

## USO PREVISTO

Le soluzioni di ematosilina di Harris sono colorazioni nucleari destinate all'uso in istologia e citologia e 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*).<sup>1</sup> La prima applicazione biologica dell'ematossilina venne proposta da Bohmer<sup>1</sup> 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.

Le soluzioni di ematosilina di Harris sono colorazioni regressive destinate alle pratiche istologiche e citologiche di routine. Il complesso alluminio-emateina (con carica positiva) si combina con la fosfatasi del DNA nucleare (con carica negativa) e assume la caratteristica colorazione blu-viola dell'ematossilina.

La soluzione di ematosilina di Harris può anche essere impiegata con le procedure di colorazione di Papanicolaou per uso citologico. Consultare la procedura Sigma-Aldrich n. HT40.

## REAGENTE

### SOLUZIONE EMATOSSILINA ACIDA, n. di catalogo HHS

Ematosilina certificata 7,0 g/l; iodato di sodio; solfato di alluminio e ammonio 12 H<sub>2</sub>O; conservante e stabilizzatori.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il reagente a temperatura ambiente (18–26°C) e al riparo dalla luce. Il reagente si mantiene stabile sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

### DETERIORAMENTO

Scartare se il tempo di colorazione diventa eccessivo o se il colore della soluzione cambia da viola-prugna a blu o marrone.

### PREPARAZIONE

Filtrare la soluzione di ematosilina di Harris prima di ogni uso.

### 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.)

Evitare il contatto e l'inalazione della soluzione di ematosilina di Harris. Organi colpiti: cuore e nervi.

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.

L'eosina in soluzione alcolica è INFIAMMABILE e NOCIVA. Nociva per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nociva: possibile rischio 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. 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.

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).

La soluzione di acido cloridrico è TOSSICA. Tossica per inalazione. Causa ustioni. Irritante per il sistema respiratorio. 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).

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

Soluzione di ematosilina di Harris. Non respirare i vapori. Evitare il contatto con la cute e gli occhi.

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).

L'eosina in soluzione alcolica è FACILMENTE INFIAMMABILE e NOCIVA. Facilmente infiammabile. Nociva per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nociva: 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.

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

La soluzione di acido cloridrico è CORROSIVA. Causa ustioni. Irritante per il sistema respiratorio. 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. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

## 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 forniscono informazioni sufficienti sulla raccolta e la conservazione dei campioni.<sup>2,3</sup>

### MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Soluzione di differenziazione ACCUMATE™, n. di catalogo A 3179 o A 3429

Colorazioni di contrasto in soluzione di Eosina Y:

Alcolica, n. di catalogo HT110-1

OPPURE

Acquosa, n. di catalogo HT110-2

OPPURE

Alcolica con floxina, n. di catalogo HT110-3

Alcol anidro OPPURE Etanolo al 100%

Acqua di Scott tampone concentrato

Xilene

Acido cloridrico concentrato

Microscopio, vetrini per microscopio, vetrini coprioggetti e piatti di colorazione

### NOTE

1. I tempi di colorazione possono variare in funzione della preferenza cromatica individuale.
2. È possibile ricorrere ad altre soluzioni alcaline diluite invece dell'acqua di Scott tampone concentrato.
3. È possibile utilizzare una soluzione alcolica acida allo 0,25% al posto della soluzione di differenziazione ACCUMATE™. Per prepararla, aggiungere 0,25 ml di acido cloridrico concentrato in 100 ml di alcol al 70%.
4. 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.<sup>4</sup>
5. 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.
6. La presenza di nuclei violacei o rosso-marroni indica una colorazione blu insoddisfacente.
7. 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.
8. Includere vetrini di controllo positivi in ogni seduta.
9. 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. Preparare una soluzione con alcol al 95% aggiungendo 5 ml di acqua deionizzata a 95 ml di alcol anidro (n. di catalogo R 8382) o di etanolo al 100%.
2. Preparare una soluzione di acqua di Scott tampone secondo le istruzioni riportate sull'etichetta del flacone.
3. Deparaffinare ad acqua o fissare e disidratare le sezioni congelate.
4. Colorare in una soluzione di ematosilina di Harris .....2–5 minuti
5. Sciacquare il vetrino in acqua corrente.
6. Utilizzare la soluzione di differenziazione ACCUMATE™ .....1–2 immersioni
7. Sciacquare il vetrino in acqua corrente.
8. Colorare di blu in acqua di Scott tampone .....5–60 secondi
9. Alcol anidro al 95% .....30 secondi

10. Colorazione di contrasto in soluzione di Eosina Y:  
Alcolica, n. di catalogo HT110-1  
OPPURE  
Alcolica con floxina, n. di catalogo HT110-3.....30-60 secondi
11. Disidratate, chiarificare e montare.

---

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

---

### RISULTATI PREVISTI

La cromatina nucleare deve apparire blu. I nucleoli devono risultare visibili e ben delineati. Il citoplasma assumerà varie tonalità tra il rosa e il rosa-arancio, a seconda della colorazione di contrasto utilizzata, mentre gli eritrociti appariranno rossi.

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

---

## BIBLIOGRAFIA

---

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. 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. HHS  
Revisione precedente: 2003-03  
Revisione: 2003-09



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](mailto:clintech@sial.com)  
Per ordinare: a carico del destinatario +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH  
P.O. 1120, 89552 Steinheim (Germania) 49-7329-970