

1.05174.0500

1.05174.1000

1.05174.2500

REF

Microscopy

Hematoxylin solution modified acc. to Gill III

for microscopy

For professional use only

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

This "Hematoxylin solution modified acc. to Gill III - for microscopy" is used for human-medical cell diagnosis and serves the histological and clinico-cytological investigation of sample material of human origin. It is a ready-to-use staining solution that when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio makes target structures evaluable for diagnostic purposes (by fixing, embedding, staining, counterstaining, mounting) in histological and clinico-cytological specimen materials, for example histological sections of e.g. the kidney, muscle tissue, heart, or lung.

The hematoxylin and eosin (H&E) staining method is the method most frequently used for the staining of histology material. This Hematoxylin solution modified acc. to Gill III is used in the hematoxylin-eosin (H&E) overview staining procedure, a method routinely used in histology.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further examinations may be necessary to reach a definitive diagnosis.

Principle

The hematoxylin and eosin (H&E) staining method is the method most frequently used for the staining of histology material. The staining mechanism is a physico-chemical process.

In the first step, the positively charged nuclear dye (hematoxylin) binds to the negatively charged phosphate groups of the nucleic acid of the cell nucleus.

The nuclei will be dyed dark blue to dark violet.

The second step is the counterstaining with negatively charged anionic xanthene dye (eosin Y, eosin B, or erythrosine B). This binds to the positively charged plasma proteins.

Cytoplasm and intercellular substances are stained pink to red, while erythrocytes will appear with yellow to orange color.

Two methods can be distinguished. In the progressive hematoxylin staining method, staining is carried out to the endpoint, after which the slide is blued in tapwater. With the regressive method the material is over-stained and the excess of staining solution is removed by acid rinsing steps, followed by the bluing step.

The structures of nuclei are more differentiated and better visible by the regressive method.

Sample material

Sections of formalin fixed, paraffin embedded tissue (3 - 4 µm thick paraffin sections) or cryosections, as well as clinico-cytological material like urine sediment, sputum, smears from fine needle aspiration biopsies (FNAB), rinses, imprints, effusions are used as starting material.

Reagents

Cat. No. 1.05174

Hematoxylin solution modified acc. to Gill III

500 ml, 1 l, 2.5 l

for microscopy

Also required:

Cat. No. 1.09844

Eosin Y-solution 0.5% aqueous

1 l, 2.5 l

for microscopy

Cat. No. 1.02439

Eosin Y-solution 0.5%, alcoholic

500 ml, 2.5 l

for microscopy

Cat. No. 1.17081

Eosin Y solution 1%, alcoholic

1 l

Cat. No. 1.00063

Acetic acid (glacial) 100% anhydrous

1 l, 2.5 l

Cat. No. 1.00316

Hydrochloric acid 25%

1 l, 2.5 l

for analysis EMSURE®

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

All samples must be treated using state-of-the-art technology.

All samples must be clearly labeled.

Suitable instruments must be used for taking samples and their preparation. Follow the manufacturer's instructions for application / use.

When using the corresponding auxiliary reagents, the corresponding instructions for use must be observed.

Deparaffinize and rehydrate sections in the conventional manner.

Reagent preparation

The Hematoxylin solution modified acc. to Gill III used for staining is ready-to-use, dilution of the solution is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and its stability.

It is recommended to filter the solution prior to its use.

Eosin Y-solution 0.5%, aqueous (Cat. No. 1.09844) or Eosin Y-solution 0.5%, alcoholic (Cat. No. 1.02439) or Eosin Y-solution 1%, alcoholic (Cat. No. 1.17081)

For the intensification of the eosin staining, e.g. 1.0 ml of glacial acetic acid needs to be added to 500 ml working solution.

The acidified working solution is sufficient for approx. 750 specimens; it should, however, be renewed after 14 days at the latest.

When using the alcoholic Eosin Y solutions, a shorter alcohol series (starting with ethanol 96% and a reaction time of just 10 seconds) must be used in the individual staining procedures.

