

1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Microscopy

Hematoxylin cryst. (C.I.75290)

for microscopy

For professional use only

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

This "Hematoxylin cryst. (C.I.75290) - for microscopy" is used for human-medical cell diagnosis and serves the histological and cytological investigation of sample material of human origin. It is a dry staining dye that is used to prepare a 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 with the above hematoxylin solution, counterstaining, mounting) in histological and cytological specimen materials.

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 tests must be carried out according to recognized, valid methods to reach a definitive diagnosis.

This staining solution, which requires further preparation before it can be used, serves exclusively for overview staining in the differentiation of the target structures of cell and tissue components listed below in the section "Result". For more specific applications we recommend the use of Cat. No. 1.05175 Hematoxylin solution modified acc. to Gill II, Cat. No. 1.05174 Hematoxylin solution modified acc. to Gill III, Cat. No. 1.09249 Mayer's hemalum solution for microscopy or Cat. No. 1.09254 Papanicolaou's solution 1b Hematoxylin solution S for cytology.

Reagents

Cat. No. 1.04302

Hematoxylin cryst. (C.I.75290)
for microscopy

25 g, 100 g, 1 kg

Color Index No.: 75290

Also required:

Cat. No. 1.09621 Ethylene glycol 1 l, 2.5 l,
for analysis EMSURE® Reag. Ph Eur, 4 l, 10 l
Reag. USP

Cat. No. 227617 Aluminium sulfate octadecahydrate 100 g, 500 g,
≥97% (Sigma-Aldrich) 2.5 kg

or
Cat. No. 1.00974 Ethanol denatured with about 1% methyl 1 l, 2.5 l
ethyl ketone
for analysis EMSURE®

Cat. No. 1.01047 Aluminium potassium sulfate dodecahydrate 1 kg
for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

Cat. No. 1.06525 Sodium iodate 100 g
for analysis EMSURE®

Cat. No. 1.00063 Acetic acid (glacial) 100% anhydrous 1 l, 2.5 l
for analysis EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur

Cat. No. 1.00316 Hydrochloric acid 25% 1 l, 2.5 l
for analysis EMSURE®

Reagent preparation

Hematoxylin solution acc. to Gill

For preparation of approx. 1000 ml solution mix:

Ethylene glycol / distilled water solution

Ethylene glycol	250 g
Distilled water	730 ml
mix and dissolve	

Staining solution

Hematoxylin cryst. (C.I.75290)	2 g
Sodium iodate	0.2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17.6 g
dissolve in the above ethylene glycol / distilled water solution	
Acetic acid 100%	20 ml
add. Stir for 1 hour at room temperature. Filter before use.	

Hematoxylin solution acc. to Harris

For preparation of approx. 1000 ml solution mix:

Hematoxylin solution

Hematoxylin cryst. (C.I.75290)	5 g
Ethanol	50 ml
dissolve under heating in a water bath	

Alum solution

Aluminium potassium sulfate dodecahydrate	100 g
Distilled water	950 ml
dissolve by stirring and heating	
Add the hematoxylin solution to the hot alum solution under stirring and heat up to boiling. Remove the solution from the hot place.	
Sodium iodate	370 mg
add under stirring and cool down in a water bath quickly	
Acetic acid 100%	4 ml
add. Filter in bottles and close carefully. Filter before use.	

Hydrochloric acid 0.1%, aqueous

For preparation of approx. 100 ml solution mix:

Distilled water	100 ml
Hydrochloric acid 25%	0.4 ml

Papanicolaou's staining

Principle

Most used staining procedure for cytological specimen is Papanicolaou's technique and is intended for the staining of exfoliative cells in cytological specimens.

In the first step, the cell nuclei are stained either progressively or regressively with a hematoxylin solution.

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.

The second staining step is cytoplasmic staining by orange staining solution, especially for demonstration of mature and keratinized cells.

In the third staining step is used the so-called polychrome solution, a mixture of eosin, light green SF and Bismarck brown. The polychrome solution is used for demonstration of differentiation of squamous cells.

Sample material

Gynecological and non-gynecological specimen as sputum, urine, smears from fine needle aspiration biopsies (FNAB), effusions, rinses

Reagents

Also required for the Papanicolaou’s staining:

Cat. No.	1.06887	Papanicolaou’s solution 2b Orange II solution for cytology	500 ml, 2.5 l
or			
Cat. No.	1.06888	Papanicolaou’s solution 2a Orange G solution (OG6) for cytology	500 ml, 1 l, 2.5 l
or			
Cat. No.	1.09271	Papanicolaou’s solution 3a polychromatic solution EA 31 for cytology	500 ml, 2.5 l
or			
Cat. No.	1.09272	Papanicolaou’s solution 3b polychromatic solution EA 50 for cytology	500 ml, 1 l, 2.5 l
or			
Cat. No.	1.06329	Sodium hydrogen carbonate for analysis EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

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.

Fixation of smear samples

Wet fixation immediately with spray fixative M-FIX® for min. 10 min or wet fixation immediately in ethanol 96% for min. 30 min.

When the smears are fixed with M-FIX®, rinsing steps 1 - 4 in the ascending ethanol sequence prior to staining can be omitted.

Reagent preparation

The Papanicolaou’s solution 2a Orange G solution (OG6), Papanicolaou’s solution 2b Orange II solution, Papanicolaou’s solution 3a polychromatic solution EA 31 and Papanicolaou’s solution 3b polychromatic solution EA 50 used for staining are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the staining result and their stability.

It is recommended to filter the solutions prior to their use.

Sodium hydrogen carbonate solution 1.5%

For preparation of approx. 1000 ml of solution, add and dissolve:

Sodium hydrogen carbonate	15 g
Distilled water	1000 ml

Ethanol 96%

30 sec

Papanicolaou’s solution 3a polychromatic solution EA 31 or Papanicolaou’s solution 3b polychromatic solution EA 50

3 min

Ethanol 96%

30 sec

Ethanol 100%

5 min

Mixture consisting of: Ethanol 100% + Neo-Clear™ or xylene (1 + 1)

2 min

Clarify with Neo-Clear™ or xylene.

5 min

Clarify with Neo-Clear™ or xylene.

5 min

Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.

* These steps can be omitted when smears are fixed with M-FIX®.

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

The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

Result

Staining with	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplasm cyanophilic (basophilic) eosinophilic (acidophilic) keratinized	blue-green to green pink pink-orange	blue-green pink pink-orange
Erythrocytes	red	
Nuclei	blue to dark violet	
Microorganisms	grey-blue	

H&E staining

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 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.

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 are used as starting material.

Reagents

Also required for H&E staining:

Cat. No.	1.09844	Eosin Y-solution 0.5% aqueous for microscopy	1 l, 2.5 l
or			
Cat. No.	1.02439	Eosin Y-solution 0.5%, alcoholic for microscopy	500 ml, 2.5 l
or			
Cat. No.	1.17081	Eosin Y solution 1%, alcoholic for microscopy	1 l

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

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

Eosin B-solution and erythrosine-solution 0.5%, aqueous

The method of preparation is described in the instructions for use of the respective dye.

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 acc. to Gill or Hematoxylin solution acc. to Harris	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 tap 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.
The use of immersion oil is recommended for the analysis of stained slides with a microscopic magnification >40x.

Result

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

Trouble-shooting

Weak staining of cytoplasm and connective tissue structures

For the intensification of the eosin staining, an acidified working solution (using e.g. glacial acetic acid) should be used.
The use of a non-acidified solution will result in weakly stained cytoplasm and connective tissue structures, hence it is advisable to follow the specified Reagent preparation protocol to achieve an optimal staining result.
The acidified working solution is sufficient for approx. 750 specimens; it should, however, be renewed after 14 days at the latest.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory.
The freshly prepared staining solutions should be filtered before use.
Remove surplus immersion oil before filing.

Analytical performance characteristics

“Hematoxylin cryst. (C.I.75290)” stains and thereby visualizes biological structures, as described in the “Result” chapters 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.
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
Cytological staining				
Nuclei	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasm cyanophilic (basophilic)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasm eosinophilic (acidophilic)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrocytes	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganisms	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E staining				
Nuclei	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasmn	20/20	20/20	7/7	7/7
Intercellular substances	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrocytes	20/20	20/20	7/7	7/7

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 Hematoxylin cryst. (C.I.75290) - for microscopy at +2 °C to +30 °C.

Shelf-life

Hematoxylin cryst. (C.I.75290) - 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 +2 °C to +30 °C.
The bottles must be kept tightly closed at all times.

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.	1.00974	Ethanol denatured with about 1% methyl ethyl ketone for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.01047	Aluminium potassium sulfate dodecahydrate for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Cat. No.	1.02439	Eosin Y-solution 0.5%, alcoholic for microscopy	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.03981	M-FIX® spray fixative for cytodiagnosis	100 ml, 1 l
Cat. No.	1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No.	1.05174	Hematoxylin solution modified acc. to Gill III for microscopy	500 ml, 1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.05175	Hematoxylin solution modified acc. to Gill II for microscopy	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.06329	Sodium hydrogen carbonate for analysis EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Cat. No.	1.06525	Sodium iodate for analysis EMSURE®	100 g
Cat. No.	1.06887	Papanicolaou's solution 2b 2b Orange II solution for cytology	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.06888	Papanicolaou's solution 2a Orange G solution (OG6) for cytology	500 ml, 1 l, 2.5 l
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.	1.09271	Papanicolaou's solution 3a polychromatic solution EA 31 for cytology	500 ml, 2.5 l
Cat. No.	1.09272	Papanicolaou's solution 3b polychromatic solution EA 50 for cytology	500 ml, 1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.09621	Ethylene glycol for analysis EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2.5 l, 4 l, 10 l
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
Cat. No.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2.5 kg

Hazard classification

Cat. No. 1.04302

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. 1.04302

C.I. 75290

$C_{16}H_{14}O_6$

M = 302.29 g/mol

loss on drying max. 10%

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. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Causes serious eye irritation.

P264: Wash skin thoroughly after handling.

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.

P337 + P313: If eye irritation persists: Get medical advice/ attention.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-18	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-Jul-18

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. Merck 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.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Mikroskopie

Hämatoxylin krist. (C.I.75290)

für die Mikroskopie

Nur für professionelle Anwendung

IVD

In Vitro Diagnostikum



Zweckbestimmung

Das vorliegende „Hämatoxylin krist. (C.I.75290) - für die Mikroskopie“ wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der histologischen und zytologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um einen Trockenfarbstoff, welcher für die Herstellung einer Färbelösung verwendet wird, welche zusammen mit anderen *In Vitro* Diagnostika aus unserem Portfolio Zielstrukturen (mittels Fixieren, Einbetten, Färben mit obiger Hämatoxylin-Lösung, Gegenfärben, Eindecken) in histologischem und zytologischem Untersuchungsgut für die Diagnostik auswertbar macht.

Ungefärbte Strukturen sind relativ kontrastarm und lassen sich kaum lichtmikroskopisch differenzieren. Durch die mit Hilfe der Färbelösungen erzeugten Bilder, kann die Form und Struktur durch einen autorisierten und qualifizierten Untersucher besser erkannt werden. Für eine abschließende Diagnostik sind weiterführende Tests nach anerkannten, validen Methoden durchzuführen.

Die selbst angesetzte Färbelösung dient ausschließlich der Übersichtsfärbung zur Differenzierung der unten im Abschnitt „Ergebnis“ genannten Zielstrukturen von Zell- und Gewebsbestandteilen. Für weitergehende Anwendungen empfehlen wir die Verwendung von Art. 1.05175 Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II, Art. 1.05174 Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill III, Art. 1.09249 Mayers-Hämalaunlösung oder Art. 1.09254 Papanicolaous Lösung 1b Harris Hämatoxylinlösung S für die Zytologie.

Reagenzien

Art. 1.04302

Hämatoxylin krist. (C.I.75290)
für die Mikroskopie

25 g, 100 g, 1 kg

Color Index No.: 75290

Zusätzlich erforderlich:

Art. 1.09621	Ethylenglycol zur Analyse EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Art. 227617	Aluminiumsulfat Octadecahydrat ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
oder		
Art. 1.00974	Ethanol vergällt mit ca. 1 % Ethylmethylketon zur Analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Aluminiumkaliumsulfat-Dodecahydrat zur Analyse EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.06525	Natriumiodat zur Analyse EMSURE®	100 g
Art. 1.00063	Essigsäure (Eisessig) 100% wasserfrei zur Analyse EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Art. 1.00316	Salzsäure 25% zur Analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l

Reagenzvorbereitung

Hämatoxylinlösung nach Harris

Zur Herstellung von etwa 1000 ml Lösung werden zusammengegeben:

Ethylenglycol / Aqua dest.-Lösung

Ethylenglycol	250 g
Aqua dest.	730 ml
mischen und lösen	

Färbelösung

Hämatoxylin krist. (C.I.75290)	2 g
Natriumiodat	0,2 g
Aluminiumsulfat Octadecahydrat	17,6 g
in obiger Ethylenglycol / Aqua dest.-Lösung lösen	
Essigsäure 100 %	20 ml
zugeben. Eine Stunde bei Raumtemperatur rühren. Vor Gebrauch filtrieren.	

Hämatoxylinlösung nach Harris

Zur Herstellung von etwa 1000 ml Lösung werden zusammengegeben:

Hämatoxylinlösung

Hämatoxylin krist. (C.I.75290)	5 g
Ethanol	50 ml
unter Erwärmen im Wasserbad lösen	

Alaunlösung

Aluminiumkaliumsulfat-Dodecahydrat	100 g
Aqua dest.	950 ml
unter Rühren und Erwärmen lösen	
In die noch heiße Alaunlösung die Hämatoxylinlösung unter ständigem Rühren eingießen und aufkochen lassen. Die Lösung von der Wärmequelle nehmen.	
Natriumiodat	370 mg
unter Rühren zugeben und im Wasserbad rasch abkühlen	
Essigsäure 100 %	4 ml
zugeben. In gut verschließbare Flaschen filtrieren. Vor Gebrauch filtrieren.	

Salzsäure 0,1 %, wässrig

Zur Herstellung von etwa 100 ml Lösung werden zusammengegeben:

Aqua dest.	100 ml
Salzsäure 25 %	0,4 ml

Papanicolaous-Färbung

Prinzip

Die Papanicolaous-Färbung ist die meist genutzte Färbemethode für zytologisches Material und ist zur Färbung von exfoliativen Zellen in zytologischen Proben vorgesehen.

Im ersten Schritt werden die Zellkerne mit einer Hämatoxylinlösung entweder progressiv oder regressiv gefärbt.

Bei der progressiven Hämatoxylin-Färbung wird bis zum Endpunkt gefärbt wird und dann im Leitungswasser gebläut.

Bei der regressiven Methode wird mit Hämatoxylin überfärbt, der Überschuss an Farbe wird in sauren Differenzierungsschritten wieder entfernt. Auch hier wird mit Leitungswasser gebläut.

Bei der regressiven Färbung erscheinen die Kernstrukturen differenzierter und sind besser sichtbar.

Der zweite Schritt ist die Zytoplasmafärbung mit einer Orangefärbelösung, die besonders die reifen und verhornten Zellen darstellt.

Im dritten Färbeschritt wird die sogenannte Polychromlösung verwendet, die eine Mischung aus Eosin, Lichtgrün SF und Bismarckbraun ist. Mit der Polychromlösung wird die Differenzierung des Plattenepithels dargestellt.

Probenmaterial

Gynäkologische und nicht-gynäkologische Proben wie Sputum, Urin, Ausstriche von Feinnadel-Aspirations-Biopsien (FNAB), Ergüsse, Spülflüssigkeiten

			DE
Reagenzien	Zusätzlich erforderlich für die Papanicolaous-Färbung:		
	Art. 1.06887	Papanicolaous Lösung 2b Orange II-Lösung für die Zytologie	500 ml, 2,5 l
oder			
Art. 1.06888	Papanicolaous Lösung 2a Orange G-Lösung (OG6) für die Zytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l	
Art. 1.09271	Papanicolaous Lösung 3a Polychromlösung EA 31 für die Zytologie	500 ml, 2,5 l	
	oder		
Art. 1.09272	Papanicolaous Lösung 3b Polychromlösung EA 50 für die Zytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l	
Art. 1.06329	Natriumhydrogencarbonat zur Analyse EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg	

Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch Fachpersonal erfolgen. Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln. Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen. Geeignete Instrumente sind zur Probenentnahme und bei der Präparation zu verwenden, die Anweisungen des Herstellers für die Anwendung / den Gebrauch sind zu befolgen. Bei Verwendung der entsprechenden Hilfsreagenzien sind die dazugehörigen Gebrauchsanweisungen zu beachten.

Fixierung der Ausstrichpräparate

Sofortige Feuchtfixierung mit dem Fixationsspray M-FIX® für mindestens 10 min oder sofortige Feuchtfixierung in Ethanol 96 % für mindestens 30 min. Werden die Ausstriche mit M-FIX® fixiert, können die Waschschrte 1 - 4 in der absteigenden Ethanol-Reihe vor der Färbung entfallen.

Reagenz Vorbereitung

Die verwendeten Färbelösungen Papanicolaous Lösung 2a Orange G-Lösung (OG6), Papanicolaous Lösung 2b Orange II-Lösung, Papanicolaous Lösung 3a Polychromlösung EA 31 und Papanicolaous Lösung 3b Polychromlösung EA 50 sind gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösungen ist nicht notwendig, mindert das Färbeergebnis und die Haltbarkeit. Es wird empfohlen, die Lösungen vor Gebrauch zu filtrieren.

Natriumhydrogencarbonat-Lösung 1,5 %

Zur Herstellung von etwa 1000 ml Lösung werden zusammengegeben und gelöst:

Natriumhydrogencarbonat	15 g
Aqua dest.	1000 ml

Durchführung

Regressive Färbung in der Färbeküvette

Die Objektträger müssen in die Lösungen eingetaucht und kurz bewegt werden, einfaches Hineinstellen ergibt ungenügende Färbeergebnisse. Die Objektträger sollten nach den einzelnen Färbeschrten gut abtropfen, so kann eine unnötige Verschleppung von Lösungen vermieden werden. Für ein optimales Färbeergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit fixiertem Ausstrich	
Ethanol 96 %*	10 sec
Ethanol 80 %*	10 sec
Ethanol 70 %*	10 sec
Ethanol 50 %*	10 sec
Aqua dest.	10 sec
Hämatoxylin-Lösung nach Gill	5 min
oder	
Hämatoxylin-Lösung nach Harris	6 min
Aqua dest.	10 sec
Salzsäure 0,1%, wässrig	10 sec
Aqua dest.	10 sec
Natriumhydrogencarbonat-Lösung 1,5 %	1 min
Fließendes Leitungswasser	3 min
Ethanol 70 %	30 sec
Ethanol 80 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Papanicolaous Lösung 2a Orange G-Lösung oder Papanicolaous Lösung 2b Orange II-Lösung	3 min

Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Papanicolaous Lösung 3a Polychromlösung EA 31 oder Papanicolaous Lösung 3b Polychromlösung EA 50	3 min
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 96 %	30 sec
Ethanol 100 %	5 min
Gemisch aus: Ethanol 100 % + Neo-Clear™ oder Xylol (1 + 1)	2 min
Klären mit Neo-Clear™ oder Xylol.	5 min
Klären mit Neo-Clear™ oder Xylol.	5 min
Eindecken der Neo-Clear™-feuchten Präparate mit Neo-Mount™ oder der Xylol-feuchten Präparate mit z.B. Entellan™ Neu und Deckglas.	

* Diese Schritte können bei einer Fixierung mit M-FIX® entfallen.

Zytologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear™, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. Entellan™ Neu, DPX Neu oder Neo-Mount™) und Deckglas eingedeckt und gelagert werden. Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Ergebnis

Färbung mit	3a / EA 31	3b / EA 50
Zytoplasma cyanophil (basophil) eosinophil (acidophil) verhornt	blaugrün bis grün rosa rosa-orange	blaugrün rosa rosa-orange
Erythrozyten	rot	
Zellkerne	blau, schwarz, dunkelviolet	
Mikroorganismen	graublau	

H&E-Färbung

Prinzip

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H&E) ist die meist genutzte Färbemethode für histologisches Material. Der Färbemechanismus ist ein physikalisch-chemischer Vorgang. Im ersten Schritt bindet der positiv geladene Kernfarbstoff (Hämatoxylin) an die negativ geladenen Phosphatgruppen der Nucleinsäuren des Zellkerns. Der zweite Schritt ist die Gegenfärbung mit einem negativ geladenen anionischen Xanthen-Farbstoff (Eosin G, Eosin B oder Erythrosin B). Dieser bindet an die positiv geladenen Plasmaproteine. Man unterscheidet die progressive Hämatoxylinfärbung, bei der bis zum Endpunkt gefärbt und dann im Leitungswasser gebläut wird, von der regressiven Methode. Dort wird mit Hämatoxylin überfärbt, der Überschuss an Farbe in sauren Differenzierschrten wieder entfernt, auch hier wird mit Leitungswasser gebläut. Bei der regressiven Färbung erscheinen die Kernstrukturen differenzierter und sind besser sichtbar.

Probenmaterial

Als Ausgangsmaterial werden Schnitte von Formalin fixiertem, Paraffin eingebettetem Gewebe (3 - 4 µm dicke Paraffinschnitte) oder auch Gefrierschnitte verwendet.

Reagenzien

Zusätzlich erforderlich für die H&E-Färbung:

Art. 1.09844	Eosin G-Lösung 0,5% wässrig für die Mikroskopie	1 l, 2,5 l
oder		
Art. 1.02439	Eosin G-Lösung 0,5% alkoholisch für die Mikroskopie	500 ml, 2,5 l
oder		
Art. 1.17081	Eosin G - Lösung 1% alkoholisch für die Mikroskopie	1 l

Probenvorbereitung

Die Probenentnahme darf nur durch Fachpersonal erfolgen. Alle Proben sind entsprechend dem Stand der Technik zu behandeln. Alle Proben sind eindeutig zu kennzeichnen. Geeignete Instrumente sind zur Probenentnahme und bei der Präparation zu verwenden, die Anweisungen des Herstellers für die Anwendung / den Gebrauch sind zu befolgen. Bei Verwendung der entsprechenden Hilfsreagenzien sind die dazugehörigen Gebrauchsanweisungen zu beachten. Schnitte in typischer Weise entparaffinieren und rehydratisieren.

Reagenzvorbereitung

Eosin G-Lösung 0,5 % wässrig (Art. 1.09844)
Eosin G-Lösung 0,5 % alkoholisch (Art. 1.02439)
Eosin G-Lösung 1 % alkoholisch (Art. 1.17081)

Zur Intensivierung der Eosin-Färbung werden z.B. zu 500 ml Arbeitslösung 1,0 ml Eisessig gegeben.

Die angesäuerte Arbeitslösung ist für ca. 750 Präparate ausreichend, sollte jedoch spätestens nach 14 Tagen erneuert werden.

Bei Verwendung der alkoholischen Eosin G-Lösungen muss in der Durchführung der jeweiligen Färbung eine kürzere Alkoholreihe (beginnend mit Ethanol 96 % und nur 10 Sekunden Einwirkzeit) verwendet werden.

Eosin B-Lösung und Erythrosin-Lösung 0,5 %, wässrig

Die Herstellung findet sich in der Gebrauchsanweisung des jeweiligen Farbstoffs.

Durchführung

Regressive Färbung von Paraffinschnitten

Färbung in der Färbeküvette

Histologische Präparate in typischer Weise entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydratisieren.

Die Objektträger sollten nach den einzelnen Färbeschritten gut abtropfen, so kann eine unnötige Verschleppung von Lösungen vermieden werden.

Für ein optimales Färbeergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit Paraffinschnitt	
Aqua dest.	1 min
Hämatoxylin-Lösung nach Gill oder Hämatoxylin-Lösung nach Harris	3 min
Salzsäure 0,1 %, wässrig	2 sec
Fließendes Leitungswasser	3 - 5 min
Eosin G-Lösung 0,5 %, wässrig oder Eosin G-Lösung 0,5 %, alkoholisch* oder Eosin G - Lösung 1 %, alkoholisch*	3 min
Fließendes Leitungswasser	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
Xylol oder Neo-Clear™	5 min
Xylol oder Neo-Clear™	5 min
Eindecken der Neo-Clear™-feuchten Präparate mit Neo-Mount™ oder der Xylol-feuchten Präparate mit z.B. Entellan™ Neu und Deckglas.	

* Bei Verwendung der alkoholischen Eosin G-Lösungen muss in der Durchführung der jeweiligen Färbung eine kürzere Alkoholreihe (beginnend mit Ethanol 96 % und nur 10 Sekunden Einwirkzeit) verwendet werden.

Histologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear™, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z. B. DPX Neu, Entellan™ Neu, Neo-Mount™) und Deckglas eingedeckt und ge-agert werden.

Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Ergebnis

Zellkerne	dunkelblau bis dunkelviolet
Zytoplasma, Interzellulärsubstanzen	rosa bis rot
Erythrozyten	gelb bis orange

Fehlerfindung

Schwache Anfärbung des Zytoplasmas und Bindegewebsstrukturen bei der Eosin-Färbung

Zur Intensivierung der Eosin-Färbung muss eine mit Eisessig angesäuerte Arbeitslösung verwendet werden.

Die Verwendung einer nicht angesäuerten Lösung resultiert in schwach angefärbtem Zytoplasma und Bindegewebsstrukturen, für ein optimales Färbeergebnis sollten daher die angegebene Reagenzvorbereitung eingehalten werden.

Die angesäuerte Arbeitslösung ist für ca. 750 Präparate ausreichend, sollte jedoch spätestens nach 14 Tagen erneuert werden.

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen.

Werden Histoprozessoren und Färbeautomaten verwendet, sind die Bedienungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten.

Die frisch hergestellten Farbstofflösungen sind vor Gebrauch zu filtrieren.

Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen.

Die frisch hergestellten Färbelösungen sind vor Gebrauch zu filtrieren.

Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

Analytische Leistung

Das vorliegende „Hämatoxylin krist. (C.I.75290)“ färbt und visualisiert dadurch biologische Strukturen, wie in den Kapiteln "Ergebnis" dieser Gebrauchsanweisung beschrieben. Die Anwendung des Produkts ist hierbei nur von autorisierten und qualifizierten Personen durchzuführen, dies umfasst, unter anderem, die Proben- und Reagenzvorbereitung, Probenbehandlung, Histoprozessing, die Entscheidung über geeignete Kontrollen und mehr.

Die analytische Leistung des Produkts wird durch die Testung jeder Produktionscharge sichergestellt.

Für die folgenden Färbungen wurden die analytische Leistung in Form von Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit des Produkts mit einer Rate von 100 % bestätigt:

	Inter-assay Spezifität	Inter-assay Sensitivität	Intra-assay Spezifität	Intra-assay Sensitivität
Zytologische Färbung				
Zellkerne	20/20	20/20	7/7	7/7
Zytoplasma cyanophil (basophil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Zytoplasma eosinophil (acidophil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrozyten	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganismen	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E-Färbung				
Zellkerne	20/20	20/20	7/7	7/7
Zytoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Interzellulärsubstanzen	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrozyten	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytische Leistungsparameter

Die Daten der Intra- (durchgeführt an derselben Charge) und Inter-Assays (durchgeführt an verschiedenen Chargen) zeigen die Anzahl der erfolgreich angefärbten Strukturen im Verhältnis zur Gesamtzahl der durchgeführten Assays.

Die Ergebnisse der Performance Evaluation belegen, dass dieses Produkt für die beschriebene Zweckbestimmung geeignet ist und verlässlich korrekte Ergebnisse liefert.

Diagnostik

Diagnosen sind nur von autorisierten und qualifizierten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden.

Diese Methode ist ergänzend in der Humandiagnostik anzuwenden.

Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen.

Geeignete Kontrollen sollten bei jeder Anwendung mitgeführt werden, um ein fehlerhaftes Ergebnis auszuschließen.

Lagerung

Hämatoxylin krist. (C.I.75290) - für die Mikroskopie bei +2 °C bis +30 °C lagern.

Haltbarkeit

Hämatoxylin krist. (C.I.75290) - für die Mikroskopie kann bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +2 °C bis +30 °C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar.

Die Flaschen sind stets gut geschlossen zu halten.

Gebrauchshinweise

Nur für professionelle Anwendung.

Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von Fachpersonal durchzuführen. Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen.

Entsprechend dem Standard ausgestattete Mikroskope sind zu verwenden.

Infektionsschutz

Auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien ist unbedingt zu achten.

Entsorgungshinweise

Die Packung ist entsprechend der gültigen Entsorgungsrichtlinien zu entsorgen. Gebrauchte Lösungen und Lösungen mit abgelaufener Haltbarkeit sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen, dabei ist den lokalen Entsorgungsrichtlinien zu folgen. Hinweise zur Entsorgung können unter dem Quick Link „Entsorgungshinweise für Mikroskopie-Produkte“ auf www.Mikroskopie-Produkte.com angefordert werden. Innerhalb der EU gilt die VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG), Nr. 1907/2006.

Hilfsreagenzien

Art. 1.00063	Essigsäure (Eisessig) 100% wasserfrei zur Analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Art. 1.00316	Salzsäure 25% zur Analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.00579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml
Art. 1.00974	Ethanol vergällt mit ca. 1 % Ethylmethylketon zur Analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Aluminiumkaliumsulfat-Dodecahydrat zur Analyse EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.02439	Eosin G-Lösung 0,5% alkoholisch für die Mikroskopie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.03981	M-FIX® Fixations spray für die Zytodiagnostik	100 ml, 1 l
Art. 1.04699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05174	Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill III für die Mikroskopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.05175	Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II für die Mikroskopie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06329	Natriumhydrogencarbonat zur Analyse EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Art. 1.06525	Natriumiodat zur Analyse EMSURE®	100 g
Art. 1.06887	Papanicolaous Lösung 2b Orange II-Lösung für die Zytologie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06888	Papanicolaous Lösung 2a Orange G-Lösung (OG6) für die Zytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.07961	Entellan™ Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xylol (Isomerengemisch) für die Histologie	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 500 ml
Art. 1.09271	Papanicolaous Lösung 3a Polychromlösung EA 31 für die Zytologie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09272	Papanicolaous Lösung 3b Polychromlösung EA 50 für die Zytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09621	Ethylenglycol zur Analyse EMSURE® Reag. Ph Eur,Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (Xylol-Ersatz) für die Mikroskopie	5 l
Art. 1.09844	Eosin G-Lösung 0,5% wässrig für die Mikroskopie	1 l, 2,5 l
Art. 1.17081	Eosin G - Lösung 1% alkoholisch für die Mikroskopie	1 l
Art. 227617	Aluminiumsulfat Octadecahydrat ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

GefahrstoffEinstufung

Art. 1.04302

Die GefahrstoffEinstufung auf dem Etikett und die Angaben im Sicherheitsdatenblatt sind zu beachten.

Das Sicherheitsdatenblatt ist erhältlich im Internet und auf Anfrage.

Hauptbestandteile des Produkts

Art. 1.04302

C.I. 75290

C₁₆H₁₄O₆

M = 302,29 g/mol

Trocknungsverlust max. 10 %

Allgemeiner Hinweis

Wenn während oder infolge des Gebrauchs ein schwerwiegender Vorfall aufgetreten ist, melden Sie diesen bitte dem Hersteller und / oder seinem Bevollmächtigten und Ihrer nationalen Behörde.

Literatur

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Verursacht schwere Augenreizung.

P264: Nach Gebrauch Haut gründlich waschen.

P280: Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.

P305 + P351 + P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

P337 + P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Revisionshistorie

Version	Modifikationsanmerkung
2024-Jul-18	Erste Version mit der Einführung der Revisionshistorie



Gebrauchsanweisung
beachten



Hersteller



Katalognummer



Chargen-
code



Achtung, Begleitdoku-
mentation beachten



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT



Temperatur-
begrenzung

Status: 2024-Jul-18

Der Unternehmensbereich Life Science von Merck tritt in den USA und in Kanada als MilliporeSigma auf.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland und/oder Tochterunternehmen. Alle Rechte vorbehalten. Merck und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland. Alle anderen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen zu Markennamen sind über öffentlich zugängliche Informationsquellen erhältlich.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Microscopie

Hématoxyline crist.
(C.I.75290)

pour la microscopie

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

CE

Objectif prévu

Le présent « Hématoxyline crist. (C.I.75290) - pour la microscopie » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen histologique et cytologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un colorant sec utilisé pour la préparation d'une solution de coloration 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 avec la solution hématoxyline mentionnée ci-dessus, contre-coloration, montage) dans des épreuves histologiques et cytologiques.

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 est nécessaire d'effectuer des examens supplémentaires selon des méthodes valides et reconnues.

La solution de coloration que l'on a préparée soi-même sert uniquement de coloration de vue d'ensemble pour la différenciation des structures cibles de composants cellulaires et de tissus mentionnés ci-dessous dans l'article nommé « Résultat ». Pour des applications ultérieures nous recommandons d'utiliser l'art. 1.05175 Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II, l'art. 1.05174 Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III, l'art. 1.09249 Hémalun en solution selon Mayer ou l'art. 1.09254 Solution de Papanicolaou 1b Hématoxyline S en solution pour la cytologie.

