

## AVSEDD ANVÄNDNING

Mayers hematoxylinlösning används vanligen efter immunhistokemisk eller cytochemisk färgning, som en nukleär motfärg. Den kan även användas för vanlig hematoxylin- och eosinfärgning, men används vanligen där sur alkoholdifferentiering eller exponering för alkohol skulle kunna förstöra den färgade cytoplasmiska komponenten.<sup>3</sup> Mayers hematoxylinlösning är formulerad utan alkohol och löser som sådan inte upp AEC (3-amino-9-etylkarbazol), alkaliskt fosfat/Fast Red-kromogen eller andra lösliga, färgade produkter. Mayers hematoxylinlösningar är avsedda för "in vitro-diagnostik".

Hematoxylin, en vanlig nukleär färg, isoleras från ett extrakt av kampschradet (Haematoxylin campechianum).<sup>1</sup> Den första framgångsrika biologiska tillämpningen av hematoxylin beskrevs av Bohmer<sup>1</sup> 1865. Mayer introducerade sin formulering 1903.<sup>2</sup> Sedan dess har talrika formuleringar förekommit. Av dessa har Harris, Gills, Mayers och Weigerts förblivit populära. Innan hematoxylin kan användas som nukleär färg, måste det oxideras till hematein och kombineras med en metalljon (betningsmedel). De flesta framgångsrika betningsmedel har varit salter av aluminium eller järn.

Vanligen klassificeras hematoxylinlösningar som progressiva eller regressiva, baserat på färgkoncentration. Progressiva färger (t.ex. Mayers hematoxylin) har en lägre koncentration av färg och färger selektivt nukleärt kromatin utan att färga cytoplasmiska strukturer. Önskad intensitet är en fråga om tid. Om färgningstiderna är överdrivna, kan en progressiv färg agera på liknande sätt som en regressiv färglösning. Färgning med progressiva färger kräver vanligen mer tid än färgning med regressiva färger. Regressiva färger (t.ex. Harris hematoxylin) färgar intensivt alla färgbara vävnadskomponenter (nukleära och cytoplasmiska). För att uppnå korrekt färgningsrespons, måste överflödigt färg avlägsnas från vävnadssnittet. Efter tillräcklig differentiering kommer ett korrekt avfärgat snitt att uppvisa nukleär färgning, men kommer inte att färga cytoplasmiska strukturer.

Det slutliga steget vid hematoxylinfärgning är "blåningen" av vävnadssnittet. Först färgas vävnadssnittet antingen lila eller rödlila. Efter exponering för alkaliska lösningar (varmt kranvatten [om det är lätt alkaliskt], utspädd ammoniumvatten, Scotts kranvattensättning eller litiumkarbonat), får vävnadssnittet den blåa färg som är karakteristisk för ett hematoxylinfärgat objektglas.

## REAGENS

### MAYERS HEMATOXYLINLÖSNING, katalognummer MHS

Certifierat hematoxylin (1,0 g/l), natriumjodat (0,2 g/l), aluminiumammoniumsulfat 12 H<sub>2</sub>O (50 g/l), kloralhydrat (50 g/l) och citronsyra (1 g/l).

### FÖRVARING OCH STABILITET:

Förvara reagens i rumstemperatur (18–26 °C) skyddad mot ljus. Reagenser är stabila till det utgångsdatum som visas på etiketten. Håll inte tillbaka använd lösning i originalflaskan.

### FÖRSÄMRING:

Kassera om färgningstiderna blir överdrivet långa eller om lösning färgas brun.

### BEREDNING:

Filtera Mayers hematoxylinlösning före varje användning. Lösningen är sedan bruksfärdig.

### FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER:

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser ska iakttas. Kassera avfall enligt lokala lagar och bestämmelser. Se Faktblad om materialsäkerhet för uppdaterad information om risker, faror eller säkerhet.

### Amerikanska risk- och säkerhetsbestämmelser

Mayers hematoxylinlösning är GIFTIG. Giftigt vid förtäring. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Målorgan: Nerver och lever.

Reagensalkohol är BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Scotts kranvattensättning Försiktighetsåtgärder: Substansen är inte fullständigt testad ännu.

Alkoholhaltiga eosinlösningar är BRANDFARLIGA och FARLIGA. Farligt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Farligt: möjlig risk för bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Vattenhaltig eosinlösning. Försiktighetsåtgärder: Substansen är inte fullständigt testad ännu.

Xylen är BRANDFARLIGT och FARLIGT. Kan ge nedsatt fortplantningsförmåga. Kan ge för fosterskador. Farligt vid inandning och hudkontakt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Risk för svåra ögonskador. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Risk- och säkerhetsbestämmelser enligt EU

Mayers hematoxylinlösning är FARLIG. Farligt vid förtäring.

Reagensalkohol är MYCKET BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Mycket brandfarligt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Scotts kranvattensättning Försiktighetsåtgärder: Substansen är inte fullständigt testad ännu.

Alkoholhaltiga eosinlösningar är MYCKET BRANDFARLIGA och FARLIGA. Mycket brandfarligt. Farligt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Farligt: möjlig risk för bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Vattenhaltig eosinlösning. Försiktighetsåtgärder: Substansen är inte fullständigt testad ännu.

Xylen är FARLIGT. Brandfarligt. Farligt vid inandning och hudkontakt. Irriterar huden. Undvik kontakt med ögonen.

## PROCEDUR

### PROVTAGNING:

Provtagningen bör utföras i enlighet med NCCLS dokument M29-A2. Ingen känd testmetod ger fullständig garanti för att blodprov eller vävnad inte överför infektion. Alla blodderivat eller vävnadsprov bör därför anses vara potentiellt smittsamma.