Hydrochloric acid 0.1%, aqueous

For preparation of approx. 100 ml solution mix:

Distilled water	100 ml
Hydrochloric acid 25%	0.4 ml

H&E staining

Procedure

Regressive staining of paraffin sections

Staining in the staining cell

Deparaffinize histological slides in the conventional manner and rehydrate in a descending alcohol series.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps, as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Slide with paraffin section	
Distilled water	1 min
Hematoxylin solution modified acc. to Gill III	3 min
Hydrochloric acid 0.1%, aqueous	2 sec
Running tap water	3 - 5 min
Eosin Y-solution 0.5%, aqueous or Eosin Y-solution 0.5%, alcoholic* or Eosin Y-solution 1%, alcoholic*	3 min
Running DI water	30 sec
Ethanol 70%	1 min
Ethanol 70%	1 min
Ethanol 96%	1 min
Ethanol 96%	1 min
Ethanol 100%	1 min
Ethanol 100%	1 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.	

* When using the alcoholic Eosin Y solutions, a shorter alcohol series (starting with ethanol 96% and a reaction time of just 10 seconds) must be used in the individual staining procedures.

After dehydration (ascending alcohol series) and clarification with xylene or Neo-Clear™, histological samples can be mounted with water-free mounting agents (e.g. DPX new, Entellan™ new, Neo-Mount™) and a cover glass and can then be stored.

Result

Nuclei	dark blue to dark violet
Cytoplasm, intercellular substances	pink to red
Erythrocytes	yellow to orange

Trouble-shooting

Microscopic image	Possible cause	Remedy
Eosinophilic structures are too weakly stained	After Eosin Y solution rinse with tapwater	After Eosin Y solution rinse with DI water
Eosinophilic structures are too weakly stained	Eosin Y solution not acidified	Eosin Y solution must be acidified (see "Reagent preparation")
Eosinophilic structures are too weakly stained	Standard ascending alcohol series used (from ethanol 70%)	Use a shortened as-cending alcohol series (from ethanol 96%)

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory. When using histoprocessor systems or automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software.

Analytical performance characteristics

"Hematoxylin solution modified acc. to Gill III" stains and thereby visualizes biological structures, as described in the "Result" chapter of this IFU. The use of the product is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, histoprocessing, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the product is confirmed by testing each production batch. The successful participation in international interlaboratory tests on a regular basis provide an additional and unaffiliated confirmation of analytical specificity.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100%:

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
H&E staining				
Nuclei	20/20	20/20	6/6	6/6
Cytoplasm	20/20	20/20	6/6	6/6
Intercellular substances	20/20	20/20	6/6	6/6
Erythrocytes	20/20	20/20	6/6	6/6

Analytical performance results

Intra- (performed on the same batch) and inter-assay (performed on different batches) data list the number of correctly stained structures in relation to the number of performed assays.

The results of this Performance Evaluation confirms that the product is suitable for the intended use and performs reliably.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used. This method can be supplementarily used in human diagnostics. Further tests must be selected and implemented according to recognized methods. Suitable controls should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

Storage

Store the Hematoxylin solution modified acc. to Gill III - for microscopy at +15 °C to +25 °C.

At temperatures below 15 °C a colored precipitate may settle out of the staining solutions. If precipitation has occurred, place the bottle for 2 - 3 hours in a water bath set at approx. 60 °C. This will re-dissolve most of the precipitate. Subsequently, filter the staining solutions through a paper filter.

Shelf-life

The Hematoxylin solution modified acc. to Gill III - for microscopy can be used until the stated expiry date. After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C. The bottles must be kept tightly closed at all times.

Capacity

1500 - 2500 stainings / 500 ml

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only. National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

Protection against infection

Effective measures must be taken to protect against infection in line with laboratory guidelines.

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines. Used solutions and solutions that are past their shelf-life must be disposed of as special waste in accordance with local guidelines. Information on disposal can be obtained under the Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" at www.microscopy-products.com. Within the EU the currently applicable REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 applies.

