



Клиническая  
биохимия

105173, Москва, ул. Западная,  
д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».  
Тел.: (495) 777-41-92.  
Факс: (495) 741-25-19.  
www.agat.ru agat@agat.ru

# ОКРАСКА ПО ГРАМУ 100 (ФУКСИН)

---

## ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов для окраски микроорганизмов по методу Грам (с фуксином)

### НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для выявления микроорганизмов в мазках крови, мочи, мокроте и других биологических жидкостях, дифференциальной окраски и выявления принадлежности бактерий к грамположительным или к грамотрицательным группам. Набор может применяться в клинико-диагностических и биохимических лабораториях, а так же в научно-исследовательской практике.

Набор реагентов рассчитан на проведение 100 определений при расходе по 1,0 мл рабочего раствора красителей на один анализ. Процедура окрашивания мазков не превышает 10 минут.

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Прокариотические микроорганизмы различаются химическим составом клеточной стенки. Микроорганизмы, стенки которых способны удерживать комплекс красителей трифенилметанового ряда с йодом при обесцвечивании и окрашиваться при этом в темный сине-фиолетовый цвет, называются грамположительными. Микроорганизмы, которые теряют при обесцвечивании этот комплекс, называются грамотрицательными и дополнительно окрашиваются в красный или розово-красный цвет раствором фуксина.

### СОСТАВ НАБОРА

1. **Раствор генциана фиолетового** (фенол – 10 г/л, кристаллический фиолетовый – 10 г/л, спирт этиловый – 10%), 100 мл – 1 флакон.
2. **Раствор Люголя** (йод – 3,3 г /л, калий йодистый – 6,7 г/л), 100 мл – 1 флакон.
3. **Раствор фуксина Циля** (фенол – 50 г/л, основной фуксин – 10 г/л, спирт этиловый 10%), 10 мл – 1 флакон.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Раствор генциана фиолетового и раствора фуксина по Цилю содержат в своем составе едкое вещества – фенол. Раствор Люголя содержит раздража-

ющее вещество – йод. В случае попадания этих растворов на кожу и (или) слизистые необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством воды. Пипетирование *per os* категорически запрещается.

При работе с биологическим материалом человека необходимо соблюдать правила техники безопасности принятые в бактериологической лаборатории, т.к. любые исследуемые образцы биологического материала следует рассматривать как потенциально инфицированные.

#### **ОБОРУДОВАНИЕ И ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ:**

- спиртовка или газовая горелка;
- секундомер или песочные часы;
- вода дистиллированная;
- спирт этиловый 96% или ацетон-спиртовая смесь 1:1;
- перчатки резиновые или пластиковые.

#### **АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Цельная кровь, моча, мокрота, спинномозговая жидкость, серозные жидкости полостей.

#### **ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ**

**Раствор генциана фиолетового и раствор Люголя** готовы к применению.

**Рабочий раствор фуксина (фуксин Пфейфера)** готовится путем разведения раствора фуксина Циля дистиллированной водой в 10 раз.

Рабочий раствор фуксина хранить в темном месте в плотно закупоренной посуде при температуре +18–25° С не более 1 суток.

Предметные стекла перед использованием необходимо тщательно вымыть и обезжирить. Нанести на стекло мазок исследуемой биологической жидкости (крови, мочи и т.д.) и высушить его на воздухе. Мазок зафиксировать химическим или физическим способом. Для химической фиксации мазок опускают с метиловый спирт, ацетон, смесь Никифорова (этиловый 96% спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1), жидкость Карнуа (этиловый спирт 96%, хлороформ, ледяная уксусная кислота в соотношении 6:3:1). При физической фиксации предметное стекло с тщательно высушенным мазком проводят над верхней частью пламенем горелки мазком вверх в течение 2–3 секунд. Для контроля надежности фиксации стекло можно приложить к тыльной части кисти. При правильном прогреве стекло должно быть горячим, но не вызывать ощущения ожога (70–80° С).

#### **ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

1. На фиксированный мазок поместить фильтровальную бумагу и нанести 3–5 капель раствора генциан фиолетового. Выдержать 1–2 минуты.

2. Слить краситель и не промывая препарат водой, налить на мазок 1 мл раствор Люголя и выдержать 1–2 минуты.

3. Слить раствор Люголя и, не промывая препарат, погрузить его в 96% этиловый спирт, периодически покачивая стекло пока от мазка не перестанут отходить облачка краски. В среднем это занимает около 1 минуты. Если воспользоваться ацетон-спиртовой смесью (соотношении 1:1) то время смыва можно сократить до 2–5 секунд.

4. Ополоснуть мазок дистиллированной водой.

5. Докрасить мазок в течение 1 минуты, нанеся на него 3–5 капель раствора фуксина (фуксин Пфейфера).

6. Слить фуксин со стекла, промыть мазок водопроводной водой и высушить от остатков воды фильтровальной бумагой.

7. Микроскопировать под масляной иммерсией.

#### **УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–25° С в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре от -10° С до +35° С не более 5 суток.

Раствор генцианового фиолетового и раствор Люголя после вскрытия можно хранить в плотно закупоренной упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 1 год.

**По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.**