

## TILSIGTET ANVENDELSE

Mayers hematoxylinopløsning anvendes normalt efter immunhistokemisk eller cytochemisk farvning som et nukleart kontrastfarvestof. Stoffet kan også anvendes til almindelig hematoxylin- og eosinfarvning (H&E), men det anvendes almindeligvis, når der er risiko for, at syrealkoholdifferentiering eller udsættelse for alkohol ødelægger den farvede cytoplasmakomponent.<sup>3</sup> Mayers hematoxylinopløsning fremstilles uden alkohol og opløser således ikke AEC (3-amino-9-ethylcarbazol), alkalifosfatase/fast rødt chromogen eller andre opløselige farvede produkter. Mayers hematoxylinopløsninger er til in vitro diagnostisk brug.<sup>1</sup>

Hematoxylin, et almindeligt kernefarvestof, isoleres fra en ekstrakt af blåtræ (haematoxylon campechianum).<sup>1</sup> Den første vellykkede biologiske anvendelse af hematoxylin blev beskrevet af Bohmer<sup>1</sup> i 1865. Mayers formulering blev introduceret i 1903. Siden da er der fremkommet adskillige formuleringer. Ud af disse er Harris', Gills, Mayers og Weigerts blevet populære. Hematoxylin skal oxideres til hematein og bindes med en metallisk ion (bejdsestof), inden det kan anvendes som kernefarvestof. De mest vellykkede bejdsestoffer har været aluminiums- og jernsalte.

Hematoxylin klassificeres generelt som progressive eller regressive på basis af farvestofkoncentration. Progressive farvestoffer (f.eks. Mayers hematoxylin) har lavere farvestofkoncentration og farver kernekromatin selektivt uden at farve cytoplasmiske strukturer. Den ønskede intensitet er en tidsfaktor. Ved for lang farvningstid kan et progressivt farvestof reagere meget lig en regressiv farvestofopløsning. Farvning med progressive farvestoffer tager normalt mere tid end farvning med regressive farvestoffer. Regressive farvestoffer (f.eks. Harris' hematoxylin) farver alle vævskomponenter (nukleare og cytoplasmiske), der kan farves, kraftigt. For at der kan opnås korrekt farvningsrespons, skal overskudsfarvestof fjernes fra vævssnittene. Efter tilstrækkelig differentiering viser et korrekt affarvet snit kernefarvning, men farver ikke cytoplasmiske strukturer.

Det endelige trin i hematoxylinfarvning er "blåning" af vævssnittet. Vævssnit får først enten en lilla eller rødlig farve. Efter at være blevet udsat for alkaliopløsninger (varmt vandværksvand [hvis det er lettere alkalisk], fortyndet ammoniakvand, Scotts vand eller lithiumcarbonat), får vævssnittet den karakteristiske blå farve som et hematoxylinfarvet objektglas.

## REAGENS

**MAYERS HEMATOXYLINOPLØSNING**, katalognr. MHS

Certificeret hematoxylin (1,0 g/l), natriumjodat (0,2 g/l), aluminiumammoniumsulfat-12 H<sub>2</sub>O (50 g/l), chloralhydrat (50 g/l) og citronsyre (1 g/l).

### OPBEVARING OG STABILITET:

Reagenset opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C) beskyttet mod lys. Reagenset er stabilt indtil udløbsdatoen, som er angivet på etiketten. Brugt opløsning må ikke hældes tilbage i flasken.

### FORRINGELSE:

Skal kasseres, hvis farvningstiden bliver meget lang, eller opløsningen bliver brun.

### KLARGØRING:

Filtrer Mayers hematoxylinopløsning inden hver brug. Opløsningen er så klar til brug.

### FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatabladet for opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

### Amerikanske risiko- og sikkerhedsoplysninger

Mayers hematoxylinopløsning er GIFTIG. Giftig ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Målorganer: nerver og lever.

Reagensalkohol er BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Beholderen skal være tæt tillukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Scotts vand. Forsigtig: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Alkoholholdige eosinopløsninger er BRÆNDBARE og SUNDHEDSSKADELIGE. Farlig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Farlig: mulighed for varig skade for helbred ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Vandig eosinopløsning. Forsigtig: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Xylen er BRÆNDBAR og SUNDHEDSSKADELIG. Risiko for nedsat frugtbarhed. Kan forårsage fosterskader. Farlig ved indånding og ved hudkontakt. Irriterer åndedrætsorganerne og huden. Risiko for alvorlig øjenskade. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

### Risiko- og sikkerhedsoplysninger i EU

Mayers hematoxylinopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indtagelse.

Reagensalkohol er MEGET BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Meget brandfarlig. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Beholderen skal være tæt tillukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Scotts vand. Forsigtig: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Alkoholholdige eosinopløsninger er MEGET BRÆNDBARE og SUNDHEDSSKADELIGE. Meget brandfarlig. Farlig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Farlig: mulighed for varig skade for helbred ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Vandig eosinopløsning. Forsigtig: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Xylen er SUNDHEDSSKADELIG. Brændbar. Farlig ved indånding og ved hudkontakt. Irriterer huden. Undgå kontakt med øjne.

