

**Инструкция
по применению набора реагентов для окраски микроорганизмов
по методу Грама в модификации Hucker
(Микро-Hucker-НИЦФ)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Микро-Hucker-НИЦФ предназначен для дифференциально-диагностической окраски микроорганизмов путем последовательной обработки мазка, взятого из биологического материала, компонентами набора.

Принцип метода.

Предложенный Г.Х.И. Грамом метод дифференциации микробных клеток основан на различии в химическом составе их клеточных оболочек. Сущность метода заключается в том, что клетки одних видов микроорганизмов образуют нерастворимое в спирте соединение йода с основным красителем, а у других видов микроорганизмов это соединение появляется временно и после обработки спиртом растворяется.

Метод Грама в модификации Hucker используют при микроскопии мазков аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных бактерий. Он обеспечивает четкую окраску клеток и существенно сокращает время процедуры в сравнении с традиционной окраской мазков по методу Грама.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Комплект поставки:

- набор реагентов (растворы в пластиковых флаконах с крышкой-капельницей в соответствии с таблицей 1), в коробке из картона;
- инструкция по применению;
- паспорт.

Таблица 1

№	Компонент/ Реагент	Описание	Количество флаконов	Объем, мл
1	Генциан-виолет 10 % раствор	Прозрачная жидкость насыщенного фиолетового цвета	2	10
2	Аммония оксалат 1% раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	1	80
3	Раствор йода по Hucker	Прозрачная жидкость желто-коричневого цвета	1	100
4	Раствор для обесцвечивания	Бесцветная прозрачная жидкость	1	100
5	Сафранин 0,25% раствор	Прозрачная жидкость вишневого цвета	1	100

Набор рассчитан на 100 определений.

3. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ

Расходные материалы, общелабораторное оборудование и реагенты, не поставляемые с изделием, но обязательные к применению с изделием:

- мерная пипетка, дозатор или цилиндр вместимостью 0–100 мл;
- стекла предметные;
- петля бактериологическая диаметром 2 мм;
- штатив-рельсы для окраски мазков;
- вода дистиллированная;
- бумага фильтровальная;
- пинцет;
- горелки газовые или спиртовые;
- секундомер;

- масло иммерсионное показатель преломления $n_d = 1,515 \pm 0,001$;
- микроскоп световой с объективом x90 или x100;
- перчатки резиновые или латексные.

Компоненты набора «Раствор йода по Нускер», «Раствор для обесцвечивания» и «Сафранин 0,25% раствор».

Компоненты набора «Раствор йода по Нускер», «Раствор для обесцвечивания» и «Сафранин 0,25% раствор» готовы к применению, дополнительной подготовки к работе не требуют.

Порядок приготовления рабочего раствора генциан-виолета.

Во флакон с 80 мл 1% раствора аммония оксалата количественно перенести содержимое флаконов с 10% раствором генциан-виолета (20 мл). Полученный рабочий раствор аккуратно перемешать и настаивать 1 сутки при комнатной температуре.

4. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ

Взятие проб и схема выделения чистой культуры микроорганизма определяется для конкретного типа материала и производится согласно отраслевой методике.

Подготовка материала для окраски.

В зависимости от исследуемого материала подготовка препаратов производится согласно отраслевой методике.

Порядок окрашивания мазков.

1. Убедитесь, что подготовленные мазки фиксированы и промаркированы.
2. Препараты поместить на подставку («штатив-рельсы») так, чтобы они не касались друг друга, и расстояние между ними составляло порядка 1 см, а маркировка (номер) была направлена в одну сторону. Максимально на стандартные «рельсы» помещают не более 12 стекол.
3. Залить фиксированный мазок *рабочим раствором генциан-виолета* и выдержать 1 мин. Слить краситель.
4. Осторожно промыть мазок дистиллированной водой. Не просушивать.
5. Для удаления остатков воды залить (промыть) мазок раствором йода по Нускер, после чего слить и повторно залить раствором йода на 60 секунд. Затем осторожно промыть дистиллированной водой.
6. Обесцветить мазок с помощью раствора для обесцвечивания (примерно 30 секунд), затем слить раствор и тщательно промыть мазок дистиллированной водой.
7. Докрасить раствором сафранина 0,25% в течение 30 секунд, затем промыть дистиллированной водой.
8. Высушить мазок с помощью фильтровальной бумаги или естественной сушкой в наклонном положении при комнатной температуре.

Порядок микроскопии и учет результатов.

Микроскопию мазка проводят с использованием иммерсионной системы при увеличении $\times(900-1000)$. Грамположительные микроорганизмы окрашиваются в фиолетовый или синий цвет, грамотрицательные - в красный или розовый цвет.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Следует принимать меры предосторожности при работе с горючими жидкостями вблизи горелок.

При работе с изделием следует соблюдать меры предосторожности, предусмотренные внутрилабораторной инструкцией по технике безопасности.

Пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты.

Не принимать пищу, не пить и не курить в лабораторных помещениях.

После работы с пробами и реактивами тщательно обработать руки и открытые участки кожи согласно внутрилабораторным санитарным инструкциям.

6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Набор реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама в модификации Нускер (Микро-Нускер-НИЦФ) необходимо хранить в герметично закрытой упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25 °С.

Транспортирование должно проводиться при температуре от 2 до 25 °С всеми видами крытого транспорта.

7. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама в модификации Hucker (Микро-Hucker-НИЦФ), в герметичной упаковке производителя – 12 мес.

Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Вскрытые флаконы с реагентами можно использовать в течение всего срока годности, при условии хранения в герметично закрытой таре.

8. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грама в модификации Hucker (Микро-Hucker-НИЦФ) требованиям ТУ 9398-106-39484474-2011 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в настоящей Инструкции по применению.

Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей Инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества продукции, следует обращаться в ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии» по адресу:

192236, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Белы Куна, д. 30, лит. А тел./факс: (812) 327 5581

e-mail: nicf@nicf.spb.ru