

VERWENDUNGSZWECK

Die Gill Hämatoxylin-Lösungen sind Zellkernfärbemittel für die Verwendung in der Histologie und der Zytologie. Hämatoxylin-Lösungen, Gill 1, 2 und 3 sind für die "In-vitro-Diagnostik" bestimmt.

Hämatoxylin, ein allgemeines Zellkernfärbemittel, wird aus einem Blauholzextrakt isoliert (Haematoxylon campechianum). Die erste erfolgreiche biologische Anwendung von Hämatoxylin wurde 1865 von Bohmer¹ beschrieben. Danach erschienen mehrere Formulierungen. Zu den bekanntesten gehören Harris², Gills, Mayers und Weigerts. Bevor Hämatoxylin als Zellkernfärbemittel benutzt werden kann, muss es zu Hämatein oxidiert und mit einem metallischen Ion (Beizmittel) kombiniert werden. Die meisten erfolgreichen Beizmittel sind Aluminium- oder Eisensalze.

Im Allgemeinen werden die Hämatoxyline als progressiv oder regressiv, entsprechend ihrer Färbemittelkonzentration, eingestuft. Progressive Färbemittel (z.B. Mayers Hämatoxylin) haben eine niedrigere Färbemittelkonzentration und färben gezielt Zellkern-Chromatin. Die gewünschte Intensität hängt von der Zeit ab. Regressive Färbemittel (z.B. Harris Hämatoxylin) färben alle nukleären und zytoplasmatischen Strukturen intensiv. Um eine korrekte chromatische Reaktion zu erzielen, müssen sämtliche Farbüberschüsse durch Behandlung mit verdünnter Säure (Differenzierung) entfernt werden.

Die Formulierung Gill Nr. 1 wird als progressives Zytologie-Färbemittel verwendet, die Formulierungen Gill Nr. 2 und Nr. 3 können als progressive oder regressive Färbemittel, je nach Färbedauer, verwendet werden. Diese Hämatoxylin-Lösungen werden als halboxidiertes Hämatoxylin, mit einer Aluminiumbeize und mit Glykol stabilisiert, hergestellt. Der positiv geladene Aluminium-Hämatein-Komplex bindet sich an die negativ geladenen Phosphatgruppen der nukleären DNS und formt die blau-violetten Farbmerkmale der Hämatoxylin-Färbemittel.

REAGENZIEN

HÄMATOXYLIN-LÖSUNG, GILL Nr. 1, Bestell-Nr. GHS-1

Zertifiziertes Hämatoxylin, 2 g/l, Natriumjodat, 0,2 g/l, Aluminiumsulfat, 17,6 g/l, und Stabilisatoren.

HÄMATOXYLIN-LÖSUNG, GILL Nr. 2, Bestell-Nr. GHS-2

Zertifiziertes Hämatoxylin, 4 g/l, Natriumjodat, 0,4 g/l, Aluminiumsulfat, 35,2 g/l, und Stabilisatoren.

HÄMATOXYLIN-LÖSUNG, GILL Nr. 3, Bestell-Nr. GHS-3

Zertifiziertes Hämatoxylin, 6 g/l, Natriumjodat, 0,6 g/l, Aluminiumsulfat, 52,8 g/l, und Stabilisatoren.

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Die Reagenzien bei Raumtemperatur (18–26 °C) und vor Licht geschützt aufbewahren. Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PRODUKTVERFALL:

Die Lösung entsorgen, falls sie sich braun (durch Luft überoxidiert) oder violett (Verlust des Säuregehalts) verfärbt.

VORBEREITUNG:

Hämatoxylin-Lösungen, Gill 1, 2 und 3, sind gebrauchsfertig.

Der Scott-Leitungswasserersatz wird durch Verdünnung eines Volumens von Scotts Leitungswasserersatz-Konzentrat mit 9 Volumina entionisiertem Wasser zubereitet.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

US -Gefahren- und Sicherheitsangaben

Die Gill Hämatoxylin-Lösungen sind SCHÄDLICH. Beim Verschlucken schädlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Leber und Nieren.

Reagenz-Alkohol ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Nerven und Leber.

Scotts Leitungswasserersatz. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Die ACCUMATE™ Differenzierungslösung ist ÄTZEND und ENTZÜNDLICH. Verursacht Verätzungen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Zielorgane: Augen und Nieren.