Auxiliary reagents

Cat. No.	1.00063	Acetic acid (glacial) 100% anhydrous for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.00316	Hydrochloric acid 25% for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00869	Entellan™ new for cover slipper for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00974	Ethanol denatured with about 1% methyl ethyl ketone for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.02439	Eosin Y-solution 0.5%, alcoholic for microscopy	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No.	1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No.	1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No.	1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No.	1.09843	Neo-Clear™ (xylene substitute) for microscopy	5 l
Cat. No.	1.09844	Eosin Y-solution 0.5% aqueous for microscopy	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.17081	Eosin Y solution 1%, alcoholic for microscopy	1 l

Hazard classification

Cat. No. 1.05174

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet. The safety data sheet is available on the website and on request.

Main components of the product

Cat. No.	1.05174	
C.I.	75290	4.0 g/l
Al ₂ (SO ₄) ₃ x 18 H ₂ O		67.0 g/l
pH		2.5 - 2.6

General remark

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national authority.

Literature

1. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban&Fischer, 2. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
3. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



H318: Causes serious eye damage.

H373: May cause damage to organs (Kidney) through prolonged or repeated exposure if swallowed.

P260: Do not breathe mist or vapors.

P280: Wear eye protection/ face protection.

P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P314: Get medical advice/ attention if you feel unwell.

P501: Dispose of contents/ container to an approved waste disposal plant.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Aug-01	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Aug-01

MilliporeSigma is the U.S. and Canada Life Science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. MilliporeSigma and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803,
USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario,
L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**Millipore
Sigma**

1.05174.0500

1.05174.1000

1.05174.2500

REF

Microscopie

Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III

pour la microscopie

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

CE

Objectif prévu

La présente « Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III - pour la microscopie » est utilisée pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen histologique et clinico-cytologique d'échantillons d'origine humaine. C'est une solution de coloration prête à l'emploi qui est utilisée conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves histologiques et clinico-cytologiques, telles que les coupes histologiques de rein, muscle, cœur, poumon, p.ex.

La coloration à l'hématoxyline & éosine (H&E) est la méthode de coloration la plus courante pour matériel histologique. La présente Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III est utilisée dans la coloration hématoxyline-éosine (H&E) d'ensemble utilisée en histologie dans le travail de routine.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il peut être nécessaire d'exécuter des examens supplémentaires.

Principe

La coloration à l'hématoxyline & éosine (H&E) est la méthode de coloration la plus courante pour matériel histologique. Le fonctionnement est un procédé physico-chimique.

Dans un premier temps, le colorant du noyau chargé positivement (l'hématoxyline) se fixe sur les groupes phosphates chargés négativement des acides nucléiques du noyau cellulaire.

Les noyaux prennent alors une couleur variant entre le bleu foncé et le violet foncé.

La seconde étape réside dans la contre-coloration à un colorant xanthène anionique chargée négativement (éosine J, éosine B ou érythrosine B). Le colorant se fixe aux protéines plasmatiques chargées positivement.

Le cytoplasme et les substances intercellulaires se colorent en rose à rouge, les érythrocytes apparaissent en jaune à orange.

On distingue la coloration hématoxyline progressive, au cours de laquelle on colore jusqu'au point final, puis un bleuissement est effectué dans l'eau du robinet. Au cours de la méthode régressive, l'hématoxyline est surcolorée, l'excès de colorant est ensuite retiré pendant les phases de différenciation, ici aussi on bleuit à l'eau du robinet.

Dans la coloration régressive les structures nucléaires apparaissent différenciées et sont plus visibles.

Matériel d'échantillons

Des coupes de tissu fixé à la formaline et inclus en paraffine (coupes en paraffine de 3 à 4 µm d'épaisseur) ou également de coupes congelées ainsi que du matériel clinique de la cytologie comme sédiment urinaire, crachat, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), liquides de lavage, empreintes, liquide d'épanchement sont utilisés comme matériel de départ.