Réactifs

Art. 1.04302

Hématoxyline crist. (C.I.75290)
pour la microscopie

Color Index No. : 75290

25 g, 100 g, 1 kg

Nécessaire en plus :

Art. 1.09621 Ethylèneglycol 1 l, 2,5 l,
pour analyse EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP 4 l, 10 lArt. 227617 Aluminium sulfate octadécahydrate 100 g, 500 g,
≥97% (Sigma-Aldrich) 2,5 kg

ou

Art. 1.00974 Ethanol dénaturé avec env. 1 % 1 l, 2,5 l
d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®Art. 1.01047 Aluminium potassium sulfate dodécahydraté 1 kg
pour analyse EMSURE® ACS, Reag. Ph EurArt. 1.06525 Iodate de sodium 100 g
pour analyse EMSURE®Art. 1.00063 Acide acétique (glacial) 100% anhydre, 1 l, 2,5 l
pour analyse EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph EurArt. 1.00316 Acide chlorhydrique 25 % 1 l, 2,5 l
pour analyses EMSURE®

Préparation du réactif

Solution d'hématoxyline selon Gill

Pour la préparation d'env. 1000 ml de solution, il faut additionner :

Solution d'éthylèneglycol / eau distillée

Ethylèneglycol	250 g
Eau distillée	730 ml
mélanger et dissoudre	

Solution de coloration

Hématoxyline crist. (C.I.75290)	2 g
Iodate de sodium	0,2 g
Aluminium sulfate octadécahydrate	17,6 g
dissoudre dans la solution ci-dessus	
Acide acétique 100 %	20 ml
ajouter. Agiter une heure à température ambiante. Filtrer avant l'emploi.	

Solution d'hématoxyline selon Harris

Pour la préparation d'env. 1000 ml de solution, il faut additionner :

Solution d'hématoxyline

Hématoxyline crist. (C.I.75290)	5 g
Ethanol	50 ml
dissoudre en chauffant dans un bain marie	

Solution d'alun

Aluminium potassium sulfate dodécahydraté	100 g
Eau distillée	950 ml
dissoudre en agitant et en chauffant	
Verser en agitant continuellement la solution d'hématoxyline dans la solution d'alun encore chaude et porter à ébullition. Retirer la solution de la source de chaleur.	
Iodate de sodium	370 mg
ajouter en agitant et refroidir rapidement dans un bain-marie	
Acide acétique 100 %	4 ml
ajouter. Filtrer dans des flacons fermant bien. Filtrer avant l'emploi.	

Acide chlorhydrique à 0,1 %, aqueux

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

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

Coloration de Papanicolaou

Principe

La coloration de Papanicolaou est la méthode de coloration la plus utilisée pour le matériel cytologique et est destinée à la coloration de cellules exfoliatives dans des échantillons cytologiques.

Dans la première étape, les noyaux cellulaires sont colorés avec une solution d'hématoxyline de manière soit progressive soit régressive.

Lors de la coloration à l'hématoxyline progressive la coloration se poursuit 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.

La seconde phase consiste en une coloration cytoplasmique avec une solution de coloration orange, qui rend particulièrement bien les cellules mûres et kératinisées.

Pour la troisième phase de la coloration, on utilise la solution appelée polychrome, qui est un mélange d'éosine, de vert lumière SF et de brun Bismarck. La différenciation de l'épithélium pavimenteux est représentée avec la solution polychrome.

Matériel d'échantillons

Echantillons gynécologiques et non-gynécologiques comme crachats, urine, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), liquides d'épanchement, liquides de lavage

FR

Réactifs					
Nécessaire en plus pour la coloration de Papanicolaous :					
Art.	1.06887	Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution pour la cytologie	500 ml, 2,5 l		
ou					
Art.	1.06888	Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) pour la cytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l		
Art.	1.09271	Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 pour la cytologie	500 ml, 2,5 l		
ou					
Art.	1.09272	Solution de Papanicolaou 3b, solution de polychrome EA 50 pour la cytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l		
Art.	1.06329	Hydrogénocarbonate de sodium pour analyse EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg		
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					
Fixation des préparations de frottis					
Fixation humide immédiate avec le spray de fixation M-FIX® pendant au moins 10 min ou fixation humide immédiate dans l'éthanol 96 % pendant au moins 30 min. Si les frottis sont fixés au M-FIX®, les étapes de lavage 1 à 4 dans la série de solutions d'éthanol à concentration décroissante avant la coloration peuvent être supprimées.					
Préparation du réactif					
La Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6), la Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution, la Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 et la Solution de Papanicolaou 3b, solution de polychrome EA 50 utilisées pour colorer sont prêtes à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat de coloration et la stabilité.					
Il est recommandé de filtrer les solutions avant l'emploi.					
Solution d'hydrogénocarbonate de sodium 1,5 %					
Pour la préparation d'env. 1000 ml de solution, il faut additionner et dissoudre :					
Hydrogénocarbonate de sodium		15 g			
Eau distillée		1000 ml			
Mode opératoire					
Coloration régressive dans la cuve de coloration					
Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants. 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 frottis fixé					
Ethanol 96 %*		10 secondes			
Ethanol 80 %*		10 secondes			
Ethanol 70 %*		10 secondes			
Ethanol 50 %*		10 secondes			
Eau distillée		10 secondes			
Solution d'hématoxyline selon Gill ou		5 minutes			
Solution d'hématoxyline selon Harris		6 minutes			
Eau distillée		10 secondes			
Acide chlorhydrique 0,1 %, aqueux		10 secondes			
Eau distillée		10 secondes			
Solution d'hydrogénocarbonate de sodium 1,5 %		1 minute			
Eau du robinet courante		3 minutes			
Ethanol 70 %		30 secondes			
Ethanol 80 %		30 secondes			
Ethanol 96 %		30 secondes			

Papanicolaou 3a Solution polychrome EA 31 ou Papanicolaou 3b Solution polychrome EA 50	3 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Papanicolaou Lösung 3a Solution polychrome EA 31 ou Papanicolaou Lösung 3b Solution polychrome EA 50	3 minutes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 96 %	30 secondes
Ethanol 100 %	5 minutes
Mélange de : Ethanol 100 % + Neo-Clear™ ou xylène (1 + 1)	2 minutes
Clarification au Neo-Clear™ ou au xylène	5 minutes
Clarification au Neo-Clear™ ou au xylène	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-objet.	

* Ces étapes peuvent être supprimées en cas de fixation au M-FIX®.

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

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Résultat

Coloration avec	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplasmes cyanophiles (basophiles) éosinophiles (acidophiles) kératinisés	bleu vert au vert rose orangé rose	bleu vert rose orangé rose
Erythrocytes	rouge	
Noyaux cellulaires	bleu à violet foncé	
Micro-organismes	bleu gris	

Coloration H&E

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.

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.

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'échantillon

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 sont utilisés comme matériel de départ.

Réactifs

Nécessaire en plus pour la coloration H&E :

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

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

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

Solution d'éosine J et Solution d'érythrosine à 0,5 %, aqueuse

La préparation est décrite dans les consignes d'utilisation du colorant respectif.

Mode opératoire

Coloration régressive de coupes en paraffine

Coloration dans la cuve de coloration

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

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

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

Porte-objet avec coupe en paraffine	
Eau distillée	1 minute
Solution d'hématoxyline selon Gill ou Solution d'hématoxyline selon Harris	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 du robinet courante	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.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Résultat

Noyaux cellulaires	bleu foncé à violet foncé
Cytoplasme, substances intercellulaires	rose à rouge
Erythrocytes	jaune à orange

Diagnostic d'erreurs

Faible coloration du cytoplasme et des structures de tissus conjonctifs

Pour intensifier la coloration à l'éosine, il faut utiliser une solution de travail acidifiée à l'acide acétique glacial.

L'utilisation d'une solution non acidifiée produit un cytoplasme et des structures de tissus conjonctifs faiblement colorés, c'est pourquoi il convient de respecter la préparation indiquée des réactifs pour obtenir une coloration optimale.

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

Remarques techniques

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

Les solutions de coloration extemporanément préparées doivent être filtrées avant utilisation.

Éliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

Caractéristiques de performance analytique

« Hématoxyline crist. (C.I.75290) » colore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans les chapitres « 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.

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 cytologiques				
Noyaux cellulaires	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasmes cyanophiles (basophiles)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasmes éosinophiles (acidophiles)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrocytes	20/20	20/20	7/7	7/7
Micro-organismes	20/20	20/20	7/7	7/7
Coloration H&E				
Noyaux cellulaires	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasme	20/20	20/20	7/7	7/7
Substances intercellulaires	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrocytes	20/20	20/20	7/7	7/7

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 Hématoxyline crist. (C.I.75290) - pour la microscopie entre +2 °C et +30 °C.

Stabilité

Hématoxyline crist. (C.I.75290) - pour la microscopie peut être utilisée jusqu'à la date de péremption indiqué.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +2 °C et +30 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

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. 1.00974	Ethanol dénaturé avec env. 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Aluminium potassium sulfate dodécahydraté pour analyse EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.02439	Eosine J - Solution à 0,5%, d'alcool pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.03981	M-FIX® Spray de fixation pour le cytodiagnostic	100 ml, 1 l
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05174	Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.05175	Hématoxyline en solution modifiée selon Gill II pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06329	Hydrogénocarbonate de sodium pour analyse EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Art. 1.06525	Iodate de sodium pour analyse EMSURE®	100 g
Art. 1.06887	Solution de Papanicolaou 2b orangé II en solution pour la cytologie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06888	Solution de Papanicolaou 2a solution orange G (OG6) pour la cytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
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. 1.09271	Solution 3a de Papanicolaou Solution polychrome EA 31 pour la cytologie	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09272	Solution 3b de Papanicolaou, solution polychrome EA 50 pour la cytologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09621	Ethylèneglycol pour analyse EMSURE® Reag. Ph Eur,Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
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
Art. 227617	Aluminium sulfate octadécahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Classification des matières dangereuses

Art. 1.04302

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. 1.04302
C.I. 75290
 $C_{16}H_{14}O_6$
M = 302,29 g/mol
perte à la dessiccation max. 10 %

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. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

P264 : Se laver la peau soigneusement après manipulation.

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.

P337 + P313 : Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-18	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-Jul-18

Aux États-Unis et au Canada, l'activité Life Science de Merck opère sous le nom de MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. Merck 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.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Microscopía

Hematoxilina crist. (C.I.75290)

para microscopía

Solamente para uso profesional

IVD

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Finalidad prevista

El presente "Hematoxilina crist. (C.I.75290) - para microscopía" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplea en el examen histológico y citológico de muestras de origen humano. Se trata de un colorante seco que se utiliza para la preparación de una solución de tinción, 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 con la solución hematoxilina arriba indicada, contratinción, montaje) en material de examen histológico y citológico.

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 autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

La solución de tinción de preparación propia sirve exclusivamente de tinción de conjunto para realizar una diferenciación entre las estructuras de destino mencionadas abajo en la sección "Resultado" y los componentes celulares y de tejido. Para aplicaciones más extensas recomendamos el uso de art. 1.05175 Hematoxilina en solución modificada según Gill II, art. 1.05174 Hematoxilina en solución modificada según Gill III, art. 1.09249 Hemalum-bre en solución según Mayer o art. 1.09254 Solución de Papanicolaou 1b solución de hematoxilina S para citología.

Reactivos

Art. 1.04302

Hematoxilina crist. (C.I.75290)
para microscopía

25 g, 100 g, 1 kg

Color Index No.: 75290

Necesario además:

Art. 1.09621	Etilenglicol p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Art. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Art. 1.00974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Aluminio y potasio sulfato dodecahidrato p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.06525	Sodio yodato p.a. EMSURE®	100 g
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

Preparación del reactivo

Solución de hematoxilina según Gill

Para preparar aprox. 1000 ml de solución se añaden juntos:

Solución de etilenglicol / agua destilada

Etilenglicol	250 g
Agua destilada	730 ml
mezclar y disolver	

Solución de tinción

Hematoxilina crist. (C.I.75290)	2 g
Sodio yodato	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
se disuelven en la solución de etilenglicol / agua destilada anterior	
Ácido acético 100 %	20 ml
añadir. Revolver durante 1 hora a temperatura ambiente. Filtrar antes del uso.	

Solución de hematoxilina según Harris

Para preparar aprox. 1000 ml de solución se añaden juntos:

Solución de hematoxilina

Hematoxilina crist. (C.I.75290)	5 g
Etanol	50 ml
Disolver con calentamiento en el baño de agua	

Solución de alumbre

Aluminio y potasio sulfato dodecahidrato	100 g
Agua destilada	950 ml
Disolver revolviendo y calentando.	
Verter la solución de hematoxilina en la solución de alumbre todavía caliente revolviendo continuamente y dejar que hierva. Retirar la solución de la fuente calefactora.	
Sodio yodato	370 mg
Añadir revolviendo y enfriar rápidamente en el baño de agua	
Ácido acético 100 %	4 ml
añadir. Filtrar pasando a frascos que cierren bien. Filtrar antes del uso.	

Ácido clorhídrico 0,1 %, acuoso

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

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

Tinción de Papanicolaous

Principio

La tinción de Papanicolaou es el método de tinción más utilizado para material citológico y está prevista para la tinción de células exfoliativas en muestras citológicas.

En el primer paso, los núcleos celulares son teñidos con una solución de hematoxilina en forma progresiva o bien regresiva.

En 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 sobretiñe 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.

El segundo paso es la tinción del citoplasma con una solución anaranjada, que muestra especialmente las células maduras y queratinizadas.

En el tercer paso de tinción se usa la llamada solución polícroma, que es una mezcla de eosina, verde luz SF y pardo de Bismarck. Con la solución polícroma se muestra la diferenciación del epitelio escamoso simple.

Material de las muestras

Muestras ginecológicas y no ginecológicas como esputos, orina, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), efusiones, soluciones de lavado

Reactivos

Necesario además para la tinción de Papanicolaous:

Art. 1.06887

Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II para citología

500 ml, 2,5 l

o

Art. 1.06888

Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) para citología

500 ml, 1 l, 2,5 l

o

Art. 1.09271

Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 para citología

500 ml, 2,5 l

o

Art. 1.09272

Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50 para citología

500 ml, 1 l, 2,5 l

o

Art. 1.06329

Sodio hidrogenocarbonato p. a. EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur

500 g, 1 kg, 5 kg

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.

ES

Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G o Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II

3 minutos

Etanol 96 %

30 segundos

Etanol 96 %

30 segundos

Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 o Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50

3 minutos

Etanol 96 %

30 segundos

Etanol 96 %

30 segundos

Etanol 100 %

5 minutos

Mezcla de: Etanol 100 % + Neo-Clear™ o xileno (1 + 1)

2 minutos

Clarificar con Neo-Clear™ o xileno.

5 minutos

Clarificar con Neo-Clear™ o xileno.

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.

* Estos pasos podrán ser suprimidos en caso de una fijación con M-FIX®.

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

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Resultado

Coloración con	3a / EA 31	3b / EA 50
Citoplasma cianófilo (basófilo) eosinófilo (acidófilo) queratinizado	verde azulado a verde rosa rosa-anaranjado	verde azulado rosa rosa-anaranjado
Eritrocitos	rojo	
Núcleos celulares	azul a violeta oscuro	
Microorganismos	azul grisáceo	

Tinción de H y E

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.

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.

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 sobreteñe 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.

Reactivos

Necesario además para la tinción de H y E:

Art. 1.09844	Eosina A al 0,5% en solución acuosa para microscopía	1 l, 2,5 l
o		
Art. 1.02439	Eosina A al 0,5% en solución alcohólica para microscopía	500 ml, 2,5 l
o		
Art. 1.17081	Eosina A - Solución al 1%, alcohólica para microscopía	1 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.

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.

Fijación de preparados de frotis

Fijación húmeda inmediata con el fijador pulverizable M-FIX® durante mínimo 10 minutos o fijación húmeda inmediata en etanol 96 % durante mínimo 30 minutos.

Si se fijan los frotis con M-FIX®, podrán suprimirse los pasos de lavado 1 - 4 en la serie descendente de etanol antes de la tinción.

Preparación del reactivo

La Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6), la Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II, la Solución 3a de Papanicolaou solución polícroma EA 31 y la Solución 3b de Papanicolaou solución polícroma EA 50 utilizadas para los procesos de tinción están listas para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Se recomienda filtrar las soluciones antes de su uso.

Solución de sodio hidrogenocarbonato 1,5 %

Para la preparación de aproximadamente 1000 ml de solución se añaden y disuelven:

Sodio hidrogenocarbonato	15 g
Agua destilada	1000 ml

Técnica

Tinción regresiva en la cubeta de tinción

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos brevemente en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

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 frotis fijado	
Etanol 96 %*	10 segundos
Etanol 80 %*	10 segundos
Etanol 70 %*	10 segundos
Etanol 50 %*	10 segundos
Agua destilada	10 segundos
Solución de hematoxilina según Gill o Solución de hematoxilina según Harris	5 minutos 6 minutos
Agua destilada	10 segundos
Ácido clorhídrico 0,1 %, acuoso	10 segundos
Agua destilada	10 segundos
Solución de sodio hidrogenocarbonato 1,5 %	1 minuto
Agua corriente del grifo	3 minutos
Etanol 70 %	30 segundos
Etanol 80 %	30 segundos
Etanol 96 %	30 segundos

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

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

Solución de eosina B y solución de eritrosina B 0,5 %, acuosa

La preparación viene descrita en las instrucciones de empleo del correspondiente colorante.

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
Solución de hematoxilina según Gill o Solución de hematoxilina según Harris	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* o Eosina A al 1 % en solución alcohólica*	3 minutos
Agua corriente del grifo	30 segundos
Etanol 70 %	1 minuto
Etanol 70 %	1 minuto
Etanol 96 %	1 minuto
Etanol 96 %	1 minuto
Etanol 100 %	1 minuto
Etanol 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 cubre-objetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Resultado

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

Localización de errores

Tinción débil del citoplasma y de las estructuras del tejido conjuntivo

Para intensificar la tinción con eosina hay que utilizar una solución de trabajo acidificada con ácido acético glacial.

El uso de una solución no acidificada tendrá por resultado un citoplasma y estructuras de tejido conjuntivo débilmente teñidos. Por consiguiente, debería respetarse la preparación indicada de reactivos para conseguir un resultado de tinción idóneo.

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

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Las soluciones de tinción recién preparadas deben filtrarse antes de su uso.

Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Características de rendimiento analítico

“Hematoxilina crist. (C.I.75290)” tiñe y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en los capítulos “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.

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 %:

	Especificidad inter-ensayos	Especificidad inter-ensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción citológica				
Núcleos celulares	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma cianófilo (basófilo)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma eosinófilo (acidófilo)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocitos	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganismos	20/20	20/20	7/7	7/7
Tinción de H y E				
Núcleos celulares	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Sustancias intercelulares	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocitos	20/20	20/20	7/7	7/7

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 Hematoxilina crist. (C.I.75290) - para microscopía de +2 °C a +30 °C.

Estabilidad

Hematoxilina crist (C.I.75290) - para microscopía se puede utilizar hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +2 °C y +30 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

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) N° 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) N° 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. 1.00974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Aluminio y potasio sulfato dodecahidrato p.a. EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.02439	Eosina A al 0,5% en solución alcohólica para microscopía	500 ml, 2,5 l
Art. 1.03981	M-FIX® Fijador pulverizable para citodiagnóstico	100 ml, 1 l
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05174	Hematoxilina en solución modificada según Gill III para microscopía	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.05175	Hematoxilina en solución modificada según Gill II para microscopía	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06329	Sodio hidrogenocarbonato p. a. EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Art. 1.06525	Sodio yodato p.a. EMSURE®	100 g
Art. 1.06887	Solución de Papanicolaou 2b solución de anaranjado II para citología	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06888	Solución de Papanicolaou 2a solución de anaranjado G (OG6) para citología	500 ml, 1 l, 2,5 l
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. 1.09271	Solución 3a de Papanicolaou solución policroma EA 31 para citología	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09272	Solución 3b de Papanicolaou solución policroma EA 50 para citología	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09621	Etilenglicol p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
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
Art. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.04302
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. 1.04302
C.I. 75290
 $C_{16}H_{14}O_6$
M = 302,29 g/mol
pérdita por desecación máx. 10 %

Aviso general

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

Literatura

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluoro-chromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Provoca irritación ocular grave.

P264: Lavarse la piel concienzudamente tras la manipulación.

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.

P337 + P313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-18	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-Jul-18

La división Life Science de Merck opera como MilliporeSigma en los Estados Unidos y en Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. Merck y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Microscopia

Ematossilina cristallizzata (C.I.75290)

per microscopia

Solo per uso professionale

IVD

Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*

CE

Scopo previsto

Il presente „Ematossilina cristallizzata (C.I.75290) - per microscopia” è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame istologico e citologico di campioni di origine umana. È un colorante secco, utilizzato nella preparazione di una soluzione di colorazione che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici *in vitro* del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio (mediante fissaggio, inclusione, colorazione con la soluzione ematossilina summenzionata, controcolorazione, montaggio) nei campioni istologici e citologici.

Le strutture non colorate presentano un contrasto relativamente poco marcato e sono difficili da distinguere al microscopio ottico. In virtù delle immagini ottenute con le soluzioni di colorazione, il ricercatore autorizzato e qualificato è in grado di distinguere in modo più preciso la forma e la struttura. Per una diagnosi definitiva devono essere eseguiti ulteriori test avvalendosi di metodi validi e riconosciuti.

La soluzione di colorazione preparata dall'analista viene utilizzata esclusivamente per la colorazione generale volta alla differenziazione delle strutture bersaglio di componenti cellulari e tissutali indicate di seguito nella sezione "Risultato". Per ulteriori applicazioni, si consiglia l'uso dell'art. 1.05175 Ematossilina soluzione modificata secondo Gill II, art. 1.05174 Ematossilina soluzione modificata secondo Gill III, art. 1.09249 Ematossilina soluzione secondo Mayer o art. 1.09254 Papanicolaou soluzione 1b Soluzione di ematossilina S per citologia.

Reattivi

Art. 1.04302

Ematossilina cristallizzata (C.I.75290)
per microscopia

Color Index No.: 75290

25 g, 100 g, 1 kg

Inoltre necessario:

Art. 1.09621	Glicole etilenico p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Art. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Art. 1.00974	Etanolo denaturato con circa 1 % di metiletilchetone p. a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Alluminio potassio solfato dodecaidrato p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.06525	Sodio iodato p.a. EMSURE®	100 g
Art. 1.00063	Acido acetico (glaciale) 100% anidro p. a. EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Art. 1.00316	Acido cloridrico 25% p.a. EMSURE®	1 l, 2,5 l

Preparazione del reattivo

Soluzione di ematossilina secondo Gill

Per la preparazione di ca. 1000 ml di soluzione si miscelano:

Soluzione di glicole etilenico / acqua distillata

Glicole etilenico	250 g
Acqua distillata	730 ml
mescolare e sciogliere	

Soluzione di colorazione

Ematossilina cristallizzata (C.I.75290)	2 g
Sodio iodato	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
sciogliere in soluzione di glicole etilenico / acqua distillata summenzionata	
Acido acetico 100 %	20 ml
aggiungere. Agitare per 1 ora a temperatura ambiente. Filtrare prima dell'uso.	

Soluzione di ematossilina secondo Harris

Per la preparazione di ca. 1000 ml di soluzione si miscelano:

Soluzione di ematossilina

Ematossilina cristallizzata (C.I.75290)	5 g
Etanolo	50 ml
Sciogliere, riscaldando in bagnomaria	

Soluzione di allume

Alluminio potassio solfato dodecaidrato	100 g
Acqua distillata	950 ml
Sciogliere, mescolando e scaldando	
Continuando a mescolare, versare la soluzione di ematossilina nella soluzione di allume ancora calda e portare ad ebollizione. Togliere la soluzione dalla fonte di calore.	
Sodio iodato	370 mg
Aggiungere, mescolando e raffreddare rapidamente in bagnomaria	
Acido acetico 100 %	4 ml
aggiungere. Filtrare in flaconi perfettamente sigillabili. Filtrare prima dell'uso.	

Acido cloridrico 0,1 %, acquoso

Per la preparazione di ca. 100 ml di soluzione si miscelano:

Acqua distillata	100 ml
Acido cloridrico 25 %	0,4 ml

Colorazione di Papanicolaou

Principio

La colorazione secondo Papanicolaou è il metodo utilizzato con maggiore frequenza per il materiale citologico ed è usata per la colorazione di cellule di esfoliazione in campioni citologici.

Nella prima fase di colorazione viene eseguita una colorazione progressiva o regressiva dei nuclei cellulari mediante soluzione di ematossilina.

Nella colorazione progressiva con soluzione di ematossilina, viene eseguita la colorazione fino al raggiungimento dell'intensità desiderata, seguita dall'azzurrimento in acqua corrente.

Con il metodo regressivo, si procede a sovracolorazione con ematossilina e la soluzione colorante in eccesso viene quindi eliminata mediante il passaggio attraverso lavaggi acidi differenziati, seguiti dalla fase dell'azzurrimento.

La colorazione regressiva rende possibile una migliore e più netta differenziazione delle strutture bersaglio.

Nel corso della seconda fase, che serve in particolar modo a evidenziare le cellule mature e cheratinizzate, si provvede alla colorazione del citoplasma con una soluzione colorante arancio.

Nella terza fase di colorazione si utilizza la cosiddetta soluzione policroma, ovvero una miscela costituita da eosina, verde luce SF e bruno di Bismarck. La soluzione policroma è utilizzata ai fini della differenziazione dell'epitelio squamoso.

Materiale d'esame

Campioni ginecologici e non ginecologici quali espettorato, urina, strisci ottenuti da agoaspirati (FNAB, Fine Needle Aspiration Biopsy = agobiopsia con ago sottile), essudati, lavaggi

Reattivi

Inoltre necessario per la colorazione di Papanicolaous:

Art.	1.09269	Papanicolaou soluzione 2b di arancio II soluzione per citologia	500 ml, 2,5 l
o			
Art.	1.09270	Papanicolaou soluzione 2a soluzione di arancio G (OG6) per citologia	500 ml, 1 l, 2,5 l
o			
Art.	1.09271	Papanicolaou soluzione 3a Soluzione policroma EA 31 per citologia	500 ml, 2,5 l
o			
Art.	1.09272	Papanicolaou soluzione 3b Soluzione policroma EA 50 per citologia	500 ml, 1 l, 2,5 l
o			
Art.	1.06329	Sodio bicarbonato p. a. EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato. Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente. Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati. Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso. Quando si utilizzano i reattivi ausiliari corrispondenti, osservare le relative istruzioni per l'uso.

Fissaggio degli strisci

Fissaggio immediato degli strisci ancora umidi con il fissativo spray M-FIX® per almeno 10 minuti o fissaggio immediato degli strisci umidi con etanolo 96 % per almeno 30 minuti. Se il fissaggio degli strisci avviene con M-FIX®, le fasi di lavaggio 1 - 4 in serie discendente di etanolo prima della colorazione possono essere saltate.

Preparazione del reattivo

La Papanicolaou soluzione 2a soluzione di arancio G (OG6), la Papanicolaou soluzione 2b di arancio II soluzione, la Papanicolaou soluzione 3a Soluzione policroma EA 31 e la Papanicolaou soluzione 3b Soluzione policroma EA 50 utilizzati per la colorazione sono pronte all'uso, non è richiesta la diluizione delle soluzioni, poiché compromette la colorazione e ne riduce la stabilità. Si raccomanda di filtrare le soluzioni prima dell'uso.

Soluzione di sodio bicarbonato 1,5 %

Per la preparazione di ca. 1000 ml di soluzione si miscelano e sciolgono:

Sodio bicarbonato	15 g
Acqua distillata	1000 ml

Esecuzione

Colorazione regressiva nella cuvetta di colorazione

I portaoggetti vanno immersi e fatti muovere brevemente nelle soluzioni; la semplice immersione non produce risultati soddisfacenti. I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinarsi (carry-over) delle soluzioni. Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con striscio fissato	
Etanolo 96 %*	10 secondi
Etanolo 80 %*	10 secondi
Etanolo 70 %*	10 secondi
Etanolo 50 %*	10 secondi
Acqua distillata	10 secondi
Soluzione di ematossilina secondo Gill o Soluzione di ematossilina secondo Harris	5 minuti 6 minuti
Acqua distillata	10 secondi
Acido cloridrico 0,1 %, acquoso	10 secondi
Acqua distillata	10 secondi
Soluzione di sodio bicarbonato 1,5 %	1 minuto
Acqua di rubinetto corrente	3 minuti
Etanolo 70 %	30 secondi
Etanolo 80 %	30 secondi
Etanolo 96 %	30 secondi
Papanicolaou soluzione 2a soluzione di arancio G o Papanicolaou soluzione 2b di arancio II soluzione	3 minuti

Etanolo 96 %	30 secondi
Etanolo 96 %	30 secondi
Papanicolaou soluzione 3a Soluzione policroma EA 31 o Papanicolaou soluzione 3b Soluzione policroma EA 50	3 minuti
Etanolo 96 %	30 secondi
Etanolo 96 %	30 secondi
Etanolo 100 %	5 minuti
Miscela composta da: Etanolo 100 % + Neo-Clear™ o xilene (1 + 1)	2 minuti
Chiarire con Neo-Clear™ o xilene.	5 minuti
Chiarire con Neo-Clear™ o xilene.	5 minuti
Montare i preparati inumiditi con Neo-Clear™ con Neo-Mount™ o i preparati inumiditi con xilene con per es. Entellan™ Neo e vetrino coprioggetti.	

* Questi passi possono essere saltati in caso di fissaggio con M-FIX®.

Dopo la disidratazione (con serie alcolica a concentrazione ascendente) i preparati citologici possono essere chiarificati con xilene o Neo-Clear™, montati con mezzi di montaggio anidri (per es., Entellan™ Neo, DPX Neo o Neo-Mount™), coperti con un vetrino coprioggetti e conservati. Per l'analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Risultato

Colorazione con	3a / EA 31	3b / EA 50
Citoplasma cianofilo (basofilo) eosinofilo (acidofilo) cheratinizzato	da blu verde al verde rosa rosa-arancio	blu-verde rosa rosa-arancio
Eritrociti	rosso	
Nuclei cellulari	da blu a violetto scuro	
Microorganismi	grigio-blu	

Colorazione H&E

Principio

La colorazione Ematossilina & Eosina (hematoxylin & eosin, H&E) rappresenta il metodo di colorazione più frequentemente impiegato per il materiale istologico. Il meccanismo si basa su un processo chimico-fisico. In una prima fase, il colorante nucleare caricato positivamente (ematossilina) si lega ai gruppi fosfati con carica negativa degli acidi nucleici presenti nel nucleo della cellula. Nella fase successiva, avviene la colorazione di contrasto con un colorante xantenico anionico a carica negativa (eosina G, eosina A ed eritrosina B, che si lega alle plasmaproteine a carica positiva. Si differenziano 2 tecniche di colorazione. Nell'ambito della colorazione con ematossilina di tipo progressivo, il processo viene continuato fino al raggiungimento dell'intensità della colorazione desiderata, seguita dall'azzurramento in acqua corrente. Con il metodo regressivo, si procedere a sovracolorazione con ematossilina e la soluzione colorante in eccesso viene quindi eliminata mediante il passaggio attraverso lavaggi acidi differenziati, seguiti dalla fase dell'azzurramento. La colorazione regressiva rende possibile una migliore e più netta differenziazione delle strutture bersaglio.

Materiale d'esame

Come materiale iniziale vengono utilizzate sezioni fissate in formalina ed incluse in paraffina (sezioni in paraffina con spessore di 3 - 4 µm) o anche sezioni congelate.

Reattivi

Inoltre necessario per la colorazione H&E:

Art.	1.09844	Eosina G soluzione acquosa 0,5% per microscopia	1 l, 2,5 l
o			
Art.	1.02439	Eosina G soluzione alcolica 0,5% per microscopia	500 ml, 2,5 l
o			
Art.	1.17081	Eosina G - Soluzione 1%, alcolica per microscopia	1l

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato. Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente. Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati. Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso. Quando si utilizzano i reattivi ausiliari corrispondenti, osservare le relative istruzioni per l'uso. Sparaffinare e portare le sezioni all'acqua secondo la procedura standard.

Preparazione del reattivo

Eosina G soluzione acquosa 0,5 % (art. 1.09844)
Eosina G soluzione alcolica 0,5 % (art. 1.02439)
Eosina G soluzione alcolica 1 % (art. 1.17081)

Per intensificare la colorazione con eosina si aggiunge per esempio 1,0 ml di acido acetico glaciale a 500 ml di soluzione di lavoro.
La soluzione di lavoro così acidificata è sufficiente per circa 750 preparati ma andrebbe comunque rinnovata entro 14 giorni al massimo.
Se si utilizzano le soluzioni di eosina G alcoliche, per la rispettiva colorazione va impiegata una serie più breve di alcoli (iniziando con etanolo 96 % e un tempo di reazione della durata di soli 10 secondi).

Soluzione di eosina A e soluzione di eritrosina B 0,5 %, acquosa

Per la preparazione consultare le istruzioni per l’uso del rispettivo colorante.