Vanliga histologitexter ger nödvändiga detaljer för provtagning och förvaring.<sup>4,5</sup>

### SPECIELLA MATERIAL SOM BEHÖVS, MEN INTE MEDFÖLJER:

Eosin Y-lösning/motfärger:

Alkoholhaltig, katalognummer HT110-1, vattenhaltig, katalognummer HT110-2 eller alkoholhaltig med floxin, katalognummer HT110-3

Reagensalkohol ELLER etanol, 100 %

Scotts kranvattensättningskoncentrat, katalognummer S 5134

Xylen eller xylenersättning

Mikroskop, objektglas för mikroskop, täckglas och kyvetter

### ANMÄRKNINGAR:

1. Tiderna i produktbladet är ungefärliga. Personliga preferenser varierar och tiderna kan anpassas för att passa dessa. Färglösningar, som används ofta, förlorar sin färgningskraft och färgningstiderna bör förlängas eller så bör nya lösningar användas.<sup>6</sup>
2. Utspädda alkaliska lösningar kan användas i stället för varmt, rinnande kranvatten. Detta förkortar den tid som fordras för färgningsproceduren. Om en utspädd alkalilösning används, måste objektglaset tvättas ytterligare 2–3 minuter i rinnande kranvatten innan man fortsätter med eosinfärgning.
3. Vissa kranvattenstillbehör är sura och olämpliga för användning i "blåningsdelen" av denna procedur. Om kranvattnet är surt, använd en utspädd, alkalisk lösning.
4. Purpurfärgade eller rödbruna kärnor tyder på otillräcklig "blåning".
5. Vid överdriven eosinfärgning kan nukleär färgning maskeras. Lämplig eosinfärgning uppvisar en effekt med 3 nyanser. För att öka differentieringen av eosin, förläng tiden i alkoholer eller använd först alkohol med högre vattenhalt. Tiden i alkoholerna kan anpassas för att erhålla rätt grad av eosinfärgning.
6. Filtera arbetsfärgningslösning dagligen. Roter alkoholer och xylen/xylenersättning dagligen.
7. Påfyllning av ny lösning i tomma flaskor som innehållit bruksfärdig lösning av Mayers hematoxylin eller eosin rekommenderas inte.
8. Undvik att överföra för mycket vatten till Mayers hematoxylin.
9. Positiva kontrollobjektglas bör inkluderas i varje körning.
10. Data som erhållits från denna procedur tjänar endast som ett hjälpmedel vid diagnos och bör granskas tillsammans med andra kliniska, diagnostiska tester eller information.

### PROCEDUR 1:

#### HEMATOXYLIN- OCH EOSINFÄRGNING

1. Bered en 95 % alkohollösning genom att tillsätta 5 ml avjoniserat vatten till 95 ml reagensalkohol, nummer R 8382 eller etanol (100 %).
2. Avparaffinera till vatten eller fixera och hydrera frysta delar.
3. Färga i Mayers hematoxylinlösning .....15 minuter
4. Skölj i rinnande kranvatten. ....15 minuter
5. Placera i destillerat vatten.....30 sekunder
6. Om alkoholhaltigt eosin skall användas:  
Placera i reagensalkohol, 95 % .....30 sekunder
7. Placera i Eosin Y-lösning/motfärg:  
alkoholhaltig, nr HT110-1  
vattenhaltig, nummer HT110-2  
eller alkoholhaltig med floxin, nummer HT110-3 .....30–60 sekunder
8. Dehydrera och rena genom 2 byten vardera av  
95 % reagensalkohol, absolut reagensalkohol och xylen .....2 minuter vardera
9. Montera med hartsaktiga monteringsmedier.

### PROCEDUR 2:

#### NUKLEÄR MOTFÄRG FÖR SPECIELLA FÄRGER

1. Avsluta den individuella färgningsproceduren.
2. Skölj i avjoniserat vatten.
3. Färga i Mayers hematoxylinlösning i 1–5 minuter.
4. Skölj i rinnande kranvatten eller utspädd alkalisk lösning tills kärnorna är blåa.
5. Skölj i avjoniserat vatten.
6. Om någon del av färgen är löslig i alkohol, montera i vattenhaltigt monteringsmedia. Om färgen är olöslig i alkohol, dehydrera i alkohol, rena i xylen eller xylenersättning och montera i hartsaktiga monteringsmedier.

---

## PRESTANDAEGENSKAPER

---

### FÖRVÄNTADE RESULTAT

Nukleärt kromatin bör vara blått. Nukleoler bör vara synliga. Cytoplasma kommer att uppvisa olika nyanser av rosa till rosa-orange (beroende på den motfärg som används) och röda blodkroppar kommer att vara röda.

Om observerade resultat skiljer sig från förväntade resultat, kontakta Sigma-Aldrich tekniska service för assistans.

---

### REFERENSER

---

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 Hämatein und Hämalan. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, 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

Sigma-Aldrich, Inc. garanterar att deras produkter överensstämmer med informationen i denna och andra Sigma-Aldrich-publikationer. Kunden måste avgöra produktens (produkternas) lämplighet för deras speciella användning. Ytterligare villkor kan gälla. Se baksidan av fakturan eller packsedeln för ytterligare försäljningsvillkor.

Procedurnummer MHS  
Föregående revidering: 2003-05  
Reviderad: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Teknisk service: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 3122

eller e-post till [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

För beställningar: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland +49-7329-970