Réactifs

Art. 1.05174

Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III
pour la microscopie

500 ml, 1 l, 2,5 l

Nécessaire en plus :

Art. 1.09844 Eosine J-solution aqueuse à 0,5%
pour la microscopie

1 l, 2,5 l

ou

Art. 1.02439 Solution alcoolique d'éosine J à 0,5%
pour la microscopie

500 ml, 2,5 l

ou

Art. 1.17081 Eosine J - Solution à 1%, d'alcool
pour la microscopie

1 l

Art. 1.00063 Acide acétique (glacial) 100% anhydre,
pour analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur

1 l, 2,5 l

Art. 1.00316 Acide chlorhydrique 25 %
pour analyses EMSURE®

1 l, 2,5 l

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié.

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés.

Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Déparaffiner et réhydrater les coupes de la manière habituelle.

Préparation du réactif

L'Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III utilisé pour colorer est prête à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer la solution étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.

Il est recommandé de filtrer la solution avant l'emploi.

**Solution aqueuse d'éosine J à 0,5 % (art. 1.09844) ou
Solution alcoolique d'éosine J à 0,5 % (art. 1.02439) ou
Solution alcoolique d'éosine J à 1 % (art. 1.17081)**

Pour intensifier la coloration à l'éosine, on ajoute p. ex. 1,0 ml d'acide acétique (glacial) à 500 ml de la solution de travail.

La solution de travail acidifiée suffit pour env. 750 préparations; celle-ci doit cependant être remplacée au plus tard après 14 jours.

En utilisant les solutions d'éosine J alcooliques, il faut réaliser la coloration en employant une série d'alcools plus courte (en commençant avec de l'éthanol à 96 % et une durée d'action de seulement 10 secondes).

Acide chlorhydrique 0,1 %, aqueux

Pour la préparation d'env. 100 ml de solution, il faut additionner :

Eau distillée	100 ml
Acide chlorhydrique à 25 %	0,4 ml

Coloration H&E

Mode opératoire

Coloration régressive de coupes en paraffine

Coloration dans la cuve de coloration

Déparaffiner les préparations histologiques de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec coupe en paraffine	
Eau distillée	1 minute
Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III	3 minutes
Acide chlorhydrique à 0,1 %, aqueux	2 secondes
Eau du robinet courante	3 - 5 minutes
Solution aqueuse d'éosine J à 0,5 % ou Solution alcoolique d'éosine J à 0,5 %* ou Solution alcoolique d'éosine J à 1 %*	3 minutes
Eau courante déminéralisée	30 secondes
Ethanol 70 %	1 minute
Ethanol 70 %	1 minute
Ethanol 96 %	1 minute
Ethanol 96 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Monter les préparations humides de Neo-Clear™ avec le Neo-Mount™ ou les préparations humides de xylène avec p. ex. l'Entellan™ néo et d'une lamelle couvre-objets.	

* En utilisant les solutions d'éosine J alcooliques, il faut réaliser la coloration en employant une série d'alcools plus courte (en commençant avec de l'éthanol à 96 % et une durée d'action de seulement 10 secondes).

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear™, les préparations histologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p. ex. DPX néo, Entellan™ néo, Neo-Mount™) et une lamelle couvre-objet et être conservée.

A une température inférieure à +15 °C, on peut noter la formation de précipité de colorant dans les solutions de coloration. Dans ce cas, placer les flacons pendant 2 à 3 heures dans un bain marie chaud à env. 60 °C. De ce fait, la plus grande partie des précipités de colorant se dissout à nouveau. Filtre ensuite les solutions de coloration à travers un papier filtre.

Stabilité

L' Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III - pour la microscopie peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiqué.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Capacité

1500 à 2500 colorations / 500 ml

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié.

Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com.

Au sein de l'UE s'applique le règlement CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

En cas d'utilisation des processeurs d'histologie ou des automates de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel.

Caractéristiques de performance analytique

« Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III » colore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d'emploi. Ce produit ne doit être utilisé que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, le traitement histologique (histoprocessing), la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique du produit est confirmée via l'analyse de chaque lot de production. La participation réussie à des tests interlaboratoires internationaux réguliers est une confirmation supplémentaire et indépendante de la spécificité analytique.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 % :

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration H&E				
Noyaux cellulaires	20/20	20/20	6/6	6/6
Cytoplasme	20/20	20/20	6/6	6/6
Substances intercellulaires	20/20	20/20	6/6	6/6
Erythrocytes	20/20	20/20	6/6	6/6

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d'essais effectués.

