

HEMATOKSILIN ML



IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

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

Modificirani hematoksilin po Mayer-Lillieu za bojenje jezgre

Reagens za progresivno i regresivno bojenje u histopatologiji

UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI broj	385889212HPC30708STARVF				
EMDN kód	W01030708				
REF Kataložki broj	Volumen	UDI-DI broj	REF Kataložki broj	Volumen	UDI-DI broj
HEMML-OT-100	100 mL	03858888821128	HEMML-OT-1L	1000 mL	03858888820022
HEMML-OT-500	500 mL	03858888821135	HEMML-OT-2.5L	2500 mL	03858888821142



Namjena proizvoda i načelo testiranja

BioGnostov Hematoksilin ML jedna je od formulacija hematoksilina koje se koriste u histopatologiji za precizno bojenje staničnih jezgara. Hematoksilin ML primjenjuje se progresivnom i regresivnom metodom u rutinskom hematoksilin-eozin (HE) bojenju u histologiji. Hematoksilin se dobiva ekstrakcijom iz kampehovog drva (*Haematoxylon campechianum L.*). Oksidacijom hematoksilina u hematein i vezanjem s metalnim ionima (mordantima) hematein postaje nezamjenjiva nuklearna boja. Pozitivno nabijeni kompleks hemateina i mordanta veže se s negativno nabijenim fosfatnim ionima jezgrine DNK dajući karakteristično plavo obojenje. Za razliku od hematoksilina po Mayeru, modifikacija po Mayer-Lillieu sadrži 5x veću koncentraciju hematoksilina, stabilizirana je glicerolom, a niska pH vrijednost doprinosi snažnoj selektivnosti boje prema kromatinu. Progresivnom metodom bojenja mikroskopski uzorci izlažu se djelovanju hematoksilina Mayer-Lillieu dovoljno dugo da oboji samo jezgru, dok se regresivnim bojenjem osim jezgre može obojiti i mucin. BioGnostov Hematoksilin ML daje izvanredne rezultate bojenja jezgrine membrane, nukleoplazme, jezgrice te mucina ukoliko se provodi regresivna metoda bojenja.

Opis proizvoda

- HEMATOKSILIN ML** – Reagens za progresivno i regresivno nuklearno bojenje u histopatologiji. Sadrži optimalno oksidirani hematoksilin s natrijevim jodatom, stabilizator glicerol i antioksidanse

Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovih neutralno puferiranih otopina formaldehida: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za bistrenje poput BioClear ksilena ili BioClear New supstituta ksilena na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount DPX New, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost predmetna i pokrovna stakla za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- Reagensi za bojenje citoplazme poput BioGnostovih otopina eozina
- Reagens za diferencijaciju poput BioGnostovog Kiselog alkohola
- Reagensi za plavljenje jezgri poput BioGnostovih Bluing reagensa ili Scottove otopine

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%) i procesirati
- Ukloniti tkivo u parafinski blok (BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue)
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo

Postupak ručnog* bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom, progresivno

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj/demineraliziranoj vodi	2 minute
5.	Bojenje Hematoksilinom ML	3-5 minuta
	Napomena: Ukoliko je došlo do taloženja u otopini ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebno prije upotrebe filtrirati	
6.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu do prestanka otpuštanja boje s preparata	
7.	Plavljenje jezgri Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju. U nedostatku Scottove otopine ili Bluing reagensa ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
8.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu	
9.	Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina uroniti preparate u 95%-tni alkohol (Histanol 95). Ukoliko se koristi vodena otopina eozina ovaj korak preskočiti	
10.	Bojenje jednom od kontrastnih otopina eozina do optimalnog obojenja preparata	15 sekundi do 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina preporuča 90 sekundi do 2 minute	
11.	Ispiranje pod tekućom vodom Napomena: Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina kao kontrastno bojenje, ovaj korak preskočiti.	2 minute
12.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
13.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
14.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

* Postupak automatskog bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom dostupan je u Uputi za korištenje BioGnostovih proizvoda Hem Diff, Hem Diff Strong i BioBluing pufer.

Postupak ručnog bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom, regresivno

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute

3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj/demineraliziranoj vodi	2 minute
5.	Bojenje Hematoksilinom ML	4-8 minuta
	Napomena: Ukoliko je došlo do taloženja u otopini ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebno prije upotrebe filtrirati	
6.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu do prestanka otpuštanja boje s preparata	
7.	Diferencijacija Kiselim alkoholom	3-10 urona
	Napomena: Ovim korakom uklanja se višak hematoksilina iz jezgre i citoplazme. Ako je preparat predugo tretiran sredstvom za diferencijaciju, može doći do obezbojenja jezgri.	
8.	Isprati u destiliranoj/demineraliziranoj vodi	
9.	Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju. U nedostatku Scottove otopine ili Bluing reagensna ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
10.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu	
11.	Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina uroniti preparate u 95%-tni alkohol (Histanol 95). Ukoliko se koristi vodena otopina eozina ovaj korak preskočiti	
12.	Bojenje jednom od kontrastnih otopina eozina do optimalnog obojenja preparata	15 sekundi do 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina preporuča 90 sekundi do 2 minute.	
13.	Ispiranje pod tekućom vodom Napomena: Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina kao kontrastno bojenje, ovaj korak preskočiti.	
14.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
15.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
16.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Jezgra - plava boja

Citoplazma, kolagen, mišićna vlakna, mucin - nijanse ružičaste boje (nijanse crvene boje kod bojenja Eozin Kontrastom)

Eritrociti - crvena boja

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od postupka bojenja opisanog u BioGnostovoj Uputi za korištenje, mogu uzrokovati razlike u rezultatima.

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, postupak bojenja i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Ukoliko tijekom upotrebe 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. Baker, J.R. (1962): Experiments on the action of mordants. 2. Aluminium-hematein. Q.J. Microsc. Sci. 103: 493-517.
2. Lillie, R.D. (1965): Histopathologic Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed., New York, McGraw-Hill Book Co.
3. Lillie, R.D. et Fullmer H.M. (1976): Histopathologic Technic and Practical Histochemistry, 4th ed., New York, McGraw-Hill Book Co.
4. Lillie, R.D. et al. (1976): Nuclear stains with soluble metachrome mordant lake dyes. Histochemistry 49: str. 23-35.
5. Mayer, P. (1904): Notiz über Hämatein und Hämalanin. Y. Wiss. Mikrosk., 20, str. 409-4011.

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

	H319	Uzrokuje jako nadraživanje oka.
	P280	Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
	P305 + P351 + P338	U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

HEMML-IFU_HRV16, 09.04.2026., IŠP

 Proizvođač	 Broj serije	 Pročitati priloženu uputu	 Europska sukladnost
 Datum proizvodnje	 Kataloški broj	 Opres	 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

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
16	Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR	09.04.2026.