

POUŽITÍ

Roztoky Harris Hematoxylin jsou nukleová barviva určená k použití v histologii a1 cytologii. Roztoky Harris Hematoxylin jsou určeny k "diagnostice in vitro."

Hematoxylin, běžné nukleární barvivo, se získává z kampaškového extraktu (Haematoxylin 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 oksylovat na hematein a smísit s kovovými ionty (mořidlo). Nejlepšími mořidly jsou sole hliníku a železa.

Hematoxylinové roztoky jsou regresivní barviva určená pro rutinní použití v histologii a cytologii. Pozitivně nabitý komplex hliníku a hemateinu ve spojení s negativně nabitou fosfátovou skupinou nukleové DNA vytváří modro červené zbarvení charakteristické pro hematoxylinová barviva.

Roztok Harris Hematoxylin lze též použít ve spojení s barvicím postupem Papanicolaou pro cytologické použití. Viz Sigma-Aldrich Postup č. HT40.

REAGENCIE

HARRIS HEMATOXYLIN SOLUTION, katalogové č. HHS

Certifikovaný hematoxylin, 7,0 g/l, jodičnan sodný, síran hlinito-amonný 12 H₂O, konzervační činidlo a stabilizátory.

ULOŽENÍ A STABILITA:

Reagencie skladujte v pokojové teplotě (18-26 °C), chráněné před světlem. Reagencie je stabilní do data použitelnosti, které je uvedeno na štítku.

ZHORŠENÍ:

Zlikvidujte, je-li potřeba neúměrně prodlužovat časy barvení nebo pokud roztok změní barvu ze švestkové modré do modré nebo hnědé.

PŘÍPRAVA:

Roztok Harris Hematoxylin Solution před použitím přefiltrujte.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagenciemi. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a1 bezpečnosti.

US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Zamezte kontaktu a vdechnutí roztoku Harris Hematoxylin Solution. Zasažené orgány: Srdece a nervy.

Reagenční alkohol je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádoby uchovávejte těsně uzavřené. Chraňte před zdrojem 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. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc.

Alkoholový roztok eozínu je HOŘLAVÝ A ŠKODLIVÝ. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a při požití. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Chraňte před zdrojem 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.

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. Chraňte před zdrojem 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).

Roztok kyseliny chlorovodíkové je TOXICKÝ. Při vdechnutí jedovatý. Způsobuje popáleniny. Dráždí dýchací systém. 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).

EU prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok Harris Hematoxylin Solution. Nevdechujte výpary. Zamezte kontaktu s kůží a očima.

Reagenční alkohol je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádoby uchovávejte těsně uzavřené. 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).

Alkoholový roztok eozínu je VYSOCE HOŘLAVÝ A ŠKODLIVÝ. Vysoce hořlavý. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a při požití. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Chraňte před zdrojem 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.

Xylen je ŠKODLIVÝ. Hořlavý. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí kůži. Zamezte kontaktu s očima.

Roztok kyseliny chlorovodíkové je ŽÍRAVÝ. Způsobuje popáleniny. Dráždí dýchací systém. 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).

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 ke sběru a skladování vzorků.^{2,3}

POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:

Roztok pro diferenciaci ACCUMATE™, katalogová č. A 3179 nebo A 3429

Kontrastní barvivo, roztok Eosin Y:

alkoholový, katalogové č. HT110-1

NEBO

vodný, katalogové č. HT110-2

NEBO

alkoholový s floxinem, katalogové č. HT110-3

Reagenční alkohol NEBO ethanol, 100 %

Scottův koncentrát jako náhrada vodovodní vody

Xylen

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková

Mikroskop, mikroskopická sklička, krycí sklička a barvicí nádoby

POZNÁMKY:

- Časy barvení lze měnit podle požadovaného odstínu.
- Místo náhrady vodovodní vody Scott's Tap Water Substitute lze použít jiné zředěné alkalické roztoky.
- Místo roztoku pro diferenciaci ACCUMATE™ lze použít 0,25% roztoku alkoholu a kyseliny. Připravuje se přidáním 0,25 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové do 100 ml 70% alkoholu.
- 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 "moření" tohoto postupu. Je-li voda z vodovodu kyselá, použijte naředěný zásaditý roztok.
- Červeně nebo červeno hnědé zbarvená jádra indikují nesprávné "moření".
- Nadměrné barvení eozinem může způsobit maskování barvení jader. Správné barvení eozinem vyžaduje třibarevný efekt. Je-li třeba zvýšit diferenciaci eozínem, prodlužte časy v alkoholech nebo použijte první alkohol s vyšším obsahem vody. Pro správný stupeň barvení eozinem lze časy působení alkoholů 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:

- Příprava 95% roztoku alkoholu přidáním 5 ml deionizované vody do 95 ml reagenčního alkoholu, č. R 8382 nebo ethanolu (100%).
- Roztok Scott's Tap Water Substitute solution připravte podle návodu na etiketě na láhvi.
- Odstraňte parafin nebo fixujte a dehydratujte zmrazené řezy.
- Proveďte barvení v roztoku Harris Hematoxylin Solution2,0 až 2,5 min.
- Opláchněte sklička pod tekoucí vodou.
- Roztok pro diferenciaci ACCUMATE™1-2 ponoření.
- Opláchněte sklička pod tekoucí vodou.
- Scottova náhradka tekoucí vody5-60 sek.
- Reagenční alkohol, 95%30 sek.
- Kontrastní barvivo, roztok Eosin Y:
alkoholový, katalogové č. HT110-1
NEBO
alkoholový s floxinem, katalogové č. HT110-330-60 sek.
- Dehydratujte, očistěte a namontujte.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY:

Chromatin v jádru musí být modrý. Tvar jadérek musí být zřetelný s jasnými konturami. Cytoplazma vykazuje různé odstíny růžové až růžovo oranžové barvy v závislosti na použitém kontrastním barvivu, RBC bude mít červenou barvu.

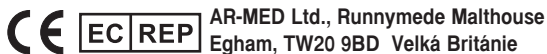
Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

REFERENCE

1. Natural Dyes, IN J Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens 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. HHS
Předchozí revize: 2003-03
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