
USO PREVISTO

Le soluzioni di ematosilina sono colorazioni nucleari destinate all'uso in istologia e citologia. Le soluzioni di ematosilina di Gill 1, 2, 3 sono riservate al solo uso "diagnostico in vitro".

L'ematossilina è una comune colorazione nucleare, che viene isolata da un estratto di legno azzurro (*Haematoxylon campechianum*). La prima applicazione biologica dell'ematossilina venne proposta da Bohmer nel 1865. Da allora ne sono state utilizzate svariate formulazioni, le più importanti delle quali sono state descritte da Harris, Gill, Mayer e Weigert. Prima di poter utilizzare l'ematossilina per la colorazione nucleare, è necessario trasformarla mediante ossidazione in emateina e combinarla con uno ione metallico (mordente). I mordenti più adatti sono risultati i sali di alluminio o ferro.

In genere le ematosiline sono classificate come progressive o regressive sulla base della concentrazione di colorante. Le colorazioni progressive (ad esempio, l'ematossilina di Mayer) hanno una concentrazione più bassa di colorante e colorano selettivamente la cromatina nucleare senza intaccare le strutture citoplasmatiche. L'intensità desiderata è in funzione del tempo. Le colorazioni regressive (ad esempio, l'ematossilina di Harris) agiscono in modo intenso su tutte le strutture nucleari e citoplasmatiche. Per ottenere la risposta cromatica corretta, occorre rimuovere il colorante in eccesso dalla sezione di tessuto.

La formulazione di Gill 1 è utilizzata come colorazione citologica progressiva, mentre le formulazioni di Gill 2 e 3 possono essere impiegate come colorazioni progressive o regressive, a seconda della durata. Queste soluzioni di ematosilina sono prodotte a partire da ematosilina semiossidata, trattata con un mordente di alluminio e stabilizzata con glicoli. Il complesso alluminio-emateina (con carica positiva) si combina con i gruppi di fosfati del DNA nucleare (con carica negativa) e assume la caratteristica colorazione blu-viola dell'ematossilina.

REAGENTI

SOLUZIONE EMATOSSILINA DI GILL 1, n. di catalogo GHS-1

Ematosilina certificata 2 g/l; iodato di sodio 0,2 g/l; solfato di alluminio 17,6 g/l e stabilizzatori.

SOLUZIONE EMATOSSILINA DI GILL 2, n. di catalogo GHS-2

Ematosilina certificata 4 g/l; iodato di sodio 0,4 g/l; solfato di alluminio 35,2 g/l e stabilizzatori.

SOLUZIONE EMATOSSILINA DI GILL 3, n. di catalogo GHS-3

Ematosilina certificata 6 g/l; iodato di sodio 0,6 g/l; solfato di alluminio 52,8 g/l e stabilizzatori.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare i reagenti a temperatura ambiente (18–26°C) e al riparo dalla luce. I reagenti si mantengono stabili sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

DETERIORAMENTO

Scartare se la soluzione assume una colorazione marrone (sovrassidazione per mezzo dell'aria) o viola (perdita di acidità).

PREPARAZIONE

Le soluzioni di ematosilina di Gill 1, 2 e 3 vengono fornite già pronte per l'uso.

L'acqua di Scott tampone viene preparata diluendo 1 volume di acqua di Scott tampone concentrato in 9 volumi di acqua deionizzata.

PRECAUZIONI

Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Fare riferimento al foglio dati relativo alla sicurezza dei materiali per informazioni aggiornate riguardanti i rischi, i pericoli e la sicurezza associati all'uso di questi prodotti.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.S.A.)

Le soluzioni di ematosilina sono NOCIVE. Nocive per ingestione. Irritanti per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei. Organi colpiti: fegato e reni.

L'alcol anidro è INFIAMMABILE e IRRITANTE. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei. Organi colpiti: nervi e fegato.

Acqua di Scott tampone. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

La soluzione di differenziazione ACCUMATE™ è CORROSIVA e INFIAMMABILE. Causa ustioni. Indossare indumenti protettivi idonei. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Organi colpiti: occhi e reni.

Le soluzioni di eosina alcolica, la colorazione di Papanicolaou OG 6, le soluzioni per la colorazione di Papanicolaou modificate (EA, EA50 e EA65) sono INFIAMMABILI e NOCIVE. Facilmente infiammabili. Nocive per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nocive: possibile rischio di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Eosina in soluzione acquosa. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

La soluzione EA di Gill modificata è INFIAMMABILE e IRRITANTE. Nociva per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossica: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Irritante per gli occhi, il sistema

respiratorio e la cute. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Evitare il contatto con la cute. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile). Organi colpiti: nervi e occhi.

