

## POUŽITÍ

Mayerův hematoxylinový roztok se obvykle používá pro imunohistochemické nebo cytochemické barvení jako kontrastní jaderové barvivo. Lze ho rovněž použít pro standardní barvení hematoxylinem a eozinem (H&E), je však obvykle používán tam, kde by diferenciace kyselým alkoholem nebo expozice alkoholem mohla poničit zbarvené cytoplazmatické části.<sup>3</sup> Mayerův hematoxylinový roztok je připravován bez alkoholu a nebude tudíž rozpouštět AEC (3-amino-9-ethylkarbazol), alkalickou fosfatázu/ chromogen Fast Red nebo ani další rozpustné barevné produkty. Roztoky Mayer's Hematoxylin jsou určeny k "diagnostice in vitro".

Hematoxylin, běžné nukleární barvivo, se získává z kampaškového extraktu (Haematoxylin campechianum).<sup>1</sup> Mayer představil svůj způsob přípravy v roce 1903.<sup>2</sup> První úspěšná biologická aplikace hematoxylinu byla popsána Bohmerem<sup>1</sup> 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 smísit s kovovými ionty (mořidlo). Nejlepšími mořidly jsou soli hliníku a železa.

Obecně se hematoxyliny 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 delším časem. Nadměrné časy barvení mohou změnit funkci progresivního barviva na podobnou funkci regresivních barvicích roztoků. Barvení progresivními barvivami obvykle potřebuje delší časy působení než barvení regresivními barvivami. Regresivní barviva (např., Harrisův hematoxylin) barví všechny části tkání, které lze barvit intenzivně (jádra i cytoplazmu). K obdržení správné barevné odezvy je třeba odstranit zbytek barviva z tkáňového řezu. Po provedení správné diferenciaci, vykazují řádně odbarvené řezy nukleární zbarvení, avšak nebudou nabarveny cytoplazmatické struktury.

Posledním krokem postupu barvení s hematoxylinem je modření tkáňových řezů. Nejříve se tkáňové řezy zbarví do červená nebo tmavě červená. Po expozici alkalickými roztoky (teplá vodovodní voda [je-li lehce alkalická], zředěnou amonnou vodou, Scottovou náhražkou vodovodní vody nebo uhlíčanem lithia), tkáňové řezy dostanou charakteristickou modrou barvu hematoxylinem nabarvených sklíček.

## REAGENCIE

**Roztok MAYER'S HEMATOXYLIN SOLUTION**, katalogové č. MHS  
Certifikovaný hematoxylin (1,0 g/l), jodičnan sodný (0,2 g/l), síran hlinito-amonný: 12 H<sub>2</sub>O (50 g/l), chloralhydrát (50 g/l) a kyselina citrónová (1 g/l).

### 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. Nevracujte použitý roztok do původní láhve.

### ZHORŠENÍ:

Zlikvidujte, je-li potřeba neúměrně prodloužovat časy barvení nebo pokud roztok zhnědne.

### PŘÍPRAVA:

Roztok Mayer's Hematoxylin Solution před použitím přefiltrujte. Roztok je poté připraven k okamžitému použití.

### BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagenciami. 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

Roztok Mayer's Hematoxylin Solution je TOXICKÝ. Toxický 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 oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zasažené orgány: Nervy a játra.

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.

Scott's Tap Water Substitute. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná. Alkoholový roztok eozínu je HAŘLAVÝ 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. Udržujte mimo zdroj zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. 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 obličej / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

### EU prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok Mayer's Hematoxylin Solution je ŠKODLIVÝ. Škodlivý při požití. Reagenční alkohol je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysocí hořlavý. 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.

Scott's Tap Water Substitute. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná. Alkoholový roztok eozínu je VYSOCE HOŘLAVÝ a ŠKODLIVÝ. Vysocí 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 oči. Zamezte kontaktu s očima.