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que le produit est approprié à l'usage prévu et peut être utilisé de manière fiable.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées.

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire.

Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.

Stockage

Stocker l'Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III - pour la microscopie entre +15 °C et +25 °C.

FR

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié.

Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com.

Au sein de l'UE s'applique le règlement CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. 1.00063	Acide acétique (glacial) 100% anhydre, pour analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Art. 1.00316	Acide chlorhydrique 25 % pour analyses EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 1.00869	Neo-Entellan™ pour colleuse de lamelles pour la microscopie	500 ml
Art. 1.00974	Ethanol dénaturé avec env. 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.02439	Eosine J - Solution à 0,5%, d'alcool pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 1.09844	Eosine J-solution aqueuse à 0,5% pour la microscopie	1 l, 2,5 l
Art. 1.17081	Eosine J - Solution à 1%, d'alcool pour la microscopie	1 l

Classification des matières dangereuses

Art. 1.05174

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

Composants principaux du produit

Art. 1.05174		
C.I. 75290		4,0 g/l
Al ₂ (SO ₄) ₃ x 18 H ₂ O		67,0 g/l
pH		2,5 - 2,6

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

1. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban&Fischer, 2. Auflage
2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
3. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



H318 : Provoque de graves lésions des yeux.

H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes (Reins) à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée en cas d'ingestion.

P260 : Ne pas respirer les brouillards ou les vapeurs.

P280 : Porter un équipement de protection des yeux/ du visage.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P314 : Consulter un médecin en cas de malaise.

P501 : Éliminer le contenu/ récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Aug-01	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions



Respectez les consignes d'utilisation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la documentation complémentaire



Utilisable jusqu'au AAAA-MM-JJ



Limitation de température

Status: 2024-Aug-01

MilliporeSigma est le nom de l'activité Life Science américaine et canadienne de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. MilliporeSigma et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**Millipore
Sigma**

1.05174.0500

1.05174.1000

1.05174.2500



Microscopía

Hematoxilina en solución modificada según Gill III

para microscopía

Solamente para uso profesional

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Finalidad prevista

La presente "Hematoxilina en solución modificada según Gill III - para microscopía" es utilizada para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen histológico y clínico-citológico de muestras de origen humano. Se trata de una solución de tinción lista para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (mediante fijación, inclusión, tinción, contratinción, montaje) en material de examen histológico y clínico-citológico, como pueden ser cortes histológicos p.ej. del riñón, de un músculo, del corazón o del pulmón.

La tinción de hematoxilina y eosina A (tinción H y E) es el método de tinción más frecuente para uso en material histológico. La presente Hematoxilina en solución modificada según Gill III es utilizada en la tinción de conjunto de hematoxilina y eosina (H y E), que se aplica en la histología de forma rutinaria.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador automatizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Tal vez se requieren exámenes más complejos para un diagnóstico final.

Principio

La tinción de hematoxilina y eosina A (tinción H y E) es el método de tinción más frecuente para uso en material histológico. El mecanismo es un proceso físico-químico.

En el primer paso se une el colorante de núcleo de carga positiva (hematoxilina) a los grupos fosfáticos de carga negativa de los ácidos nucleicos del núcleo celular.

Los núcleos aparecen en color azul oscuro hasta violeta oscuro.

El segundo paso es la contratinción con un colorante de xanteno aniónico de carga negativa (eosina A, eosina B o eritrosina B). El colorante se une a las proteínas plasmáticas de carga positiva.

El citoplasma y las sustancias intercelulares son teñidos en rosa a rojo, los eritrocitos aparecen en amarillo a naranja.

Existe la tinción progresiva de hematoxilina, se tiñe hasta el punto terminal y luego en agua del grifo hasta el viraje a azul. En el método regresivo se sobretiene la hematoxilina, el exceso de colorante se elimina de nuevo en pasos de diferenciación rápidos; también aquí se realiza el azulado con agua corriente del grifo.