Alkoholische Eosinlösungen, Papanicolaou-Färbemittel OG 6, Papanicolaou-Färbelösungen (modifiziert EA, EA50 und EA65) sind ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Hochentzündlich. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Schädlich: Irreversible Schäden möglich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Wässrige Eosinlösung. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Die EA modifizierte Gill-Lösung ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen, Atmungssystem und

Haut. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Hautkontakt vermeiden. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Zielorgane: Nerven und Augen.

Xylen ist ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Mögliches Risiko einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit. Schädigungen des ungeborenen Kindes möglich. Schädlich bei Einatmen und beim Kontakt mit der Haut. Reizt die Atemwege und die Haut. Gefahr erster Augenschäden. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Xylen-Ersatz ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Zielorgane: Nerven und Nieren.

EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Die Gill Hämatoxylin-Lösungen sind SCHÄDLICH. Bei Verschlucken schädlich. Reizt die Augen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Reagenz-Alkohol ist HOCHENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Scotts Leitungswasserersatz. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Die ACCUMATE™ Differenzierungslösung ist TOXISCH. Entzündlich. Verursacht Verätzungen. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Alkoholische Eosinlösungen, Papanicolaou-Färbemittel OG 6, Papanicolaou-Färbelösungen (modifiziert EA, EA50 und EA65) sind HOCHENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Hochentzündlich. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Schädlich: Irreversible Schäden möglich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Wässrige Eosinlösung. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Die Gill-Lösung, modifiziert EA, ist HOCHENTZÜNDLICH und TOXISCH. Hochentzündlich. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Xylen ist SCHÄDLICH. Entzündlich. Schädlich bei Einatmen und Kontakt mit der Haut. Reizt die Haut.

Xylen-Ersatz ist HOCHENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen.

VERFAHREN

PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Die notwendigen Einzelheiten sind Standard-Histologiewerken zu entnehmen.^{2,3}

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN: ACCUMATE™ DIFFERENZIERUNGS-LÖSUNG, Bestell-Nr. A 3179, A 3304 und A 3429

GERÄTEFÄHIGKEITEN

(die Wahl hängt von der Probe und persönlichen Vorlieben ab):

EOSIN Y LÖSUNG, ALKOHOLISCH, Bestell-Nr. HT110-1

EOSIN Y LÖSUNG, WÄSSRIG, Bestell-Nr. HT110-2

EOSIN Y LÖSUNG, ALKOHOLISCH MIT PHLOXIN, Bestell-Nr. HT110-3

PAPANICOLAOU-FÄRBEMITTEL OG 6, Bestell-Nr. HT40-1

PAPANICOLAOU-FÄRBEMITTEL, Modifiziert EA, Bestell-Nr. HT40-2

PAPANICOLAOU-FÄRBEMITTEL EA 50, Bestell-Nr. HT40-3

PAPANICOLAOU-FÄRBEMITTEL EA 65, Bestell-Nr. HT40-4

GILL-LÖSUNG MODIFIZIERT EA Bestell-Nr. 391-5

REAGENZALKOHOL, Bestell-Nr. R 8382

ODER

ETHANOL, 100 %

HINWEIS: Es ist eine Verdünnung (95 %) von Reagenzalkohol oder Ethanol erforderlich.

SCOTT'S LEITUNGSWASSERERSATZ-KONZENTRAT, Bestell-Nr. S 5134

XYLEN Bestell-Nr. A 24..764-2

XYLEN-ERSATZ, Bestell-Nr. A 5597

HINWEISE:

- Die in der Packungsbeilage angegebenen Zeiten sind Richtwerte. Die persönlichen Vorlieben können unterschiedlich sein und die Zeiten den persönlichen Vorlieben angepasst werden. Färbelösungen, die oft verwendet werden, verlieren ihre Färbekraft; deshalb sollte die Färbedauer verlängert oder eine neue Lösung verwendet werden.⁴
- Einige Leitungswasserzusätze sind säurehaltig und eignen sich deshalb nicht für die "Blaufärbung" dieses Verfahrens. Falls das Leitungswasser säurehaltig ist, eine verdünnte alkalische Lösung verwenden.

