SIGMA-ALDRICH®

Solução de hematoxilina de MAYER

(Procedimento N.º MHS)

UTILIZAÇÃO PREVISTA

A Solução de Hematoxilina de Mayer é normalmente utilizada após a coloração imuno-histoquímica ou citoquímica como contracorante nuclear. Pode igualmente ser utilizada para coloração normal de hematoxilina e eosina (H&E) mas, normalmente, é mais utilizada onde a diferenciação por álcool ácido, ou a exposição ao álcool, pode destruir os componentes citoplásmicos corados.[3] A Solução de Hematoxilina de Mayer é formulada sem álcool e, como tal, não irá dissolver o AEC (3-amino-9-etilcarbazole), a fosfatase alcalina/cromogénio vermelho permanente ou outros produtos solúveis de coloração. As soluções de Hematoxilina de Mayer destinam-se à "utilização em diagnóstico in vitro".

A hematoxilina, um corante nuclear comum, é isolada a partir de um extracto de campeche (Haematoxylin campechianum).[1] A primeira aplicação biológica bem sucedida da hematoxilina foi descrita por Bohmer[1] em 1865. Mayer introduziu a sua formulação em 1903.[2] Desde então, apareceram diversas formulações. Entre estas, as de Harris, Gill, Mayer e Weigert foram as mais populares. Antes de a hematoxilina poder ser utilizada como corante nuclear, precisa de ser oxidada em hemateína e combinada com um ião metálico (mordente). A maioria dos mordentes bem sucedidos são sais de alumínio ou ferro.

Geralmente, as soluções de hematoxilina são classificadas como progressivas ou regressivas com base na concentração de corante. Os corantes progressivos (por exemplo, a hematoxilina de Mayer) tem uma concentração mais baixa de corante e coram selectivamente as cromatinas nucleares sem corarem as estruturas citoplásmicas. A intensidade pretendida é uma função do tempo. Se os tempos de coloração forem excessivos, uma solução de corante progressivo pode agir de forma semelhante a uma solução de corante regressivo. A coloração com corantes progressivos exige, normalmente, mais tempo do que a coloração com corantes regressivos. Os corantes regressivos (por exemplo, a hematoxilina de Harris) coram intensamente todos os componentes tecidulares que tenham capacidade de coloração (nucleares e citoplásmicas). Para se chegar a uma resposta de coloração correcta, o excesso de corante tem que ser retirado da secção de tecido. Após uma diferenciação suficiente, uma secção descorada de forma adequada irá demonstrar a coloração nuclear, mas não irá corar as estruturas citoplásmicas.

O passo final na coloração com hematoxilina é o "blueing" da secção tecidular. Inicialmente, as secções tecidulares apresentam uma cor púrpura ou púrpura avermelhado. Após a exposição às soluções alcalinas (água morna da torneira [se for ligeiramente alcalina], água diluída com amónia, substituto de "água canalizada de Scott" ou carbonato de lítio), a secção tecidular recebe a cor azul característica de uma lâmina corada com hematoxilina.

REAGENTE

SOLUÇÃO DE HEMATOXILINA DE HARRIS, N.º de Catálogo MHS

Hematoxilina certificada (1,0 g/L), iodato de sódio (0,2 g/L), sulfato de amónio de alumínio 12 H_2O (50 g/L), hidrate de cloral (50 g/L) e ácido cítrico (1 g/L).

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Armazenar o reagente à temperatura ambiente (18–26°C) ao abrigo da luz. O reagente permanece estável até ao final do prazo de validade indicado no rótulo. Não voltar a colocar a solução utilizada no frasco de armazenamento.

DETERIORAÇÃO:

Eliminar se a os tempos de coloração se tornarem excessivos ou se a solução ficar castanha.

PREPARAÇÃO:

Filtrar a solução de hematoxilina de Mayer antes de cada utilização. A solução fica, então, pronta a utilizar.

PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

Declarações de riscos e segurança dos EUA

A solução de hematoxilina de Mayer é TÓXICA. Tóxica em caso de ingestão. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Órgãos alvo: Nervos e fígado.

O álcool reagente é INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

Substituto de "água canalizada de Scott". Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

As soluções de eosina alcoólica são INFLAMÁVEIS E NOCIVAS. Nocivo por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Nocivo: possibilidade de efeitos irreversíveis por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Solução de eosina aquosa. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

O xilol é INFLAMÁVEL e NOCIVO. Possibilidade de risco de comprometimento da fertilidade. Pode ser prejudicial para o feto. Nocivo por inalação e em contacto com a pele. Irritante para as vias respiratórias e pele. Risco de lesões oculares graves. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Declarações de riscos e segurança da UE

A solução de hematoxilina de Mayer é NOCIVA. Nocivo em caso de ingestão.

O álcool reagente é ALTAMENTE INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Muito inflamável. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

Substituto de "água canalizada de Scott". Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

As soluções de eosina alcoólica são ALTAMENTE INFLAMÁVEIS E NOCIVAS. Muito inflamável. Nocivo por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Nocivo: possibilidade de efeitos irreversíveis por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Solução de eosina aquosa. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

O xilol é NOCIVO. Inflamável. Nocivo por inalação e em contacto com a pele. Irritante para a pele. Evitar o contacto com os olhos.