En la tinción regresiva las estructuras del núcleo se presentan más diferenciadas y se pueden ver mejor.

Material de las muestras

Como material de partida se emplean cortes de tejido fijado en formalina e incluido en parafina (cortes de parafina de 3 - 4 µm de espesor) o también cortes congelados, así como material clínico de la citología como sedimento urinario, esputo, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), líquidos de lavado, imprints, efusiones.

Reactivos

Art. 1.05174

Hematoxilina en solución modificada según Gill III 500 ml, 1 l, 2,5 l para microscopía

Necesario además:

Art. 1.09844 Eosina A al 0,5% en solución acuosa 1 l, 2,5 l para microscopía

o Art. 1.02439 Eosina A al 0,5% en solución alcohólica 500 ml, 2,5 l para microscopía

o Art. 1.17081 Eosina A - Solución al 1%, alcohólica 1 l para microscopía

Art. 1.00063 Ácido acético (glacial) 100% anhidro 1 l, 2,5 l para análisis EMSURE® ACS,ISO,Reag.Ph Eur

Art. 1.00316 Ácido clorhídrico 25% para análisis EMSURE®

1 l, 2,5 l

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Desparafinar de forma típica los cortes y rehidratar.

Preparación del reactivo

La Hematoxilina en solución modificada según Gill III utilizada para los procesos de tinción está lista para el uso, la dilución de la solución no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Se recomienda filtrar la solución antes de su uso.

Eosina A al 0,5 % en solución acuosa (art. 1.09844) o Eosina A al 0,5 % en solución alcohólica (art. 1.02439) o Eosina A al 1 % en solución alcohólica (art. 1.17081)

Para intensificar la tinción con eosina se añade p.ej. 1,0 ml de ácido acético glacial a 500 ml de solución de trabajo.

La solución de trabajo acidificada es suficiente para unos 750 preparados, pero debería ser renovada a más tardar después de dos semanas.

Si se utilizan las soluciones alcohólicas de eosina A, habrá que emplear durante la realización de la correspondiente tinción una serie alcohólica más corta (empezando con etanol al 96 % y un período de acción de sólo 10 segundos).

Ácido clorhídrico 0,1 %, acuoso

Para preparar aprox. 100 ml de solución se añaden juntos:

Agua destilada	100 ml
Ácido clorhídrico al 25%	0,4 ml

Tinción de H y E

Técnica

Tinción regresiva de cortes de parafina

Tinción en la cubeta de tinción

Desparafinar de forma habitual los preparados histológicos y rehidratar en serie descendente de alcohol.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Portaobjetos con corte de parafina	
Agua destilada	1 minuto
Hematoxilina en solución modificada según Gill III	3 minutos
Ácido clorhídrico al 0,1 %, acuoso	2 segundos
Agua corriente del grifo	3 - 5 minutos
Eosina A al 0,5 % en solución acuosa o Eosina A al 0,5 % en solución alcohólica*	3 minutos
o Eosina A al 1 % en solución alcohólica*	
Agua corriente desionizada	30 segundos
Etolol 70 %	1 minuto
Etolol 70 %	1 minuto
Etolol 96 %	1 minuto
Etolol 96 %	1 minuto
Etolol 100 %	1 minuto
Etolol 100 %	1 minuto
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Montar con Neo-Mount™ los preparados humedecidos con Neo-Clear™, o los preparados humedecidos con xileno con p.ej. Entellan™ Nuevo y cubre-objetos.	

* Si se utilizan las soluciones alcohólicas de eosina A, habrá que emplear durante la realización de la correspondiente tinción una serie alcohólica más corta (empezando con etanol al 96 % y un período de acción de sólo 10 segundos).