Lo xilene è INFIAMMABILE e NOCIVO. Possibile rischio di riduzione della fertilità. Può provocare danni al feto. Nocivo per inalazione e a contatto con la cute. Irritante per il sistema respiratorio e la cute. Rischio di gravi lesioni oculari. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti adeguatamente protettivi, guanti e protezione per gli occhi e il viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Il sostituto dello xilene è INFIAMMABILE e IRRITANTE. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei, guanti e protezione per occhi/viso. Organi colpiti: nervi e reni.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.E.)

Le soluzioni di ematosilina sono NOCIVE. Nocive per ingestione. Irritanti per gli occhi. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei.

L'alcol anidro è FACILMENTE INFIAMMABILE e IRRITANTE. Facilmente infiammabile. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei.

Acqua di Scott tampone. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

La soluzione di differenziazione ACCUMATE™ è TOSSICA. Infiammabile. Causa ustioni. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Le soluzioni di eosina alcolica, la colorazione di Papanicolaou OG 6, le soluzioni per la colorazione di Papanicolaou modificate (EA, EA50 e EA65) sono FACILMENTE INFIAMMABILI e NOCIVE. Facilmente infiammabili. Nocive per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nocive: possibile rischio di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Eosina in soluzione acquosa. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

La soluzione EA di Gill modificata è INFIAMMABILE e TOSSICA. Facilmente infiammabile. Nociva per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossica: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Lo xilene è NOCIVO. Infiammabile. Nocivo per inalazione e a contatto con la cute. Irritante per la cute.

Il sostituto dello xilene è FACILMENTE INFIAMMABILE e IRRITANTE. Facilmente infiammabile. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei, guanti e protezione per occhi/viso.

PROCEDURA

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Per la raccolta dei campioni, attenersi alla procedura descritta nel documento NCCLS numero M29-A2. Nessun metodo di analisi noto garantisce con assoluta certezza che i campioni di sangue o il tessuto non trasmettano infezioni. Di conseguenza tutti i derivati del sangue e i campioni di tessuto devono essere considerati potenziali veicoli di infezioni.

Le pubblicazioni classiche di istologia contengono tutte le informazioni utili.^{2,3}

MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

SOLUZIONE DI DIFFERENZIAZIONE ACCUMATE™, n. di catalogo A 3179, A 3304 e A 3429

COLORAZIONI DI CONTRASTO

(la scelta dipende dai campioni utilizzati e dalle preferenze personali)

SOLUZIONE EOSINA Y, ALCOLICA, n. di catalogo HT110-1

SOLUZIONE EOSINA Y, ACQUOSA, n. di catalogo HT110-2

SOLUZIONE EOSINA Y, ALCOLICA CON FLOXINA, n. di catalogo HT110-3

COLORAZIONE PAPANICOLAOU OG 6, n. di catalogo HT40-1

COLORAZIONE PAPANICOLAOU EA modificata, n. di catalogo HT40-2

COLORAZIONE PAPANICOLAOU EA 50, n. di catalogo HT40-3

COLORAZIONE PAPANICOLAOU EA 65, n. di catalogo HT40-4

SOLUZIONE EA DI GILL, MODIFICATA, n. di catalogo 391-5

ALCOL ANIDRO, n. di catalogo R 8382

OPPURE

ETANOLO al 100%

NOTA È inoltre necessaria la diluizione (95%) dell'alcol anidro o dell'etanolo.

ACQUA DI SCOTT TAMPONE CONCENTRATO, n. di catalogo S 5134

XILENE, n. di catalogo 24,764-2

SOSTITUTIVO DELLO XILENE, n. di catalogo A 5597

NOTE:

- I tempi suggeriti nel foglietto illustrativo sono approssimativi e possono essere variati in base alle proprie esigenze specifiche. Se sono utilizzate in modo intenso, le soluzioni per la colorazione possono perdere le loro proprietà coloranti, pertanto è necessario prolungare i tempi di colorazione oppure sostituire le soluzioni con prodotti nuovi.⁴
- Alcuni impianti idraulici erogano acqua acida, inadatta all'uso per la parte della procedura relativa alla colorazione "blu". Se l'acqua è acida, utilizzare una soluzione alcalina diluita.
- La presenza di nuclei violacei o rosso-marroni indica una colorazione blu insoddisfacente.
- Se la colorazione con eosina è eccessiva, la colorazione nucleare può risultare mascherata. Se eseguita correttamente, la colorazione con eosina mostra un effetto a 3 tonalità. Per incrementare la differenziazione dell'eosina, prolungare i tempi di immersione in alcol oppure utilizzare un primo alcol con un maggiore contenuto d'acqua. È possibile regolare i tempi di immersione in alcol per ottenere una colorazione con eosina adeguata.
- Includere vetrini di controllo positivi in ogni seduta.
- I dati generati da questa procedura sono da utilizzarsi soltanto a sostegno della diagnosi e devono essere valutati congiuntamente ad altri esami e dati diagnostici.