3. Violette oder rot-braune Kerne weisen auf eine mangelhafte "Blaufärbung" hin.
4. Falls die Eosinfärbung übermäßig ausfällt, kann die Zellkernfärbung maskiert sein. Eine korrekte Eosinfärbung weist einen 3-Ton-Effekt auf. Die Eosindifferenzierung kann durch eine Verlängerung der Zeit im Alkohol oder durch die Verwendung eines erstgradigen Alkohols mit einem höheren Wassergehalt erhöht werden. Die Zeiten im Alkohol können angepasst werden, um den entsprechenden Grad der Eosinfärbung zu erreichen.
5. In jedem Durchlauf sollten positive Objektträger-Kontrollen getestet werden.
6. Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

VERFAHREN 1:

(Färbung exfoliativer Zytologie-Präparate mit Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 1 oder Gill Nr. 2)

1. Die Zellabstriche in 95 % Ethanol fixieren.....15 Minuten
2. Unter langsam fließendem Leitungswasser spülen.....30 Sekunden
3. In Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 1 oder Gill Nr. 2 färben.....1,5–3 Minuten
4. Unter fließendem Leitungswasser spülen.
5. Scotts Leitungswasserersatz.....15–60 Sekunden
6. Unter fließendem Leitungswasser spülen.
7. Reagenz-Alkohol, 95 %10 x eintauchen
8. In Papanicolaou-Färbemittel, OG 6, Bestell-Nr. HT40-1, gegenfärben.....1,5 Minuten
9. Reagenz-Alkohol, 95 %10 x eintauchen
10. Papanicolaou-Färbemittel EA 50, Bestell-Nr. HT40-3, **Oder**
Papanicolaou-Färbemittel EA 65, Bestell-Nr. HT40-4, **Oder**
Papanicolaou-Färbemittel modifiziert EA, Bestell-Nr. HT40-2, **Oder**
Gill, modifiziert EA, Bestell-Nr. 391-5.....2,5–3 Minuten
11. Reagenz-Alkohol, 95 % zwei Mal wechselnje 10 x eintauchen
12. Reagenz-Alkohol, 100 % zwei Mal wechseln.....je 1 Minute
13. Xylen, zwei Mal wechselnje 2 Minuten
14. Ein Deckglas auflegen und unter dem Mikroskop untersuchen.

VERFAHREN 2:

(Histologie- und/oder Zytologie-Färbung mit Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 2 oder Gill Nr. 3)

1. Zu Wasser deparaffinieren oder die gefrorenen Schnitte fixieren und dehydrieren.
2. In Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 2 oder Gill Nr. 3 färben.....1,5–3 Minuten
3. Mit Leitungswasser waschen.
4. ACCUMATE™ Differenzierungslösung20–60 Sekunden
5. Mit Leitungswasser waschen.
6. In Scotts Leitungswasserersatz blaufärben.....5–60 Sekunden
7. Mit Leitungswasser waschen.
8. Gegenfärbung:
Für die Histologie:
Eosin Y Lösung, alkoholisch, Bestell-Nr. HT110-1, **Oder**
Saure Eosin Y Lösung, wässrig, Bestell-Nr. HT110-2, **Oder**
Eosin Y Lösung, alkoholisch, mit Phloxin, Bestell-Nr. HT110-3.....30–60 Sekunden
Für die Zytologie
Papanicolaou-Färbemittel OG 6, Bestell-Nr. HT40-3, **Und**
Papanicolaou-Färbemittel EA 50, Bestell-Nr. HT40-3, **Oder**
Papanicolaou-Färbemittel EA 65, Bestell-Nr. HT40-4, **Oder**
Papanicolaou-Färbemittel, EA modifiziert, Bestell-Nr. HT40-2, **Oder**
Gill-Lösung, EA modifiziert, Bestell-Nr. 391-5.....1–3 Minuten
9. Dehydrieren, reinigen und fixieren.

LEISTUNGSMERKMALE

ERWARTETE ERGEBNISSE:

Chromatin erscheint blau bis blau-schwarz, und die Kerne sollten deutlich sichtbar sein. Mit den Hämatoxylin-Lösungen Gill 1 und 2 sollte die Färbung des Zytoplasmas nur schwach oder überhaupt nicht vorhanden sein; deshalb ist eine Säuredifferenzierung nicht unbedingt notwendig. Die Gill Nr. 3 Hämatoxylin-Lösung sollte als regressives Färbemittel betrachtet werden.

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

LITERATURANGABEN

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. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. GHS
Vorherige Ausgabe: 2003-04
Revidiert: 2003-09



SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122
oder Email an clintech@sial.com
Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970