Esecuzione

Colorazione regressiva di sezioni in paraffina
Colorazione nella cuvetta di colorazione

Sparaffinare e riportare le preparati istologici all’acqua attraverso una serie discendente di alcoli come di consueto.
I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinamento (carry-over) delle soluzioni.
Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con sezione in paraffina	
Acqua distillata	1 minuto
Soluzione di ematossilina secondo Gill o Soluzione di ematossilina secondo Harris	3 minuti
Acido cloridrico al 0,1 %, acquosa	2 secondi
Acqua di rubinetto corrente	3 - 5 minuti
Eosina G soluzione acquosa 0,5 % o Eosina G soluzione alcolica 0,5 %* o Eosina G soluzione alcolica 1 %*	3 minuti
Acqua di rubinetto corrente	30 secondi
Etanolo 70 %	1 minuto
Etanolo 70 %	1 minuto
Etanolo 96 %	1 minuto
Etanolo 96 %	1 minuto
Etanolo 100 %	1 minuto
Etanolo 100 %	1 minuto
Xilene o Neo-Clear™	5 minuti
Xilene o Neo-Clear™	5 minuti
Montare i preparati inumiditi con Neo-Clear™ con Neo-Mount™ o i preparati inumiditi con xilene con per es. Entellan™ Neo e vetrino coprioggetti.	

* Se si utilizzano le soluzioni di eosina G alcoliche, per la rispettiva colorazione va impiegata una serie più breve di alcoli (iniziando con etanolo 96 % e un tempo di reazione della durata di soli 10 secondi).

Dopo la disidratazione (con serie alcolica a concentrazione ascendente) i preparati istologici possono essere chiarificati con xilene o Neo-Clear™, montati con mezzi di montaggio anidri (per esempio, DPX Neo, Entellan™ Neo o Neo-Mount™), coperti con un vetrino coprioggetti e conservati.
Per l’analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Risultato

Nuclei cellulari	blu scuro a violetto scuro
Citoplasma, sostanze intercellulari	rosa al rosso
Eritrociti	giallo al arancio

Individuazione e soluzione di problemi

Debole colorazione del citoplasma e delle strutture del tessuto connettivo
Per intensificare la colorazione con eosina occorre utilizzare una soluzione di lavoro acidificata con acido acetico glaciale.
L'utilizzo di una soluzione non acidificata comporta una debole colorazione del citoplasma e delle strutture del tessuto connettivo; per ottenere una colorazione ottimale si consiglia pertanto di attenersi alle istruzioni indicate per la preparazione dei reattivi.
La soluzione di lavoro così acidificata è sufficiente per circa 750 preparati ma andrebbe comunque rinnovata entro 14 giorni al massimo.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico.
Le soluzioni di colorazione preparati a fresco devono essere filtrati prima dell’uso.
Eliminare l’olio di immersione in eccesso prima dell’archiviazione.

Caratteristiche delle prestazioni analitiche

„Ematossilina cristallizzata (C.I.75290)“ colora e pertanto permette di visualizzare strutture biologiche, come descritto nei capitoli „Risultato“ di questa IFU. Il prodotto deve essere utilizzato solo da persone autorizzate e qualificate; ciò include, a titolo esemplificativo, la preparazione del campione e del reagente, la manipolazione del campione, l'istoprocessazione, le decisioni relative ai controlli adeguati, ecc.
Le prestazioni analitiche del prodotto sono confermate per mezzo di test su ciascun lotto di produzione.
Per le seguenti colorazioni, le prestazioni analitiche sono state confermate in termini di specificità, sensibilità e ripetibilità del prodotto con un tasso del 100 %:

	Specificità intersaggio	Specificità intersaggio	Specificità intrasaggio	Specificità intrasaggio
Colorazione citologica				
Nuclei cellulari	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma cianofilo (basofilo)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma eosinofilo (acidofilo)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrociti	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismi	20/20	20/20	7/7	7/7
Colorazione H&E				
Nuclei cellulari	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Sostanze intercellulari	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrociti	20/20	20/20	7/7	7/7

Risultati delle prestazioni analitiche

I dati intrasaggio (eseguiti sullo stesso lotto) e intersaggio (eseguiti su lotti diversi) elencano il numero di strutture correttamente colorate in relazione al numero di saggi eseguiti.

I risultati di questa valutazione delle prestazioni confermano che il prodotto è adatto all'uso previsto e funziona in modo affidabile.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale autorizzato e qualificato. Devono essere utilizzate nomenclature valide.
La presente metodologia deve essere utilizzata quale strumento integrativo per la diagnostica umana.
Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti.
Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati, per escludere possibili risultati errati.

Conservazione

Ematossilina cristallizzata (C.I.75290) - per microscopia va conservata ad una temperatura compresa tra +2 °C e +30 °C.

Stabilità

Ematossilina cristallizzata (C.I.75290) - per microscopia può essere utilizzata fino alla data di scadenza indicata.
Una volta aperto il flacone, il contenuto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata se conservata ad una temperatura compresa tra +2 °C e +30 °C.
Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Istruzioni per l’uso

Solo per uso professionale.
Per evitare errori, la applicazione deve essere eseguita da personale specializzato.
Vanno osservate le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di assicurazione di qualità.
Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

Protezione contro le infezioni

Vanno rigorosamente osservate le norme di laboratorio relative alla protezione contro le infezioni.

Istruzioni per lo smaltimento

La confezione deve essere smaltita nel rispetto delle vigenti direttive in materia.
Le soluzioni usate e le soluzioni scadute vanno smaltite come rifiuti pericolosi, in conformità alle disposizioni locali vigenti in materia di smaltimento dei rifiuti. Per richiedere informazioni sullo smaltimento selezionare il Quick link "Hints for Disposal of Microscopy Products" all'indirizzo www.microscopy-products.com. Nell'Unione europea trova applicazione il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.

Reattivi ausiliari

Art. 1.00063	Acido acetico (glaciale) 100% anidro p.a. EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Art. 1.00316	Acido cloridrico 25% p.a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.00579	DPX Neo mezzo di montaggio anidro per microscopia	500 ml
Art. 1.00974	Etanolo denaturato con circa 1 % di metiletilchetone p.a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.01047	Alluminio potassio solfato dodecaidrato p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Art. 1.02439	Eosina G soluzione alcolica 0,5% per microscopia	500 ml, 2,5 l
Art. 1.03981	M-FIX® Fissatore spray per citodiagnostica	100 ml, 1 l
Art. 1.04699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.05174	Ematossilina soluzione modificata secondo Gill III per microscopia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.05175	Ematossilina soluzione modificata secondo Gill II per microscopia	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06329	Sodio bicarbonato p. a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Art. 1.06525	Sodio iodato p.a. EMSURE®	100 g
Art. 1.06887	Papanicolaou soluzione 2b di arancio II soluzione per citologia	500 ml, 2,5 l
Art. 1.06888	Papanicolaou soluzione 2a soluzione di arancio G (OG6) per citologia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.07961	Entellan™ Neo mezzo di montaggio rapido per microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xilene (miscela di isomeri) per istologia	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ mezzo di montaggio anidro per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 500 ml
Art. 1.09271	Papanicolaou soluzione 3a Soluzione policroma EA 31 per citologia	500 ml, 2,5 l
Art. 1.09272	Papanicolaou soluzione 3b Soluzione policroma EA 50 per citologia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 1.09621	Glicole etilenico p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sostituto xilolo) per microscopia	5 l
Art. 1.09844	Eosina G soluzione acquosa 0,5% per microscopia	1 l, 2,5 l
Art. 1.17081	Eosina G - Soluzione 1%, alcolica per microscopia	1 l
Art. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Classificazione di sostanze pericolose

Art. 1.04302
Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza.
La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta.

Componenti principali del prodotto

Art. 1.04302
C.I. 75290
 $C_{16}H_{14}O_6$
M = 302,29 g/mol
perdita all'essiccazione max. 10 %

Indicazione generale

Se durante o in seguito all'uso del dispositivo si verifica un incidente, segnalare l'evento al fabbricante e/o al suo mandatario e alle autorità nazionali.

Letteratura

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Provoca grave irritazione oculare.

P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso.

P280: Indossare proteggere gli occhi/ proteggere il viso.

P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P337 + P313: Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

Cronologia delle revisioni

Versione	Commento relativo alla modifica
2024-Jul-18	Versione iniziale con l'introduzione della Cronologia delle revisioni



Attenersi alle istruzioni per l'uso



Fabbricante



N. di catalogo



Codice del lotto



Attenzione, consultare la documentazione di accompagnamento



Data di scadenza
AAAA-MM-GG



Limiti di temperatura

Status: 2024-Jul-18

Negli USA e in Canada il comparto Life Science di Merck opera con il nome MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germania e/o sue affiliate. Tutti i diritti sono riservati. Merck e Sigma-Aldrich sono marchi di Merck KGaA, Darmstadt, Germania. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei legittimi detentori. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse pubblicamente accessibili.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Μικροσκοπία

Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290)

για μικροσκοπία

Για επαγγελματική χρήση μόνο

IVD

In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

CE

Προβλεπόμενος σκοπός

Η «Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290) - για μικροσκοπία» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και εξυπηρετεί τον σκοπό της ιστολογικής και κυτταρολογικής διερεύνησης υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για μια ξηρή χρωστική χρώσης που χρησιμοποιείται για την παρασκευή διαλύματος χρώσης που όταν χρησιμοποιείται με άλλα *in vitro* διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τους ιστούς-στόχους σε υλικά ιστολογικών και κυτταρολογικών δειγμάτων αξιολογήσιμους για διαγνωστικούς σκοπούς (μέσω μονιμοποίησης, έγκλεισης, χρώσης με το παραπάνω διάλυμα αιματοξυλίνης, αντιχρώσης και στερέωσης).

Οι άβαφες βακτηριακές δομές παρουσιάζουν σχετικά χαμηλή αντίθεση και είναι εξαιρετικά δύσκολη η διάκρισή τους με το οπτικό μικροσκόπιο. Οι εικόνες που δημιουργούνται χρησιμοποιώντας τα διαλύματα χρώσης βοηθούν τον εξουσιοδοτημένο και εξειδικευμένο ερευνητή να προσδιορίσει καλύτερα τον τύπο και το βακτήριο σε αυτές τις περιπτώσεις. Πρέπει να διενεργούνται επιπλέον εξετάσεις σύμφωνα με αναγνωρισμένες και έγκυρες μεθόδους για την πραγματοποίηση της οριστικής διάγνωσης.

Αυτό το διάλυμα χρώσης, το οποίο απαιτεί περαιτέρω προετοιμασία προτού μπορέσει να χρησιμοποιηθεί, χρησιμεύει αποκλειστικά για πανοπτική χρώση στη διαφοροποίηση των στοχευόμενων δομών των κυτταρικών και των ιστικών στοιχείων που αναφέρονται παρακάτω στην ενότητα «Αποτέλεσμα». Για πιο ειδικές εφαρμογές συνιστάται η χρήση του Διαλύματος αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill II, Ar. καταλόγου 1.05175, Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill III, Ar. καταλόγου 1.05174, Διάλυμα αιματοξυλίνης και στυπτηρίας της Mayer, Ar. καταλόγου 1.09249 ή Διάλυμα Papanicolaou 1b Διάλυμα αιματοξυλίνης S για κυτταρολογία, Ar. καταλόγου 1.09254.

Αντιδραστήρια

Ar. καταλόγου 1.04302	Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290) για μικροσκοπία	25 g, 100 g, 1 kg
--------------------------	--	----------------------

Ar. Ευρετηρίου Χρώματος (C.I.): 75290

Απαιτούνται επίσης:

Ar. καταλόγου 1.09621	Αιθυλενογλυκόλη για ανάλυση EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Ar. καταλόγου 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

ή

Ar. καταλόγου 1.00974	Μετουσιωμένη αιθανόλη με περίπου 1% μεθυλαιθυλική κετόνη για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
--------------------------	--	------------

Ar. καταλόγου 1.01047	Στυπτηρία καλίου-αργιλίου δωδεκαϋδρική για ανάλυση EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
--------------------------	---	------

Ar. καταλόγου 1.06525	Ιωδικό νάτριο για ανάλυση EMSURE®	100 g
--------------------------	--------------------------------------	-------

Ar. καταλόγου 1.00063	Οξικό οξύ (κρυσταλλικό) 100% άνυδρο για ανάλυση EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
--------------------------	---	------------

Ar. καταλόγου 1.00316	Υδροχλωρικό οξύ 25% για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
--------------------------	--	------------

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Διάλυμα αιματοξυλίνης κατά Gill

Για προετοιμασία περίπου 1.000 ml διαλύματος, αναμείξτε:

Διάλυμα αιθυλενογλυκόλης / απεσταγμένου ύδατος

Αιθυλενογλυκόλη	250 g
Απεσταγμένο νερό	730 ml
αναμείξτε και διαλύστε	

Διάλυμα χρώσης

Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290)	2 g
Ιωδικό νάτριο	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
διαλύστε στο παραπάνω διάλυμα αιθυλενογλυκόλης / απεσταγμένου ύδατος	
Οξικό οξύ 100%	20 ml
προσθέστε. Αναδεύστε για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Διηθήστε πριν από τη χρήση.	

Διάλυμα αιματοξυλίνης κατά Harris

Για προετοιμασία περίπου 1.000 ml διαλύματος, αναμείξτε:

Διάλυμα αιματοξυλίνης

Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290)	5 g
Αιθανόλη	50 ml
διαλύστε υπό θέρμανση σε υδατόλουτρο	

Διάλυμα στυπτηρίας

Αργίλιο θειικό κάλιο δωδεκαϋδρικό	100 g
Απεσταγμένο νερό	950 ml
διαλύστε με ανάδευση και θέρμανση	
Προσθέστε το διάλυμα αιματοξυλίνης στο ζεστό διάλυμα αλαυν υπό ανάδευση και θέρμανση έως τον βρασμό. Αφαιρέστε το διάλυμα από το ζεστό μέρος.	
Ιωδικό νάτριο	370 mg
προσθέστε υπό ανάδευση και ψύξη σε υδατόλουτρο ταχέως	
Οξικό οξύ 100%	4 ml
προσθέστε. Διηθήστε σε φιάλες και κλείστε προσεκτικά.	
Διηθήστε πριν από τη χρήση.	

Υδροχλωρικό οξύ 0,1%, υδατικό

Για προετοιμασία περίπου 100 ml διαλύματος, αναμείξτε:

Απεσταγμένο νερό	100 ml
Υδροχλωρικό οξύ 25%	0,4 ml

Χρώση Papanicolaous

Αρχή της μεθόδου

Η τυπική κυτταρολογική χρώση κατά Szczezanik προορίζεται για τη χρώση αποφολιδωμένων κυττάρων σε κυτταρολογικά δείγματα. Κατά την πρώτη φάση, οι πυρήνες των κυττάρων υποβάλλονται είτε σε προοδευτική χρώση είτε σε μη προοδευτική χρώση με διάλυμα αιματοξυλίνης.

Κατά τη μέθοδο της προοδευτικής χρώσης με αιματοξυλίνη, η χρώση εφαρμόζεται έως το τελικό σημείο, μετά το οποίο η αντικειμενοφόρος πλάκα γίνεται μπλε στο νερό της βρύσης.

Με την παλινδρομη μέθοδο, το υλικό χρώνυται υπερβολικά και η περίσσεια διαλύματος χρώσης αφαιρείται με βήματα όξινης έκπλυσης, ακολουθούμενα από το βήμα μετατροπής σε κυανό χρώμα.

Οι πυρηνικές δομές διαφοροποιούνται και γίνονται καλύτερα ορατές με την παλινδρομη μέθοδο.

Το δεύτερο βήμα χρώσης είναι η κυτταροπλασματική χρώση με διάλυμα πορτοκαλί χρώσης, ιδιαίτερος για την κατάδειξη ώριμων και κερατινοποιημένων κυττάρων.

Στο τρίτο βήμα χρώσης χρησιμοποιείται το λεγόμενο πολύχρωμο διάλυμα (polychromesolution), ένα μείγμα ηωσίνης, ανοιχτού πράσινου SF και καφέ του Bismarck. Το πολύχρωμο διάλυμα χρησιμοποιείται για την κατάδειξη της διαφοροποίησης των πλακωδών κυττάρων.

Αντιδραστήρια

Απαιτείται επίσης για χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης (H&E):

Αρ. καταλόγου 1.09844	Διάλυμα ηωσίνης Υ 0,5% υδατικό για μικροσκοπία	1 l, 2,5 l
ή		
Αρ. καταλόγου 1.02439	Διάλυμα ηωσίνης Υ 0,5%, αλκοολούχο για μικροσκοπία	500 ml, 2,5 l
ή		
Αρ. καταλόγου 1.17081	Διάλυμα ηωσίνης Υ 1%, αλκοολούχο για μικροσκοπία	1 l

Προετοιμασία δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό. Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγμένης τεχνολογίας. Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση. Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα. Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση. Κατά τη χρήση των αντίστοιχων βοηθητικών αντιδραστηρίων, πρέπει να τηρούνται οι αντίστοιχες οδηγίες χρήσης. Κάντε αποπαραφίνωση και επανενυδάτωση τομών με συμβατικό τρόπο.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Διάλυμα ηωσίνης Υ 0,5%, υδατικό (Αρ. καταλόγου 1.09844)
Διάλυμα ηωσίνης Υ 0,5%, αλκοολούχο (Αρ. καταλόγου 1.02439)
Διάλυμα ηωσίνης Υ 1%, αλκοολούχο (Αρ. καταλόγου 1.17081)
Για την ενίσχυση της χρώσης ηωσίνης, π.χ. 1,0 ml κρυσταλλικού οξικού οξέος πρέπει να προστεθεί σε 500 ml διαλύματος εργασίας. Το οξινισμένο διάλυμα εργασίας είναι επαρκές για περίπου 750 δείγματα. Θα πρέπει ωστόσο να ανανεώνεται μετά από 14 ημέρες το αργότερο.Υδροχλωρικό οξύ 0,1%, υδατικό
Όταν χρησιμοποιείτε αλκοολούχα διαλύματα ηωσίνης Υ, μια βραχύτερη σειρά αλκοολών (ξεκινώντας με αιθανόλη 96% και χρόνο αντίδρασης μόλις 10 δευτερολέπτων) πρέπει να χρησιμοποιηθεί στις μεμονωμένες διαδικασίες χρώσης.

Διάλυμα ηωσίνης Β και διάλυμα ερυθροσίνης 0,5%, υδατικό
Η μέθοδος προετοιμασίας περιγράφεται στις οδηγίες χρήσης της αντίστοιχης χρώσης.

Διαδικασία

Παλίνδρομη χρώση τομών παραφίνης

Χρώση στο κύτταρο χρώσης

Κάντε αποπαραφίνωση ιστολογικών πλακών με συμβατικό τρόπο και επανενυδάτωση σε φθίνουσα σειρά αλκοόλης. Οι πλάκες θα πρέπει να αφήνονται να σταλάξουν καλά μετά από τα μεμονωμένα βήματα χρώσης, ως μέτρο αποφυγής οποιασδήποτε άσκοπης διασταυρούμενης μόλυνσης διαλυμάτων. Οι αναγραφόμενοι χρόνοι θα πρέπει να τηρούνται για τη διασφάλιση ενός βέλτιστου αποτελέσματος χρώσης.

Αντικειμενοφόρος πλάκα με τομή παραφίνης	
Απεσταγμένο νερό	1 λεπτά
Διάλυμα αιματοξυλίνης κατά Gill ή Διάλυμα αιματοξυλίνης κατά Harris	3 λεπτά
Υδροχλωρικό οξύ 0,1%, υδατικό	2 δευτ.
Τρεχούμενο νερό βρύσης	3 - 5 λεπτά
Διάλυμα ηωσίνης Υ 0,5%, υδατικό ή Διάλυμα ηωσίνης Υ 0,5%, αλκοολούχο* ή Διάλυμα ηωσίνης Υ 1%, αλκοολούχο*	3 λεπτά
Τρεχούμενο νερό βρύσης	30 δευτ.
Αιθανόλη 70%	1 λεπτά
Αιθανόλη 70%	1 λεπτά
Αιθανόλη 96%	1 λεπτά
Αιθανόλη 96%	1 λεπτά
Αιθανόλη 100%	1 λεπτά
Αιθανόλη 100%	1 λεπτά
Ξυλένιο ή Neo-Clear™	5 λεπτά
Ξυλένιο ή Neo-Clear™	5 λεπτά
Στερεώστε τις εφυγραμμένες με Neo-Clear™ πλάκες με Neo-Mount™ ή τις εφυγραμμένες με ξυλένιο πλάκες με π.χ. Entellan™ νέο και καλυπτρίδα.	

*Όταν χρησιμοποιείτε αλκοολούχα διαλύματα ηωσίνης Υ, μια βραχύτερη σειρά αλκοολών (ξεκινώντας με αιθανόλη 96% και χρόνο αντίδρασης μόλις 10 δευτερολέπτων) πρέπει να χρησιμοποιηθεί στις μεμονωμένες διαδικασίες χρώσης.

Μετά από αφυδάτωση (ανιούσα σειρά αλκοόλης) και διαύγαση με ξυλένιο ή Neo-Clear™, τα ιστολογικά δείγματα μπορούν να στερεωθούν με παράγοντες στερέωσης χωρίς νερό (π.χ. Entellan™ νέο, Neo-Mount™) και μια καλυπτρίδα και κατόπιν μπορούν να αποθηκευτούν.

Η χρήση ελαίου εμβάπτισης συνιστάται για την ανάλυση πλακών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με μεγέθυνση μικροσκοπίου >40x.

Αποτέλεσμα

Κυτταρικοί πυρήνες	σκούρο κυανό έως σκούρο βιολετί
Κυτταρόπλασμα, μεσοκυττάριες ουσίες	ροζ έως ερυθρό
Ερυθροκύτταρα	κίτρινο έως πορτοκαλί

Αντιμετώπιση προβλημάτων
Ασθενής χρώση κυτταροπλάσματος και δομών συνδεδεικού ιστού
Για την ενίσχυση της χρώσης ηωσίνης, θα πρέπει να χρησιμοποιείται ένα οξινισμένο διάλυμα εργασίας (π.χ. κρυσταλλικό οξικό οξύ). Η χρήση μη οξινισμένου διαλύματος θα προκαλέσει ασθενή χρώση σε κυτταρόπλασμα και συνδεδетικές ιστικές δομές. Ως εκ τούτου, συνιστάται να ακολουθήσετε το καθορισμένο πρωτόκολλο προετοιμασίας αντιδραστηρίων για την επίτευξη ενός βέλτιστου αποτελέσματος χρώσης. Το οξινισμένο διάλυμα εργασίας είναι επαρκές για περίπου 750 δείγματα. Θα πρέπει ωστόσο να ανανεώνεται μετά από 14 ημέρες το αργότερο. Υδροχλωρικό οξύ 0,1%, υδατικό.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου. Τα πρόσφατα παρασκευασμένα διαλύματα χρώσης θα πρέπει να διηθηθούν πριν από τη χρήση. Αφαιρέστε το επιπλέον έλαιο εμβάπτισης πριν από την αρχειοθέτηση.

Χαρακτηριστικά αναλυτικής απόδοσης

Το «Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290)» χρωματίζει και κατ’ αυτόν τον τρόπο απεικονίζει βιολογικές δομές, όπως περιγράφεται στα κεφάλαια «Αποτέλεσμα» αυτών των οδηγιών χρήσης. Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από εξουσιοδοτημένα και εξειδικευμένα άτομα και η χρήση του περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, την προετοιμασία δειγμάτων και αντιδραστηρίων, τον χειρισμό δειγμάτων, την ιστοεπεξεργασία, τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους κατάλληλους μάρτυρες και άλλα. Η αναλυτική απόδοση του προϊόντος επιβεβαιώνεται με τον έλεγχο κάθε παρτίδας παραγωγής. Για τις ακόλουθες χρώσεις επιβεβαιώθηκε η αναλυτική απόδοση όσον αφορά την ειδικότητα, την ευαισθησία και την επαναληψιμότητα του προϊόντος με ποσοστό 100%:

	Ειδικότητα μεταξύ προσδιορισμών	Ευαισθησία μεταξύ προσδιορισμών	Ειδικότητα εντός του προσδιορισμού	Ευαισθησία εντός του προσδιορισμού
Κυτταρολογική χρώση				
Κυτταρικοί πυρήνες	20/20	20/20	7/7	7/7
Κυτταρόπλασμα νόφιλο (βασεόφιλο)	20/20	20/20	7/7	7/7
Κυτταρόπλασμα ηωσινόφιλο (οξεόφιλο)	20/20	20/20	7/7	7/7
Ερυθροκύτταρα	20/20	20/20	7/7	7/7
Μικροοργανισμοί	20/20	20/20	7/7	7/7
Χρώση H&E				
Κυτταρικοί πυρήνες	20/20	20/20	7/7	7/7
Κυτταρόπλασμα	20/20	20/20	7/7	7/7
Μεσοκυττάριες ουσίες	20/20	20/20	7/7	7/7
Ερυθροκύτταρα	20/20	20/20	7/7	7/7

Αποτελέσματα αναλυτικής απόδοσης

Τα δεδομένα εντός του προσδιορισμού (στην ίδια παρτίδα) και μεταξύ των προσδιορισμών (σε διαφορετικές παρτίδες) δείχνουν τον αριθμό των δομών που χρωματίστηκαν ορθά σε σχέση με τον αριθμό των προσδιορισμών που εκτελέστηκαν.

Τα αποτελέσματα από αυτήν την αξιολόγηση της απόδοσης επιβεβαιώνουν ότι το προϊόν είναι αξιόπιστο και κατάλληλο για τη χρήση για την οποία προορίζεται.

Διάγνωση			EL
Οι διαγνώσεις θα πρέπει να γίνονται μόνο από αρμόδιο και εξουσιοδοτημένο προσωπικό.			100 g
Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία.			
Αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί συμπληρωματικά για τη διάγνωση στους ανθρώπους.			
Θα πρέπει να επιλεγούν και να εφαρμοστούν περισσότερες δοκιμασίες σύμφω-να με αναγνωρισμένες μεθόδους.			
Κατάλληλοι έλεγχοι θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος.			

Φύλαξη		
Αποθηκεύστε την Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290) - για μικροσκοπία σε θερμοκρασία +2 °C έως +30 °C.		

Διάρκεια ζωής		
Η Αιματοξυλίνη κρυσταλλική (C.I. 75290) - για μικροσκοπία μπορεί να χρησι-μοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.		
Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποιη-ηθεί έως και την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +2 °C έως +30 °C.		
Οι φιάλες πρέπει να διατηρούνται ερμητικά κλειστές συνεχώς.		

Πρόσθετες οδηγίες		
Για επαγγελματική χρήση μόνο.		
Για την αποφυγή σφαλμάτων, η εφαρμογή πρέπει να πραγματοποιείται μόνο από έμπειρο προσωπικό.		
Θα πρέπει να ακολουθούνται οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ασφάλεια στην εργασία και τη διασφάλιση ποιότητας.		
Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρό-τυπα.		

Προστασία από λοίμωξη		
Θα πρέπει να λαμβάνονται αποτελεσματικά μέτρα για την προστασία από λοίμωξη σύμφωνα με τις εργαστηριακές κατευθυντήριες γραμμές.		

Οδηγίες απόρριψης		
Η συσκευασία πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες απόρριψης.		
Τα χρησιμοποιημένα διαλύματα και τα διαλύματα των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει πρέπει να απορρίπτονται ως ειδικά απόβλητα σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές. Οι πληροφορίες για την απόρριψη παρέχονται στον σύνδεσμο «Hints for Disposal of Microscopy Products» (Συμβουλές για την απόρριψη των προϊόντων μικροσκοπίας) στη διεύθυνση www.microscopy-products.com . Εντός της ΕΕ, ο τρεχόντως εφαρμοζόμενος ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ είναι ο κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1272/2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τρο-ποποίηση και την κατάργηση των Οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ, και την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1907/2006.		

Βοηθητικά αντιδραστήρια		
Αρ. καταλόγου 1.00063	Οξικό οξύ (κρυσταλλικό) 100% άνυδρο για ανάλυση EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.00316	Υδροχλωρικό οξύ 25% για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.00579	DPX νέο μη υδατικό μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	500 ml
Αρ. καταλόγου 1.00974	Μετουσιωμένη αιθανόλη με περίπου 1% μεθυλαιθυλική κετόνη για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.01047	Στυπτηρία καλίου-αργιλίου δωδεκαϋδρική για ανάλυση EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Αρ. καταλόγου 1.02439	Διάλυμα ηωσίνης Y 0,5%, αλκοολούχο για μικροσκοπία	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.03981	Μονιμοποιητικό σπρέι M-FIX® για κυτταρολογική διάγνωση	100 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.04699	Έλαιο εμβάπτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.05174	Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill III για μικροσκοπία	500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.05175	Διάλυμα αιματοξυλίνης τροποποιημένης κατά Gill II για μικροσκοπία	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.06329	Όξινο ανθρακικό νάτριο για ανάλυση EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Αρ. καταλόγου 1.06525	Ιωδικό νάτριο για ανάλυση EMSURE®	100 g
Αρ. καταλόγου 1.06887	Διάλυμα Paranicolaou 2b Διάλυμα πορτοκαλί χρώσης Orange II για κυτταρολογία	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.06888	Διάλυμα Paranicolaou 2a Διάλυμα πορτοκαλί χρώσης Orange G (OG6) για κυτταρολογία	500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.07961	Entellan™ νέο μέσο ταχείας στερέωσης για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l
Αρ. καταλόγου 1.08298	Ξυλένιο (ισομερές μείγμα) για ιστολογία	4 l
Αρ. καταλόγου 1.09016	Neo-Mount™ Άνυδρο επικαλυπτικό μέσο για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 1.09271	Διάλυμα Paranicolaou 3a πολύχρωμο διάλυμα EA 31 για κυτταρολογία	500 ml, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09272	Διάλυμα Paranicolaou 3b πολύχρωμο διάλυμα EA 50 για κυτταρολογία	500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.09621	Αιθυλενογλυκόλη για ανάλυση EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Αρ. καταλόγου 1.09843	Neo-Clear™ (υποκατάστατο ξυλενίου) για μικροσκοπία	5 l
Αρ. καταλόγου 1.09844	Διάλυμα ηωσίνης Y 0,5% υδατικό για μικροσκοπία	1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 1.17081	Διάλυμα ηωσίνης Y 1%, αλκοολούχο για μικροσκοπία	1 l
Αρ. καταλόγου 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Ταξινόμηση κινδύνου	
Αρ. καταλόγου 1.04302	Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της ετικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφάλειας. Το φύλλο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτή-ματος.

Κύρια συστατικά του προϊόντος	
Αρ. καταλόγου 1.04302	C.I. 75290 C ₁₆ H ₁₄ O ₆ M = 302,29 g/mol απώλεια κατά το στέγνωμα μέγ. 10%

Γενική παρατήρηση	
Εάν κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή εξαιτίας της χρήσης της, προ-κληθεί σοβαρό συμβάν, να το αναφέρετε στον κατασκευαστή και/ή στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του καθώς και στις εθνικές αρχές.	

Δογοτεχνία	
1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company	
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage	
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition	
4. Conn’s Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluoro- chromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002	
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition	
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage	
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press	
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition	
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage	
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage	



H319: Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

P264: Πλύνετε το δέρμα σχολαστικά μετά το χειρισμό.

P280: Να φοράτε προστατευτικά μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/ το πρόσωπο.

P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

P337 + P313: Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: Συμβουλευθείτε/ Επισκεφθείτε γιατρό.

Ιστορικό αναθεώρησης

Έκδοση	Σχόλιο τροποποίησης
2024-Jul-18	Αρχική έκδοση με την εισαγωγή του ιστορικού αναθεώρησης



Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός καταλόγου



Κωδικός παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως
EEEE-MM-HH



Όρια θερμοκρασίας

Status: 2024-Jul-18

H Life Science Business της Merck λειτουργεί ως MilliporeSigma στις Η.Π.Α. και τον Καναδά

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany και/ή οι συνδεδεμένες αυτής εταιρείες. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το Merck και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω πόρων που διατίθενται δημοσίως.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Mikroskopi

Hematoxylin krist. (färgindex 75290)

för mikroskopi

Endast för yrkesmässig användning

IVD

Medicinteknisk enhet för diagnostik *in vitro*

Avsett syfte

"Hematoxylin krist. (färgindex 75290) – för mikroskopi" används till humanmedicinsk celldiagnostik vid histologisk och cytologisk undersökning av provmaterial av mänskligt ursprung. Det är ett torrt färgningsämne som används till att bereda en färgningslösning och som, när det används tillsammans med andra produkter för *in vitro*-diagnostik från vår portfölj, gör målstruktureri (genom fixering, vid behov inbäddning, färgning med ovan nämnda hematoxylin-lösning, motfärgning och montering) i histologiska och kliniskt cytologiska provmaterial utvärderingsbara i diagnostiskt syfte.

Ofärgade strukturer har relativt låg kontrast och är extremt svåra att särskilja i ljusmikroskop. De bilder som skapas med färgningslösningen underlättar för den behöriga och kvalificerade forskaren att bättre definiera formen och strukturen i sådant fall. Ytterligare tester måste utföras enligt erkända, validerade metoder för att ställa en slutlig diagnos.

Den här infärgningslösningen behöver beredas ytterligare innan den används och används enbart för översiktsinfärgning vid differentiering av målstrukturerna i cell- och vävnadskomponenterna angivna nedan under rubriken "Resultat". För specifika tillämpningar rekommenderar vi kat.nr. 1.05175 Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill II, kat.nr. Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill III, kat.nr. 1.09249 Mayers hemalumlösning eller kat.nr. 1.09254 Papanicolaous lösning 1b hematoxylinlösning S för cytologi.