## 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.<sup>4,5</sup>

### POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:

Kontrastní barvivo, roztok Eosin Y:  
Alkoholový, katalogové č. HT110-1, vodný, katalogové č. HT110-2 nebo alkoholový s floxinem, katalogové č. HT110-3  
Reagenční alkohol NEBO ethanol, 100%  
Koncentrát Scott's Tap Water Substitute, katalogové č. S 5134  
Xylen nebo substitut xylynu  
Mikroskop, mikroskopická sklíčka, krycí sklíčka a barvicí nádoby

### POZNÁMKY:

1. 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.<sup>6</sup>
2. Místo teplé tekoucí vody lze použít naředěné alkalické roztoky. Tím se zkrátí doba potřebná pro barvicí proceduru. Používáte-li naředěné alkalické roztoky, nezapomeňte promýt sklíčka po dobu dalších 2-3 minut v tekoucí vodě, dříve než začnete s barvením pomocí eozínu.
3. Některá vodovodní voda je kyselá a je nevhodná pro použití v části "modření" tohoto postupu. Je-li voda z vodovodu kyselá, použijte naředěný zásaditý roztok.
4. Červená nebo červenohnědá zbarvená jádra indikují nesprávné "modření".
5. Nadměrné barvení eozinem může způsobit maskování barvení jader. Správné barvení eozinem 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 eozinem lze časy působení alkoholů upravit.
6. Filtrujte pracovní barvicí roztok denně. Rotujte substituty alkoholu a substitut xylynu denně.
7. Přidávání nové šarže do vyčerpaného pracovního roztoku Mayerova hematoxylinu nebo eozínu se nedoporučuje.
8. Zamezte přetékání nadměrného množství vody do Mayerova hematoxylinu.
9. Do každého cyklu musí být zařazena sklíčka s pozitivní kontrolou.
10. 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 HEMATOXYLINEM A EOZÍNEM

1. Příprava 95% roztoku alkoholu přidáním 5 ml deionizované vody do 95 ml reagenčního alkoholu, č. R 8382 nebo ethanolu (100%).
2. Odstraňte parafin nebo fixujte a hydratujte zmrazené řezy.
3. Proveďte barvení v roztoku Mayer's Hematoxylin Solution .....15 minut
4. Opláchněte pod teplou tekoucí vodou. ....15 minut
5. Vložte do destilované vody .....30 sekund
6. Pokud je použit alkoholový eozin:  
Vložte do reagenčního alkoholu, 95% .....30 sekund
7. Umístěte do kontrastního barviva, roztok Eosin Y:  
alkoholový, katalogové č. HT110-1  
vodný, katalogové č. HT110-2  
alkoholový s floxinem, katalogové č. HT110-3 .....30-60 sekund
8. Dehydratujte a očistěte vždy ve 2 lázních  
95% reagenčního alkoholu, absolutního reagenčního alkoholu a xylynu ....2 minuty každá lázeň
9. Montujte pryskyřičným montážním médiem.

### POSTUP 2:

#### KONTRASTNÍ BARVENÍ JADER PRO SPECIÁLNÍ BARVIVA

1. Dokončete konkrétní barvicí proceduru.
2. Opláchněte v deionizované vodě
3. Proveďte barvení v roztoku Mayer's Hematoxylin Solution, 1-5 minut.
4. Ochrňte v tekoucí vodě nebo naředěném alkalickém roztoku, až se jádra zbarví do modra.
5. Opláchněte v deionizované vodě

6. Je-li některá část barviva rozpustná v alkoholu, namontujte vodným montážním médiem. Jestliže barvivo je v alkoholu nerozpustné, dehydratujte v alkoholu, očistěte v xyleny nebo substitutu xyleny a namontujte v pryskyřičném montážním médiu.

---

## CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

---

### OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Chromatin v jádru musí být modrý. Tvary jadérek musí být viditelné. Cytoplazma vykazuje různé odstíny růžové až růžovo oranžové barvy (v závislosti na použitém kontrastním barvivu) a RBC budou mít červenou barvu.

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

---

### REFERENCE

---

1. Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens Co., Baltimore (MD), pp 468, 472, 1977
2. Mayer P, (1903) Notiz über Hämatein und Hämalan. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, 20, 409
3. Theory and Practice of Histological Techniques, 2nd ed., Bancroft JD and Stevens A, Editors, Churchill Livingstone, New York (NY), page 111, 1982
4. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Sheehan DC, Hrapchak BB, Editors, CV Mosby Co, St Louis (MO) 1980
5. Laboratory Methods in Histotechnology of the Armed Forces Institute of Pathology, 4th ed., Prophet EB, Mills B, Arrington JB and Sobin LH, Editors, American Registry of Pathology, Washington DC 1992
6. 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. MHS  
Předchozí revize: 2003-05  
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](mailto:clintech@sial.com)

Objednávky: 800-325-3010 nebo volejte na 314-771-5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Německo 49-7329-970