор бриллиантового зеленого	Жидкость тёмно-зелёного цвета	1 фл. - 25 мл
Раствор йодного спирта	Жидкость светло-коричневого цвета	1 фл. - 25 мл
Раствор сафранина	Порошок розовато-бежевого цвета	1 фл. - 25 мл

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики. Входящие в компоненты набора вещества инактивированы и безопасны. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 и СанПиН 2.1.7.2790-10.

4. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве исследуемого материала используют микробиологические культуры, выращенные на жидких и плотных питательных средах, а также гистологические срезы, подготовленные по рутинной методике (фиксированные в формалине и залитые в парафин).

5. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

5.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ МАЗКОВ.

Предметное стекло перед исследованием обезжиривают и наносят на него каплю 0,9% раствора натрия хлорида, в которой затем растирают бактериологической петлей 24 ч культуру микроорганизмов. Готовят тонкий мазок, чтобы клетки равномерно распределялись на поверхности стекла и не образовывали скоплений.

5.2. ОКРАШИВАНИЕ МАЗКА

В мазок добавляют 1-2 капли (50-75 мкл) раствора бриллиантового зеленого и вновь тщательно перемешивают;

- мазок оставляют до высыхания;
- приготовленный препарат фиксируют жаром, пронося стекло несколько раз через пламя спиртовки (горелки);
- на окрашенный мазок наносят каплями раствор йодного спирта в количестве, необходимом для покрытия препарата;
- позеленевший раствор сливают, время обесцвечивания не более 5-10 с;
- промывают водой;
- наносят 2-3 капли (50-75 мкл) из капельницы раствора сафранина;
- выдерживают в течение 2 мин;
- сливают краситель;
- промывают препарат водой;
- высушивают на воздухе;
- микроскопируют с иммерсионной системой.

6. УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В мазке из клинического материала ядра лейкоцитов, эпителиальных клеток могут частично удерживать зеленую окраску, цитоплазма должна быть оранжево-красного цвета. Гонококки, расположенные на этом фоне, должны быть оранжево-красными. Необходимо обращать внимание и на другие морфологические признаки (парность, отсутствие цепочек, групп и др.). В правильно окрашенных мазках из культур гонококки выглядят в виде как парных, так и отдельных кокков оранжево-красного цвета, собранных в скопления с более плотным центром и беспорядочной, рассеянной периферией. В центре колоний местами может сохраняться зеленая окраска. Интенсивность окраски гонококков может быть разной: от светло-алого цвета до насыщенно-красного.

При наличии сочетанной грамположительной флоры (стафилококков, стрептококков и др.) последняя окрашивается в различные оттенки зеленого цвета (от изумрудно-зеленого до темно-зеленого).

7. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация отходов после использования набора реагентов осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 («Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»).

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

Набор хранить в темном месте при температуре не выше 25 °С. Транспортировку осуществлять всеми видами крытого транспорта при температуре не выше 30 °С не более 2 недель.

Срок годности – 1 год.

При нарушении условий хранения, способа приготовления и использования рекламации не принимаются. В остальных случаях рекламации на качество набора направлять по адресу изготовителя: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, дом 14, телефакс (812) 233-17-03, телефон (812) 325-27-10, <http://www.dntpasteur.ru>, e-mail: dntpasteur@ya.ru.