Reagens

Kat.nr 1.04302	Hematoxylin krist. (färgindex 75290) för mikroskopi	25 g, 100 g, 1 kg
----------------	--	----------------------

Färgindexnr: 75290

Dessutom behövs:

Kat.nr 1.09621	Etylenglykol pro analysi EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
----------------	--	--------------------------

Kat.nr 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
---------------	---	-------------------------

eller

Kat.nr 1.00974	Etanol denaturerad med ca 1% metyletylketon, pro analysi EMSURE®	1 l, 2,5 l
----------------	--	------------

Kat.nr 1.01047	Aluminiumkaliumsulfatdodekahydrat pro analysi EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
----------------	---	------

Kat.nr 1.06525	Natriumjodat pro analysi EMSURE®	100 g
----------------	-------------------------------------	-------

Kat.nr 1.00063	Ättiksyra (isättika) 100%, vattenfri pro analysi EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
----------------	---	------------

Kat.nr 1.00316	Saltsyra 25% pro analysi EMSURE®	1 l, 2,5 l
----------------	-------------------------------------	------------

Reagensberedning

Hematoxylinlösning enligt Gill III

För beredning av ca 1000 ml lösningsblandning:

Lösning av etylenglykol/destillerat vatten

Etylenglykol	250 g
Destillerat vatten	730 ml
blanda och lös upp	

Färgningslösning

Hematoxylin krist. (färgindex 75290)	2 g
Natriumjodat	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
Lös upp i ovan nämnda lösning av etylenglykol/destillerat vatten	
Ättiksyra, 100%	20 ml
tillsätt. Rör om under en timme vid rumstemperatur. Filtrera före användning.	

Hematoxylinlösning enligt Harris

För beredning av ca 1000 ml lösningsblandning:

Hematoxylinlösning

Hematoxylin krist. (färgindex 75290)	5 g
Etanol	50 ml
lös upp under uppvärmning i ett vattenbad	

Alunlösning

Aluminiumkaliumsulfatdodekahydrat	100 g
Destillerat vatten	950 ml
lös upp genom omrörning och uppvärmning	
Tillsätt hematoxylinlösningen i den varma alunlösningen under omrörning och varm upp till kokpunkten. Ta bort lösningen från den varma platsen.	
Natriumjodat	370 mg
Tillsätt under omrörning och kyl ned snabbt i ett vattenbad	
Ättiksyra, 100%	4 ml
tillsätt. Filtrera i flaskor och förslut dem försiktigt. Filtrera före användning.	

Saltsyra 0,1%, vattenhaltig

För beredning av ca 100 ml lösningsblandning:

Destillerat vatten	100 ml
Saltsyra, 25%	0,4 ml

Papanicolaous-färgning

Princip

Den mest vanligt använda färgningsproceduren för cytologiprover är Papanicolaous teknik som är avsedd för färgning av exfoliativa cytologiprover.

I det första steget färgas cellkärnan antingen progressivt eller regressivt med en hematoxylinlösning.

Med den progressiva hematoxylinfärgningsmetoden sker färgningen till ändpunkten varpå objektglaset blåfärgas med kranvatten.

Med den regressiva metoden färgas materialet över och överskottet av färglösningen avlägsnas genom syrasköljningssteg, följt av blåsesteget i kranvatten.

Kärnornas strukturer differentieras bättre och syns tydligare med den regressiva metoden.

Det andra färgningssteget är cytoplasmafärgning med orange färgningslösning, vilken främst syftar till att påvisa mogna och keratiniserade celler.

I det tredje färgningssteget används den så kallade polykroma lösningen, en blandning av eosin, ljusgrönt SF och Bismarck-brunt. Den polykroma lösningen används för att påvisa differentiering av skvamösa celler.

Provmaterial

Gynekologiska och icke-gynekologiska prover som sputum, urin, utstryk från fin nålsaspirationsbiopsier (FNAB), sköljningar och effusioner

Reagens

Behövs också vid Papanicolaous-färgning:

Kat.nr. 1.06887	Papanicolaous lösning 2b Orange II lösning för cytologi	500 ml, 2,5 l
eller		
Kat.nr. 1.06888	Papanicolaous lösning 2a Orange G lösning (OG 6) för cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.09271	Papanicolaous lösning 3a polykromatisk lösning EA 31 för cytologi	500 ml, 2,5 l
eller		
Kat.nr. 1.09272	Papanicolaous lösning 3b polykromatisk lösning EA 50 för cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.06329	Natriumvätekarbonat pro analysi EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, kg, 5 kg

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal. Alla prover måste bearbetas med modern teknik. Alla prover måste märkas tydligt. Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning. Följ tillverkarens instruktioner för applicering/användning. Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas.

Fixering av utstryksprover

Våtfixera omedelbart med M-FIX® sprayfixativ i minst tio minuter eller våtfixera omedelbart i 96% etanol i minst 30 minuter. Om utstryken fixeras med M-FIX® kan sköljstegen 1–4 med alkohol i stigande koncentrationer före färgningen utelämnas.

Reagensberedning

Papanicolaous lösning 2a Orange G lösning (OG 6), Papanicolaous lösning 2b Orange II lösning, Papanicolaous lösning 3a polykromatisk lösning EA 31 och Papanicolaous lösning 3b polykromatisk lösning EA 50 som används för färgning är bruksfärdiga. Spädning av lösningarna inte är nödvändig – det resulterar i ett försämrat färgningsresultat och en försämrad färgningsstabilitet.

Det rekommenderas att lösningarna filtreras före användning.

Natriumvätekarbonatlösning 1,5%

För beredning av ca 1000 ml lösningsblandning, tillsätt och lös upp:

Natirumvätekarbonat	15 g
Destillerat vatten	1000 ml

Förfarande

Regressiv färgning i infärgad cell

Objektglasen måste sänkas ned och flyttas runt en kort stund i lösningarna, att enbart sänka ned leder till otillräckliga färgningsresultat. Objektglasen måste droppa av ordentligt efter de enskilda färgningsstegen, i syfte att undvika onödig korskontaminering av lösningar. De angivna tiderna ska följas för att ett optimalt färgningsresultat ska kunna garanteras.

Objektglas med fixerat utstryk	
Etanol 96%*	10 s
Etanol 80%*	10 s
Etanol 70%*	10 s
Etanol 50%*	10 s
Destillerat vatten	10 s
Hematoxylinlösning enligt Gill eller Hematoxylinlösning enligt Harris	5 min. 6 min.
Destillerat vatten	10 s
Saltsyra 0,1%, vattenhaltig	10 s
Destillerat vatten	10 s
Natriumvätekarbonatlösning 1,5%	1 min.
Rinnande kranvatten	3 min.
Etanol 70%	30 s
Etanol 80%	30 s
Etanol 96%	30 s

Papanicolaous lösning 2a Orange G lösning eller Papanicolaous lösning 2b Orange II lösning	3 min.
Etanol 96%	30 s
Etanol 96%	30 s
Papanicolaous lösning 3a polykromatisk lösning EA 31 eller Papanicolaous lösning 3b polykromatisk lösning EA 50	3 min.
Etanol 96%	30 s
Etanol 96%	30 s
Etanol 100%	5 min.
Blandning av: Etanol 100% + Neo-Clear™ eller xylen (1 + 1)	2 min.
Klargör med Neo-Clear™ eller xylen.	5 min.
Klargör med Neo-Clear™ eller xylen.	5 min.
Montera de Neo-Clear™-våta objektglasen med Neo-Mount™ eller de xylen-våta objektglasen med t.ex. Entellan™ ny och täckglas.	

* Dessa steg kan uteslutas om utstryken har fixerats med M-FIX®. Efter dehydratisering (med alkohol i stigande koncentrationer) och klargörande med xylen eller Neo-Clear™ kan de cytologiska proverna monteras med vattenfria monteringsmedel (t.ex. Entellan™ ny, DPX ny eller Neo-Mount™) och täckglas. Efter det är de redo att förvaras. Det rekommenderas att immersionsolja används för analys av infärgade objektglas med en mikroskopisk förstoring på >40 x.

Resultat

Färgning med	3a/ EA 31	3b/ EA 50
Cytoplasma cyanofil (basofil) eosinofil (acidofil) keratiniserad	blå-grön till grön rosa rosa-orange	blå-grön rosa rosa-orange
Erytrocyter	röda	
Cellkärnor	blå till mörkvioletta	
Mikroorganismer	grå-blå	

H&E-färgning

Princip

Färgningsmetoden hematoxylin och eosin (H&E) är den vanligaste metoden för färgning av histologiskt material. Färgningsmekanismen är en fysikalisk-kemisk process. I det första steget binder det positivt laddade kärnfärgämnet (hematoxylin) till de negativt laddade fosfatgrupperna i cellkärnans nukleinsyra. Det andra steget är motfärgning med negativt laddat anjoniskt xanten-färgämne (eosin Y, eosin B eller erytrosin B). Detta binder till de positivt laddade plasma-proteinerna. Två metoder kan urskiljas. Med den progressiva hematoxylinfärgningsmetoden sker färgningen till ändpunkten varpå objektglaset blåfärgas med kranvatten. Med den regressiva metoden färgas materialet över och överskottet av färglösningen avlägsnas genom syrasköljningssteg, följt av bläelsesteget i kranvatten. Kärnornas strukturer differentieras bättre och syns tydligare med den regressiva metoden.

Provmaterial

Snitt av formalinfixerade, paraffininbäddade vävnader (3–4 µm tjocka paraffinsnitt) eller fryssnitt används som utgångsmaterial.

Reagens

Behövs också vid H&E-färgning:

Kat.nr. 1.09844	Eosin Y-vattenlösning 0,5% för mikroskopi	1 l, 2,5 l
eller		
Kat.nr. 1.02439	Eosin Y-alkohollösning 0,5% för mikroskopi	500 ml, 2,5 l
eller		
Kat.nr. 1.17081	Eosin Y-alkohollösning 1% för mikroskopi	1 l

Provberedning

Provtagningen måste utföras av kvalificerad personal. Alla prover måste bearbetas med modern teknik. Alla prover måste märkas tydligt. Lämpliga instrument ska användas för provtagning och provberedning. Följ tillverkarens instruktioner för applicering/användning. Vid användning av respektive hjälpreagenser måste respektive bruksanvisningar följas. Avparaffinera och rehydrera snitten på sedvanligt vis.

Reagensberedning

Eosin Y-vattenlösning 0,5% (Kat.nr 1.09844)
Eosin Y-alkohollösning 0,5% (Kat.nr 1.02439)
Eosin Y-alkohollösning 1% (Kat.nr 1.17081)

För att intensifiera eosinfärgningen måste t.ex. 1,0 ml isättika tillsättas i 500 ml arbetslösning
Den surgjorda arbetslösningen räcker till ca 750 prover, men den måste förnyas efter senast 14 dagar.
Med alkoholhaltiga eosin Y-lösningar måste en kortare alkoholserie (som börjar med etanol 96% och en reaktionstid på bara 10 sekunder) användas under de enskilda färgningsförfarandena.

Eosin B-lösning och erytrosinlösning 0,5%, vattenhaltig

Beredningsmetoden beskrivs i bruksanvisningen till respektive färgämne.

Förfarande

Regressiv färgning av paraffinsnitt
Färgning i infärgad cell

Avparaffinera de histologiska objektglasen på sedvanligt vis och rehydrera med alkohol i fallande koncentrationer.
Objektglasen måste droppa av ordentligt efter de enskilda färgningsstegen, i syfte att undvika onödig korskontaminering av lösningar.
De angivna tiderna ska följas för att ett optimalt färgningsresultat ska kunna garanteras.

Objektglas med paraffinsnitt	
Destillerat vatten	1 min.
Hematoxylinlösning enligt Gill eller Hematoxylinlösning enligt Harris	3 min.
Saltsyra 0,1%, vattenhaltig	2 s
Rinnande kranvatten	3 - 5 min.
Eosin Y-vattenlösning 0,5% eller Eosin Y-alkohollösning 0,5%* eller Eosin Y-alkohollösning 1%*	3 min.
Rinnande kranvatten	30 s
Etanol 70%	1 min.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Montera de Neo-Clear™-våta objektglasen med Neo-Mount™ eller de xylen-våta objektglasen med t.ex. Entellan™ ny och täckglas.	

* Med alkoholhaltiga eosin Y-lösningar måste en kortare alkoholserie (som börjar med etanol 96% och en reaktionstid på bara 10 sekunder) användas under de enskilda färgningsförfarandena.

Efter dehydratisering (med alkohol i stigande koncentrationer) och klargörande med xylen eller Neo-Clear™ kan histologiska prover monteras med vattenfria monteringsmedel (t.ex. DPX ny, Entellan™ ny, Neo-Mount™) och täckglas. Efter det är de redo att förvaras.
Det rekommenderas att immersionsolja används för analys av infärgade objektglas med en mikroskopisk förstoring på >40 x.

Resultat

Cellkärnor	mörkblå till mörkvioletta
Cytoplasma, intercellulärsubstanser	rosa till röda
Erytrocyter	gula till orange

Felsökning

Svag färgning av cytoplasma och bindvävsstrukturer

För att intensifiera eosinfärgningen måste en surgjord arbetslösning (med t.ex. isättika) användas.
Om en icke-surgjord lösning används blir cytoplasma och bindvävsstrukturer svagt infärgade. Därför rekommenderas det att följa det angivna reagensberedningsprotokollet för att ett optimalt färgningsresultat ska uppnås.
Den surgjorda arbetslösningen räcker till ca 750 prover, men den måste förnyas efter senast 14 dagar.

Tekniska anmärkningar

Mikroskopet som används ska uppfylla kraven för ett laboratorium för medicinsk diagnostik.
Nyberedda färgningslösningar ska filtreras före användning.
Ta bort överskott av immersionsolja före inmatningen.

Analytiska prestandaegenskaper

”Hematoxylin krist. (färgindex 75290)” infärgar och visualiserar dermädbiologiska strukturer enligt beskrivningen i kapitlet ”Resultat” i den här bruksanvisningen. Produkten får bara användas av behöriga och kvalificerade personer för bland annat prov- och reagenspreparering, provhantering, vävnadsanalys, val av lämpliga kontroller med mera.
Produktens analytiska prestanda bekräftas genom att varje produktionsbats testas.
För följande infärgningar verifierades analytiska prestanda avseende specificitet, känslighet och repeterbarhet hos produkten i 100% av fallen:

	Specificitet mellan analyser	Känslighet mellan analyser	Specificitet inom en analys	Känslighet inom en analys
Cytologisk infärgning				
Cellkärnor	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma cyanofil (basofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma eosinofil (acidofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocyter	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E-färgning				
Cellkärnor	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Intercellulärsubstanser	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocyter	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiska prestandaresultat

Intradata (erhållna från samma sats) och interdata (erhållna från olika satser) anger antalet korrekt infärgade strukturer i förhållande till antalet genomförda analyser.

Resultatet av prestandautvärderingen bekräftar att produkten är lämplig för den avsedda användningen och fungerar tillförlitligt.

Diagnostik

Diagnoser ska ställas av behörig och kvalificerad personal.
Giltiga nomenklaturer måste användas.
Den här metoden kan användas som tillägg vid humandiagnostik.
Ytterligare tester måste väljas och genomföras i enlighet med erkända metoder.
Lämpliga kontroller ska genomföras med varje applicering för att undvika ett felaktigt resultat.

Förvaring

Förvara Hematoxylin krist. (färgindex 75290) – för mikroskopi vid +2 °C till +30 °C.

Hållbarhetstid

Hematoxylin krist. (färgindex 75290) – för mikroskopi kan användas fram till angivet utgångsdatum.
När flaskan har öppnats för första gången kan innehållet användas fram till angivet utgångsdatum om den förvaras vid +2 °C till +30 °C.
Flaskorna måste alltid vara väl tillslutna.

Ytterligare instruktioner

Endast för yrkesmässig användning.
För att undvika fel får appliceringen endast utföras av kvalificerad personal.
Nationella riktlinjer för arbetsskydd och kvalitetssäkring måste följas.
Mikroskop som används måste vara utrustade enligt standard.

Skydd mot infektion

Effektiva åtgärder måste vidtas för att skydda mot infektion i linje med laboratoriets riktlinjer.

Instruktioner för avfallshantering

Paketet måste kasseras i enlighet med gällande riktlinjer för avfallshantering.
Använda lösningar och lösningar som passerat utgångsdatum måste tas om hand som farligt avfall i enlighet med lokala riktlinjer. Information om avfallshantering finns under snabbblänken ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tips för kassering av mikroskopiprodukter) på www.microscopy-products.com. Inom EU gäller förordning (EG) nr 1272/2008 om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar, ändring och upphävande direktiv 67/548/EEG och 1999/45/EG och ändring av förordning (EG) nr 1907/2006 tillämpas.

Hjälpreagens

Kat.nr. 1.00063	Ättiksyra (isättika) 100%, vattenfri pro analysi EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.00316	Saltsyra 25% pro analysi EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.00579	DPX ny vattenfritt monteringsmedium för mikroskopi	500 ml
Kat.nr. 1.00974	Etanol denaturerad med ca 1% metyletylketon, pro analysi EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.01047	Aluminiumkaliumsulfatdodekahydrat pro analysi EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat.nr. 1.02439	Eosin Y-alkohollösning 0,5% för mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.03981	M-FIX® sprayfixativ för cytodiagnostik	100 ml, 1 l
Kat.nr. 1.04699	Immersionsolja för mikroskopi	100 ml droppflaska, 100 ml, 500 ml
Kat.nr. 1.05174	Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill III för mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.05175	Hematoxylinlösning modifierad enligt Gill II för mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.06329	Natriumvätekarbonat pro analysi EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat.nr. 1.06525	Natriumjodat pro analysi EMSURE®	100 g
Kat.nr. 1.06887	Papanicolaous lösning 2b Orange II lösning för cytologi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.06888	Papanicolaous lösning 2a Orange G lösning (OG 6) för cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.07961	Entellan™ ny snabb monteringsmedium för mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr. 1.08298	Xylen (isomerblandning) för histologi	4 l
Kat.nr. 1.09016	Neo-Mount™ vattenfritt monteringsmedel för mikroskopi	100 ml droppflaska, 500 ml
Kat.nr. 1.09271	Papanicolaous lösning 3a polykromatisk lösning EA 31 för cytologi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr. 1.09272	Papanicolaous lösning 3b polykromatisk lösning EA 50 för cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.09621	Etylenglykol pro analysi EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat.nr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitut) för mikroskopi	5 l
Kat.nr. 1.09844	Eosin Y-vattenlösning 0,5% för mikroskopi	1 l, 2,5 l
Kat.nr. 1.17081	Eosin Y-alkohollösning 1% för mikroskopi	1 l
Kat.nr. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Faroklassificering

Kat.nr 1.04302
Observera faroklassificeringen på etiketten och uppgifterna i säkerhetsdatabladet.
Säkerhetsdatabladet finns på webbplatsen och går att få på begäran.

Produktens huvudsakliga beståndsdelar

Kat.nr 1.04302
Färgindex 75290
C₁₆H₁₄O₆
M=302,29 g/mol
förlust vid torkning max. 10%

Life Science Business som tillhör Merck är verksamt som MilliporeSigma i US och Kanada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany och/eller dess dotterbolag. Med ensamrätt. Merck och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alla andra varumärken tillhör respektive ägare. Detaljer om varumärkena kan hittas i allmänt tillgängliga resurser.

Generell anmärkning

Om en allvarlig händelse inträffat vid eller som ett resultat av användning av den här enheten ska den rapporteras till tillverkaren eller dess auktoriserade representant och till den nationella myndigheten.

Litteratur

- Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
- Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
- Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.

P264: Tvätta huden grundligt efter användning.

P280: Använd ögonskydd/ ansiktsskydd.

P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

P337 + P313: Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.

Revisionshistorik

Version	Ändringskommentar
2024-Jul-18	Första version med införande av revisionshistorik



Se bruksanvisningen



Tillverkare



Katalognummer



Satskod



Försiktighet, se medföljande dokument



Används före
ÅÅÅÅ-MM-DD



Temperatur-
begränsning

Status: 2024-Jul-18



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Mikroskopie

Hematoxylin kryst. (C.I. 75290)

pro mikroskopii

Pouze pro profesionální použití

IVD

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *in vitro*

Zamýšlený účel

Tento „Hematoxylin kryst. (C.I. 75290) – pro mikroskopii“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k histologickému a cytologickému vyšetření materiálu vzorků lidského původu. Jedná se o suché barvivo používané k přípravě roztoku, který v případě použití společně s jinými výrobky pro diagnostiku *in vitro* z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové struktury (fixací, zalitím, barvením výše uvedeným roztokem hematoxylinu, dobarvením, montováním) v materiálech histologických a cytologických vzorků.

Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímky získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy je třeba provést další testy podle uznávaných platných metod.

Tento barvicí roztok, který před použitím vyžaduje další přípravu, slouží výhradně k přehlednému barvení při rozlišování cílových struktur buněčných a tkáňových složek uvedených níže v části „Výsledek“. Pro specifitější použití doporučujeme použít Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II, kat. č. 1.05175, Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III, kat. č. 1.05174, Mayerův hemalaun roztok, kat. č. 1.09249 nebo Papanicolaouův roztok 1b, roztok hematoxylinu S pro cytologii, kat. č. 1.09254.

Činidla

Kat. č. 1.04302 Hematoxylin kryst. (C.I. 75290) 25 g, 100 g, 1 kg
pro mikroskopii

Č. kódu barvy (C.I.): 75290

Další potřebné materiály:

Kat. č. 1.09621 Ethylenglykol 1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
pro analýzu EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP

Kat. č. 227617 Aluminium sulfate octadecahydrate 100 g, 500 g, 2,5 kg
≥97% (Sigma-Aldrich)

nebo

Kat. č. 1.00974 Ethanol denaturovaný cca 1% methylethylketonem 1 l, 2,5 l
pro analýzu EMSURE®

Kat. č. 1.01047 Síran hlinito-draselný dodekahydrát 1 kg
pro analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

Kat. č. 1.06525 Jodičnan sodný 100 g
pro analýzu EMSURE®

Kat. č. 1.00063 Kyselina octová (ledová) 100 % 1 l, 2,5 l
bezvodá pro analýzu EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur

Kat. č. 1.00316 Kyselina chlorovodíková 25 % 1 l, 2,5 l
pro analýzu EMSURE®

Příprava činidla

Roztok hematoxylinu, podle Gilla

Na přípravu přibližně 1 000 ml směsného roztoku:

Roztok ethylenglykolu / destilované vody

Ethylenglykol	250 g
Destilovaná voda	730 ml
smíchejte a rozpusťte	

Barvicí roztok

Hematoxylin kryst. (C.I. 75290)	2 g
Jodičnan sodný	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
rozpustíte ve výše uvedeném roztoku ethylenglykolu / destilované vody	
Kyselina octová 100 %	20 ml
přidejte. Míchejte po dobu 1 hodiny při pokojové teplotě. Před použitím přefiltrujte.	

Roztok hematoxylinu, podle Harrise

Na přípravu přibližně 1 000 ml směsného roztoku:

Roztok hematoxylinu

Hematoxylin kryst. (C.I. 75290)	5 g
Ethanol	50 ml
rozpustíte za současného zahřívání ve vodní lázni	

Roztok kamence

Síran hlinito-draselný dodekahydrát	100 g
Destilovaná voda	950 ml
rozpustíte mícháním a zahříváním	
Do horkého roztoku alaun přidejte za míchání roztok hematoxylinu a přiveďte k varu. Přesuňte roztok z horkého prostředí.	
Jodičnan sodný	370 mg
přidejte za neustálého míchání a rychle vychladte ve vodní lázni	
Kyselina octová 100 %	4 ml
přidejte. Přefiltrujte v lahvičkách a opatrně zavřete. Před použitím přefiltrujte.	

Kyselina chlorovodíková, 0,1 %, vodný roztok

Na přípravu přibližně 100 ml směsného roztoku:

Destilovaná voda	100 ml
Kyselina chlorovodíková 25 %	0,4 ml

Papanicolaouovo barvení

Princip

Nejpoužívanějším postupem barvení cytologických vzorků je Papanicolaouova metoda určená k barvení exfoliativních buněk v cytologických vzorcích.

V prvním kroku se roztokem hematoxylinu progresivně nebo regresivně obarví buněčná jádra.

V případě progresivního barvení hematoxylinem se barvení provádí podle cílového parametru, poté se sklíčko obarví namodro pod tekoucí vodou.

Při regresivní metodě se materiál přebarví a přebytek barvicího roztoku se odstraní v krocích kyselého vymývání, po nichž následuje krok modření.

Struktury jádra jsou více rozlišené a lépe viditelné při použití regresivní metody.

Druhým krokem barvení je barvení cytoplasmu oranžovým barvicím roztokem, zejména k průkazu zralých a keratinizovaných buněk.

Ve třetím kroku barvení se používá takzvaný roztok polychromu, směs eosinu, SF světlé zeleně a Bismarckovy hnědi. Roztok polychromu se používá k průkazu diferenciace skvamózních buněk.

Materiál vzorku

Gynekologické a negynekologické vzorky, například sputum, moč, nátěry z aspirační biopsie tenkou jehlou (FNAB), výpotky, výplachy

Činidla			Materiály potřebné pro barvení dle Papanicolaoua:		CZ	
Kat. č. 1.06887	Papanicolaouuv roztok 2b, roztok Oranže II pro cytologii	500 ml, 2,5 l	Papanicolaouuv roztok 2a, roztok Oranže G (OG6) nebo Papanicolaouuv roztok 2b, roztok Oranže II		3 min	
nebo			Ethanol 96 %		30 sekundy	
Kat. č. 1.06888	Papanicolaouuv roztok 2a, roztok Oranže G (OG 6) pro cytologii	500 ml, 1 l, 2,5 l	Papanicolaouuv roztok 2b, roztok Oranže II		30 sekundy	
Kat. č. 1.09271	Papanicolaouuv roztok 3a, roztok polychromu EA 31 pro cytologii	500 ml, 2,5 l	Papanicolaouuv roztok 3a, roztok polychromu EA 31 nebo Papanicolaouuv roztok 3b, roztok polychromu EA 50		3 min	
nebo			Ethanol 96 %		30 sekundy	
Kat. č. 1.09272	Papanicolaouuv roztok 3b, roztok polychromu EA 50 pro cytologii	500 ml, 1 l, 2,5 l	Ethanol 96 %		30 sekundy	
			Ethanol 100 %		5 min	
Kat. č. 1.06329	Hydrogenuhličitan sodný pro analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg	Směs obsahující: Ethanol 100% + Neo-Clear™ nebo xylen (1 + 1)		2 min	
			Projasněte přípravkem Neo-Clear™ nebo xylenem.		5 min	
			Projasněte přípravkem Neo-Clear™ nebo xylenem.		5 min	
			Vlhká sklička Neo-Clear™ montujte za použití přípravku Neo-Mount™, případně xylenová vlhká sklička např. za použití přípravku Entellan™ nový a krycího sklička.			

Příprava vzorků

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál. Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené. K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití. Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Fixace náterů vzorků

Okamžitá vlhká fixace M-FIX® fixační sprejem po dobu nejméně 10 min nebo okamžitá vlhká fixace v 96% ethanolu po dobu nejméně 30 min. Jestliže jsou nátery fixovány M-FIX®, lze před barvením vypustit promývací kroky 1–4 ve vzestupné ethanolové řadě.

Příprava činidla

Papanicolaouuv roztok 2a Oranže G (OG6), Papanicolaouuv roztok 2b Oranže II, Papanicolaouuv roztok 3a, roztok polychromu 3a EA 31 a Papanicolaouuv roztok 3b, roztok polychromu EA 50, používané k barvení, jsou určeny k přímému použití; ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného obarvení a jeho stability. **Před použitím roztoků je doporučena jejich filtrace.**

Roztok hydrogenuhlčitanu sodného 1,5 %

Na přípravu přibližně 1 000 ml roztoku, přidejte a rozpustíte:

Hydrogenuhlčitan sodný	15 g
Destilovaná voda	1 000 ml

Postup

Regresivní barvení v barvicí komůrce

Sklička je nutné ponořit a krátce jimi v roztoku pohybovat; samotné prosté ponoření neposkytne dostatečné výsledné obarvení. Sklička je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabrání jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků. Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Skličko s fixovaným náterem	
Ethanol 96 %*	10 sekundy
Ethanol 80 %*	10 sekundy
Ethanol 70 %*	10 sekundy
Ethanol 50 %*	10 sekundy
Destilovaná voda	10 sekundy
Roztok hematoxylinu, podle Gilla nebo Roztok hematoxylinu, podle Harrise	5 min 6 min
Destilovaná voda	10 sekundy
Kyselina chlorovodíková, 0,1 %, vodný roztok	10 sekundy
Destilovaná voda	10 sekundy
Roztok hydrogenuhlčitanu sodného 1,5 %	1 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Ethanol 70 %	30 sekundy
Ethanol 80 %	30 sekundy
Ethanol 96 %	30 sekundy

Papanicolaouuv roztok 2a, roztok Oranže G (OG6) nebo Papanicolaouuv roztok 2b, roztok Oranže II		3 min
Ethanol 96 %		30 sekundy
Ethanol 96 %		30 sekundy
Papanicolaouuv roztok 3a, roztok polychromu EA 31 nebo Papanicolaouuv roztok 3b, roztok polychromu EA 50		3 min
Ethanol 96 %		30 sekundy
Ethanol 96 %		30 sekundy
Ethanol 100 %		5 min
Směs obsahující: Ethanol 100% + Neo-Clear™ nebo xylen (1 + 1)		2 min
Projasněte přípravkem Neo-Clear™ nebo xylenem.		5 min
Projasněte přípravkem Neo-Clear™ nebo xylenem.		5 min
Vlhká sklička Neo-Clear™ montujte za použití přípravku Neo-Mount™, případně xylenová vlhká sklička např. za použití přípravku Entellan™ nový a krycího sklička.		

* Tyto kroky lze vypustit, pokud jsou nátery fixovány přípravkem M-FIX®. Po dehydrataci (vzestupnou alkoholovou řadou) a projasnění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear™ lze cytologické vzorky montovat za použití bezvodých montovacích přípravků (např. Entellan™ nový, DPX nový nebo Neo-Mount™) a krycího sklička a poté uskladnit. Při analýze obarvených náterů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

Výsledek

Barvení roztokem	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplazma cyanofilní (bazofilní) eosinofilní (acidofilní) keratinizovaná	modrozelená až zelená růžová růžovooranžová	modrozelená růžová růžovooranžová
Erythrocyty	červené	
Buněčná jádra	modrá až tmavofialová	
Mikroorganismy	šedomodré	

Barvení H&E

Princip

Metoda barvení hematoxylinem a eosinem (H&E) je metodou nejčastěji použí-vanou k barvení histologického materiálu. Barvení je založeno na fyzikálně-chemickém procesu. V prvním kroku se jaderné barvivo s kladným nábojem (hematoxylin) naváže na záporně nabitě fosfátové skupiny nukleové kyseliny v buněčných jádrech. Druhým krokem je dobarvení negativně nabitým aniontovým xanthenovým barvivem (eosin Y, eosin B nebo erythrosin B). Váže se na kladně nabitě plazmatické proteiny. Rozlišují se dvě metody. V případě progresivního barvení hematoxylinem se barvení provádí podle cílového parametru, poté se skličko obarví namodro pod tekoucí vodou. Při regresivní metodě se materiál přebarví a přebytek barvicího roztoku se odstraní v krocích kyselého vymývání, po nichž následuje krok modření. Struktury jádra jsou více rozlišené a lépe viditelné při použití regresivní metody.

Materiál vzorku

Jako výchozí materiál se používají řezy formalinem fixované tkáně zalité do parafinu (parafinové řezy o tloušťce 3-4 µm) nebo kryorezy.

Činidla

Pro barvení H&E je dále zapotřebí:

Kat. č. 1.09844	Eosin Y 0,5 %, vodný roztok pro mikroskopii	1 l, 2,5 l
nebo		
Kat. č. 1.02439	Eosin Y 0,5 %, alkoholový roztok pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l
nebo		
Kat. č. 1.17081	Eosin Y 1%, alkoholový roztok pro mikroskopii	1 l

Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál. Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené. K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití. Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití. Řezy zbavte parafínu a rehydratujte obvyklým způsobem.

Příprava činidla

Eosin Y 0,5 %, vodný roztok pro mikroskopii (Kat. č. 1.09844)
Eosin Y 0,5 %, alkoholový roztok (Kat. č. 1.02439)
Eosin Y 1 %, alkoholový roztok (Kat. č. 1.17081)

Pro intenzivnější obarvení eosinem je potřeba k 500 ml roztoku eosinu Y přidat např. 1,0 ml ledové kyseliny octové.
Okyselený pracovní roztok stačí na přibližně 750 vzorků; nejpозději po 14 dnech je však třeba provést obnovu.
Při použití alkoholových roztoků eosinu Y je nutné u jednotlivých barvicích postupů použít kratší alkoholové série (počínaje 96% ethanolem a reakčním časem pouze 10 s).

0,5% vodný roztok eosinu B a roztok erythrosinu

Metoda přípravy je popsána v návodu k použití příslušných barviv.