PROCEDURA 1:

(colorazione di preparati per citologia esfoliativa mediante soluzione ematossilina di Gill 1 o 2)

- Fissare le strisce citologiche in etanolo al 95%.....15 minuti
- Sciacquare delicatamente in acqua corrente.....30 secondi
- Colorare in soluzione ematossilina di Gill 1 o 2.....1,5-3 minuti
- Sciacquare in acqua corrente.
- Acqua di Scott tampone.....15-60 secondi
- Sciacquare in acqua corrente.
- Alcol anidro al 95%10 immersioni
- Colorazione di contrasto Papanicolaou OG 6 (n. di catalogo HT40-1).....1,5 minuti
- Alcol anidro al 95%10 immersioni
- Colorazione Papanicolaou EA 50 (n. di catalogo HT40-3), **OPPURE**
Colorazione Papanicolaou EA 65 (n. di catalogo HT40-4), **OPPURE**
Colorazione Papanicolaou EA modificata (n. di catalogo HT40-2), **OPPURE**
Soluzione EA di Gill modificata (n. di catalogo 391-5)2,5-3 minuti
- Alcol anidro al 95%, due ricambi10 immersioni cad.
- Alcol anidro al 100%, due ricambi.....1 minuto cad.
- Xilene, due ricambi2 minuti cad.
- Applicare un vetro coprioggetti ed esaminare al microscopio.

PROCEDURA 2:

(colorazione per istologia e/o citologia mediante soluzione ematossilina di Gill 2 o 3)

- Deparaffinare ad acqua o fissare e disidratare le sezioni congelate.
- Colorare in soluzione ematossilina di Gill 2 o 3.....1,5-3 minuti
- Lavare in acqua corrente.
- Utilizzare la soluzione di differenziazione ACCUMATE™20-60 secondi
- Lavare in acqua corrente.
- Colorare di blu in acqua di Scott tampone.....5-60 secondi
- Lavare in acqua corrente.
- Applicare la colorazione di contrasto:
Per istologia
Soluzione eosina Y, alcolica (n. di catalogo HT110-1), **OPPURE**
Soluzione eosina Y acidificata, acquosa (n. di catalogo HT110-2), **OPPURE**
Soluzione eosina Y, alcolica con floxina (n. di catalogo HT110-3).....30-60 secondi
Per citologia
Colorazione Papanicolaou OG 6 (n. di catalogo HT40-3), **E**
Colorazione Papanicolaou EA 50 (n. di catalogo HT40-3), **OPPURE**
Colorazione Papanicolaou EA 65 (n. di catalogo HT40-4), **OPPURE**
Colorazione Papanicolaou EA modificata (n. di catalogo HT40-2), **OPPURE**
Soluzione EA di Gill modificata (n. di catalogo 391-5)1-3 minuti
- Disidratare, chiarificare e montare.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI**RISULTATI PREVISTI**

La cromatina deve apparire tra il blu e il nero-blu, mentre i nucleoli devono essere ben visibili. Le colorazioni citoplasmatiche con le soluzioni di ematossilina di Gill 1 e 2 sono in genere pallide o assenti; pertanto la differenziazione acida potrebbe non essere indispensabile. La soluzione di ematossilina di Gill 3 va considerata come una colorazione regressiva.

Se i risultati osservati si discostano dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per informazioni di supporto.

BIBLIOGRAFIA

- Natural Dyes. IN HJ Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD, 1977, pp 468, 472
- Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., DC Sheehan, BB Hrapchak, Editors, CV Mosby Co., St. Louis, MO, 1980
- Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., LG Luna, Editor, McGraw Hill, New York, 1968
- Theory and Practice of Histological Techniques, Edited by Bancroft JD and Gamble, M, Churchill Livingstone, New York, 2002, p129

Sigma-Aldrich, Inc. garantisce che i propri prodotti sono conformi alle informazioni contenute nel presente documento e in altre pubblicazioni Sigma-Aldrich. Spetta all'acquirente stabilire se i prodotti sono idonei all'uso particolare che ne viene fatto. È possibile che sussistano ulteriori termini e condizioni. Vedere il retro della fattura o la distinta di imballaggio per i termini e le condizioni di vendita.

(Procedura n. GHS)
Revisione precedente: 2003-04
Revisione: 2003-09

 **EC REP** AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD (Regno Unito)

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 (USA) +1 314 771 5765

Assistenza tecnica: a carico del destinatario +1 314 771 3122

o tramite e-mail all'indirizzo clintech@sial.com

Per ordinare: a carico del destinatario +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim (Germania) 49-7329-970