

POUŽITÍ

Roztoky Gill Hematoxylin jsou nukleární barviva určená k použití v histologii a cytologii. Hematoxylinové roztoky, Gill č. 1, 2 a 3 jsou určeny k použití v "diagnostice in vitro".

Hematoxylin, běžné nukleární barvivo, se získává z kampaškového extraktu (Haematoxylon campechianum).¹ První úspěšná biologická aplikace hematoxylinu byla popsána Bohmerem¹ v roce 1865. Od té doby se objevila řada různých způsobů přípravy. Z nich si největší oblibu získaly úpravy HARRISE, GILLA, MAYERA a WEIGERTA. Před použitím hematoxylinu za účelem barvení jader je třeba ho okysličit na hematein a smístit s kovovými ionty (mořdlo). Nejlepšími mořdly jsou sole hlínku a železa.

Obecně se hematoxylin v závislosti na koncentraci barviva dělí na progresivní a regresivní. Progresivní barviva (např. Mayerův hematoxylin) mají nižší koncentraci barviva a selektivně barví jaderný chromatin. Požadovaná intenzita je dosažena v závislosti na času působení. Regresivní barviva (např., Harrisův hematoxylin) barví všechna jádra a cytoplazmatické struktury intenzivně. K odstranění správně chromatické odezvy je třeba odstranit zbytek barviva působením zředěné kyseliny (diferenciace).

Přípravek Gill č. 1 se používá jako progresivní cytologické barvivo, přípravek Gill č. 2 a č. 3 lze použít jako regresivní nebo progresivní barvivo v závislosti na délce času barvení. Tyto hematoxylinové roztoky jsou vyrobeny jako polookysličený hematoxylin; mořený hliníkem a stabilizovaný glykoly. Pozitivně nabitý komplex hlínku a hemateinu ve spojení s negativně nabitou fosfátovou skupinou nukleové DNA vytváří modro červené zbarvení charakteristické pro hematoxylin.

REAGENCIE

HEMATOXYLIN SOLUTION, GILL NO. 1, Katalogové č. GHS-1

Certifikovaný hematoxylin, 2 g/l, jodičnan sodný, 0,2 g/l, síran hlinitý, 17,6 g/l a stabilizátory.

HEMATOXYLIN SOLUTION, GILL NO. 2, Katalogové č. GHS-2

Certifikovaný hematoxylin, 4 g/l, jodičnan sodný, 0,4 g/l, síran hlinitý, 35,2 g/l a stabilizátory.

HEMATOXYLIN SOLUTION, GILL NO. 3, Katalogové č. GHS-3

Certifikovaný hematoxylin, 6 g/l, jodičnan sodný, 0,6 g/l, síran hlinitý, 52,8 g/l a stabilizátory.

ULOŽENÍ A STABILITA:

Reagencie skladujte v pokojové teplotě (18-26 °C), chráněné před světlem. Reagencie jsou stabilní po dobu použitelnosti uvedené na štítcích.

ZHORŠENÍ:

Zlikvidujte, pokud roztok zhnědne (oxidací vzduchem) nebo zrudne (ztráta kyselosti).

PŘÍPRAVA:

Hematoxylinové roztoky, Gill č. 1, 2 a 3 jsou dodávány připravené k okamžitému použití.

Substitut Scott's Tap Water se připraví zředěním 1 dílu koncentráту Scott's Tap Water Substitute se 9 díly deionizované vody.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagenty. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a bezpečnosti.

US Prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztoky Gill Hematoxylin Solutions jsou ŠKODLIVÉ. Škodlivý při požití. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy. Zasažené orgány: Játra a ledviny.

Reagenční alkohol je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy. Zasažené orgány: Nervy a játra.

Scott's Tap Water Substitute. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

Roztok pro diferenciaci ACCUMATE™ je ŽÍRAVÝ A HOŘLAVÝ. Způsobuje popáleniny. Používejte vhodné ochranné oděvy. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Zasažené orgány: Oči a ledviny.

Roztok alkoholu a eozínu, Papanicolaou Stain OG 6, roztoky Papanicolaou Stain (modifikováno EA, EA50 a EA65) jsou HOŘLAVÉ A ŠKODLIVÉ. Vysoce hořlavé. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a při požití. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Vodný roztok eozínu. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

EA modifikovaný roztok Gill Modified EA je HOŘLAVÝ A DRÁŽDIVÝ. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Toxický: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Zamezte kontaktu s kůží. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zasažené orgány: Nervy a oči.