Postup
Regresivní barvení parafinových řezů

Barvení v barvicí komůrce
Histologická sklíčka zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.
Sklíčka je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabrání jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků.
Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčko s parafinovým řezem	
Destilovaná voda	1 min
Roztok hematoxylinu, podle Gilla nebo Roztok hematoxylinu, podle Harrise	3 min
Kyselina chlorovodíková, 0,1 %, vodný roztok	2 sekundy
Tekoucí vodovodní voda	3 - 5 min
Eosin Y 0,5 %, vodný roztok nebo Eosin Y 0,5 %, alkoholový roztok* nebo Eosin Y 1 %, alkoholový roztok*	3 min
Tekoucí vodovodní voda	30 sekundy
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylen nebo Neo-Clear™	5 min
Xylen nebo Neo-Clear™	5 min
Vlhká sklíčka Neo-Clear™ montujte za použití přípravku Neo-Mount™, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan™ nový a krycího sklíčka.	

****** Při použití alkoholových roztoků eosinu Y je nutné u jednotlivých barvicích postupů použít kratší alkoholové série (počínaje 96 % ethanolem a reakčním časem pouze 10 s).

Po dehydrataci (vzestupnou alkoholovou řadou) a pročištění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear™ lze histologické vzorky montovat za použití bezvodých montovacích přípravků (např. DPX nový, Entellan™ nový, nebo Neo-Mount™) a krycího sklíčka a poté uskladnit.
Při analýze obarvených náterů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

Výsledek

Buněčná jádra	tmavomodrá až tmavofialová
Cytoplazma, mezibuněčné substance	růžové až červené
Erythrocyty	žluté až oranžové

Odstraňování potíží
Slabé obarvení cytoplazmy a struktur pojivové tkáně

Pro intenzivnější obarvení eosinem je třeba použít okyselený pracovní roztok (s využitím např. ledové kyseliny octové).
Použití neokyseleného roztoku bude mít za následek slabé obarvení cytoplazmy a struktur pojivové tkáně; pro optimální výsledek barvení se proto doporučuje dodržovat specifikovaný protokol přípravy činidla.
Okyselený pracovní roztok stačí na přibližně 750 vzorků; nejpозději po 14 dnech je však třeba provést obnovu.

Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře.
Čerstvě připravené barvicí roztoky je před použitím nutné přefiltrovat.
Před uložením odstraňte přebytek imerzního oleje.

Analytické výkonnostní parametry

„Hematoxylin kryst. (C.I. 75290)“ barví a tím vizualizuje biologické struktury, jak je popsáno v kapitolách „Výsledek“ tohoto návodu k použití. Výrobek směji používat pouze oprávněné a kvalifikované osoby, což platí mimo jiné pro přípravu vzorků a činidel, manipulaci se vzorky, zpracování histogramů, rozhodnutí o vhodných kontrolách a další.
Analytické parametry výrobku jsou validovány testováním každé výrobní šarže.
U následujícího barvení byla potvrzena analytická výkonnost výrobku z hlediska specifičnosti, senzitivity a opakovatelnosti na 100 %:

	Specifičnost mezi testy	Senzitivita mezi testy	Specifičnost v rámci testu	Senzitivita v rámci testu
Cytologické barvení				
Buněčná jádra	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma cyanofilní (bazofilní)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma eosinofilní (acidofilní)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrocyty	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganismy	20/20	20/20	7/7	7/7
Barvení H&E				
Buněčná jádra	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Mezibuněčné substance	20/20	20/20	7/7	7/7
Erythrocyty	20/20	20/20	7/7	7/7

Výsledky testování analytických výkonnostních parametrů

Výsledky v rámci jednoho testu (provedeného na stejné šarži) a mezi testy (provedenými na různých šaržích) uvádějí počet správně obarvených struktur v poměru k počtu provedených testů.

Výsledky tohoto hodnocení funkčnosti potvrzují, že výrobek je vhodný pro zamýšlené použití a spolehlivě funguje.

Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál.
Je nutné používat platné nomenklatury.
Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.
Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod.
Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly.

Skladování

Hematoxylin kryst. (C.I. 75290) – pro mikroskopii se skladuje při teplotě +2 °C až +30 °C.

Doba použitelnosti

Hematoxylin kryst. (C.I. 75290) – pro mikroskopii lze používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti.
Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +2 °C až +30 °C.
Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

Další pokyny

Pouze pro profesionální použití.
Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál.
Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality.
Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnici.

Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrniciami týkajícími se likvidace.
Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnici. Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese www.microscopy-products.com. V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

Pomocná činidla

Kat. č. 1.00063	Kyselina octová (ledová) 100 % bezvodá pro analýzu EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.00316	Kyselina chlorovodíková 25 % pro analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.00579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 1.00974	Ethanol denaturovaný cca 1% methylethylketonem pro analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.01047	Síran hlinito-draselný dodekahydrát pro analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. č. 1.02439	Eosin Y 0,5 %, alkoholový roztok pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.03981	M-FIX® fixační spray pro cytodiagnostiku	100 ml, 1 l
Kat. č. 1.04699	Imerzní olej pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.05174	Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III pro mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.05175	Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.06329	Hydrogenuhlíčitán sodný pro analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. č. 1.06525	Jodičnan sodný pro analýzu EMSURE®	100 g
Kat. č. 1.06887	Papanicolaouuv roztok 2b, roztok Oranže II pro cytologii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.06888	Papanicolaouuv roztok 2a, roztok Oranže G (OG 6) pro cytologii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.07961	Entellan™ nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 1.08298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l
Kat. č. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 1.09271	Papanicolaouuv roztok 3a, roztok polychromu EA 31 pro cytologii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 1.09272	Papanicolaouuv roztok 3b, roztok polychromu EA 50 pro cytologii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.09621	Ethylenglykol pro analýzu EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. č. 1.09843	Neo-Clear™ (náhražka xylenu) pro mikroskopii	5 l
Kat. č. 1.09844	Eosin Y 0,5 %, vodný roztok pro mikroskopii	1 l, 2,5 l
Kat. č. 1.17081	Eosin Y 1 %, alkoholový roztok pro mikroskopii	1 l
Kat. č. 227617	Aluminium sulfat octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Klasifikace rizik

Kat. č. 1.04302
Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě.
Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
ztráta při sušení max 10 %

Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

Literaturu

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

P264: Po manipulaci důkladně omyjte kůži.

P280: Používejte ochranné brýle/ obličejový štít.

P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P337 + P313: Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ ošetření.

Historie revizí

Verze	Komentář k úpravám
2024-Jul-18	Původní verze s přidanou tabulkou historie revizí



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si
připojené dokumenty



Spotřebujte do
RRRR-MM-DD



Teplotní
omezení

Status: 2024-Jul-18

Divize Life Science společnosti Merck používá v USA a Kanadě název MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany, a/nebo její dceřiné a sesterské společnosti. Všechna práva vyhrazena. Merck a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách lze získat ve veřejně dostupných zdrojích.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Microscopie

Hematoxină crist. (C.I. 75290)

pentru microscopie

Exclusiv pentru uz profesional

IVD

Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*



Scopul preconizat

Această „Hematoxină crist. (C.I. 75290) - pentru microscopie” este utilizată pentru diagnosticul celulelor medicale umane și servește scopului de investigație histologică și citologică a eșantioanelor de probă de origine umană. Acesta este un colorant uscat, utilizat pentru prepararea soluției de colorare care, atunci când este utilizată împreună cu alte produse pentru diagnosticare *in vitro* din portofoliul nostru, face posibilă evaluarea în scop de diagnostic a structurilor țintă din eșantioanele de probă histologice și citologice (prin fixare, încastrare, colorare cu soluția de hematoxină de mai sus, contracolorare, montare).

Structurile necolorate au un contrast relativ scăzut și sunt extrem de dificil de distins sub microscopul optic. Imaginile create folosind soluțiile de colorare ajută investigatorul autorizat și calificat să definească mai bine forma și structura în astfel de cazuri. Testele suplimentare trebuie efectuate în conformitate cu metodele valide, recunoscute, pentru a ajunge la un diagnostic definitiv.

Această soluție de colorare, care necesită o pregătire suplimentară înainte de a putea fi utilizată, servește exclusiv pentru colorarea de ansamblu în diferențierea structurilor țintă ale componentelor celulare și tisulare enumerate mai jos în secțiunea „Rezultat”. Pentru aplicații mai specifice recomandăm utilizarea Cat. Nr. 1.05175 Hematoxină - soluție modificată conform Gill II, Cat. Nr. 1.05174 Hematoxină - soluție modificată conform Gill III, Cat. Nr. 1.09249 Soluție Mayer aluminiu - hematoxină sau Cat. Nr. 1.09254 Soluție 1b Papanicolaou Soluție de hematoxină S pentru citologie.

Reactivi

Cat. No. 1.04302 Hematoxină crist. (C.I. 75290) 25 g, 100 g, 1 kg
pentru microscopie

Index nr. culoare (C.I.): 75290

De asemenea, este necesar:

Cat. nr. 1.09621 Etilen-glicol 1 l, 2,5 l,
pentru analiză EMSURE® 4 l, 10 l
Reag. Ph Eur, Reag. USP

Cat. nr. 227617 Aluminium sulfat octadecahydrat 100 g, 500 g,
≥97% (Sigma-Aldrich) 2,5 kg

sau

Cat. nr. 1.00974 Etanol denaturat cu ~ 1% metil-etil- 1 l, 2,5 l
cetonă
pentru analiză EMSURE®

Cat. nr. 1.01047 Sulfat de potasiu și aluminiu 1 kg
dodecahidrat
pentru analiză EMSURE® ACS,
Reag. Ph Eur

Cat. nr. 1.06525 Iodat de sodiu 100 g
pentru analiză EMSURE®

Cat. nr. 1.00063 Acid acetic (glacial) 100%, anhidru, 1 l, 2,5 l
pentru analiză, EMSURE® ACS, ISO,
Reag. Ph Eur

Cat. nr. 1.00316 Acid clorhidric 25% 1 l, 2,5 l
pentru analiză EMSURE®

Prepararea reactivului

Hematoxină soluție conf. Gill

Pentru prepararea a aprox. 1000 ml soluție, amestecați:

Soluție de etilen glicol/apă distilată

Etilen-glicol	250 g
Apă distilată	730 ml
amestecați și dizolvați	

Soluție de colorare

Hematoxină crist. (C.I. 75290)	2 g
Iodat de sodiu	0,2 g
Aluminium sulfat octadecahydrat	17,6 g
dizolvați în soluția de etilen glicol/apă distilată de mai sus	
Acid acetic 100%	20 ml
adăug. Amestecați timp de 1 oră la temperatura camerei. Filtrai înainte de utilizare.	

Hematoxină soluție conf. Harris

Pentru prepararea a aprox. 1000 ml soluție, amestecați:

Hematoxină soluție

Hematoxină crist. (C.I. 75290)	5 g
Etanol	50 ml
dizolvați la căldură, în baie de apă	

Soluție de alaun

Sulfat de potasiu și aluminiu dodecahidrat	100 g
Apă distilată	950 ml
dizolvați prin amestecare și încălzire	
Adăugați soluția de hematoxină la soluția de alaun fierbinte, prin amestecare și încălziți până la fierbere. Îndepărtați soluția de sursa de căldură.	
Iodat de sodiu	370 mg
adăugați prin amestecare și răciți rapid în baie de apă	
Acid acetic 100%	4 ml
adăug. Se filtrează în flacoane și se închid cu atenție. Filtrai înainte de utilizare.	

Acid clorhidric 0,1%, apos

Pentru prepararea a aprox. 100 ml soluție, amestecați:

Apă distilată	100 ml
Acid clorhidric 25%	0,4 ml

Colorant Papanicolaou

Principiu de funcționare

Cea mai metodă de colorație pentru speciamele citologice este tehnica lui Papanicolaou și este destinată colorației celulelor exfoliate din speciamele citologice.

În prima etapă, nucleele celulare sunt colorate progresiv sau regresiv cu o soluție de hematoxină.

În metoda de colorare progresivă cu hematoxină, colorarea este realizată până la final, după care lama este colorată în albastru în apa de la robinet.

În cazul metodei regresive, materialul este supra-colorat, iar excesul de soluție de colorare este eliminat prin fazele de clătire cu acid, urmate de faza de albăstrire.

Structura nucleelor este mai diferențiată și mai bine vizualizată prin metoda regresivă.

Faza a doua a colorării este colorarea citoplasmei cu soluția de colorare portocalie, în special pentru demonstrarea celulelor mature și keratinizate.

În faza a treia este folosită așa numita soluție policromă, un amestec de eozină, SF verde deschis și maro Bismarck. Soluția policromă este utilizată pentru a demonstra diferențierea celulelor scuamoase.

Eșantion de probă

Specimene ginecologice și ne-ginecologice, cum sunt sputa, urina, frotiurile de biopsie aspirantă cu ac fin (FNAB), scurgerile, spălăturile

Reactivi

De asemenea, este necesar pentru colorantul Papanicolaou:

Cat. nr. 1.06887	Soluție 2b Papanicolaou Soluție portocalie II pentru citologie	500 ml, 2,5 l
sau		
Cat. nr. 1.06888	Soluție 2a Papanicolaou Soluție portocalie G (OG6) pentru citologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.09271	Soluție 3a Papanicolaou Soluție policromă EA 31 pentru citologie	500 ml, 2,5 l
sau		
Cat. nr. 1.09272	Soluție 3b Papanicolaou Soluție policromă EA 50 pentru citologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.06329	Carbonat acid de sodiu pentru analiză EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.
Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.
Toate probele vor fi etichetate clar.
Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor.
Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.
La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Fixarea probelor de frotii

Fixare umedă imediată cu M-FIX® pulverizator cu fixativ timp de 10 min sau fixare umedă imediată în etanol 96% timp de 30 min.
Atunci când frotiurile sunt fixate cu M-FIX®, fazele de clătire 1-4 în secvență ascendentă de etanol înainte de colorare pot fi omise.

Prepararea reactivului

Soluție 2a Papanicolaou Soluție portocalie G (OG6), Soluție 2b Papanicolaou Soluție portocalie II, Soluție 3a Papanicolaou Soluție policromă EA 31 și Soluție 3b Papanicolaou Soluție policromă EA 50 utilizate pentru colorare sunt gata de utilizare, diluarea soluțiilor nu este necesară și mai degrabă provoacă o deteriorare a rezultatelor colorării și a stabilității lor.
Se recomandă filtrarea soluțiilor înainte de utilizare.

Soluție de carbonat acid de sodiu 1,5%

Pentru prepararea a aprox. 1000 ml de soluție, adăugați și dizolvați:

Carbonat acid de sodiu	15 g
Apă distilată	1000 ml

Procedură

Colorarea regresivă în celula de colorare

Lamele trebuie introduse și scoase rapid din soluții, doar imersia simplă produce rezultate necorespunzătoare de colorare.
Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăsate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.
Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu frotiu fixat	
Etanol 96%*	10 sec.
Etanol 80%*	10 sec.
Etanol 70%*	10 sec.
Etanol 50%*	10 sec.
Apă distilată	10 sec.
Hematoxilină soluție conf. Gill sau Hematoxilină soluție conf. Harris	5 min 6 min
Apă distilată	10 sec.
Acid clorhidric 0,1%, apos	10 sec.
Apă distilată	10 sec.
Soluție de hidrogen carbonat de sodiu 1,5%	1 min
Jet de apă de la robinet	3 min
Etanol 70%	30 sec.
Etanol 80%	30 sec.

Etanol 96%	30 sec.
Soluție 2a Papanicolaou Soluție portocalie G sau Soluție 2b Papanicolaou Soluție portocalie II	3 min
Etanol 96%	30 sec.
Etanol 96%	30 sec.
Soluție 3a Papanicolaou Soluție policromă EA 31 sau Soluție 3b Papanicolaou Soluție policromă EA 50	3 min
Etanol 96%	30 sec.
Etanol 96%	30 sec.
Etanol 100%	5 min
Amestecul conține: Etanol 100% + Neo-Clear™ sau xilen (1 + 1)	2 min
Clarificați cu Neo-Clear™ sau xilen.	5 min
Clarificați cu Neo-Clear™ sau xilen.	5 min
Montați lamele umezite cu Neo-Clear™ cu lamele umezite cu Neo-Mount™ sau xilen, de ex. Entellan™ nou și capac de sticlă.	

* Aceste faze pot fi omise atunci când frotiurile sunt fixate cu M-FIX®.
După deshidratare (serie ascendentă de alcooluri) și curățare cu xilen sau Neo-Clear™, probele citologice pot fi montate cu agenți de montare fără apă (ex. Entellan™ nou, DPX nou, sau Neo-Mount™) și un capac de sticlă, apoi pot fi depozitate.
Utilizarea uleiului de imersie este recomandată pentru analiza lamelor colorate cu mărire microscopică >40x.

Rezultat

Colorare cu	3a / EA 31	3b / EA 50
Citoplasma cianofilă (bazofilă) eozinofilă (acidofilă) keratinizată	albastru-verde până la verde roz roz-portocaliu	albastru-verde roz roz-portocaliu
Eritrocite	roșu	
Nuclee celulare	albastru până la violet închis	
Microorganisme	gri-albastru	

Colorării H&E

Principiu de funcționare

Metoda de colorare cu hematoxilină și eozină (H&E) este metoda cel mai frecvent utilizată pentru colorarea materialului histologic. Mecanismul de colorare este un proces fizico-chimic.
În prima fază, colorantul nuclear încărcat pozitiv (hematoxilină) se leagă de grupurile fosfat încărcate negativ din acidul nucleic din nucleul celulei.
Faza a doua este contracolorarea cu un colorant xantenic anionic încărcat negativ (eozină Y, eozină B sau eritrozină B). Acesta se leagă de proteinele încărcate pozitiv din plasmă.
Pot fi observate două metode. În metoda de colorare progresivă cu hema-toxilină, colorarea este realizată până la final, după care lama este colorată în albastru în apa de la robinet. În cazul metodei regresive, materialul este supra-colorat, iar excesul de soluție de colorare este eliminat prin fazele de clătire cu acid, urmate de faza de albăstrire.
Structura nucleelor este mai diferențiată și mai bine vizualizată prin metoda regresivă.

Eșantion de probă

Secțiunile de țesut fixate în formalină, încastrate în parafină (secțiuni de parafină de 3 - 4 μm grosime) sau secțiunile crio sunt folosite ca materie primă.

Reactivi

De asemenea, este necesar pentru colorarea H&E:

Cat. nr. 1.09844	Eozină Y - soluție apoasă 0,5% pentru microscopie	1 l, 2,5 l
sau		
Cat. nr. 1.02439	Eozină Y - soluție alcoolică 0,5% pentru microscopie	500 ml, 2,5 l
sau		
Cat. nr. 1.17081	Eozină Y - soluție alcoolică 1% pentru microscopie	1 l

Prepararea probelor

Prelevarea probelor trebuie efectuată de personal calificat.
Toate probele vor fi tratate cu ajutorul tehnologiei de ultimă oră.
Toate probele vor fi etichetate clar.
Vor fi utilizate instrumente adecvate pentru prelevarea și pregătirea probelor.
Vor fi respectate instrucțiunile producătorului privind aplicarea/utilizarea.

La utilizarea reactivilor auxiliari corespunzători, trebuie respectate instrucțiunile de utilizare corespunzătoare.

Deparafinizați și rehidratați secțiunile folosind o metodă convențională.

Prepararea reactivului

Eozină Y - soluție apoasă 0,5% (Cat. nr. 1.09844)
Eozină Y - soluție alcoolică 0,5% (Cat. nr. 1.02439)
Eozină Y - soluție alcoolică 1% (Cat. nr. 1.17081)

Pentru intensificarea colorării cu eozină, de ex. 1,0 ml de acid acetic rece trebuie adăugat la 500 ml soluție de lucru.

Soluția de lucru acidificată este suficientă pentru aprox. 750 de specimene; totuși, ar trebui reînnoită după cel târziu 14 zile.

Atunci când se utilizează soluții alcoolice de eozină Y, în procedurile de colorare individuală trebuie utilizată o serie alcoolică mai scurtă (începând cu etanol 96% și un timp de reacție de doar 10 secunde).

Soluție eozină B și soluție eritrozină 0,5% apoasă

Metoda de preparare este prezentată în instrucțiunile de utilizare ale colorantului respectiv.

Procedură

Colorarea regresivă a secțiunilor de parafină

Colorarea în celula de colorare

Deparafinizați lamele histologice prin metoda convențională și rehidratați într-o serie descendentă de alcooluri.

Ca măsură de prevenire a contaminării încrucișate nedorite a soluțiilor, lamele ar trebui lăsate să se scurgă bine după etapele de colorare individuală.

Trebuie respectate perioadele de timp specificate, pentru a garanta un rezultat optim al colorării.

Lamă cu secțiune de parafină	
Apă distilată	1 min
Hematoxinilă soluție conf. Gill sau Hematoxinilă soluție conf. Harris	3 min
Acid clorhidric 0,1%, apos	2 sec.
Jet de apă de la robinet	3 - 5 min
Eozină Y - soluție apoasă 0,5% sau Eozină Y - soluție alcoolică 0,5%* sau Eozină Y - soluție alcoolică 1%*	3 min
Jet de apă de la robinet	30 sec.
Etanol 70%	1 min
Etanol 70%	1 min
Etanol 96%	1 min
Etanol 96%	1 min
Etanol 100%	1 min
Etanol 100%	1 min
Xilen sau Neo-Clear™	5 min
Xilen sau Neo-Clear™	5 min
Montați lamele umezite cu Neo-Clear™ cu Neo-Mount™ sau lamele umezite cu xilen cu de ex. Entellan™ nou și capac de sticlă.	

* Atunci când se utilizează soluții alcoolice de eozină Y, în procedurile de colorare individuală trebuie utilizată o serie alcoolică mai scurtă (începând cu etanol 96% și un timp de reacție de doar 10 secunde).

După deshidratare (serie ascendentă de alcooluri) și curățare cu xilen sau Neo-Clear™, probele histologice pot fi montate cu agenți de montare fără apă (ex. DPX nou, Entellan™ nou, Neo-Mount™) și un capac de sticlă, apoi pot fi depozitate.

Utilizarea uleiului de imersie este recomandată pentru analiza lamelor colorate cu mărire microscopică >40x.

Rezultat

Nuclee celulare	albastru închis până la violet închis
Citoplasma, substanțele intercelulare	roz până la roșu
Eritrocite	galben până la portocaliu

Depanarea

Colorarea slabă a citoplasmei și structurilor tisulare conjunctive

Pentru intensificarea colorării cu eozină, trebuie folosită o soluție de lucru acidificată (de ex. cu acid acetic).

Utilizarea unei soluții neacidificate va avea ca rezultat colorarea slabă a citoplasmei și a structurilor tisulare conjunctive, așadar se recomandă respectarea protocolului de preparare a reactivului specificat, pentru a obține un rezultat optim al colorării.

Soluția de lucru acidificată este suficientă pentru aprox. 750 de specimene; totuși, ar trebui reînnoită după cel târziu 14 zile.

Observații tehnice

Microscopul utilizat trebuie să corespundă cerințelor laboratorului pentru diagnostic medical.

Soluțiile de colorare proaspăt preparate trebuie filtrate înainte de utilizare. Înlăturați excesul de ulei de imersie înainte de umplere.

Caracteristici de performanță analitică

„Hematoxinilă crist. (C.I. 75290)” colorează și, prin urmare, vizibilizează structurile biologice, așa cum este descris în capitole „Rezultat” al acestei IDU. Produsul trebuie utilizat numai de către persoane autorizate și calificate, utilizarea incluzând, printre altele, pregătirea probelor și a reactivilor, manipularea probelor, histoprocесarea, deciziile privind controalele adecvate și multe altele.

Performanța analitică a produsului este confirmată prin testarea fiecărui lot de producție.

Pentru următoarele colorări, performanța analitică a fost confirmată din punct de vedere al specificității, sensibilității și repetabilității produsului cu o rată de 100%:

	Specificitate inter-test	Sensitivitate inter-test	Specificitate intra-test	Sensitivitate intra-test
Colorație citologică				
Nuclee celulare	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma cianofilă (bazofilă)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma eozinofilă (acidofilă)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocite	20/20	20/20	7/7	7/7
Microorganisme	20/20	20/20	7/7	7/7
Colorare H&E				
Nuclee celulare	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Substanțele intercelulare	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocite	20/20	20/20	7/7	7/7

Rezultate de performanță analitică

Datele intra- (efectuate pe același lot) și inter-test (efectuate pe loturi diferite) indică numărul de structuri colorate corect în raport cu numărul de teste efectuate.

Rezultatele acestei evaluări de performanță confirmă faptul că produsul este potrivit pentru utilizarea prevăzută și funcționează fiabil.

Diagnostic

Diagnosticul trebuie stabilit doar de către personalul autorizat și calificat. Va fi utilizată nomenclatura în vigoare.

Această metodă poate fi folosită suplimentar în diagnosticul uman. Testele ulterioare vor fi selectate și implementate conform metodelor recunoscute.

Trebuie efectuat un control adecvat al fiecărei aplicații pentru a se evita rezultate incorecte.

Depozitarea

Depozitați Hematoxinilă crist. (C.I. 75290) - pentru microscopie la +2 °C până la +30 °C.

Durata de depozitare

Hematoxinilă crist. (C.I. 75290) - pentru microscopie poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat.

După prima deschidere a flaconului, conținutul poate fi utilizat până la termenul de valabilitate menționat, dacă este depozitat la +2 °C până la +30 °C.

Flacoanele trebuie păstrate în permanență bine închise.

Instrucțiuni suplimentare

Exclusiv pentru uz profesional.

Pentru a evita erorile, aplicarea trebuie efectuată exclusiv de personal calificat.

Vor fi respectate recomandările naționale privind siguranța muncii și asigurarea calității.

Trebuie utilizate microscopae echipate conform standardelor.

Protecția împotriva infecției

Vor fi luate măsuri active pentru protejarea împotriva infecției, conform recomandărilor laboratorului.

Instrucțiuni privind eliminarea

Ambalajul trebuie eliminat în conformitate cu reglementările locale.

Soluțiile utilizate și soluțiile expirate trebuie eliminate ca deșeuri speciale, în conformitate cu normele naționale. Informații privind eliminarea pot fi găsite sub opțiunea Legături Rapide „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Indicii privind eliminarea produselor de microscopie”) la www.microscopie.ro

Reactivi auxiliari

Cat. nr. 1.00063	Acid acetic (glacial) 100%, anhidru, pentru analiză EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.00316	Acid clorhidric 25% pentru analiză EMSURE®	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.00579	DPX nou mediu de montare neapos pentru microscopie	500 ml
Cat. nr. 1.00974	Etanol denaturat cu ~ 1% metil-etil-cetonă pentru analiză EMSURE®	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.01047	Sulfat de potasiu și aluminiu dodecahidrat pentru analiză EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Cat. nr. 1.02439	Eozină Y - soluție alcoolică 0,5% pentru microscopie	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.03981	M-FIX® pulverizator cu fixativ pentru citodiagnoza	100 ml, 1 l
Cat. nr. 1.04699	Ulei de imersie pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.05174	Hematoxilină - soluție modificată conform Gill III pentru microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.05175	Hematoxilină - soluție modificată conform Gill II pentru microscopie	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.06329	Carbonat acid de sodiu pentru analiză EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Cat. nr. 1.06525	Iodat de sodiu pentru analiză EMSURE®	100 g
Cat. nr. 1.06887	Soluție 2b Papanicolaou Soluție portocalie II pentru citologie	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.06888	Soluție 2a Papanicolaou Soluție portocalie G (OG6) pentru citologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.07961	Entellan™ nou mediu de montare rapid pentru microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. nr. 1.08298	Xilen (amestec de izomeri) pentru histologie	4 l
Cat. nr. 1.09016	Neo-Mount™ anhidru - mediu de montare pentru microscopie	Flacon de picurare de 100 ml, 500 ml
Cat. nr. 1.09271	Soluție 3a Papanicolaou Soluție policromă EA 31 pentru citologie	500 ml, 2,5 l
Cat. nr. 1.09272	Soluție 3b Papanicolaou Soluție policromă EA 50 pentru citologie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.09621	Etilen-glicol pentru analiză EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Cat. nr. 1.09843	Neo-Clear™ (substituit de xilen) pentru microscopie	5 l
Cat. nr. 1.09844	Eozină Y - soluție apoasă 0,5% pentru microscopie	1 l, 2,5 l
Cat. nr. 1.17081	Eozină Y - soluție alcoolică 1%* pentru microscopie	1 l
Cat. nr. 227617	Aluminium sulfat octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Categoria de risc

Cat. No. 1.04302
Observați categoria de risc imprimată pe etichetă și informațiile oferite în fișa de informații de securitate.
Fișa de informații de securitate este disponibilă pe website și la cerere.

Componentele principale ale produsului

Cat. No. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
pierdere prin uscare max. 10%

Observație generală

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Literatură

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Provoacă o iritare gravă a ochilor.

P264: Spălați-vă pielea bine după utilizare.

P280: A se purta echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P337 + P313: Dacă iritarea ochilor persistă: consultați medicul.

Istoric revizuire

Versiune	Comentariu privind modificarea
2024-Jul-18	Versiunea inițială cu introducerea istoricului revizuirilor



A se consulta instrucțiunile de utilizare



Producător



Număr articol



Număr lot



Atenție, a se consulta documentele însoțitoare



A se folosi până în data de AAAA-LL-ZZ



Temperatura limită

Status: 2024-Jul-18

The Life Science Business aparținând Merck operează ca MilliporeSigma în SUA și Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany și / sau afiliații săi. Toate drepturile rezervate. Merck și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărci comerciale sunt disponibile prin surse disponibile public.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Mikroskopi

Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290)

til mikroskopi

Kun til professionel brug

IVD

Medicinske anordning til *in vitro*-diagnose

Beregnet formål

Dette "Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290) - til mikroskopi" anvendes til humanmedicinsk cellediagnose og er beregnet til histologisk og cytologisk undersøgelse af prøvemateriale fra mennesker. Det er et tørt farvestof, der anvendes til forberedelse af en farveopløsning, som når den bruges til *in vitro*-diagnose sammen med andre produkter fra vores sortiment laver målstrukturer i histologiske og cytologiske prøvematerialer (ved fiksering, indstøbning, farvning med ovenstående hæmatoxylinopløsning, kontrastfarvning, monterning), der kan evalueres til diagnoseformål.

Ufarvede strukturer har en relativ lav kontrast og er ekstremt vanskelige at skelne under lysmikroskopet. De dannede billeder med farveopløsninger hjælper autoriseret og kvalificerede undersøgere med bedre at definere formen og strukturen i sådanne tilfælde. Der skal udføres yderligere tests iht. anerkendte og gyldige metoder for at fastlægge en definitiv diagnose.

Denne farveopløsning, som kræver en yderligere præparation før den kan anvendes, er udelukkende beregnet til en oversigtsfarvning i forbindelse med differentiering af målstrukturer i celler og vævskomponenter, der er angivet nedenfor i afsnittet "Resultat". For mere specifikke anvendelser anbefaler vi at anvende kat.nr. 1.05175 Hæmatoxylin-opløsning modificeret ifølge Gill II, kat.nr. 1.05174 Hæmatoxylin-opløsning modificeret ifølge Gill III, kat.nr. 1.09249 Mayers hæmalunopløsning eller kat.nr. 1.09254 Papanicolaous opløsning 1b hæmatoxylinopløsning S til cytologi.

Reagenser

Varenr. 1.04302 Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290) 25 g, 100 g, 1 kg
til mikroskopi

Farveindeksnr.: 75290

Også påkrævet:

Varenr. 1.09621 Ethylenglycol 1 l, 2,5 l,
p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur, 4 l, 10 l
Reag. USP

Varenr. 227617 Aluminium sulfate octadecahydrate 100 g, 500 g,
≥97% (Sigma-Aldrich) 2,5 kg

eller

Varenr. 1.00974 Ethanol denatureret med ca. 1 % 1 l, 2,5 l
methylethylketon,
p.a. EMSURE®

Varenr. 1.01047 Aluminiumkaliumsulfat dodecahydrat 1 kg
p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

Varenr. 1.06525 Natriumiodat 100 g
p.a. EMSURE®

Varenr. 1.00063 Eddikesyre (iseddike) 100 % vandfri 1 l, 2,5 l
p.a. analyse EMSURE® ACS, ISO,
Reag. Ph Eur

Varenr. 1.00316 Saltsyre 25 % 1 l, 2,5 l
p.a. EMSURE®

Forberedelse af reagenserne

Hæmatoxylinopløsning iht. Gill

Til fremstilling af ca. 1000 ml opløsningsblanding:

Ethylenglycol/destilleret vand-opløsning

Ethylenglycol	250 g
Destilleret vand	730 ml
blandes og opløses	

Farveopløsning

Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290)	2 g
Natriumiodat	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
opløses i ovenstående ethylenglycol/destilleret vand-opløsning	
Eddikesyre 100 %	20 ml
tilsættes Røres i 1 time ved stuetemperatur. Filtreres før brug.	

Hæmatoxylinopløsning iht. Harris

Til fremstilling af ca. 1000 ml opløsningsblanding:

Hæmatoxylinopløsning

Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290)	5 g
Ethanol	50 ml
opløses under opvarmning i et vandbad	

Alunopløsning

Aluminiumkaliumsulfatdodecahydrat	100 g
Destilleret vand	950 ml
opløses under omrøring og opvarmning	
Tilsæt hæmatoxylinopløsningen til den varme alunopløsning under omrøring, og varm op til kogepunktet. Tag opløsningen af varmen.	
Natriumiodat	370 mg
tilsættes under omrøring og afkøles hurtigt i et vandbad	
Eddikesyre 100 %	4 ml
tilsættes Filtreres i flasker og lukkes omhyggeligt. Filtreres før brug.	

