

VERWENDUNGSZWECK

Die Harris Hämatoxylin-Lösungen sind Zellkernfärbemittel für die Verwendung in der Histologie und der Zytologie. Die Harris Hämatoxylin-Lösungen sind für die "In-vitro-Diagnostik" bestimmt.

Hämatoxylin, ein allgemeines Zellkernfärbemittel, wird aus einem Blauholzextrakt isoliert (Haematoxylon campechianum).¹ Die erste erfolgreiche biologische Anwendung von Hämatoxylin wurde 1865 von Bohmer¹ beschrieben. Danach erschienen mehrere Formulierungen. Zu den bekanntesten gehören Harris', 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.

Hämatoxylin-Lösungen sind regressive Färbemittel zur routinemäßigen Verwendung in der Histologie und Zytologie. Der positiv geladene Aluminium-Hämatein-Komplex bindet sich an die negativ geladene Phosphatase der nukleären DNS und formt die blau-violetten Farbmerkmale der Hämatoxylin-Färbemittel.

Harris Hämatoxylin-Lösung kann auch zusammen mit den Papanicolaou-Färbeverfahren für zytologische Anwendungen verwendet werden. Siehe Sigma-Aldrich Verfahren Nr. HT40

REAGENZ

HARRIS HÄMATOXYLIN-LÖSUNG, Bestell-Nr. HHS

Zertifiziertes Hämatoxylin, 7,0 g/dl, Natriumjodat, Aluminiumammoniumsulfat 12 H₂O, Konservierungsmittel und Stabilisatoren.

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Reagenz bei Raumtemperatur (18–26 °C) und vor Licht geschützt aufbewahren. Reagenz ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

PRODUKTVERFALL:

Die Lösung entsorgen, falls der Färbeprogang zu lange dauert oder sich die Lösung von pflaumenblau zu blau oder braun verfärbt.

VORBEREITUNG:

Die Harris Hämatoxylin-Lösung vor jeder Verwendung filtern.

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

Kontakt mit und Einatmen der Harris Hämatoxylin-Lösung vermeiden. Zielorgane: Herz und Nerven.

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.

Alkoholische Eosinlösungen sind ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Schädlich: Irreversible Schäden möglich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. 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.

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).

Die Salzsäurelösung ist TOXISCH. Bei Einatmen toxisch. Verursacht Verätzungen. Reizt die Atemwege. 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).

EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Harris Hämatoxylin-Lösung. Dämpfe nicht einatmen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.

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 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.

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

Die Salzsäurelösung ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Reizt die Atemwege. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

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 zur Probenahme und Aufbewahrung sind Standard-Histologiewerken zu entnehmen.^{2,3}

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

ACCUMATE™ Differenzierungslösung, Bestell-Nr. A 3179 oder A 0561.

Eosin Y Lösung Gegenfärbemittel:

Alkoholisch, Bestell-Nr. HT110-1

ODER

Wässrig, Bestell-Nr. HT110-2

ODER

Alkoholisch mit Phloxin, Bestell-Nr. HT110-3

Reagenzalkohol ODER Ethanol, 100 %

Scotts Leitungswasserersatz-Konzentrat

Xylen

Salzsäure, konzentriert

Mikroskop, mikroskopische Objektträger, Deckgläser und Färbeschalen.

HINWEISE:

- Die Färbedauer kann sich je nach persönlichen Farbvorlieben unterscheiden.
- Es können andere verdünnte Alkalilösungen anstelle von Scotts Leitungswasserersatz verwendet werden.
- Es kann eine 0,25 % saure Alkohollösung anstelle der ACCUMATE™ Differenzierungslösung verwendet werden. Durch Zugabe von 0,25 ml konzentrierter Salzsäure zu 100 ml 70 % Alkohol zubereiten.
- Die in der Packungsbeilage angegebenen Zeiten sind Richtwerte. Die persönlichen Vorlieben können unterschiedlich sein und die Zeiten können 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 Alkalilösung verwenden.
- Violette oder rot-braune Kerne weisen auf eine mangelhafte "Blaufärbung" hin.
- 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.
- In jedem Durchlauf sollten positive Objektträger-Kontrollen getestet werden.
- 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:

- Eine 95 % Alkohollösung durch Zugabe von 5 ml entionisiertem Wasser zu 95 ml Reagenzalkohol, Nr. R 8382, oder Ethanol (100 %) zubereiten.
- Scotts Leitungswasserersatz-Lösung entsprechend den Angaben auf dem Flaschenetikett zubereiten.
- Zu Wasser deparaffinieren oder die gefrorenen Schnitte fixieren und dehydrieren.
- In Harris Hämatoxylin-Lösung färben.2,0 bis 2,5 Minuten.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser spülen.
- ACCUMATE™ Differenzierungslösung1–2 x eintauchen.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser spülen.
- In Scotts Leitungswasserersatz blaufärben.5–60 Sekunden.
- Reagenz-Alkohol, 95 %30 Sekunden.
- Eosin Y Lösung Gegenfärbemittel:
Alkoholisch, Bestell-Nr. HT110-1
ODER
Alkoholisch mit Phloxin, Bestell-Nr. HT110-330–60 Sekunden.
- Dehydrieren, reinigen und fixieren.

LEISTUNGSMERKMALE

ERWARTETE ERGEBNISSE:

Das Zellkernchromatin sollte blau sein. Die Kerne sollten deutlich sichtbar und scharf umrissen sein. Das Zellplasma weist verschiedene Schattierungen von rosa bis rosa-orange auf, je nach verwendeter Gegenfärbung, und die RBZ erscheinen rot.

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

LITERATURANGABEN

1. Natural Dyes, IN J 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. HHS
Vorherige Ausgabe: 2003-03
Revidiert: 2003-09



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

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