Xylen je HOŘLAVÝ a ŠKODLIVÝ. Možné riziko poruch plodnosti. Může poškodit nenarozené dítě. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí dýchací systém a pokožku. Riziko vážného poškození očí. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou

pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Substitut xylenu je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. Zasažené orgány: Nervy a ledviny.

EU prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztoky Gill Hematoxylin Solutions jsou ŠKODLIVÉ. Škodlivý při požití. Dráždí oči. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Reagenční alkohol je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Scott's Tap Water Substitute. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

Roztok k diferenciaci ACCUMATE™ je TOXICKÝ. Hořlavý. Způsobuje popáleniny. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Roztok alkoholu a eozínu, Papanicolaou Stain OG 6, roztoky Papanicolaou Stain (modifikováno EA, EA50 a EA65) jsou VYSOCE HOŘLAVÉ A ŠKODLIVÉ. Vysoce hořlavé. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a při požití. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Vodný roztok eozínu. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

EA modifikovaný roztok Gill Modified EA je HOŘLAVÝ A TOXICKÝ. Vysoce hořlavé. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Xylen je ŠKODLIVÝ. Hořlavý. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí oči.

Substitut xylenu je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí.

POSTUP

ODBĚR VZORKŮ:

Doporučuje se provádět odběr vzorků v souladu s dokumentem M29-A2 směrnice NCCLS. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplné zajištění, že krevní vzorky nebo tkáň nebudou přenášet infekci. Proto všechny krevní deriváty nebo tkáňové vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční.

Standardní histologické návody poskytují potřebné údaje.^{2,3}

POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:

Roztok k diferenciaci ACCUMATE™ DIFFERENTIATING SOLUTION, katalogové č.

A 3179, A 3304 a A 3429

KONTRASTNÍ BARVIVA

(výběr závisí na vzorku a individuálních preferencích):

ROZTOK EOSIN Y, ALKOHOLOVÝ, katalogové č. HT110-1

ROZTOK EOSIN Y, VODNÝ, katalogové č. HT110-2

ROZTOK EOSIN Y, ALKOHOLOVÝ, katalogové č. HT110-3

PAPANICOLAOU STAIN OG 6, katalogové č. HT40-1

PAPANICOLAOU STAIN, modifikováno EA, katalogové č. HT40-2

PAPANICOLAOU STAIN EA 50, katalogové č. HT40-3

PAPANICOLAOU STAIN EA 65, katalogové č. HT40-4

GILL MODIFIED EA SOLUTION, katalogové č. 391-5

REAGENČNÍ ALKOHOL, katalogové č. R 8382

NEBO

ETHANOL, 100%

POZNÁMKA: Doporučuje se též zředěný (95%) reagenční alkohol nebo etanol.

SCOTT'S TAP WATER SUBSTITUTE CONCENTRATE, katalogové č. S 5134

XYLEN, katalogové č. 24,764-2

Substitut XYLENU SUBSTITUTE, katalogové č. A 5597

POZNÁMKY:

- Stanovené časy v tomto letáku jsou pouze přibližné. Individuální preference se mohou lišit a časy lze upravit podle vlastních priorit. Často používané roztoky barviv ztrácí sílu při barvení, proto je třeba prodloužit dobu působení a nebo je nahradit čerstvými roztoky.⁴
- Některá vodovodní voda je acidická a je nevhodná pro použití v části "modření" tohoto postupu. Je-li voda z vodovodu kyselá, použijte naředěný zásaditý roztok.
- Červené nebo červenohnědé zbarvení jader indikují nesprávné "modření".
- Nadměrné barvení eozínem může způsobit maskování barvení jader. Správné barvení eozínem vykazuje třibarevný efekt. Je-li třeba zvýšit diferenciaci eozínu, prodlužte časy v alkoholech nebo použijte první alkohol s vyšším obsahem vody. Pro správný stupeň barvení eozínem lze časy působení alkoholu upravit.
- Do každého cyklu musí být zařazena sklička s pozitivní kontrolou.
- Údaje získané z tohoto postupu slouží pouze jako diagnostická pomůcka a měly by se prověřit ve spojení s jinými klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

POSTUP 1:

(Barvení buněk ze stěrů použitím hematoxylinového roztoku za účelem jejich mikroskopického studia, Gill č. 1 nebo Gill č. 2)