PROCEDIMENTO

COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

Os textos histológicos normais fornecem os pormenores necessários referentes à colheita e ao armazenamento das amostras.[4,5]

MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

Contracolorações da solução de eosina Y:
Alcoólica, N.º de Catálogo HT110-1, Aquosa, N.º de Catálogo HT110-2 ou Alcoólica com Floxina, N.º de Catálogo HT110-3
Álcool reagente OU etanol, 100%
Concentrado de substituto de "água canalizada de Scott", N.º de Catálogo S 5134
Xilol ou substituto de xilol
Microscópio, lâminas para microscópio, soluções de protecção e placas de coloração

NOTAS:

1. O tempo indicado no folheto informativo é aproximado. As preferências pessoais variam e o tempo pode ser ajustado de forma a adequar-se às preferências pessoais. As soluções corantes mais utilizadas perderão a sua capacidade de coloração e os tempos de coloração deverão ser prolongados, caso contrário, devem utilizar-se novas soluções.[6]
2. Podem ser utilizadas soluções alcalinas diluídas em vez de água morna corrente da torneira. Isto irá diminuir o tempo necessário para o procedimento de coloração. Caso se utilize uma solução alcalina diluída, certificar-se de que lava as lâminas durante mais 2 a 3 minutos em água corrente da torneira antes de passar à coloração com eosina.
3. Em determinados lugares, a água canalizada é acídica e inadequada para ser utilizada no passo de "blueing" deste procedimento. Se a água da torneira for acídica, utilizar uma solução alcalina diluída.
4. Os núcleos de cor púrpura ou vermelho-castanhos são indicadores de "blueing" inadequado.
5. Se a coloração com eosina for excessiva, o corante nuclear pode estar dissimulado. A coloração adequada por eosina irá demonstrar um efeito de 3 tons. Para aumentar a diferenciação de eosina, aumentar o tempo nos álcoois ou utilizar um primeiro álcool com um teor de água mais elevado. O tempo passado no álcool pode ser ajustado para se obter um grau adequado de coloração por eosina.
6. Filtrar diariamente a solução corante de trabalho. Rodar diariamente os álcoois e o xilol/substituto de xilol.
7. Não é recomendado adicionar um novo stock às soluções de trabalho esgotadas de hematoxilina de Mayer ou eosina.
8. Evitar o co-transporte excessivo de água para dentro da hematoxilina de Mayer.
9. Devem incluir-se lâminas de controlo positivo em cada execução.
10. Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

PROCEDIMENTO 1:
COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA E EOSINA

1. Preparar uma solução de álcool a 95% adicionado 5 mL de água desionizada a 95 mL de álcool reagente, N.º R 8382, ou de etanol (100%).
2. Desparafinar em água ou fixar e hidratar as secções congeladas.
3. Corar na Solução de Hematoxilina de Mayer ..... 15 minutos
4. Lavar em morna água corrente da torneira ..... 15 minutos

5. Colocar em água destilada .....30 segundos
6. Se se utilizar eosina alcoólica:
   Colocar em álcool reagente, 95% .....30 segundos
7. Colocar em contracoloração de solução de eosina Y:
   Alcoólica, N.º HT110-1,
   Aquosa, N.º HT110-2
   ou alcoólica com floxina, N.º HT110-3 .....30–60 segundos
8. Desidratar e limpar através de dois banhos, cada um de
   95% álcool reagente, álcool reagente absoluto e xilol .....2 minutos cada
9. Montar com meio de montagem resinoso.

PROCEDIMENTO 2:
CONTRACOLORAÇÃO NUCLEAR PARA CORANTES ESPECIAIS

1. Concluir o procedimento de coloração individual.
2. Lavar em água desionizada.
3. Corar na Solução de Hematoxilina de Mayer entre 1 a 5 minutos.
4. Lavar em água corrente da torneira ou diluir em solução alcalina até os núcleos ficarem azuis.
5. Lavar em água desionizada.
6. Se qualquer parte do corante for solúvel em água, montar em meio de montagem aquoso. Se o corante for insolúvel em álcool, desidratar em álcool, limpar em xilol ou substituto de xilol e montar em meio de montagem resinoso.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

RESULTADOS ESPERADOS

A cromatina nuclear deve ser azul. Os nucleólos devem estar visíveis. O citoplasma irá apresentar diversas tonalidades de rosa a rosa-laranja (dependendo do contracorante utilizando) e os glóbulos vermelhos serão vermelhos.

Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

BIBLIOGRAFIA

1. Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens Co., Baltimore (MD), pp 468, 472, 1977
2. Mayer P, (1903) Notiz über Hämateïn und Hämalaun. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technick, 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

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º MHS
Revisão Anterior: 2003-05
Revisto: 2003-09

CE EC REP **AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse**
Egham, TW20 9BD Reino Unido

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Assistência Técnica: chamada paga no destino +1 314 771 3122
ou endereço de correio electrónico: clintech@sial.com
Para encomendar: chamada paga no destino +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

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