Saltsyre 0,1 %, vandig

Til fremstilling af ca. 100 ml opløsningsblanding:

Destilleret vand	100 ml
Saltsyre 25 %	0,4 ml

Papanicolaous farvning

Princip

Den mest anvendte farveprocedure til cytologiske prøver er Papanicolaous teknik, og den er beregnet til farvning af exfoliative celler i cytologiske prøver.

I det første trin farves cellekernerne enten progressivt eller regressivt med en hæmatoxylin-opløsning.

Med den progressive hæmatoxylinfarvningsmetode udføres farvningen til slutpunktet, hvorefter objektglasset farves blå i postevand.

Med den regressive metode overfarves materialet, og den overskydende farveopløsning fjernes i syreskylningstrin, efterfulgt af blåneringstrinnet. Cellekernernes strukturer er mere differentierede og mere synlige ved brug af den regressive metode.

Det andet farvetrin er cytoplasmisk farvning med orange farveopløsning, især til demonstration af modne og keratiniserede celler.

I det tredje farvetrin anvendes den såkaldte polykrome opløsning, der er en blanding af eosin, lysegrøn SF og Bismark-brun. Den polykrome opløsning bruges til demonstration af differentiering af pladeepitelceller.

Prøvemateriale

Gynækologiske og ikke-gynækologiske prøver såsom sputum, urin, udstrygninger fra fin nåls-aspirations-biopsi (FNAB), effusioner, skylninger

Reagenser

Også påkrævet til Papanicolaous farvning:

Varenr. 1.06887	Papanicolaous opløsning 2b orange II-opløsning til cytologi	500 ml, 2,5 l
eller		
Varenr. 1.06888	Papanicolaous opløsning 2a orange G-opløsning (OG6) til cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Varenr. 1.09271	Papanicolaous opløsning 3a polychromopløsning EA 31 til cytologi	500 ml, 2,5 l
eller		
Varenr. 1.09272	Papanicolaous opløsning 3b polychromopløsning EA 50 til cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Varenr. 1.06329	Natriumhydrogencarbonat p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Forberedelse af prøverne

Prøveudtagningen skal udføres af faguddannet personale.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

Der skal anvendes egnede instrumenter til prøveudtagning og forberedelse af prøverne. Følg producentens anvisninger med henblik på anvendelse/brug.

Når der anvendes tilhørende hjælpereagenser, skal man følge de tilhørende brugsanvisninger.

Fiksering af smear-prøver

Våd fiksering med det samme med sprayfikseringsmidlet M-FIX® i mindst 10 min. eller våd fiksering med det samme i ethanol 96 % i mindst 30 min.

Hvis udstrygningerne fikseres med M-FIX®, kan skylletrinnene 1 - 4 i den stigende ethanolrække forud for farvning udelades.

Forberedelse af reagenserne

Papanicolaous opløsning 2a orange G-opløsning (OG6), Papanicolaous opløsning 2b orange II-opløsning, Papanicolaous opløsning 3a polykrom opløsning EA 31 og Papanicolaous opløsning 3b polykrom opløsning EA 50 til farvning er klar-til-brug. Fortynding af opløsningerne er ikke nødvendigt og resulterer i forringelse af farveresultatet og opløsningernes stabilitet.

Det anbefales at filtrere opløsningerne forud for brug.

Natriumhydrogencarbonatopløsning 1,5 %

Til fremstilling af ca. 1000 ml opløsning tilsættes og opløses:

Natriumhydrogencarbonat	15 g
Destilleret vand	1000 ml

Procedure

Regressiv farvning i farvningkuvetten

Objektglassene skal nedsænkes og bevæges en smule i opløsningerne.

Nedsækning alene resulterer i inadækvate farveresultater.

Snittene skal dryppe godt af efter hvert farvetrin for at undgå unødvendig krydskontaminering af opløsningerne.

De anførte tider skal overholdes for at sikre et optimalt resultat af farvningen.

Objektglas med fikseret udstrygning	
Ethanol 96 %*	10 sek.
Ethanol 80 %*	10 sek.
Ethanol 70 %*	10 sek.
Ethanol 50 %*	10 sek.
Destilleret vand	10 sek.
Hæmatoxylinopløsning iht. Gill eller Hæmatoxylinopløsning iht. Harris	5 min. 6 min.
Destilleret vand	10 sek.
Saltsyre 0,1 %, vandig	10 sek.
Destilleret vand	10 sek.
Natriumhydrogencarbonatopløsning 1,5 %	1 min.
Rindende postevand	3 min.
Ethanol 70 %	30 sek.
Ethanol 80 %	30 sek.
Ethanol 96 %	30 sek.
Papanicolaous opløsning 2a orange G-opløsning eller Papanicolaous opløsning 2b orange II-opløsning	3 min.

Ethanol 96 %	30 sek.
Ethanol 96 %	30 sek.
Papanicolaous opløsning 3a polychromopløsning EA 31 eller Papanicolaous opløsning 3b polychromopløsning EA 50	3 min.
Ethanol 96 %	30 sek.
Ethanol 96 %	30 sek.
Ethanol 100 %	5 min.
Blanding bestående af: Ethanol 100 % + Neo-Clear™ eller xylen (1 + 1)	2 min.
Klarer med Neo-Clear™ eller xylen.	5 min.
Klarer med Neo-Clear™ eller xylen.	5 min.
Monter Neo-Mount™ på de Neo-Clear™-vædede objektglas eller monter f.eks. Entellan™ ny på de xylenvædede objektglas, og sæt dækglas på.	

* Disse trin kan udelades, hvis udstrygningerne er blevet fikseret med M-FIX®.

Efter dehydrering (stigende alkoholrække) og klaring med xylen eller Neo-Clear™ kan de cytologiske prøver monteres med vandfri monteringsmidler (f.eks. Entellan™ ny, DPX ny, eller Neo-Mount™) og et dækglas og kan derefter opbevares.

Brugen af immersionsolie anbefales til analyse af farvede objektglas med en mikroskopforstørrelse på >40x.

Resultat

Farvning med	3a/EA 31	3b/EA 50
Cytoplasma cyanofil (basofil) eosinofil (acidofil) keratiniseret	blå-grøn til grøn lyserød lyserød-orange	blå-grøn lyserød lyserød-orange
Erythrocytter	rød	
Cellekerner	blå til mørk violet	
Mikroorganismer	grå-blå	

HE-farvning

Princip

Hæmatoxylin-eosin-farvning (HE-farvning) er den mest hyppigt anvendte metode til farvning af histologisk materiale. Farvemekanismen er en fysisk-kemisk proces.

I det første trin binder det positivt ladede farvestof (hæmatoxylin) sig til de negativt ladede fosfatgrupper i cellekernens nukleinsyre.

Det andet trin er kontrastfarvning med et negativt ladet basisk xanthenfarvestof (eosin Y, eosin B eller erythrosin B). Det binder sig til de positivt ladede plasma-proteiner.

Der kan skelnes mellem to metoder. Med den progressive hæmatoxylin-farvningsmetode udføres farvningen til slutpunktet, hvorefter objektglasset farves blå i postevand. Med den regressive metode overfarves materialet, og den overskydende farveopløsning fjernes i syreskylningstrin, efterfulgt af blåneringstrinnet.

Cellekernernes strukturer er mere differentierede og mere synlige ved brug af den regressive metode.

Prøvemateriale

Snit af formalinfikseret og paraffinindstøbt væv (paraffinsnit med en tykkelse på 3-4 µm) eller kryosnit anvendes som udgangsmateriale.

Reagenser

Også påkrævet til H&E-farvning:

Varenr. 1.09844	Eosin Y-opløsning, 0,5 % vandig til mikroskopi	1 l, 2,5 l
eller		
Varenr. 1.02439	Eosin Y-opløsning 0,5 %, alkoholholdig til mikroskopi	500 ml, 2,5 l
eller		
Varenr. 1.17081	Eosin Y-opløsning 1 %, alkoholholdig til mikroskopi	1 l

Forberedelse af prøverne

Prøveudtagningen skal udføres af faguddannet personale.

Alle prøver skal behandles ved hjælp af den nyeste teknologi.

Alle prøver skal forsynes med tydelige etiketter.

Der skal anvendes egnede instrumenter til prøveudtagning og forberedelse af prøverne. Følg producentens anvisninger med henblik på anvendelse/brug.

Når der anvendes tilhørende hjælpereagenser, skal man følge de tilhørende brugsanvisninger.

Afparaffiner og rehydrer snittene på traditionel vis.

Forberedelse af reagenserne

Eosin Y- opløsning, 0,5% vandig (Varenr. 1.09844)
Eosin Y-opløsning 0,5 %, alkoholholdig (Varenr. 1.02439)
Eosin Y-opløsning 1 %, alkoholholdig (Varenr. 1.17081)

Med henblik på forstærkning af eosinfarvningen 1,0 ml iseddikesyre skal tilsættes til 500 ml arbejdsopløsning.
Den forsurede prøveopløsning er tilstrækkelig til ca. 750 prøver. Den skal dog fornyes efter maksimalt 14 dage.
Ved brug af alkoholholdige eosin Y-opløsninger skal der anvendes en kortere alkoholserie (start med ethanol 96 % og en reaktionstid på bare 10 sekunder) til de enkelte farveprocedurer.

Eosin B-opløsning og erythrosinopløsning 0,5 %, vandig

Forberedelsesmetoden er beskrevet i brugervejledningen til det pågældende farvestof.

Procedure
Regressiv farvning af paraffinsnit

Farvning i farvningkuvetten
Deparaffiner de histologiske snit på traditionel vis, og rehydrer dem i en faldende alkoholrække.
Snittene skal dryppe godt af efter hvert farvetrin for at undgå unødvendig krydskontaminering af opløsningerne.
De anførte tider skal overholdes for at sikre et optimalt resultat af farvningen.

Objektglas med paraffinsnit	
Destilleret vand	1 min.
Hæmatoxylinopløsning iht. Gill eller Hæmatoxylinopløsning iht. Harris	3 min.
Saltsyre 0,1 %, vandig	2 sek.
Rindende postevand	3 - 5 min.
Eosin Y-opløsning, 0,5% vandig eller Eosin Y-opløsning 0,5 %, alkoholholdig* eller Eosin Y-opløsning 1 %, alkoholholdig*	3 min.
Rindende postevand	30 sek.
Ethanol 70 %	1 min.
Ethanol 70 %	1 min.
Ethanol 96 %	1 min.
Ethanol 96 %	1 min.
Ethanol 100 %	1 min.
Ethanol 100 %	1 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Xylen eller Neo-Clear™	5 min.
Monter Neo-Mount™ på de Neo-Clear™-vædede objektglas eller monter f.eks. Entellan™ ny på de xylenvædede objektglas, og sæt dækglas på.	

* Ved brug af alkoholholdige eosin Y-opløsninger skal der anvendes en kortere alkoholserie (start med ethanol 96 % og en reaktionstid på bare 10 sekunder) til de enkelte farveprocedurer.

Efter dehydrering (stigende alkoholrække) og klaring med xylen eller Neo-Clear™ kan de histologiske prøver monteres med vandfri monteringsmidler (f.eks. DPX ny, Entellan™ ny, Neo-Mount™) og et dækglas og kan derefter opbevares.
Brugen af immersionsolie anbefales til analyse af farvede objektglas med en mikroskopforstørrelse på >40x.

Resultat

Cellekerner	mørkeblå til mørk violet
Cytoplasma, intracellulære stoffer	lyserød til rød
Erytrocytter	gul til orange

Fejlfinding
Svag farvning af cytoplasma og bindevævsstrukturer

Med henblik på forstærkning af eosinfarvningen skal der anvendes en forsuret prøveopløsning (ved brug af f.eks. iseddikesyre).
Brug af en ikke-forsuret opløsning vil resultere i svag farvning af cytoplasma og bindevævsstrukturer. Derfor anbefales det, at følge den anførte reagensfremstillingsprotokol for at opnå et optimalt resultat af farvningen.
Den forsurede prøveopløsning er tilstrækkelig til ca. 750 prøver. Den skal dog fornyes efter maksimalt 14 dage.

Tekniske bemærkninger

Det anvendte mikroskop skal leve op til kravene på et laboratorium til medicinsk diagnose.
De netop fremstillede farveopløsninger skal filtreres før brug.
Fjern overskydende immersionsolie forud for arkivering.

Analytiske ydeevnekarakteristika

”Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290)” farver og visualiserer derved biologiske strukturer, som beskrevet i kapitlerne ”Resultat” i denne brugsanvisning. Dette produkt må kun anvendes af autoriserede og kvalificerede personer, hvilket bl.a. inkluderer forberedelse af prøve og reagens, prøvehåndtering, bearbejdning af vævsprøver, afgørelser angående egnede kontroller med mere.
Produktets analytiske ydeevne bekræftes ved test af hvert produktionsparti.
For de følgende farver blev den analytiske ydeevne bekræftet med henblik på specificitet, sensitivitet og repeterbarhed for produktet med en rate på 100 %:

	Inter-undersøgelse specificitet	Inter-undersøgelse sensitivitet	Intra-undersøgelse specificitet	Intra-undersøgelse sensitivitet
Cytologisk farvning				
Cellekerner	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma cyanofil (basofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma eosinofil (acidofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocytter	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
HE-farvning				
Cellekerner	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Intracellulære stoffer	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocytter	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiske ydeevneresultater

Data fra intra- (udført på samme parti) og inter-undersøgelse (udført på forskellige partier) oplister antallet af korrekt farvede strukturer i forhold til antallet af udførte undersøgelser.

Resultaterne af denne ydeevnevurdering bekræfter, at produktet er egnet til den beregnede brug og har en pålidelig ydeevne.

Diagnostik

Diagnoser må udelukkende stilles af autoriseret og kvalificeret personale. Der skal anvendes gyldige nomenklaturer.
Denne metode kan anvendes som supplement inden for human diagnostik. Yderligere test skal udvælges og udføres i henhold til anerkendte metoder. Der skal udføres egnede kontroller ved hver anvendelse for at undgå forkerte resultater.

Opbevaring

Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290) - til mikroskopi skal opbevares ved +2 °C til +30 °C.

Holdbarhed

Hæmatoxylin, kryst. (Farveindeks 75290) - til mikroskopi kan bruges indtil den anførte udløbsdato.
Efter åbning af flasken kan indholdet bruges indtil den anførte udløbsdato, hvis flasken opbevares ved +2 °C til +30 °C.
Flaskerne skal altid være forsvaret lukkede.

Yderligere anvisninger
Kun til professionel brug.

For at undgå fejl må produktet kun anvendes af faguddannet personale. Nationale bestemmelser vedrørende arbejdssikkerhed og kvalitetssikring skal overholdes.
Der skal anvendes mikroskoper, der udstyret i henhold til de gældende standarder.

Beskyttelse mod infektioner

Der skal træffes effektive foranstaltninger til beskyttelse mod infektioner i henhold til laboratoriets retningslinjer.

Bortskaffelse

Emballagen skal bortskaffes i overensstemmelse med de gældende bestemmelser for bortskaffelse.
Brugte opløsninger og opløsninger, hvor holdbarheden er udløbet, skal bortskaffes som særligt affald i overensstemmelse med de lokale bestemmelser. Oplysninger om bortskaffelse kan findes under linket ”Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tip til bortskaffelse af produkter til mikroskopi) under www.microscopy-products.com. I EU skal den gældende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassificering, mærkning og emballering af stoffer og blandinger og om ændring og ophævelse af direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og om ændring af forordning (EF) nr. 1907/2006 overholdes.

Øvrige reagenser

Varenr. 1.00063	Eddikesyre (iseddike) 100 % vandfri p.a. EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.00316	Saltsyre 25 % p.a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.00579	DPX ny vandfrit indstøbningsmiddel til mikroskopi	500 ml
Varenr. 1.00974	Ethanol denatureret med ca. 1 % methylethylketon, p.a. EMSURE®	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.01047	Aluminiumkaliumsulfat dodecahydrat p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Varenr. 1.02439	Eosin Y-opløsning 0,5 %, alkohol- holdig til mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.03981	M-FIX® sprayfiksativ til cytodiagnostik	100 ml, 1 l
Varenr. 1.04699	Immersionsolie til mikroskopi	100-ml pipette- flaske, 100 ml, 500 ml
Varenr. 1.05174	Hæmatoxylin-opløsning modificeret ifølge Gill-III til mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Varenr. 1.05175	Hæmatoxylin-opløsning modificeret ifølge Gill-II til mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.06329	Natriumhydrogencarbonat p.a. EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Varenr. 1.06525	Natriumjodat p.a. EMSURE®	100 g
Varenr. 1.06887	Papanicolaous opløsning 2b orange II-opløsning til cytologi	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.06888	Papanicolaous opløsning 2a orange G-opløsning (OG6) til cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Varenr. 1.07961	Entellan™ ny hurtigindstøbningsmiddel til mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Varenr. 1.08298	Xylen (isomerisk blanding) til histologi	4 l
Varenr. 1.09016	Neo-Mount™ vandfri indstøbningsmiddel til mikroskopi	100-ml pipette- flaske, 500 ml
Varenr. 1.09271	Papanicolaous opløsning 3a polychromopløsning EA 31 til cytologi	500 ml, 2,5 l
Varenr. 1.09272	Papanicolaous opløsning 3b polychromopløsning EA 50 til cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Varenr. 1.09621	Ethylenglycol p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Varenr. 1.09843	Neo-Clear™ (xylenerstatning) til mikroskopi	5 l
Varenr. 1.09844	Eosin Y-opløsning, 0,5 % vandig til mikroskopi	1 l, 2,5 l
Varenr. 1.17081	Eosin Y-opløsning 1 %, alkoholholdig til mikroskopi	1 l
Varenr. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Fareklassificering

Varenr. 1.04302
Vær opmærksom på den fareklassificering, der er trykt på etiketten, og oplysningerne i sikkerhedsdatabladet.
Sikkerhedsdatabladet fås på hjemmesiden og ved forespørgsel.

Produktets hovedkomponenter

Varenr. 1.04302
Farveindeks 75290
C₁₆H₁₄O₆
M=302,29 g/mol
tab ved tørring maks. 10 %

Life science-afdelingen hos Merck drives under navnet MilliporeSigma i US og Canada.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany og/eller dennes tilknyttede selskaber. Alle rettigheder forbeholdes. Merck og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan findes via de offentligt tilgængelige ressourcer.

Generel bemærkning

Hvis der under brugen af dette apparat eller som følge af dets brug opstår en alvorlig hændelse, skal dette meddeles producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og den nationale myndighed.

Litteratur

- Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
- Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
- Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Forårsager alvorlig øjenirritation.

P264: Vask huden grundigt efter brug.

P280: Bær øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

P337 + P313: Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp.

Revisionshistorik

Version	Kommentar til modifikation
2024-Jul-18	Første version med introduktion af revisionshistorik



Se brugervejledningen



Producent



Varenummer



Partikode



Forsigtig: Se den medfølgende dokumentation



Skal bruges inden ÅÅÅÅ-MM-DD



Tilladt temperatur

Status: 2024-Jul-18



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Mikroskopija

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)

za mikroskopiju

Samo za profesionalnu uporabu

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

„Hematoksilin krist. (C.I. 75290) – za mikroskopiju“ upotrebljava se za dijagnozu ljudskih medicinskih stanica, a služi za histološko i citološko ispitivanje uzorka ljudskog podrijetla. To je suha boja za bojenje koja se upotrebljava za pripremu otopina za bojenje zahvaljujući kojoj je, kada se upotrebljava s drugim *in vitro* dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće procijeniti ciljne strukture (fiksiranjem, uklapanjem, bojenjem ranije navedenom otopinom hematoksilina, protubojenjem, poklapanjem) u histološkim i citološkim uzorcima u dijagnostičke svrhe.

Neobojene strukture imaju relativno niski kontrast i iznimno ih je teško razlikovati pod svjetlosnim mikroskopom. Slike dobivene uz primjenu otopina za bojenje ovlaštenom i kvalificiranom ispitivaču pomažu da u takvim slučajevima bolje definira oblik i strukturu. Daljnja ispitivanja moraju se provesti prema priznatim, valjanim metodama da bi se postavila konačna dijagnoza.

Ova otopina za bojenje, koja zahtijeva daljnju pripremu prije nego što se može upotrijebiti, služi isključivo za pregledno bojenje u diferencijaciji ciljnih struktura staničnih i tkivnih komponenata navedenih u nastavku u odjeljku „Rezultat“. Za specifičnije primjene preporučujemo uporabu Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu II, kat. br. 1.05175, Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu III, kat. br. 1.05174, Mayerova hemalum otopina, kat. br. 1.09249 ili Papanicolaou otopina 1b hematoksilin otopina S za citologiju, kat. br. 1.09254.

Reagensi

Kat. br. 1.04302 Hematoksilin krist. (C.I. 75290) 25 g, 100 g, 1 kg
za mikroskopiju

Broj indeksa boje (C.I.): 75290

Također potrebno:

Kat. br. 1.09621 Etilen-glikol 1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
za analizu EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP

Kat. br. 227617 Aluminium sulfate octadecahydrate 100 g, 500 g, 2,5 kg
≥97% (Sigma-Aldrich)

ili

Kat. br. 1.00974 Etanol denaturiran s oko 1 % metil-etil-ketona 1 l, 2,5 l
za analizu EMSURE®

Kat. br. 1.01047 Aluminij kalij sulfat dodekahidrat 1 kg
za analizu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

Kat. br. 1.06525 Natrij-jodat 100 g
za analizu EMSURE®

Kat. br. 1.00063 Octena kiselina (ledena) 100 % 1 l, 2,5 l
bezvodna
za analizu EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur

Kat. br. 1.00316 Kloridna kiselina 25 % 1 l, 2,5 l
za analizu EMSURE®

Priprema reagensa

Za pripremu pribl. 1000 ml otopine:

Otopina etilen-glikola / destilirane vode

Etilen-glikol	250 g
Destilirana voda	730 ml
pomiješati i otopiti	

Otopina za bojenje

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)	2 g
Natrij-jodat	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
otopiti u ranije navedenoj otopini etilen-glikola / destilirane vode	
Octena kiselina 100 %	20 ml
dodatno Miješati 1 sat na sobnoj temperaturi. Filtrirati prije uporabe.	

Otopina hematoksilina prema Harrisu

Za pripremu pribl. 1000 ml otopine:

Otopina hematoksilina

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)	5 g
Etanol	50 ml
otopiti tijekom zagrijavanja u vodenoj kupki	

Stipe otopina

Aluminij kalij sulfat dodekahidrat	100 g
Destilirana voda	950 ml
otopiti miješanjem i zagrijavanjem	
Dodati otopinu hematoksilina u vruću alaun otopinu uz miješanje i zagrijati do ključanja. Ukloniti otopinu s izvora topline.	
Natrij-jodat	370 mg
dodati uz miješanje i brzo ohladiti u vodenoj kupki	
Octena kiselina 100 %	4 ml
dodatno Filtrirati u boce i pažljivo zatvoriti. Filtrirati prije uporabe.	

0,1 %-tna klorovodična kiselina, s vodom

Za pripremu pribl. 100 ml otopine:

Destilirana voda	100 ml
Klorovodična kiselina 25 %-tna	0,4 ml

Papanicolaouovo bojenje

Princip

Najčešće korišteni postupak bojenja citoloških uzoraka je Papanicolaouova tehnika i namijenjena je bojenju eksfolijativnih stanica u citološkim uzorcima.

U prvom koraku stanične jezgre boje se progresivno ili regresivno otopinom hematoksilina.

Kod metode progresivnog bojenja hematoksilinom, bojenje se provodi do krajnje točke, nakon čega se stakalce ispiru vodom kako bi se obojilo plavo.

U slučaju regresivne metode materijal se pretjerano boji i višak otopine za bojenje uklanja se ispiranjem kiselinom, nakon čega slijedi korak ubacivanja plave boje u vodu iz slavine.

Strukture jezgri diferencirani su i bolje vidljive zahvaljujući regresivnoj metodi.

Drugi korak bojenja je citoplazmično bojenje s pomoću narančaste otopine za bojenje, osobito radi demonstracije zrelih i keratiniziranih stanica.

U trećem koraku bojenja upotrebljava se tzv. polikromna otopina, mješavina eozina, svijetlo zelene SF i Bismarck smeđe. Polikromna otopina upotrebljava se za demonstraciju diferencijacije skvamoznih stanica.

Uzorak

Ginekološki i ne-ginekološki uzorci kao što su sputum, urin, razmaz iz biopsije tankom iglom (FNAB), efuzije, ispiranja

Reagensi

Također potrebno za Papanicolaouovo bojenje:

Kat. br. 1.06887	Papanicolaou otopina 2b Orange II otopina (OG6) za citologiju	500 ml, 2,5 l
ili		
Kat. br. 1.06888	Papanicolaou otopina 2a Orange G otopina za citologiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.09271	Papanicolaou otopina 3a Polikromatska otopina EA 31 za citologiju	500 ml, 2,5 l
ili		
Kat. br. 1.09272	Papanicolaou otopina 3b Polikromatska otopina EA 50 za citologiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.06329	Natrij-hidrogen-karbonat za analizu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear™ poklopite otopinom Neo-Mount™ ili mokra stakalca s ksilenom npr. otopinom Novi Entellan™ i staklenim pokrovom.

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje. Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom. Svi uzorci moraju se jasno označiti. Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu. Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagense, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Fiksacija uzoraka razmaka

Odmah mokro fiksirajte s pomoću fiksativa u spreju M-FIX® min. 10 minuta ili u 96 %-tnom etanolu min. 30 minuta. Kada se razmazi fiksiraju s pomoću sredstva M-FIX®, možete izostaviti korake ispiranja 1-4 u uzlaznom nizu alkohola prije bojenja.

Priprema reagensa

Papanicolaouova otopina 2a Orange G otopina (OG6), Papanicolaouova otopina 2b Orange II otopina, Papanicolaouova otopina 3a Polikromatska otopina EA 31 i Papanicolaouova otopina 3b Polikromatska otopina EA 50 upotrebljavaju se za bojenje i spremni su za uporabu. Razrjeđivanje otopina nije potrebno i samo pogoršava rezultate bojenja i njihovu stabilnost. **Preporučuje se filtriranje otopina prije njihove uporabe.**

1,5 %-tna otopina natrijeva vodikova karbonata

Za pripremu pribl. 1000 ml otopine, dodajte i otopite:

Natrij-hidrogen-karbonat	15 g
Destilirana voda	1000 ml

Postupak

Regresivno bojenje u stanicama za bojenje

Stakalca se moraju uroniti i kratko pomaknuti u otopinama, jednostavno uranjanje ne daje adekvatne rezultate bojenja. Stakalca se trebaju postaviti tako da se dobro ocijede nakon svakog zasebnog koraka bojenja da bi se izbjegla nepotrebna unakrsna kontaminacija otopina. Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce s fiksiranim razmazom	
Etanol 96 %*	10 s
Etanol 80 %*	10 s
Etanol 70 %*	10 s
Etanol 50 %*	10 s
Destilirana voda	10 s
Otopina hematoksilina prema Gillu ili Otopina hematoksilina prema Harrisu	5 min 6 min
Destilirana voda	10 s
0,1 %-tna klorovodična kiselina, s vodom	10 s
Destilirana voda	10 s
1,5 %-tna otopina natrijeva vodikova karbonata	1 min
Voda iz slavine	3 min
Etanol 70 %	30 s
Etanol 80 %	30 s
Etanol 96 %	30 s

HR

Papanicolaou otopina 2a Orange G otopina ili Papanicolaou otopina 2b Orange II otopina	3 min
Etanol 96 %	30 s
Etanol 96 %	30 s
Papanicolaou otopina 3a Polikromatska otopina EA 31 ili Papanicolaou otopina 3b Polikromatska otopina EA 50	3 min
Etanol 96 %	30 s
Etanol 96 %	30 s
Etanol 100 %	5 min
Smjesa se sastoji od: 100 %-tnog etanola + Neo-Clear™ ili ksilen (1 + 1)	2 min
Razbistrite s pomoću Neo-Clear™ ili ksilena.	5 min
Razbistrite s pomoću Neo-Clear™ ili ksilena.	5 min
Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear™ poklopite otopinom Neo-Mount™ ili mokra stakalca s ksilenom npr. otopinom Novi Entellan™ i staklenim pokrovom.	

*Ovi koraci mogu se preskočiti kada su razmazi fiksirani sredstvom M-FIX®. Nakon dehidracije (uzlazni niz alkohola) i razbistrivanja ksilenom ili s pomoću Neo-Clear™, citološki uzorci mogu se pokriti s pomoću agensa za poklapanje bez vode (npr. Novi Entellan™, Novi DPX ili Neo-Mount™) i staklenog pokrova te se zatim pohraniti. Upotreba imerzijskog ulja preporučuje se za analizu obojanih stakalaca s pomoću mikroskopskog povećanja > 40x.

Rezultat

Bojenje s pomoću	3a / EA 31	3b / EA 50
citoplazme cijanofilno (bazofilno) eozinofilno (acidofilno) keratinizirano	plavo-zeleno do zeleno ružičasto ružičasto-narančasto	plavo-zeleno ružičasto ružičasto-narančasto
Eritrociti	crveno	
Stanične jezgre	plavo do tamno ljubičasto	
Mikroorganizmi	sivo-plavo	

H&E bojenje

Princip

Metoda bojenjem hematoksilinom i eozinom (H&E) najčešće je upotrebljavana metoda za bojenje histološkog materijala. Mehanizam bojenja jest fizikalno-kemijski postupak. U prvom koraku nuklearna boja s pozitivnim nabojem (hematoksilin) povezuje se s negativno nabijenim fosfatnim skupinama nukleinske kiseline jezgri stanica. Drugi je korak protubojenje uz negativno nabijenu anionsku ksantensku boju (eozin Y, eozin B ili eritrozin B). Veže se s pozitivno nabijenim proteinima plazme. Moguće je razlikovati dvije metode. Kod metode progresivnog bojenja hematoksilinom, bojenje se provodi do krajnje točke, nakon čega se stakalce ispire vodom kako bi se obojilo plavo. U slučaju regresivne metode materijal se pretjerano boji i višak otopine za bojenje uklanja se ispiranjem kiselinom, nakon čega slijedi korak ubacivanja plave boje u vodu iz slavine. Strukture jezgri diferenciraniije su i bolje vidljive zahvaljujući regresivnoj metodi.

Uzorak

Sekcije formalinom fiksiranih, u parafin uklopljenih tkiva (sekcije parafina debljine 3 – 4 µm) ili krio sekcije upotrebljavaju se kao početni materijal.

Reagensi

Također potrebno za H&E bojenje:

Kat. br. 1.09844	Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s vodom za mikroskopiju	1 l, 2,5 l
ili		
Kat. br. 1.02439	Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s alkoholom za mikroskopiju	500 ml, 2,5 l
ili		
Kat. br. 1.17081	Otopina eozin Y boje od 1 %, s alkoholom za mikroskopiju	1 l

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje. Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom. Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu. Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagense, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu. Uklonite parafin i rehidrirajte sekcije na uobičajen način.

Priprema reagensa

Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s vodom (Kat. br. 1.09844)
Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s alkoholom (Kat. br. 1.02439)
Otopina eozin Y boje od 1 %, s alkoholom (Kat. br. 1.17081)
Za jače bojenje eozinom, npr. 1,0 ml glacijalne acetatne kiseline treba dodati u 500 ml radne otopine.
Kiselinska radna otopina dostatna je za pribl. 750 uzoraka; no treba je ponovno napraviti najkasnije svakih 14 dana.
Prilikom uporabe alkoholnih eozin Y otopina, u sklopu pojedinih postupaka bojenja potrebno je upotrebljavati kraći niz alkohola (započevši s 96 %-tnim etanolom i vremenom reakcije od samo 10 sekundi).

Eozin B otopina i eritrozin otopina od 0,5 %, vodena
Način pripreme opisan je u uputama za uporabu određene boje.

Postupak
Regresivno bojenje sekcija parafina

Bojenje u stanicama za bojenje
Uklonite parafin s histoloških stakalaca na uobičajen način i rehidrirajte silaznim nizom alkohola.
Stakalca se trebaju postaviti tako da se dobro ocijede nakon svakog zasebnog koraka bojenja da bi se izbjegla nepotrebna unakrsna kontaminacija otopina.
Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

Stakalce sa sekcijom parafina	
Destilirana voda	1 min
Otopina hematoksilina prema Gillu ili Otopina hematoksilina prema Harrisu	3 min
0,1 %-tna klorovodična kiselina, s vodom	2 s
Voda iz slavine	3-5 min
Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s vodom ili Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s alkoholom* ili Otopina eozin Y boje od 1 %, s alkoholom*	3 min
Voda iz slavine	30 s
Etanol 70 %	1 min
Etanol 70 %	1 min
Etanol 96 %	1 min
Etanol 96 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Ksilen ili Neo-Clear™	5 min
Ksilen ili Neo-Clear™	5 min
Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear™ poklopite otopinom Neo-Mount™ ili mokra stakalca s ksilenom npr. otopinom Novi Entellan™ i staklenim pokrovom.	

* Prilikom uporabe alkoholnih eozin Y otopina, u sklopu pojedinih postupaka bojenja potrebno je upotrebljavati kraći niz alkohola (započevši s 96 %-tnim etanolom i vremenom reakcije od samo 10 sekundi).