## PROCEDURE

### PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29-A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøver eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver behandles som potentielt infektiøse.

Der henvises til standardhistologilitteratur ang. nødvendige detaljer vedr. prøveindsamling og -opbevaring.<sup>4,5</sup>

### SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER:

Eosin Y-opløsning (kontrastfarvestoffer):

Alkoholholdig, katalognr. HT110-1, vandig, katalognr. HT110-2, eller alkoholholdig med phloxin, katalognr. HT110-3

Reagensalkohol ELLER ethanol, 100 %

Scotts vandkoncentrat, katalognr. S 5134

Xylen eller syntetisk xylen

Mikroskop, mikroskopobjektglas, dækglass og farvningssskåle

### BEMÆRKNINGER:

1. Tidsangivelserne på indlæggssedlen er omtrentlige. Individuelle præferencer varierer, og tidsfaktoren kan tilpasses derefter. Farvestofopløsninger, der anvendes meget, mister deres farvningskraft, så farvningstiden skal forlænges, eller der skal anvendes nye opløsninger.<sup>6</sup>
2. Der kan anvendes fortyndede alkaliopløsninger i stedet for varmt rindende vandværksvand. Derved afkortes den tid, det tager at udføre farvningsproceduren. Hvis der anvendes fortyndet alkaliopløsning, skal objektglassene vaskes 2–3 minutter mere i rindende vandværksvand, inden der fortsættes med eosinfarvning.
3. Visse steder er vandværksvand surt og uegnet til brug i "blåningsdelen" af denne procedure. Hvis vandværksvandet er surt, skal der anvendes en fortyndet alkaliopløsning.
4. Lilla eller rødbrune nuklei er tegn på utilstrækkelig "blåning".
5. Hvis eosinfarvning er for kraftig, kan kernefarvning blive maskeret. Korrekt eosinfarvning er 3-tonet. Eosindifferentiering øges ved at forlænge tiden i alkoholer eller anvende en første alkohol med højere vandhold. Tiderne i alkoholerne kan justeres, så der opnås korrekt eosinfarvningsgrad.
6. Filtrer arbejdsfarveopløsningen hver dag. Roter alkoholer og xylen/syntetisk xylen hver dag.
7. Det anbefales ikke at tilsætte ny opløsning til brugte arbejdsopløsninger af Mayers hematoxylin eller eosin.
8. Pas på, der ikke kommer for meget vand med over i Mayers hematoxylin.
9. Der bør inkluderes positive kontrolobjektglas i hver kørsel.
10. De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

### PROCEDURE 1:

#### HEMATOXYLIN- OG EOSINFARVNING

1. Lav en 95 % alkoholopløsning ved at tilsætte 5 ml deioniseret vand til 95 ml reagensalkohol, nr. R 8382, eller ethanol (100 %).
2. Deparaffiner til vand, eller fikser og hydrer frosne snit.
3. Farv med Mayers hematoxylinopløsning ..... 15 minutter
4. Skyl i varmt rindende vandværksvand ..... 15 minutter
5. Anbring i destilleret vand ..... 30 sekunder
6. Ved anvendelse af alkoholholdig eosin:  
Anbring i reagensalkohol, 95 % ..... 30 sekunder
7. Anbring i eosin Y-opløsning (kontrastfarvestof):  
Alkoholholdig, nr. HT110-1  
Vandig, nr. HT110-2  
eller alkoholholdig med phloxin, nr. HT110-3 ..... 30–60 sekunder
8. Dehydrer og klar via 2 skift hver med  
95 % reagensalkohol, absolut reagensalkohol og xylen ..... 2 minutter hver
9. Monter med harpiksmønteringsmedie.

### PROCEDURE 2:

#### NUKLEAR KONTRASTFARVE TIL SÆRLIGE FARVESTOFFER

1. Udfør individuel farvningsprocedure.
2. Skyl i deioniseret vand.
3. Farv med Mayers hematoxylinopløsning i 1–5 minutter.
4. Skyl i rindende vandværksvand eller fortyndet alkaliopløsning, til nuklei er blå.
5. Skyl i deioniseret vand.

6. Hvis en del af farvestoffet opløses i alkohol, monteres det i vandig monteringsmedie.  
Hvis farvestoffet ikke opløses i alkohol, dehydreres det i alkohol, klares i xylen eller syntetisk xylen og monteres i harpiksmonteringsmedie.

---

## RESULTATKARAKTERISTIKA

---

### FORVENTEDE RESULTATER

Kernekromatin skal være blå. Nucleoli skal være synlige. Cytoplasma udviser forskellige lyserøde til lyserød-orange nuancer (afhængigt af hvilket kontrastfarvestof, der anvendes), og røde blodlegemer er røde.

Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes for yderligere hjælp.

---

## HENVISNINGER

---

1. Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkins 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. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel for yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedure nr. MHS  
Tidligere revision: 2003-05  
Revideret: 2003-09



**AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse**  
Egham, TW20 9BD Storbritannien

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765  
Teknisk service: +1 314 771 3122  
eller e-mail [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Bestilling: +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

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