

Код: HS001 4 x 250 мл

Gram PVP

Предназначение

Окрашивание по Граму используется для окрашивания микроорганизмов, культур или образцов с использованием дифференциального метода по Граму.

Только для диагностики in vitro.

Только для профессионального использования.

Клиническое значение

Окрашивание по Граму дает информацию о структуре клеточной стенки и морфологии микроорганизмов. Таким образом, можно получить важные сведения о потенциальных патогенах, присутствующих в образце пациента, что позволяет получить их дальнейшую характеристику.

Принцип

Окрашивание по Граму представляет собой систему с двумя простыми последовательными этапами окрашивания, разделенными этапом обесцвечивания. Бактерии, которые удерживают первичный краситель, выглядят синими (грамположительные), тогда как те, которые теряют его, окрашиваются в розовый цвет контрастным красителем (грамотрицательные).

Это явление объясняется различиями в структуре клеточной стенки. У грамположительных бактерий в клеточной стенке гораздо больше пептидогликана, который обезвоживается спиртом, обесцвечивающим агентом, и, таким образом, теряет свою проницаемость, сохраняя первичный краситель. С другой стороны, грамотрицательные бактерии имеют клеточную стенку с высоким содержанием липидов, проницаемость которых увеличивается при обработке спиртосодержащим обесцвечивающим средством и, таким образом, высвобождается первичное пятно.

Состав реагента

А. Кристаллический Фиолетовый (1x250мл):

Кристаллический Фиолетовый	0.40%
Этанол	15%
Фенол	<1%

В. Йод PVP (раствор Люголя) (1 x 250мл):

Йод	1%
Калия йодид PVP (стабилизатор)	2%
PVP стабилизированный	

С. Грам Обесцвечивающее вещество (1 x 250мл):

Этанол	70%
Ацетон	30%

Д. Сафранин (1 x 250мл):

Сафранин	0.40%
Этанол	20%

Меры предосторожности:

Кристаллический фиолетовый: Предупреждение. H226 - Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. P210 - Беречь от тепла, горячих поверхностей, искр, открытого огня и других источников возгорания. Не курить. P233 - Держать контейнер плотно закрытым. P280 - Пользоваться защитными перчатками/ защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/принять душ. P370 + P378 - В случае пожара: использовать средства, описанные в пункте 5 Паспорта безопасности. P403 + P235 - Хранить в хорошо вентилируемом месте. Хранить в прохладном месте. P501 - Утилизируйте содержимое / контейнер в соответствии с пунктом 13 Паспорта безопасности.

Обесцвечивающее Грам средство: опасность. H225 - Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H319 - вызывает серьезное раздражение глаз. H336 - Может вызывать сонливость или головокружение. P210 - Беречь от тепла, горячих поверхностей, искр, открытого огня и других источников возгорания. Не курить. P233 - Держать контейнер плотно закрытым. P261 - Избегайте вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/ паров/аэрозолей. P280 - Пользоваться защитными перчатками /защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица. P370 + P378 - В случае пожара: использовать средства, описанные в пункте 5 Паспорта безопасности. P403 + P235 - Хранить в хорошо вентилируемом месте. Хранить в прохладном месте.

Сафранин: Предупреждение. H226 - Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. P210 - Беречь от тепла, горячих поверхностей, искр, открытого огня и других источников возгорания. Не курить. P233 - Держать контейнер плотно закрытым. P280 - Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/ лица. P303 + P361 + P353 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой / принять душ. P370 + P378 - В случае пожара: использовать средства, описанные в пункте 5 Паспорта безопасности. P403 + P235 - Хранить в хорошо вентилируемом месте. Хранить в прохладном месте.

P501 - Утилизируйте содержимое / контейнер в соответствии с пунктом 13 Паспорта безопасности.

Все отходы следует утилизировать надлежащим образом в соответствии с применимыми местными правилами.

Приготовление

Все реагенты готовы к использованию.

Хранение и стабильность:

Реагенты будут оставаться стабильными до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 15-30 ° C в защищенном от света месте. Емкости всегда нужно держать плотно закрытыми.

Для некоторых реагентов со временем может образовываться легкий осадок. Это, тем не менее, не влияет на их функциональность.

Дополнительное необходимое оборудование, не включенное в набор

- Стандартное лабораторное оборудование и материалы для микробиологии, такие как предметные стекла для микроскопии, горелка Бунзена, петля для посева и фильтровальная бумага
- Устройство для окрашивания (ручное или автоматическое)
- Микроскоп с иммерсионной линзой

Образцы

Мазки бактериальных культур. Образцы различных жидкостей организма: мокрота, легочная жидкость, осадок мочи, спинномозговая жидкость, ткани и т. д. Распределите образец с помощью посевной петли на предметном стекле, чтобы получить однородный и тонкий мазок. Высушите на воздухе и закрепите нагреванием, пропустив слайд через слабое пламя 2 или 3 раза. Перед окрашиванием дайте остыть. Обращайтесь с образцами осторожно из-за их потенциально инфекционной природы.



Процедура:

1. Покройте мазок кристаллическим фиолетовым (реагент А). Дать постоять 1 мин.
2. Удалите излишки, промыв водопроводной водой.
3. Залейте раствором Йода PVP (Реагент В) и дайте постоять 1 мин.
4. Слейте и промойте водопроводной водой. Слейте лишнюю воду.
5. Обесцветьте с помощью Обесцвечивающего средства по Граму (Реагент С), пока отходы не станут бесцветными, примерно 15-30 секунд в зависимости от толщины мазка.
6. Промойте водопроводной водой и слейте лишнюю воду.
7. Наконец, контрастируйте сафранином (реагент D) в течение 1 мин.
8. Промойте водопроводной водой и высушите на воздухе.
9. Осмотрите под микроскопом с иммерсионным объективом.

Интерпретация результатов:

Грам положительные бактерии: темно-фиолетовый
Грам отрицательные бактерии: розово-красный

Примечания:

Результаты окрашивания следует рассматривать как ориентировочные и подтверждать дополнительными тестами. Описанная выше методика может быть изменена в соответствии с предпочтениями техника, чтобы получить изменения в интенсивности окрашивания. Это влечет за собой изменение времени окрашивания, обесцвечивания и полоскания.

Рекомендуется использовать посеvy возрастом не более 18-24 часов и свежие мазки, так как старые культуры и препараты могут дать ошибочные результаты.

Важно контролировать процесс термофиксация, чтобы не изменять структуру клеточной стенки микробов.

Обработка антибиотиками перед взятием образца может привести к изменению окраски, даже вызывая окрашивание грамотрицательных бактерий как грамположительных.

Если для полоскания используется проточная водопроводная вода, имейте в виду, что сильно хлорированная вода может ослабить контрастное окрашивание.

Контроль качества

Рекомендуется использовать образцы QC, чтобы оценить соответствующее окрашивание компонентов образца. Каждая лаборатория должна разработать свою собственную схему контроля качества и корректирующие действия, если средства контроля не соответствуют установленным критериям.

Мы рекомендуем следовать методам контроля качества, определенным CLSI.

Для этого проводят контроль с помощью микроорганизмов ATCC или других ранее охарактеризованных контрольных штаммов.

Библиография

1. Clark, G. (1981) "Staining Procedures", 4th ed., Williams & Willkins.
2. Bartholomew, J. M., Mittwer, T. (1952), Bacteriol. Rev., 16, 1-29.
3. CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A
4. Young D.S., Effects of drugs on Clinical Lab. Test, 5th Ed. AACC Press (2000)

05.2020, Rev. 6.0