Nakon dehidracije (uzlazni niz alkohola) i razbistrivanja ksilenom ili otopinom Neo-Clear™, histološki uzorci mogu se pokriti s pomoću agensa za poklapanje bez vode (npr. Novi DPX, Neo-Mount™, ili Novi Entellan™) i staklenim pokrovom te se zatim mogu pohraniti.
Upotreba imerzijskog ulja preporučuje se za analizu obojanih stakalaca s pomoću mikroskopskog povećanja > 40x.

Rezultat

Stanične jezgre	tamno plavo do tamno ljubičasto
Citoplazma, međustanične tvari	ružičasta do crvene
Eritrociti	žuta do narančaste

Otklanjanje poteškoća
Slabo bojenje citoplazme i povezanih struktura tkiva

Za jače bojenje eozinom potrebno je upotrebljavati kiselinsku radnu otopinu (s pomoću npr. glacijalne acetatne kiseline).
Uporaba otopine koja nije kiselinska rezultirat će slabo obojanom citoplazmom i povezanim strukturama tkiva i stoga se preporučuje praćenje Protokola za pripremu reagensa da bi se postigli optimalni rezultati pri bojenju.
Kiselinska radna otopina dostatna je za pribl. 750 uzoraka; no treba je ponovno napraviti najkasnije svakih 14 dana.

Tehničke napomene

Upotrebljavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija.
Svježe pripremljene otopine za bojenje trebaju se filtrirati prije uporabe.
Prije punjenja uklonite suvišno imerzijsko ulje.

Značajke analitičke učinkovitosti

„Hematoksilin krist. (C.I. 75290)” boji i tako omogućava vizualizaciju bioloških struktura, kao što je opisano u poglavljima „Rezultat” u ovim uputama za uporabu. Ovaj proizvod smiju upotrebljavati samo ovlaštene i kvalificirane osobe. To se, između ostaloga, odnosi na pripremu uzoraka i reagensa, rukovanje uzorcima, histološku obradu, donošenje odluka o odgovarajućim kontrolama itd.
Analitička učinkovitost ovog proizvoda potvrđena je ispitivanjem svake proizvodne serije.
Za sljedeće je postupke bojenja potvrđena 100 %-tna analitička učinkovitost proizvoda u pogledu specifičnosti, osjetljivosti i ponovljivosti:

	Specifičnost među ispitivanjima	Osjetljivost među ispitivanjima	Specifičnost unutar ispitivanja	Osjetljivost unutar ispitivanja
Citološko bojenje				
Stanične jezgre	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazme cijanofilno (bazofilno)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazme eozinofilno (acidofilno)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrociti	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmi	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E bojenje				
Stanične jezgre	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Međustanične tvari	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrociti	20/20	20/20	7/7	7/7

Rezultati analitičke učinkovitosti

Podaci dobiveni unutar ispitivanja (provedeno na istoj seriji) i među ispitivanjima (provedena na različitim serijama) pokazuju broj ispravno obojenih struktura s obzirom na broj provedenih ispitivanja.

Rezultati ove procjene učinkovitosti potvrđuju da je proizvod prikladan za predviđenu uporabu i da pouzdano djeluje.

Dijagnostika

Dijagnoze smije donositi jedino ovlašteno i kvalificirano osoblje.
Potrebno je upotrebljavati valjanu nomenklaturu.
Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima.
Potrebno je odabrati i implementirati dodatne testove sukladno prepoznatim metodama.
Potrebno je provesti odgovarajuće kontrole prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati.

Skладиštenje

Pohranite hematoksilin krist. (C.I. 75290) - za mikroskopiju na +2 °C do +30 °C.

Rok uporabe

Hematoksilin krist. (C.I. 75290) - za mikroskopiju može se upotrebljavati do navedenog roka trajanja.
Nakon prvog otvaranja boce, sadržaj se može upotrebljavati do navedenog roka uporabe ako je pohranjen na +2 °C do +30 °C.
Boce moraju biti čvrsto zatvorene u svakom trenutku.

Dodatne upute

Samo za profesionalnu uporabu.
Da bi se izbjegle pogreške, primjenu smije provoditi samo kvalificirano osoblje.
Potrebno je slijediti nacionalne smjernice za sigurnost na radu i osiguravanje kvalitete.
Potrebno je upotrebljavati mikroskope opremljene sukladno standardu.
Zaštita od infekcije
Potrebno je poduzeti učinkovite mjere za zaštitu od infekcije sukladno smjernicama laboratorija.

Upute za odlaganje

Pakiranje se mora odložiti sukladno trenutnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na brzoj poveznici „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Savjeti za odlaganju mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutačno primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označavanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br. 1.00063	Octena kiselina (ledena) 100 % bez-vodna za analizu EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.00316	Kloridna kiselina 25 % za analizu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.00579	Novi DPX nevođeni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 1.00974	Etanol denaturiran s oko 1 % metil-etil-ketona za analizu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.01047	Aluminij kalij sulfat dodekahidrat za analizu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. br. 1.02439	Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s alkoholom za mikroskopiju	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.03981	Fiksativ u spreju M-FIX® za citodijagnostiku	100 ml, 1 l
Kat. br. 1.04699	Imerzijsko ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.05174	Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu III za mikroskopiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.05175	Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu II za mikroskopiju	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.06329	Natrij-hidrogen-karbonat za analizu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. br. 1.06525	Natrij-jodat za analizu EMSURE®	100 g
Kat. br. 1.06887	Papanicolaou otopina 2b Orange II otopina za citologiju	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.06888	Papanicolaou otopina 2a Orange G otopina (OG6) za citologiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.07961	Novi Entellan™ brzi medij za uklapanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br. 1.08298	Ksilen (izomerna smjesa) za histologiju	4 l
Kat. br. 1.09016	Neo-Mount™ bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 1.09271	Papanicolaou otopina 3a Polikromatska otopina EA 31 za citologiju	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 1.09272	Papanicolaou otopina 3b Polikromatska otopina EA 50 za citologiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.09621	Etilen-glikol za analizu EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. br. 1.09843	Neo-Clear™ (zamjena za ksilen) za mikroskopiju	5 l
Kat. br. 1.09844	Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s vodom za mikroskopiju	1 l, 2,5 l
Kat. br. 1.17081	Otopina eozin Y boje od 1 %, s alkoholom za mikroskopiju	1 l
Kat. br. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.04302
Slijedite klasifikaciju rizika ispisanu na oznaci i informacije navedene na sigurnosno-tehničkom listu.
Sigurnosno-tehnički list dostupan je na web-mjestu i na zahtjev.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
gubitak pri sušenju maks. 10 %

Opća napomena

Ako se tijekom uporabe ovog uređaja ili zbog njegove uporabe dogodi ozbiljan štetni događaj, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom zastupniku te nacionalnom nadležnom tijelu.

Književnost

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Uzrokuje jako nadraživanje oka.

P264: Nakon rukovanja temeljito oprati kožu.

P280: Nositi zaštitu za oči/ zaštitu za lice.

P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

P337 + P313: Ako nadražaj oka ne prestaje: zatražiti savjet/ pomoć liječnika.

Povijest revizija

Verzija	Komentar o izmjeni
2024-Jul-18	Izvorna verzija s uvodom u povijest revizija



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2024-Jul-18

The Life Science Business tvrtke Merck posluje kao MilliporeSigma u SAD-u i Kanadi.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/ili društva-kćeri tog društva. Sva prava pridržana. Merck i Sigma-Aldrich u jarkim bojama zaštitni su znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Svi drugi zaštitni znakovi pripadaju odgovarajućim vlasnicima. Detaljne informacije o zaštitnim znakovima dostupne su putem javno dostupnih resursa.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Mikroskopia

Hematoksylina kryst. (C.I. 75290)

do mikroskopii

Wyłącznie do użytku przez specjalistów

IVD

Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

CE

Przeznaczenie

"Hematoksylina kryst. (C.I. 75290) – do mikroskopii" jest wykorzystywany w procesie medycznej diagnostyki komórek ludzkich i służy do histologicznej i cytologicznej oceny próbek pochodzenia ludzkiego. Jest to barwnik do barwienia suchego stosowany w przygotowaniu roztworu do barwienia, który, w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki *in vitro* z naszej oferty, umożliwia (poprzez utrwalanie, zatapianie, barwienie za pomocą ww. roztworu hematoksyliny, barwienie kontrastujące, zamykanie).

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnionemu i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Aby postawić ostateczną diagnozę, należy wykonać dalsze badania, stosując uznane i sprawdzone metody.

Ten roztwór barwiący, który wymaga dalszego przygotowania przed użyciem, służy wyłącznie do barwienia przeglądowego w różnicowaniu docelowych struktur komórkowych i składowych tkanki, które wymieniono poniżej w punkcie "Wynik". W przypadku bardziej specyficznych zastosowań zalecamy użycie Nr kat. 1.05175 Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla II, Nr kat. 1.05174 Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla III, Nr kat. 1.09249 Hemalum Mayera, roztwór lub Nr kat. 1.09254 Roztwór Papanicolaoua 1b roztwór hematoksyliny S do cytologii.

Odczynniki

Nr kat. 1.04302 Hematoksylina kryst. (C.I. 75290) 25 g, 100 g, 1 kg
do mikroskopii

Nr indeksowy barwnika (C.I.): 75290

Również wymagane:

Nr kat. 1.09621 Glikol etylenowy 1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
do analizy EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP

Nr kat. 227617 Aluminium sulfate octadecahydrate 100 g, 500 g, 2,5 kg
≥97% (Sigma-Aldrich)

lub

Nr kat. 1.00974 Etanol denaturowany około 1% ketonu metylowo-etylowego 1 l, 2,5 l
do analizy EMSURE®

Nr kat. 1.01047 Siarczan glinowo-potasowy, dodekahydrat 1 kg
do analizy EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur

Nr kat. 1.06525 Jodan sodowy 100 g
do analizy EMSURE®

Nr kat. 1.00063 Kwas octowy (lodowaty) 100% bezwodny, do analizy EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur 1 l, 2,5 l

Nr kat. 1.00316 Kwas chlorowodorowy 25% do analizy EMSURE® 1 l, 2,5 l

Przygotowywanie odczynnika

Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla III

W celu przygotowania ok. 1000 ml roztworu, należy zmieszać:

Roztwór glikolu etylenowego/wody destylowanej

Glikol etylenowy	250 g
Woda destylowana	730 ml
zmieszać i rozcieńczyć	

Roztwór do barwienia

Hematoksylina kryst. (C.I. 75290)	2 g
Jodan sodowy	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
rozcieńczyć w ww. roztworze glikolu etylenowego/wody destylowanej	
Kwas octowy 100%	20 ml
dod. Mieszać przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Odfiltrować przed użyciem.	

Roztwór hematoksyliny Harrisa

W celu przygotowania ok. 1000 ml roztworu, należy zmieszać:

Roztwór hematoksyliny

Hematoksylina kryst. (C.I. 75290)	5 g
Etanol	50 ml
rozcieńczyć w kąpeli wodnej, ogrzewając	

Roztwór alunu

Siarczan glinowo-potasowy, dodekahydrat	100 g
Woda destylowana	950 ml
rozcieńczyć, mieszając i ogrzewając	
Dodać roztwór hematoksyliny do gorącego roztworu alunu, mieszając i ogrzewając do wrzenia. Zdjąć roztwór z podgrzewacza.	
Jodan sodowy	370 mg
dodać, mieszając, i szybko schłodzić w kąpeli wodnej	
Kwas octowy 100%	4 ml
dod. Odfiltrować do butelek i dokładnie zamknąć. Odfiltrować przed użyciem.	

Kwas solny 0,1%, wodny

W celu przygotowania ok. 100 ml roztworu, należy zmieszać:

Woda destylowana	100 ml
Kwas solny 25%	0,4 ml

Barwienie Papanicolaou'a

Zasada działania

Najczęściej stosowaną procedurą barwienia próbki cytologicznej jest technika Papanicolaou przeznaczona do barwienia komórek złuszcających w próbkach cytologicznych.

W pierwszym etapie jądra komórkowe wybarwia się progresywnie lub regresywnie roztworem hematoksyliny.

W metodzie barwienia progresywnego hematoksylina barwienie przeprowadza się do punktu końcowego, po którym szkielek jest zabarwiane na niebiesko w wodzie z kranu.

Barwienie regresywne polega na przebarwieniu preparatu i następnie usunięciu nadmiaru roztworu barwiącego w procesie płukania kwasem.

Metoda regresywna zapewnia lepsze wyróżnienie i uwidocznienie struktur jądrowych.

Drugim etapem barwienia jest barwienie cytoplazmy za pomocą pomarańczowego roztworu barwiącego, który uwidacznia w szczególności komórki dorosłe i zrogowaciałe.

Etap trzeci polega na użyciu tzw. roztworu polichromatycznego – mieszanki eozyny, jasnej zieleni SF i brązu Bismarcka. Roztwór polichromatyczny umożliwia wykazanie zróżnicowania komórek nabłonka płaskiego.

Odczynniki

Również wymagane do barwienia hematoksyną i eozyną:

Nr kat. 1.09844	Eozyna Y, roztwór wodny 0,5% do mikroskopii	1 l, 2,5 l
lub		
Nr kat. 1.02439	Eozyna Y roztwór alkoholowy 0,5% do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
lub		
Nr kat. 1.17081	Eozyna Y roztwór alkoholowy 1% do mikroskopii	1 l

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być pobierane przez wykwalifikowany personel. Wszystkie próbki muszą być przetwarzane z użyciem najnowocześniejszych technologii. Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone. Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich instrumentów. Postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi zastosowania/użytkowania. Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania. Skrawki należy odparafinować i uwodnić w sposób konwencjonalny.

Przygotowywanie odczynnika

Eozyna Y roztwór wodny 0,5% (Nr kat. 1.09844)
Eozyna Y roztwór alkoholowy 0,5% (Nr kat. 1.02439)
Eozyna Y roztwór alkoholowy 1% (Nr kat. 1.17081)
Aby wzmocnić efekt barwienia eozyną Do 500 ml roztworu roboczego dodać 1,0 ml kwasu octowego lodowatego. Zakwaszony roztwór roboczy wystarcza do przygotowania ok. 750 próbek. Najpóźniej po upływie 14 dni należy go jednak wymienić na świeży. Stosując roztwory alkoholowe eozyny Y, w poszczególnych procedurach barwienia należy stosować krótszy szereg alkoholowy (zaczynając od etanolu 96% i czasu reakcji tylko 10 s).

Roztwór eozyny B i roztwór erytrozyny 0,5%, wodny

Metoda przygotowania jest opisana w instrukcjach stosowania każdego z barwników.

Procedura

Barwienie regresywne skrawków parafinowych

Barwienie w komorze do barwienia

Odparafinować preparaty histologiczne w sposób konwencjonalny i uwodnić w malejącym szeregu alkoholowym. Po każdym z etapów w procesie barwienia preparaty należy pozostawić do okapania, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów. W celu zagwarantowania optymalnych rezultatów barwienia należy stosować się do zalecanych czasów.

Szkiełko ze skrawkiem parafinowym	
Woda destylowana	1 min
Hematoksylina, roztwór wg Gilla lub Roztwór hematoksyliny Harrisa	3 min
Kwas solny 0,1%, wodny	2 sek.
Bieżąca woda z kranu	3 - 5 min
Eozyna Y, roztwór wodny 0,5% lub Eozyna Y, roztwór alkoholowy 0,5%* lub Eozyna Y, roztwór alkoholowy 1%	3 min
Bieżąca woda z kranu	30 sek.
Etanol 70%	1 min
Etanol 70%	1 min
Etanol 96%	1 min
Etanol 96%	1 min
Etanol 100%	1 min
Etanol 100%	1 min
Ksylen lub Neo-Clear™	5 min
Ksylen lub Neo-Clear™	5 min
Preparaty namoczone w roztworze Neo-Clear™ należy zamknąć, używając środka Neo-Mount™, a preparaty namoczone w ksylenie należy zamknąć, używając np. środka Entellan™ nowy i szkiełka nakrywkowego.	

* Stosując roztwory alkoholowe eozyny Y, w poszczególnych procedurach barwienia należy stosować krótszy szereg alkoholowy (zaczynając od etanolu 96% i czasu reakcji tylko 10 s).

Po odwodnieniu (w rosnącym szeregu alkoholowym) i oczyszczeniu ksyle-nem lub roztworem Neo-Clear™ preparaty histologiczne można zamknąć za pomocą bezwodnych odczynników do zamykania (np. Neo-Mount™, DPX nowy, Entellan™ nowy) i szkiełka nakrywkowego, a następnie przechowywać. Użycie olejku imersyjnego jest zalecane na potrzeby analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopowym >40x.

Wynik

Jądro komórkowe	od ciemnoniebieskiego do ciemnofioletowego
Cytoplazma, substancje międzykomórkoweod	od różowego do czerwonego
Erytrocyty	od żółtego do pomarańczowego

Rozwiązywanie problemów

Słabe barwienie cytoplazmy i struktur tkanki łącznej

Aby wzmocnić efekt barwienia eozyną, należy użyć zakwaszonego roztworu roboczego (np. za pomocą kwasu octowego lodowatego). Użycie niezakwaszonego roztworu spowoduje słabe barwienie cytoplazmy i struktur tkanki łącznej, dlatego w celu uzyskania optymalnych rezultatów barwienia zalecane jest postępowanie zgodne z procedurą przygotowania odczynnika. Zakwaszony roztwór roboczy wystarcza do przygotowania ok. 750 próbek. Najpóźniej po upływie 14 dni należy go jednak wymienić na świeży.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi laboratorium diagnostyki medycznej. Świeżo przygotowane roztwory do barwienia odfiltrować przed użyciem. Przed przystąpieniem do przechowywania należy usunąć nadmiar olejku imersyjnego.

Parametry wydajności analitycznej

„Hematoksylina kryst. (C.I. 75290)” wybarwia i tym samym wizualizuje struktury biologiczne, jak opisano w rozdziałach „Wynik” niniejszej Instrukcji obsługi (IFU). Produkt może być używany wyłącznie przez osoby upoważnione i wykwalifikowane. Dotyczy to między innymi przygotowania próbek i odczynników, postępowania z próbkami, obróbki histologicznej, decyzji dotyczących odpowiednich kontroli i innych. Wydajność analityczna produktu jest potwierdzana poprzez testowanie każdej partii produkcyjnej. Dla poniższych barwników, w zakresie paramterów analitycznych wymienio-nych poniżej, potwierdzono, że wskaźnik swoistości, czułości i powtarzalno-ści produktu wynosi 100%:

	Swoistość międzyse-ryjna	Czułość międzyse-ryjna	Swoistość wewnątrz- seryjna	Czułość wewnątrz- seryjna
Barwienie cytologiczne				
Jądro komórkowe	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma cyjanofilna (zasadochłonna)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma eozynofilna (kwasochłonna)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocyty	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmy	20/20	20/20	7/7	7/7
Barwienie hema-toksyliną i eozyną				
Jądro komórkowe	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Substancje mię-dzyskomórkowe	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocyty	20/20	20/20	7/7	7/7

Wyniki analityczne

Dane wewnątrz- (wykonane na tej samej serii) i międzyseryjne (wykonane na różnych seriach) przedstawiają wiele prawidłowo wybarwionych struktur w stosunku do liczby wykonanych testów.

Wyniki niniejszej Oceny Wydajności potwierdzają, że produkt jest odpo-wiedni do zamierzonego zastosowania i działa niezawodnie.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel. Należy stosować obowiązujące nazewnictwo. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej. Należy wyznaczyć i przeprowadzić dalsze badania zgodnie z uznanymi meto-dami. Podczas każdego zastosowania należy korzystać z materiałów kontrolnych w celu zweryfikowania wyników.

Przechowywanie

Przechowywać Hematoksylina kryst. (C.I. 75290) – do mikroskopii w temperaturze od +2°C do +30°C.

Okres przydatności do użycia

Hematoksylina kryst. (C.I. 75290) – do mikroskopii może być używana do wskazanego terminu przydatności do użycia.
Po otwarciu butelki po raz pierwszy zawartość nadaje się do użycia do wskazanego terminu przydatności do użycia, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze od +2°C do +30°C.
Podczas przechowywania butelki powinny zawsze pozostawać szczelnie zamknięte.

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów.
W celu uniknięcia błędów wyrobu powinien używać wyłącznie wykwalifikowany personel.
Należy przestrzegać krajowych wytycznych w zakresie bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości.
Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązującym normom.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi laboratoryjnymi.

Instrukcje dotyczące utylizacji

Opakowanie należy zutylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi usuwania odpadów.
Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące utylizacji można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące utylizacji produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat.1.00063	Kwas octowy (lodowaty) 100% bezwodny, do analizy EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.00316	Kwas chlorowodorowy 25% do analizy EMSURE®	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.00579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 1.00974	Etanol denaturowany około 1% ketonu metylowo-etylowego do analizy EMSURE®	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.01047	Siarczan glinowo-potasowy, dodekahydrat do analizy EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Nr kat. 1.02439	Eozyna Y roztwór alkoholowy 0,5% do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.03981	M-FIX® spray utrwalający do cytodiagnostyki	100 ml, 1 l
Nr kat. 1.04699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 1.05174	Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla III do mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.05175	Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla II do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.06329	Wodorowęglan sodowy do analizy EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Nr kat. 1.06525	Jodan sodowy do analizy EMSURE®	100 g
Nr kat. 1.06887	Roztwór Papanicolaousa 2b roztwór oranżu II do cytologii	500 ml, 2,5 l

Nr kat. 1.06888	Roztwór Papanicolaousa 2a roztwór oranżu G (OG 6) do cytologii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.07961	Entellan™ nowy środek do szybkiego przygotowywania preparatów do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 1.08298	Ksylene (mieszanina izomerów) do histologii	4 l
Nr kat. 1.09016	Neo-Mount™ bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 1.09271	Roztwór Papanicolaousa 3a roztwór wielobarwny EA 31 do cytologii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 1.09272	Roztwór Papanicolaousa 3b roztwór wielobarwny EA 50 do cytologii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.09621	Glikol etylenowy do analizy EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Nr kat. 1.09843	Neo-Clear™ (substytut ksylenu) do mikroskopii	5 l
Nr kat. 1.09844	Eozyna Y, roztwór wodny 0,5% do mikroskopii	1 l, 2,5 l
Nr kat. 1.17081	Eozyna Y roztwór alkoholowy 1% do mikroskopii	1 l
Nr kat. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.04302
Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej.
Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie.
Główne składniki produktów
Nr kat. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
strata podczas suszenia maks. 10%

Uwaga ogólna

Jeśli podczas użytkowania tego urządzenia lub w wyniku jego użytkowania wystąpił poważny incydent, to należy zgłosić to producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz organowi krajowemu.

Literatura

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn’s Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Działa drażniąco na oczy.

P264: Dokładnie umyć ciało po użyciu.

P280: Stosować ochronę oczu/ ochronę twarzy.

P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P337 + P313: W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/ zgłosić się pod opiekę lekarza.

Historia zmian

Wersja	Komentarz do modyfikacji
2024-Jul-18	Pierwsza wersja z wprowadzoną historią zmian



Zapoznać się z instrukcją użytkowania



Producent



Numer katalogowy



Kod partii



Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.



Termin przydatności do użycia:
RRRR-MM-DD



Ograniczenia termiczne

Status: 2024-Jul-18

Działalność w segmencie Life Science firmy Merck odbywa się pod marką MilliporeSigma w USA i Kanadzie.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany i/lub jej spółki stowarzyszone. Wszelkie prawa zastrzeżone. Merck i Sigma-Aldrich to znaki towarowe firmy Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Wszystkie inne znaki towarowe należą do ich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych są dostępne w publicznie dostępnych zasobach.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Microscopia

Hematoxilina crist. (C.I.75290)

para microscopia

Apenas para utilização profissional

IVD

Dispositivo Médico para Diagnóstico *In-Vitro*



Finalidade prevista

Este "Hematoxilina crist. (C.I.75290) – para microscopia" é utilizado para diagnóstico médico de célula humana e serve para investigação histológica e citológica de material de amostra de origem humana. Trata-se de um corante seco que é utilizado para preparar uma solução de coloração que, quando usada juntamente com outros produtos de diagnóstico *in-vitro* da nossa gama, transforma as estruturas-alvo (por fixação, integração, coloração com a solução acima descrita de hematoxilina, contracoloração, montagem) em materiais de amostras histológicas e citológicas avaliáveis para fins de diagnóstico.

As estruturas não coradas têm relativamente pouco contraste e são extremamente difíceis de distinguir no microscópio ótico. As imagens criadas utilizando as soluções de coloração ajudam o investigador autorizado e qualificado a definir melhor a forma e a estrutura, nestes casos. Têm de ser efetuados testes adicionais, de acordo com métodos válidos reconhecidos, para se obter um diagnóstico definitivo.

Esta solução de coloração, a qual requer preparação adicional antes de poder ser utilizada, serve exclusivamente para fornecer uma visão geral da coloração das estruturas-alvo dos componentes celulares e tecidulares enumerados na secção "Resultado" a seguir. Para aplicações mais específicas, recomendamos a utilização da Solução de Hematoxilina modificada seg. Gill II, Cat. n.º 1.05175, Solução de hematoxilina modificada segundo Gill III, Cat. n.º 1.05174, Hemalumen em solução segundo Mayer para microscopia, Cat. n.º 1.09249 ou Solução Papanicolaou 1b de hematoxilina S para citologia, Cat. n.º 1.09254.

Reagentes

Cat. n.º 1.04302

Hematoxilina crist. (C.I.75290)
para microscopia

Índice de cor n.º: 75290

25 g, 100 g, 1 kg

Também é necessário:

Cat. n.º	1.09621	Etilenoglicol para análise EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Cat. n.º	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
ou			
Cat. n.º	1.00974	Etanol desnaturado com aprox. 1% de metiletilcetona para análise EMSURE®	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.01047	Sulfato de alumínio e potássio dodecahidrato para análise EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Cat. n.º	1.06525	Iodato de sódio para análise EMSURE®	100 g
Cat. n.º	1.00063	Ácido acético (glacial) 100% anidro para análise EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.00316	Ácido clorídrico 25% para análise EMSURE®	1 l, 2,5 l

Preparação do reagente

Solução de hematoxilina segundo Gill

Para preparação de aprox. 1000 ml de mistura de solução:

Solução de etilenoglicol / água destilada

Etilenoglicol	250 g
Água destilada	730 ml
misture e dissolva	

Solução de coloração

Hematoxilina crist. (C.I.75290)	2 g
Iodato de sódio	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
dissolva na solução acima descrita de etilenoglicol / água destilada	
Ácido acético 100%	20 ml
adicione. Mexe durante 1 hora à temperatura ambiente. Filtre antes de usar.	

Solução de hematoxilina segundo Harris

Para preparação de aprox. 1000 ml de mistura de solução:

Solução de hematoxilina

Hematoxilina crist. (C.I.75290)	5 g
Etanol	50 ml
dissolva num banho de água a aquecer	

Solução de alúmen

Sulfato de alumínio e potássio dodecahidrato	100 g
Água destilada	950 ml
dissolva mexendo e aquecendo	
Adicione a solução de hematoxilina à solução de alúmen quente, mexendo e aquecendo até ferver. Retire a solução do local quente.	
Iodato de sódio	370 mg
adicione, mexendo, e arrefeça rapidamente em banho de água	
Ácido acético 100%	4 ml
adicione. Filtre para frascos e feche cuidadosamente. Filtre antes de usar.	

Ácido clorídrico 0,1%, aquoso

Para preparação de aprox. 100 ml de mistura de solução:

Água destilada	100 ml
Ácido clorídrico 25%	0,4 ml

Coloração de Papanicolaou

Princípio

O procedimento de coloração mais utilizado para amostras citológicas é a técnica de Papanicolaou e destina-se à coloração de células exfoliativas em amostras citológicas.

No primeiro passo, os núcleos das células são corados progressiva ou regressivamente com uma solução de hematoxilina.

No método de coloração progressiva com hematoxilina, a coloração é efetuada no ponto final, após o qual a lâmina é azulada em água corrente.

Com o método regressivo, o material recebe excesso de coloração e o remanescente da solução corante é retirado em passos de enxaguamento ácido, seguidos de oxidação negra.

As estruturas dos núcleos são mais diferenciadas e mais visíveis pelo método regressivo.

O segundo passo da coloração é a coloração citoplasmática através da solução de coloração laranja, especialmente para demonstração de células maduras e queratinizadas.

No terceiro passo de coloração, é usada a chamada solução policromática, uma mistura de eosina, verde claro SF e castanho Bismarck. A solução policromática é usada para demonstração da diferenciação de células escamosas.

Material da amostra

Amostra ginecológica e não ginecológica, como esputo, urina, esfregaços de biopsias por punção aspirativa com agulha fina (FNAB), efusões, enxaguamentos

Preparação do reagente

Eosina A - solução aquosa 0,5% (cat. n.º 1.09844)
Eosina A-Solução 0,5%, alcoólica (cat. n.º 1.02439)
Eosina A - Solução 1%, alcoólica (cat. n.º 1.17081)
Para intensificação do esfregaço de eosina, p. ex., é necessário adicionar 1,0 ml de ácido acético glacial a 500 ml da solução de trabalho.
A solução de trabalho acidificada é suficiente para aprox. 750 amostras; contudo, deve ser substituída o mais tardar após 14 dias.
Ao usar as soluções alcoólicas de eosina Y, tem de ser usada uma série de álcool inferior (começando com etanol 96% e um tempo de reação de apenas 10 segundos) nos procedimentos de coloração individuais.

Solução de eosina B e solução de eritrosina a 0,5%, aquosa
O método de preparação é descrito nas instruções de utilização do respetivo corante.

Procedimento
Coloração regressiva das secções de parafina
Coloração na célula de coloração

Desparafine as lâminas histológicas pela forma convencional e volte a hidratar numa série de álcool descendente.
Deixe que as lâminas escurram bem depois dos passos de coloração individuais, como medida para evitar qualquer contaminação cruzada desnecessária das soluções.
Os tempos indicados devem ser cumpridos para garantir um resultado de coloração ideal.

Lâmina com secção de parafina	
Água destilada	1 min.
Solução de hematoxilina segundo Gill ou Solução de hematoxilina segundo Harris	3 min.
Ácido clorídrico 0,1%, aquoso	2 seg.
Água de torneira corrente	3 - 5 min.
Eosina A - solução aquosa 0.5% ou Eosina A-Solução 0,5%, alcoólica* ou Eosina A - Solução 1%, alcoólica*	3 min.
Água de torneira corrente	30 seg.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Xileno ou Neo-Clear™	5 min.
Xileno ou Neo-Clear™	5 min.
Monte as lâminas humedecidas em Neo-Clear™ com o Neo-Mount™, ou as lâminas humedecidas em xileno com, p. ex., Entellan™ Novo e com um vidro de cobertura.	

* Ao usar as soluções alcoólicas de eosina Y, tem de ser usada uma série de álcool inferior (começando com etanol 96% e um tempo de reação de apenas 10 segundos) nos procedimentos de coloração individuais.

Após a desidratação (série de álcool ascendente) e clarificação com xileno ou Neo-Clear™, podem ser montadas amostras histológicas com meios de montagem sem água (p. ex., DPX novo, Entellan™ Novo, Neo-Mount™) e um vidro de cobertura, e depois guardadas.
A utilização de óleo de imersão é recomendada para análise de lâminas coloridas com ampliação microscópica de >40x.

Resultado	
Núcleos da célula	azul escuro a violeta escuro
Citoplasma, substâncias intercelulares	rosa a vermelho
Eritrócitos	amarelo a laranja

Resolução de anomalias
Coloração fraca do citoplasma e das estruturas de tecido conjuntivo
Para intensificação do esfregaço de eosina, deve ser usada uma solução de trabalho acidificada (usando p.ex., ácido acético glacial).
A utilização de uma solução não acidificada irá resultar num citoplasma e numa estrutura de tecido conjuntivo com fraca coloração, pelo que é aconselhável seguir o protocolo especificado de preparação do reagente para obter um resultado de coloração ideal.
A solução de trabalho acidificada é suficiente para aprox. 750 amostras; contudo, deve ser substituída o mais tardar após 14 dias.

Notas técnicas
O microscópio usado deverá cumprir os requisitos de um laboratório de diagnóstico médico.
As soluções de coloração recém-preparadas devem ser filtradas antes de serem utilizadas.
Retire o excesso do óleo de imersão antes de encher.

Características do desempenho analítico
“Hematoxilina crist. (C.I.75290)” cora e, por conseguinte, visualiza estruturas biológicas, tal como descrito nos capítulos “Resultado” desta instrução de utilização. A utilização do produto deve ser efetuada apenas por pessoas autorizadas e qualificadas e isto inclui, entre outras coisas, preparação de amostras e reagentes, manuseamento de amostras, histoprocessamento, decisões relativamente a controlos adequados e mais.
O desempenho analítico do produto é confirmado através da testagem de todos os lotes de produção.
Para os seguintes corantes, o desempenho analítico foi confirmado em termos de especificidade, sensibilidade e repetibilidade do produto com uma taxa de 100%:

	Especificidade inter-ensaio	Sensibilidade inter-ensaio	Especificidade intra-ensaio	Sensibilidade intra-ensaio
Coloração citológica				
Núcleos das células	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma cianofílico (basofílico)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma (acidofílico)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrócitos	20/20	20/20	7/7	7/7
Microrganismos	20/20	20/20	7/7	7/7
Coloração com H&E				
Núcleos das células	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Substâncias intercelulares	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrócitos	20/20	20/20	7/7	7/7

Resultados do desempenho analítico

Os dados intra-ensaio (efetuado com o mesmo lote) e inter-ensaio (efetuado com lotes diferentes) listam o número de estruturas coradas corretamente em relação ao número de ensaios efetuados.