1. Fixujte cytologické stěry v 95% ethanolu.....15 minut
2. Opláchněte opatrně pod tekoucí vodou.....30 sekund
3. Proveďte barvení v roztoku Hematoxylin, Gill č. 1 nebo Gill č. 2.....1,5-3 minuty
4. Opláchněte pod tekoucí vodou.
5. Scott's Tap Water Substitute.....15-60 sekund
6. Opláchněte pod tekoucí vodou.
7. Reagenční alkohol, 95%10 ponoření
8. Proveďte kontrastní barvení barvivem Papanicolaou Stain OG 6, katalogové č. HT40-1.....1,5 minuty
9. Reagenční alkohol, 95%10 ponoření
10. Papanicolaou Stain EA 50, katalogové č. HT40-3, **Nebo**
Papanicolaou Stain EA 65, katalogové č. HT40-4, **Nebo**
Papanicolaou Stain Modified EA 50, katalogové č. HT40-2, **Nebo**
Gill Modified EA, katalogové č. 391-52,5-3 minuty
11. Reagenční alkohol, 95%, dvakrát vyměnit.....10 ponoření každá lázeň
12. Reagenční alkohol, 100%, dvakrát vyměnit1 minuta každá lázeň
13. Xylen, dvakrát vyměnit2 minuty každá lázeň
14. Zakryjte krycím sklíčkem a prozkoumejte pod mikroskopem.

POSTUP 2:

(Hystologické barvení nebo barvení buněk ze stěrů použitím hematoxylinového roztoku za účelem jejich mikroskopického studia, Gill č. 2 nebo Gill č. 3)

1. Odstraňte parafín nebo fixujte a dehydratujte zmrazené řezy.
2. Proveďte barvení v roztoku Hematoxylin, Gill č. 2 nebo Gill č. 3.....1,5-3 minuty
3. Promyjte v tekoucí vodě.
4. Roztok pro diferenciaci ACCUMATE™20-60 sekund
5. Promyjte v tekoucí vodě.
6. Scottova náhražka tekoucí vody.....5-60 sekund
7. Promyjte v tekoucí vodě.
8. Kontrastní barvení:
Pro histologii
Roztok Eosin Y, alkoholový, katalogové č. HT110-1, **Nebo**
Roztok Eosin Y, vodný, katalogové č. HT110-2, **Nebo**
Roztok Eosin Y, alkoholový s floxinem, katalogové č. HT110-3.....30-60 sekund
Pro cytologii
Papanicolaou Stain OG 6, katalogové č. HT40-3, **A**
Papanicolaou Stain EA 50, katalogové č. HT40-3, **Nebo**
Papanicolaou Stain EA 65, katalogové č. HT40-4, **Nebo**
Papanicolaou Stain Modified EA 50, katalogové č. HT40-2, **Nebo**
Roztok Gill Modified EA, katalogové č. 391-51-3 minuty
9. Dehydratujte, očistěte a namontujte.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY:

Chromatin se barví modře až modro černě a tvar jadérek musí být zřetelný. Cytoplazmatické zbarvení hematoxylinovým roztokem Gill č. 1 a č. 2 by mělo být nezřetelné nebo žádné; z tohoto důvodu nemusí být potřebná diferenciacie. Roztok Gill č. 3 Hematoxylin Solution je třeba považovat za regresivní barvivo.



Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

REFERENCE

1. Natural Dyes. IN HJ Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD, 1977, pp 468, 472
2. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., DC Sheehan, BB Hrapchak, Editors, CV Mosby Co., St. Louis, MO, 1980
3. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., LG Luna, Editor, McGraw Hill, New York, 1968
4. Theory and Practice of Histological Techniques, Edited by Bancroft JD and Gamble, M, Churchill Livingstone, New York, 2002, p129

Sigma-Aldrich, Inc. garantuje, že její produkty se shodují s informacemi obsaženými v této a jiných publikacích Sigma-Aldrich. Kupující musí stanovit vhodnost produktu(ů) pro dané použití. Mohou platit dodatečné podmínky. Viz zadní strana faktury nebo útržek obalu, kde jsou uvedeny dodatky k prodejním podmínkám.

Postup č. GHS
Předchozí revize: 2003-04
Revidováno: 2003-09

  AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham, TW20 9BD Velká Británie

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765
Technické služby: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-3122
nebo e-mailujte na clintech@sial.com
Objednávky: 800-325-3010 nebo volejte na 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Německo 49-7329-970