Los preparados histológicos pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. DPX nuevo, Entellan™ Nuevo o Neo-Mount™) y cubreobjetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Resultado

Núcleos celulares	azul oscuro hasta violeta oscuro
Citoplasma, sustancias intercelulares	rosa a rojo
Eritrocitos	amarillo a naranja

Localización de errores

Imagen microscópica	Posible causa	Remedio
Estructuras eosinófi-las están teñidas con intensidad demasiado baja	Después de solución de Eosina A enjuague con agua del grifo	Después de solución de Eosina A enjuague con agua desionizada
Estructuras eosinófi-las están teñidas con intensidad demasiado baja	Solución de Eosina A no acidificada	Solución de Eosina A tiene que ser acidifica-da (véase „Preparación del reactivo“)
Estructuras eosinófi-las están teñidas con intensidad demasiado baja	Se ha iutilizado serie de alcohol ascendente general (a partir de etanol 70 %)	Utilzar serie de alcohol ascendente acortada (a partir de etanol 96 %)

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico. Si se utilizan histoprocesadores o aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software.

Características de rendimiento analítico

“Hematoxilina en solución modificada según Gill III” tiñe y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en el capítulo “Resultado” de esta instrucción de uso. Solo deben utilizar el producto personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, el procesamiento histológico, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción. La participación satisfactoria en análisis interlaboratorios internacionales periódicos proporciona una confirmación adicional e independiente de la especificidad analítica.

En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

	Especifi-cidad inter-ensayos	Especifi-cidad inter-ensayos	Especi-ficidad intraensa-yos	Especi-ficidad intraensa-yos
Tinción de H y E				
Núcleos celulares	20/20	20/20	6/6	6/6
Citoplasma	20/20	20/20	6/6	6/6
Sustancias intercelulares	20/20	20/20	6/6	6/6
Eritrocitos	20/20	20/20	6/6	6/6

Resultados de rendimiento analítico

Los datos intraensayos (realizados en el mismo lote) e interensayos (realizados en diferentes lotes) enumeran las estructuras correctamente teñidas en relación con el número de ensayos realizados.

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud del producto para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas. Deberán emplearse terminologías vigentes. Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos. Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar la Hematoxilina en solución modificada según Gill III - para microscopía de +15 °C a +25 °C.

A temperaturas inferiores a 15 °C puede precipitar colorante de las soluciones de tinción. En tal caso han de colocarse los frascos durante 2 - 3 horas en un baño de agua aprox. 60 °C. De esta manera se redisuelve la mayor parte de los precipitados de colorantes. Las soluciones de tinción deben filtrarse seguidamente a través de un papel de filtro.

Estabilidad

La Hematoxilina en solución modificada según Gill III - para microscopía puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Capacidad

1500 - 2500 tinciones / 500 ml

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado.

Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link “Hints for Disposal of Microscopy Products” en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.00063	Ácido acético (glacial) 100% anhidro para análisis EMSURE® ACS,ISO,Reag.Ph Eur	1 l, 2,5 l
Art. 1.00316	Ácido clorhídrico 25% para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 1.00869	Entellan™ nuevo para montadores de cubreobjetos para microscopía	500 ml
Art. 1.00974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.02439	Eosina A al 0,5% en solución alcohólica para microscopía	500 ml, 2,5 l
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 1.09844	Eosina A al 0,5% en solución acuosa para microscopía	1 l, 2,5 l
Art. 1.17081	Eosina A - Solución al 1%, alcohólica para microscopía	1 l

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.05174

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad. La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Componentes principales del producto

Art. 1.05174

C.I. 75290	4,0 g/l
Al ₂ (SO ₄) ₃ x 18 H ₂ O	67,0 g/l
pH	2,5 - 2,6

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

- 1. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban&Fischer, 2. Auflage
- 2. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
- 3. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- 4. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



H318: Provoca lesiones oculares graves.

H373: Puede provocar daños en los órganos (Riñón) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.

P260: No respirar la niebla o los vapores.

P280: Llevar equipo de protección para los ojos/ la cara.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P314: Consultar a un médico en caso de malestar.

P501: Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Aug-01	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones

Observe las instrucciones de uso

Fabricante

Número de catálogo

Código del lote

Atención, observar la documentación pertinente

Utilizable hasta AAAA-MM-DD

Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Aug-01