

# METHYLENE BLUE LOEFFLER REAGENS

CE IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

## Kontrastna plava boja za primjenu u mikrobiologiji i histologiji

### Sastavni dio TB-Stain Hot kompleta

#### UPUTA ZA RUKOVANJE

<b>OSNOVNI UDI broj</b>	385889212HPC4080299MCKA				
<b>EMDN kód</b>	W0104080299				
<b>REF Kataloški broj</b>	<b>Volumen</b>	<b>UDI-DI broj</b>	<b>REF Kataloški broj</b>	<b>Volumen</b>	<b>UDI-DI broj</b>
MBL-OT-100	100 mL	03858888820558	MBL-OT-1L	1000 mL	03858890009385
MBL-OT-250	250 mL	03858888820565	MBL-OT-2.5L	2500 mL	03858890009972
MBL-OT-500	500 mL	03858888820572			



#### Namjena proizvoda i načelo testiranja

Mnoge bakterijske stanice lako se boje jednostavnim bojama ili Gram bojom. Međutim, nekoliko bakterijskih rodova, poput Mycobacteria i Nocardia, ne mogu se obojiti jednostavnim bojama ili, ako se oboje, rezultati se jako razlikuju. Stanične stijenke roda Mycobacteria sadrže voštanu tvar - mikoličnu kiselinu. To su β-hidroksi karboksilne kiseline lanaca duljine do 90 atoma ugljika. Svojstvo acidorezistentnosti povezuje se s dužinom lanca mikolične kiseline. Za bojenje takvih bakterijskih rodova potrebna je viša koncentracija boje ili duži period zagrijavanja. Međutim, kada se bakterije oboje, boju je još teže ukloniti iz stanice. Takve bakterije nazivaju se acidorazistentnima zbog toga što i nakon dekolorizacije kiselim alkoholom zadržavaju primarnu boju (Carbol Fuchsin). Rana laboratorijska dijagnoza tuberkuloze temelji se na pregledu obojenih razmaza, a odličan izbor među dijagnostičkim metodama predstavlja mikroskopiranje ispljuvka. Najpoznatija i danas najraširenija metoda za dokazivanje prisutnosti bakterija tuberkuloze je bojenje po Ziehl-Neelsenu. Ziehl-Neelsen metoda kao glavnu boju koristi Carbol fuchsin, kiseli alkohol kao sredstvo za dekolorizaciju i Methylene Blue otopinu kao kontrastnu, pozadinsku plavu boju. Methylene Blue Loeffler reagens komponenta je BioGnostovog TB-Stain HOT kompleta za bojenje prema Ziehl-Neelsen metodi pri čemu je njegova osnovna uloga da boji gotovo sve elemente bakterijskih stanica, ostalih stanica, tkiva i pozadine u blago lužnatom mediju osim acidorezistentnih bakterija koje ostaju obojene primarnom bojom (TB Carbol Fuchsin reagensom).

#### Opis proizvoda

- METHYLENE BLUE LOEFFLER REAGENS** – Otopina za bojenje u mikrobiologiji i histologiji

#### Primjer korištenja Methylene Blue Loeffler reagensa kao komponente TB-Stain HOT kompleta

#### Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- Predmetna i pokrovna stakla VitroGnost za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- Fiziološka otopina
- Ostale komponente TB-Stain HOT kompleta: TB Carbol Fuchsin reagens i TB Dekolorizator

#### Priprema uzorka za bojenje

- Pomoću sterilizirane mikrobiološke eze prenijeti uzorak na čisto predmetno staklo  
Napomena: Uzorak može biti ispljuvak, punkcijski uzorak, ili sediment ispljuvka
- Ravnomjerno raširiti uzorak po predmetnom staklu uz pomoć 1-2 kapi fiziološke otopine
- Nakon sušenja na zraku, fiksirati uzorak iznad plamena Bunsenovog plamenika kratko provlačeći predmetno staklo kroz konus plamena 2-3 puta  
Napomena: Uzorke je moguće fiksirati i u pećnici na 100°C do 110 °C kroz 20 minuta
- Ohladiti predmetno staklo i krenuti s postupkom bojenja  
Napomena: Ako je uzorak histološki preparat, obraditi uzorak klasičnim histološkim tehnikama

#### Postupak bojenja uzorka

#### NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat.

1.	Uzorke potpuno prekriti TB Carbol Fuchsin reagensom. Pažljivo zagrijavati predmetno staklo s uzorkom i bojom s donje strane stakla na Bunsenovom plameniku do isparavanja i održavati vrućim 5 minuta. Ne dozvoliti ključanje boje	<b>5 min</b>
2.	Ispirati vodovodnom vodom do obezbojenja vode	
3.	Uzorke uroniti u TB Dekolorizator i ostaviti da stoji 15-30 sekundi (ovisno o debljini uzorka)	<b>15-30 sek</b>
4.	Isprati vodovodnom vodom	
5.	Uzorke uroniti u Methylene Blue Loeffler reagens	<b>30 sek</b>
6.	Dobro isprati vodovodnom vodom	
7.	Osušiti preparat	

Preporučuje se upotreba imerzijskog ulja prilikom mikroskopske analize obojenog preparata pri povećanju objektiva od 100x.

#### Rezultat

Acidorezistentne bakterije - crvena boja

Neacidorezistentne bakterije, pozadina - plava boja

#### Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od postupka pripreme uzorka i postupka bojenja opisanih u ovoj Uputi za rukovanje, mogu uzrokovati razlike u rezultatima obojenja.

## Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, pripremu uzoraka i postupak bojenja i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se korištenje pozitivne i negativne kontrole.

Ukoliko tijekom upotrebe ovog proizvoda ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

## Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjernicama. Reagensi korišteni u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda, uputi za rukovanje te u sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.


## Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.












## Literatura

1. Harvey JW, Keitt AS (May 1983). "Studies of the efficacy and potential hazards of methylene blue therapy in aniline-induced methaemoglobinaemia". [Br J Haematol](#) 54 (1): 29–41
2. Madison B (2001). "Application of stains in clinical microbiology". *Biotech Histochem* 76 (3): 119–25.
3. Margaret A. Bartelt, 2000: Diagnostic Bacteriology: A Study Guide, F.A. Davis Company.

### Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:

	H226	Zapaljiva tekućina i para.
	P210	Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti.
	P233	Čuvati u dobro zatvorenom spremniku.
	P280	Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

MBL-IFU\_HRV16, 21.05.2026. iŠP

 Proizvođač	 Broj serije	 Pročitati priloženu uputu	 Europska sukladnost
 Datum proizvodnje	 Kataloški broj	 Oprez	 Jedinstvena identifikacija proizvoda
 Rok uporabe	 Temperaturno ograničenje	 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	

 **BioGnost d.o.o.**  
Međugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, [www.biognost.com](http://www.biognost.com)

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
16	Proširen sadržajni dio u podnaslovu „Namjena proizvoda i načelo testiranja“	08.04.2026.