Os resultados desta avaliação do desempenho confirmam que o produto é adequado para a utilização prevista e que tem um desempenho fiável.

Diagnóstico
Os diagnósticos devem ser feitos apenas por pessoal autorizado e qualificado.
Devem ser utilizadas nomenclaturas válidas.
Este método pode ser utilizado de forma complementar no diagnóstico em seres humanos.
Devem ser selecionados e implementados outros testes, de acordo com métodos reconhecidos.
Devem ser realizados controlos adequados a cada aplicação, a fim de evitar resultados incorretos.

Armazenamento
ConsERVE a Hematoxilina crist. (C.I.75290) – para microscopia entre +2°C e +30°C.

Durabilidade
A Hematoxilina crist. (C.I.75290) – para microscopia pode ser usada até expirar a data de validade indicada.
Após a primeira abertura do frasco, o conteúdo pode ser usado até expirar a data de validade indicada, desde que conservado entre +2°C e +30°C.
Os frascos têm de ser sempre mantidos hermeticamente fechados.

Instruções adicionais
Apenas para utilização profissional.
A fim de evitar erros, a aplicação apenas pode ser realizada por pessoal qualificado.
Têm de ser seguidas as diretrizes nacionais sobre segurança no trabalho e garantia de qualidade.
Têm de ser utilizados microscópios equipados de acordo com o padrão.

Proteção contra infeções
Deverão ser tomadas medidas eficazes para proteger contra infeções, em linha com as diretrizes laboratoriais.

Instruções para eliminação

A embalagem tem de ser eliminada de acordo com as atuais diretrizes sobre eliminação.
As soluções utilizadas e as soluções que excedam a durabilidade têm de ser eliminadas como resíduos especiais, de acordo com as diretrizes locais.
Informação sobre eliminação pode ser obtida através do link rápido "Dicas para Eliminação de Produtos de Microscopia" em www.microscopy-products.com. Dentro da UE, aplica-se o Regulamento (CE) n.º 1272/2008 sobre classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.

Reagentes auxiliares

Cat. n.º	1.00063	Ácido acético (glacial) 100% anidro para análise EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.00316	Ácido clorídrico 25% para análise EMSURE®	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.00579	DPX novo meio de montagem não aquoso para uso em microscopia	500 ml
Cat. n.º	1.00974	Etanol desnatado com aprox. 1% de metiletilcetona para análise EMSURE®	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.01047	Sulfato de alumínio e potássio dodeca-hidrato para análise EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Cat. n.º	1.02439	Eosina A-Solução 0,5%, alcoólica para microscopia	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.03981	M-FIX® Spray de fixação para diagnóstico citológico	100 ml, 1 l
Cat. n.º	1.04699	Óleo de imersão para microscopia	Frasco de instilação de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Cat. n.º	1.05174	Solução de hematoxilina modificada segundo Gill III para microscopia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.05175	Solução de hematoxilina modificada segundo Gill II para microscopia	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.06329	Hidrogenocarbonato de sodio para análise EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Cat. n.º	1.06525	Iodato de sódio para análise EMSURE®	100 g
Cat. n.º	1.06887	Solução de Papanicolaou 2b Orange II para citologia	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.06888	Solução de Papanicolaou 2a, Solução de Orange G (OG 6) para citologia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.07961	Entellan™ Novo meio de montagem rápido para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. n.º	1.08298	Xileno (mistura de isómeros) para histologia	4 l
Cat. n.º	1.09016	Neo-Mount™ Meio de montagem anidro para microscopia	Frasco de instilação de 100 ml; 500 ml
Cat. n.º	1.09271	Solução de Papanicolaou 3a, solução policromática EA 31 para citologia	500 ml, 2,5 l
Cat. n.º	1.09272	Solução de Papanicolaou 3b, solução policromática EA 50 para citologia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.09621	Etilenoglicol para análise EMSURE® Reag. Ph Eur,Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Cat. n.º	1.09843	Neo-Clear™ (substituto do xileno) para microscopia	5 l
Cat. n.º	1.09844	Eosina A - solução aquosa 0.5% para microscopia	1 l, 2,5 l
Cat. n.º	1.17081	Eosina A - Solução 1%, alcoólica para microscopia	1 l
Cat. n.º	227617	Alumínio sulfato octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Classificação do perigo

Cat. n.º 1.04302

Observe a classificação de perigo impressa no rótulo e a informação dada na ficha de dados de segurança.
A ficha de dados de segurança está disponível no site na Internet e por pedido.

Principais componentes do produto

Cat. n.º 1.04302

C.I. 75290

C₁₆H₁₄O₆

M = 302,29 g/mol

perda na secagem máx. 10%

Comentário geral

Se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, queira comunicá-lo ao fabricante e/ou ao seu representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Literatura

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Provoca irritação ocular grave.

P264: Lave a pele cuidadosamente após o manuseio.

P280: Use proteção ocular/ proteção facial.

P305 + P351 + P338: EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água durante vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.

P337 + P313: Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

Histórico de revisões

Versão	Comentário à modificação
2024-Jul-18	Versão inicial com a introdução do histórico de revisões



Consulte as instruções de utilização



Fabricante



Número de catálogo



Código do lote



Cuidado: consulte os documentos anexos



Usar até AAAA-MM-DD



Limite de temperatura

Status: 2024-Jul-18

O sector Life Science da Merck opera como MilliporeSigma nos EUA e Canadá.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany e/ou as suas sociedades afiliadas. Todos os direitos reservados. Merck e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Germany. Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respetivos proprietários. Para informações pormenorizadas em matéria de marcas comerciais consultar os recursos disponíveis ao público.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Микроскопия

Хематоксилин кристал. (C.I.75290)

за микроскопия

Само за професионална употреба

IVD

Медицинско изделие за *in vitro* диагностика

CE

Предназначение

Това „Хематоксилин кристал. (C.I.75290) - за микроскопия“ се използва за клетъчна диагностика в хуманната медицина и служи за хистологично и цитологично изследване на материал от проби от човешки произход. Той представлява сухо багрило за оцветяване, което се използва за приготвяне на разтвор за оцветяване, който при употреба заедно с други продукти за *in vitro* диагностика от нашия портфейл прави таргетните структури оценени за диагностични цели (чрез фиксиране, вграждане, оцветяване с посочения по-горе хематоксилинов разтвор, контраоцветяване, поставяне върху предметно стъкло) в хистологични и цитологични материали от проби.

Неоцветените структури са със сравнително слаб контраст и са изключително трудни за разграничаване под наблюдение със светлинен микроскоп. Изображенията, създадени с помощта на разтворите за оцветяване, помагат на упълномощения и квалифициран изследовател по-добре да определи формата и структурата в такива случаи. Трябва да се извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати, валидни методи, за да се достигне до дефинитивна диагноза.

Този разтвор за оцветяване, който изисква допълнителна подготовка, преди да може да се използва, служи изключително за оцветяване за общ преглед при диференциация на таргетните структури на клетъчните и тъканни компоненти, изброени по-долу в раздела „Резултат“. За по-специфични приложения ние препоръчваме използване на Кат. № 1.05175 - Хематоксилин разтвор модифициран по Gill-II, Кат. № 1.05174 - Хематоксилин разтвор модифициран по Gill-III, Кат. № 1.09249 - Разтвор по Майер-Хемалаун за микроскопия или Кат. № 1.09254 - Разтвор на Rapanicolaou, хематоксилин разтвор 16 S за цитология.

Реагенти

Кат. № 1.04302

Хематоксилин кристал. (C.I.75290)
за микроскопия

Цветен индекс №: 75290

25 g, 100 g, 1 kg

Необходими са също:

Кат. №	1.09621	Етиленгликол X4 EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Кат. №	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
или			
Кат. №	1.00974	Етанол денатуриран със около 1% етилметилкетон X4 EMSURE®	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.01047	Алуминиевокалиев сулфат додекахидрат X4 EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Кат. №	1.06525	Натриев йодат X4 EMSURE®	100 g
Кат. №	1.00063	Оцетна киселина (ледена) 100% безводна, X4 EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.00316	Солна киселина 25% X4 EMSURE®	1 l, 2,5 l

Подготовка на реагентите

Хематоксилин разтвор модифициран по Gill

За приготвяне на припл. 1000 ml разтвор смесете:

Разтвор етиленгликол / дестилирана вода

Етиленгликол	250 g
Дестилирана вода	730 ml
смесете и разтворете	

Разтвор за оцветяване

Хематоксилин кристал. (C.I.75290)	2 g
Натриев йодат	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
разтворете в разтвора на етиленгликол / дестилирана вода по-горе	
Оцетна киселина 100%	20 ml
добавете. Разбърквайте в продължение на 1 час на стайна температура. Филтрирайте преди употреба.	

Хематоксилин разтвор модифициран по Harris

За приготвяне на припл. 1000 ml разтвор смесете:

Хематоксилин разтвор

Хематоксилин кристал. (C.I.75290)	5 g
Етанол	50 ml
разтворете със загряване на водна баня	

Разтвор на стипца

Алуминиевокалиев сулфат додекахидрат	100 g
Дестилирана вода	950 ml
разтворете с разбъркване и загряване	
Добавете хематоксилиновия разтвор към горещия разтвор по alaup с разбъркване и загрейте до кипене. Отстранете разтвора от горещия котлон.	
Натриев йодат	370 mg
прибавете с разбъркване и охладете бързо на водна баня	
Оцетна киселина 100%	4 ml
добавете. Филтрирайте в бутилки и затворете внимателно. Филтрирайте преди употреба.	

Солна киселина 0,1 %, воден разтвор

За приготвяне на припл. 100 ml разтвор смесете:

Дестилирана вода	100 ml
Солна киселина 25%	0,4 ml

Оцветяване по Rapanicolaou

Принцип

Техниката на Rapanicolaou е най-използваната процедура за оцветяване за цитологични проби и е предназначена за оцветяване на експлиативни клетки в цитологичните проби.

В първата стъпка ядра на клетките се оцветяват или прогресивно, или регресивно, с хематоксилинов разтвор.

При метода за прогресивно оцветяване с хематоксилин оцветяването се извършва до крайната точка, след което препаратът става син в чешмяна вода.

При регресивния метод материалът се оцветява прекомерно и излишното количество разтвор за оцветяване се отстранява чрез стъпки на киселинно изплакване, след което се извършва стъпката на оцветяване в синьо.

Структурите на ядрото са по-диференцирани и се виждат по-добре при регресивния метод.

Втората стъпка на оцветяване е оцветяването на цитоплазмата с оранжев разтвор за оцветяване, специално за демонстриране на зрелите и кератинизирани клетки.

В третата стъпка на оцветяване се използва така нареченият полихроматичен разтвор - смес от еозин, светложелен SF и кафяво на Bismarck. Полихроматичният разтвор се използва за демонстриране на диференциацията на плоските епителни клетки.

Материал на пробите

Гинекологични и не-гинекологични проби, например храчки, урина, натривки от тънкоиглени аспирационни биопсии (FNAB), изливи, лаважи

Реагенти

Необходими неща за оцветяването по Rapanicolaou:

Кат. №	1.06887	Разтвор на Rapanicolaou 2b Orange II разтвор за цитология	500 ml, 2,5 l
--------	---------	---	---------------

или

Кат. №	1.06888	Разтвор на Paranicolaou 2a Orange G разтвор (OG6) за цитология	500 ml, 1 l, 2,5 l
Кат. №	1.09271	Разтвор на Paranicolaou 3a полихроматичен разтвор EA 31 за цитология	500 ml, 2,5 l
или			
Кат. №	1.09272	Разтвор на Paranicolaou 3b полихроматичен разтвор EA 50 за цитология	500 ml, 1 l, 2,5 l
Кат. №	1.06329	Натриев хидрогенкарбонат ХЧ EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал. Всички проби трябва да се третират с използване на най-актуалната технология. Всички проби трябва ясно да се обозначат. За вземане на проби и тяхната подготовка трябва да се използват подходящи инструменти. Следвайте инструкциите за приложение / употреба на производителя. Когато се използват съответните помощни реагенти, трябва да се спазват съответните инструкции за употреба.

Фиксиране на натривките от проби

Влажна фиксация веднага със спрей фиксатор M-FIX® за мин. 10 минути или влажна фиксация веднага в етанол 96 % за мин. 30 минути Когато натривките са фиксирани с M-FIX®, стъпките на изплакване 1 - 4 във възходяща последователност на етанол преди оцветяването може да се пропусне.

Подготовка на реагентите

Разтвор на Paranicolaou 2a Orange G разтвор (OG6), Разтвор на Paranicolaou 2b Orange II разтвор, Разтвор на Paranicolaou 3a полихроматичен разтвор EA 31 и Разтвор на Paranicolaou 3b полихроматичен разтвор EA 50, използвани за оцветяване, са готови за употреба, не е необходимо разреждане на разтворите, то само влошава резултата от оцветяването и стабилността им. **Препоръчително е разтворите да се филтрират преди използването им.**

Разтвор натриев хидрогенкарбонат 1,5 %

За приготвяне на прибл. 1000 ml разтвор добавете и разтворете:

Натриев хидрогенкарбонат	15 g
Дестилирана вода	1000 ml

Процедура

Регресивно оцветяване в клетката за оцветяване

Предметните стъкла трябва да се потопят и да се раздвижат за кратко в разтворите, простото потапяне води до недостатъчно оцветяване. Предметните стъкла трябва да имат възможност добре да се отцеждат след отделните стъпки на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите. Посочените времена трябва да се спазват, за да се гарантира оптимален резултат от оцветяването.

Предметно стъкло с фиксирана натривка	
Етанол 96 %*	10 сек.
Етанол 80 %*	10 сек.
Етанол 70 %*	10 сек.
Етанол 50 %*	10 сек.
Дестилирана вода	10 сек.
Хематоксилин разтвор модифициран по Gill или Хематоксилин разтвор модифициран по Harris	5 мин. 6 мин.
Дестилирана вода	10 сек.
Солна киселина 0,1 %, воден разтвор	10 сек.
Дестилирана вода	10 сек.
Разтвор натриев хидрогенкарбонат 1,5 %	1 мин.
Течаща чешмяна вода	3 мин.
Етанол 70 %	30 сек.
Етанол 80 %	30 сек.
Етанол 96 %	30 сек.
Разтвор на Paranicolaou 2a Orange G разтвор или Разтвор на Paranicolaou 2b Orange II разтвор	3 мин.
Етанол 96 %	30 сек.
Етанол 96 %	30 сек.

BG

Разтвор на Paranicolaou 3a полихроматичен разтвор EA 31 или Разтвор на Paranicolaou 3b полихроматичен разтвор EA 50	3 мин.
Етанол 96 %	30 сек.
Етанол 96 %	30 сек.
Етанол 100 %	5 мин.
Смес, състояща се от: Етанол 100 % + Neo-Clear™ или ксилен (1 + 1)	2 мин.
Избистряне с Neo-Clear™ или ксилен.	5 мин.
Избистряне с Neo-Clear™ или ксилен.	5 мин.
Поставете навлажнените с Neo-Clear™ предметни стъкла с Neo-Mount™ или навлажнените с ксилен предметни стъкла напр. с Entellan™ new и покрийте стъклото.	

* Тези стъпки могат да се пропуснат, когато натривките са фиксирани с M-FIX®.

След дехидратация (със серия с повишаващ се процент алкохол) и проясняване с ксилен или Neo-Clear™, цитологичните проби могат да се поставят върху предметни стъкла с безводни среди (напр. Entellan™ new, DPX Ново или Neo-Mount™) и с покривни стъкла и след това могат да се съхраняват.

Препоръчва се използване на имерсионно масло за анализ на оцветени предметни стъкла с микроскопско увеличение >40x.

Резултат

Оцветяване с	3a / EA 31	3b / EA 50
Цитоплазма	синьо-зелено до зелено	синьо-зелено
цианофилни (базофилни)		розово
еозинофилни (ацидофилни) кератинизирани		розово-оранжево
Еритроцити	червено	
Ядра	синьо до тъмно виолетово	
Микроорганизми	сиво-синьо	

Оцветяване с Н и Е

Принцип

Методът за оцветяване с хематоксилин и еозин (Н и Е) е най-често използваният метод за оцветяване на хистологичен материал. Механизмът на оцветяване е физико-химичен процес.

В първата стъпка положително зареденото ядрено багрило (хематоксилин) се свързва с отрицателно заредените фосфатни групи на нуклеиновата киселина в клетъчното ядро.

Втората стъпка е контраоцветяването с отрицателно зареденото анионно ксантеново багрило (еозин Y, еозин В или еритрозин В). То се свързва с положително заредените плазмени протеини.

Могат да се разграничат два метода. При метода за прогресивно оцветяване с хематоксилин оцветяването се извършва до крайната точка, след което препаратът става син в чешмяна вода. При регресивния метод материалът се оцветява прекомерно и излишното количество разтвор за оцветяване се отстранява чрез стъпки на киселинно изплакване, след което се извършва стъпката на оцветяване в синьо. Структурите на ядрото са по-диференцирани и се виждат по-добре при регресивния метод.

Материал на пробите

Като стартов материал се използват срезове от фиксирана във формалин тъкан, вградени в парафин (3 - 4 µm дебели парафинови срезове) или криосрезове.

Реагенти

Необходими неща за оцветяването с Н и Е:

Кат. №	1.09844	Еозин Y- 0.5% воден разтвор за микроскопия	1 l, 2,5 l
или			
Кат. №	1.02439	Еозин Y - 0.5% разтвор в алкохол за микроскопия	500 ml, 2,5 l
или			
Кат. №	1.17081	Еозин Y - 1% разтвор в алкохол за микроскопия	1 l

Подготовка на пробите

Вземането на проби трябва да се извършва от квалифициран персонал. Всички проби трябва да се третират с използване на най-актуалната технология. Всички проби трябва ясно да се обозначат. За вземане на проби и тяхната подготовка трябва да се използват подходящи инструменти. Следвайте инструкциите за приложение / употреба на производителя.

Когато се използват съответните помощни реагенти, трябва да се спазват съответните инструкции за употреба.

Депарафинизирайте и рехидратируйте парафиновите срезове по конвенционалния начин.

Подготовка на реагентите

Еозин Y- 0.5% воден разтвор (Кат. № 1.09844)
Еозин Y - 0.5% разтвор в алкохол (Кат. № 1.02439)
Еозин Y - 1% разтвор в алкохол (Кат. № 1.17081)

За интензифициране на еозиновото оцветяване, напр. 1,0 ml ледена оцетна киселина трябва да се добави към 500 ml работен разтвор.

Подкисленият работен разтвор е достатъчен за прибл. 750 проби; въпреки това, той трябва да се поднови на-късно след 14 дни.

Когато се използват алкохолните разтвори на еозин Y, трябва да се използва по-къса серия алкохоли (като се започне с етанол 96 % и време за реакция само 10 секунди) при отделните процедури на оцветяване.

Еозин В-разтвор и разтвор на еритрозин 0,5 %, воден

Методът за приготвяне е описан в инструкциите за употреба на съответното багрило.

Процедура

Регресивно оцветяване на парафинови срезове

Оцветяване в клетката за оцветяване

Депарафинизирайте хистологичните предметни стъкла по конвенционалния начин и рехидратируйте в серия с низходящ процент алкохол.

Предметните стъкла трябва да имат възможност добре да се отцеждат след отделните стъпки на оцветяване, като мярка за избягване на ненужно кръстосано замърсяване на разтворите.

Посочените времена трябва да се спазват, за да се гарантира оптимален резултат от оцветяването.

Предметно стъкло с парафинови срезове	
Дестилирана вода	1 мин.
Хематоксилин разтвор модифициран по Gill или Хематоксилин разтвор модифициран по Harris	3 мин.
Солна киселина 0,1 %, воден разтвор	2 сек.
Течаща чешмяна вода	3 - 5 мин.
Еозин Y- 0.5% воден разтвор или Еозин Y - 0.5% разтвор в алкохол* или Еозин Y - 1% разтвор в алкохол*	3 мин.
Течаща чешмяна вода	30 сек.
Етанол 70 %	1 мин.
Етанол 70 %	1 мин.
Етанол 96 %	1 мин.
Етанол 96 %	1 мин.
Етанол 100 %	1 мин.
Етанол 100 %	1 мин.
Ксилол или Neo-Clear™	5 мин.
Ксилол или Neo-Clear™	5 мин.
Поставете навлажнените с Neo-Clear™ предметни стъкла с Neo-Mount™ или навлажнените с ксилен предметни стъкла напр. с Entellan™ new и покрийте стъклото.	

* Когато се използват алкохолните разтвори на еозин Y, трябва да се използва по-къса серия алкохоли (като се започне с етанол 96 % и време за реакция само 10 секунди) при отделните процедури на оцветяване.

След дехидратация (със серия с повишаващ се процент алкохол) и проявяване с ксилен или Neo-Clear™, хистологични проби могат да се поставят върху предметни стъкла с безводни среди (напр. DPX Ново, Entellan™ new, Neo-Mount™) и с покривни стъкла и след това могат да се съхраняват.

Препоръчва се използване на имерсионно масло за анализ на оцветени предметни стъкла с микроскопско увеличение >40x.

Резултат

Ядра	тъмно синьо до тъмно виолетово
Цитоплазма, междуклетъчни вещества	розово до червено
Еритроцити	жълто до оранжево

Отстраняване на проблеми

Слабо оцветяване на цитоплазмата и съединителнотъканните структури

За интензифициране на еозиновото оцветяване трябва да се използва подкислен работен разтвора (с използване напр. на ледена оцетна киселина). Използването на неподкислен разтвор ще доведе до слабо оцветяване на цитоплазмата и съединителнотъканните структури, затова е препо-

ръчително за постигане на оптимален резултат от оцветяването да се следва посочения протокол за приготвяне на реагентите.

Подкисленият работен разтвор е достатъчен за прибл. 750 проби; въпреки това, той трябва да се поднови на-късно след 14 дни.

Технически забележки

Използваният микроскоп трябва да отговаря на изискванията на медицинска диагностична лаборатория.

Прясно приготвените разтвори за оцветяване трябва да се филтрират преди употреба.

Преди напълване отстранете излишното имерсионно масло.

Аналитични работни характеристики

„Хематоксилин кристал. (C.I.75290)“ оцветява и следователно визуализира биологични структури, както е описано в главите „Резултат“ на настоящите инструкции за употреба. Продуктът трябва да се използва само от упълномощени и квалифицирани лица, това включва, освен другите неща, подготовка на пробите и реагентите, боравене с пробите, хистологична обработка, решения по отношение на подходящите контроли и други.

Аналитичните характеристики на продукта са потвърдени чрез тестване на всяка производствена партида.

Аналитичните характеристики са потвърдени за следните оцветявания по отношение на специфичност, чувствителност и повтаряемост на продукта на ниво 100 %:

	Специ- фичност между тестовете	Чувстви- телност между тестовете	Специ- фичност в рамките на теста	Чувстви- телност в рамките на теста
Цитологично оцветяване				
Ядра	20/20	20/20	7/7	7/7
Цитоплазма цианофилни (базофилни)	20/20	20/20	7/7	7/7
Цитоплазма еозинофилни (ацидофилни)	20/20	20/20	7/7	7/7
Еритроцити	20/20	20/20	7/7	7/7
Микроорганизми	20/20	20/20	7/7	7/7
Оцветяване с Н и Е				
Ядра	20/20	20/20	7/7	7/7
Цитоплазма	20/20	20/20	7/7	7/7
Междуклетъчни вещества	20/20	20/20	7/7	7/7
Еритроцити	20/20	20/20	7/7	7/7

Аналитични работни резултати

Данните в рамките на теста (извършени върху една и съща партида) и между тестовете (извършени върху различни партиди) посочват броя правилно оцветени структури спрямо броя на извършените тестове.

Резултатите на тази оценка на работните характеристики потвърждават че продуктът е подходящ за предназначението и функционира надеждно.

Диагностика

Диагнозите следва да се поставят само от упълномощен и квалифициран персонал.

Трябва да се използва валидна номенклатура.

Този метод може да се използва допълнително в диагностиката при хора.
Трябва да се подберат и извършат допълнителни изследвания в съответствие с признати методи.
При всяко приложение трябва да се използват подходящи контроли, за да се избегне неправилен резултат.

Съхранение

Съхранявайте Хематоксилин кристал. (C.I.75290) - за микроскопия при +2 °C до +30 °C.

Срок на годност

Хематоксичен кристал. (C.I.75290) - за микроскопия може да се използва до посочената дата на срок на годност.

След първото отваряне на бутилката съдържанието може да се използва до посочената дата на срок на годност, когато се съхранява при +2 °C до +30 °C.

Бутилките трябва винаги да се съхраняват плътно затворени.

Допълнителни инструкции

Само за професионална употреба

За да се избегнат грешки приложението трябва да се извършва самоотквалифициран персонал.
Трябва да се следват националните указания за осигуряване на безопасност и качество при работа.
Трябва да се използват микроскопи със стандартно оборудване.

Защита от инфекция

Трябва да се вземат ефективни мерки за защита срещу инфекция в съответствие с лабораторните указания.

Инструкции за изхвърляне

Опаковката трябва да се изхвърли в съответствие с актуалните указания за изхвърляне. Използваните разтвори и разтворите с изтекъл срок на годност трябва да се изхвърлят като специален отпадък в съответствие с местните указания. Информация за изхвърлянето може да се получи от бързия линк „Съвети за изхвърляне на продукти за микроскопия“ от www.microscopy-products.com. В рамките на ЕС е в сила приложимият понастоящем РЕГЛАМЕНТ (ЕК) № 1272/2008 за класификация, обозначаване и опаковане на вещества и смеси, поправящ и заместващ Директиви 67/548/ЕИО и 1999/45/ЕК, и поправящ Регламент (ЕК) № 1907/2006.

Спомагателни реагенти

Кат. №	1.00063	Оцетна киселина (ледена) 100% безводна, ХЧ EMSURE® ACS,ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.00316	Солна киселина 25% ХЧ EMSURE®	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.00579	DPX Ново неводна среда за заливка при микроскопия	500 ml
Кат. №	1.00974	Етанол денатуриран със около 1% етилметилкетон ХЧ EMSURE®	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.01047	Алуминиевокалиев сулфат додекахидрат ХЧ EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Кат. №	1.02439	Еозин Y - 0.5% разтвор в алкохол за микроскопия	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.03981	M-FIX® фиксатор за цитодиагнози	100 ml, 1 l
Кат. №	1.04699	Имерсионно масло за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 100 ml, 500 ml
Кат. №	1.05174	Хематоксилин разтвор модифициран по Gill-III за микроскопия	500 ml, 1 l, 2,5 l
Кат. №	1.05175	Хематоксилин разтвор модифициран по Gill-II за микроскопия	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.06329	Натриев хидрогенкарбонат ХЧ EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Кат. №	1.06525	Натриев йодат ХЧ EMSURE®	100 g
Кат. №	1.06887	Разтвор на Papanicolaou 2b Orange II разтвор за цитология	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.06888	Разтвор на Papanicolaou 2a Orange G разтвор (OG6) за цитология	500 ml, 1 l, 2,5 l
Кат. №	1.07961	Entellan™ new бърз среда за заливка за микроскопия	100 ml, 500 ml, 1 l
Кат. №	1.08298	Ксилол (изомерна смес) за хистология	4 l
Кат. №	1.09016	Neo-Mount™ безводна среда за микроскопия	100-ml бутилка за накапване, 500 ml
Кат. №	1.09271	Разтвор на Papanicolaou 3a полихроматичен разтвор EA 31 за цитология	500 ml, 2,5 l
Кат. №	1.09272	Разтвор на Papanicolaou 3b полихроматичен разтвор EA 50 за цитология	500 ml, 1 l, 2,5 l
Кат. №	1.09621	Етиленгликол ХЧ EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Кат. №	1.09843	Neo-Clear™ (заместител на ксилол) за микроскопия	5 l
Кат. №	1.09844	Еозин Y - 0.5% воден разтвор за микроскопия	1 l, 2,5 l
Кат. №	1.17081	Еозин Y - 1% разтвор в алкохол за микроскопия	1 l
Кат. №	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Класификация на рисковете

Кат. № 1.04302
Моля, спазвайте класификацията на рисковете, отпечатана на етикета, и информацията, дадена в листа с данни за безопасност. Листът с данни за безопасност може да се намери в уебсайта и при поискване.

Лифе Сциенце подразделение на Merck функционира като MilliporeSigma в САЩ и Канада.

© 2024 Merck KGaA, Дармшат, Германия и/или техните филиали. Всички права запазени. Merck и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Дармшат, Германия. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки може да се намери в публично достъпните източници.

Основни компоненти на продукта

Кат. № 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
загуба при сушене макс. 10 %

Обща забележка

Ако по време на използването на това изделие или в резултат на употребата му възникне сериозен инцидент, моля, съобщете за него на производителя и/или на неговия упълномощен представител и на Вашия национален орган.

Литература

- Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluoro-chromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
- Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
- Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

P264: Да се измие кожата старателно след употреба.

P280: Използвайте предпазни очила/ предпазна маска за лице.

P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

P337 + P313: При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/ помощ.

Хронология на редакциите

Версия	Коментар за модификацията
2024-Jul-18	Първоначална версия с въвеждането на хронология на редакциите



Направете справка в инструкциите за употреба



Производител



Каталожен номер



Код на партида



Внимание, направете справка в придружаващите документи



Срок на годност ГГГГ-ММ-ДД



Ограничение за температура

Status: 2024-Jul-18



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Mikroszkópia

Hematoxinil, kristályos
(C.I. 75290)

mikroszkópiai célra

Csak professzionális használatra

IVD In vitro diagnosztikai orvostechikai eszköz



Rendeltetés

Ez a "Hematoxinil, kristályos (C.I. 75290) - mikroszkópiai célra" embergyógyászati sejtdiagnózisra használatos és humán eredetű mintaanyag szövettani és citológiai vizsgálatára szolgál. Ez olyan színezőoldat készítésére szolgáló száraz színező festék, amely termékínálatunk más *in vitro* diagnosztikai termékeivel együtt használva diagnosztikai célokra értékelhetővé teszi a célstruktúrákat (rögzítés, beágyazás, a fenti hematoxylin oldattal történő színezés, kontrasztszínezés, felrakás útján) hisztológiai és citológiai mintaananyagokban.

Nem színezett struktúrák viszonylag alacsony kontrasztúak és fénymikroszkópban rendkívül nehezen megkülönböztethetőek. Ilyen esetekben a színező oldatokkal létrehozott képek segítik az engedélyezett és képzett vizsgálót az alak és a struktúrák jobb meghatározásában. További vizsgálatokat kell végezni elismert, érvényes módszerek szerint, definitív diagnózis felállítása céljából.

Ez a használat előtt további előkészítést igénylő színezőoldat, amely kizárólagosan célstruktúrák áttekintő színezésére szolgál a sejt- és szövetkomponensek megkülönböztetésére, amint ismertetett az "Eredmény" c. fejezetben. Specifikusabb alkalmazásokhoz ajánljuk a Hematoxiniloldat, Gill-II szerint módosítva (kat. sz. 1.05175), a Hematoxiniloldat, Gill-III szerint módosítva (kat. sz. 1.05174), a Mayer-féle hemalumoldat mikroszkópiai célra (kat. sz. 1.09249) vagy a Papanicolaou-oldat 1b (hematoxinil oldat S) cytológiai célra (kat. sz. 1.09254).

Reagens

Kat. sz. 1.04302
Hematoxinil, kristályos (C.I. 75290) 25 g, 100 g, 1 kg
mikroszkópiai célra
Színindex sz.: 75290

Szintén szükséges:

Kat. sz.	1.09621	Etilénglikol EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. sz.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Kat. sz.	1.00974	Etanol kb. 1% etil-metil-ketonnal denaturált, EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.01047	Alumínium-kálium-szulfát-dodekahidrárt EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. sz.	1.06525	Nátrium-jodát EMSURE®	100 g
Kat. sz.	1.00063	Jégecet (100%-os ecetsav) vízmentes, EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.00316	Sósav, 25%-os EMSURE®	1 l, 2,5 l

Reagens-előkészítés

Gill-féle hematoxinil oldat

Kb. 1000 ml oldat elkészítéséhez keverje össze az alábbiakat:

Etilén-glikol / desztillált víz oldat	
Etilénglikol	250 g
Desztillált víz	730 ml
keverve és feloldva	

Festési oldat

Hematoxinil, kristályos (C.I. 75290)	2 g
Nátrium-jodát	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
feloldva a fenti etilén-glikol / desztillált víz oldatban	
100%-os ecetsav	20 ml
ezután Keverje 1 óráig szobahőmérsékleten. Szűrje le használat előtt.	

Harris-féle hematoxinil oldat

Kb. 1000 ml oldat elkészítéséhez keverje össze az alábbiakat:

Hematoxinil oldat

Hematoxinil, kristályos (C.I. 75290)	5 g
Ethanol	50 ml
oldja fel vízfürdőn melegítve	

Alum oldat

Alumínium-kálium-szulfát-dodekahidrárt	100 g
Desztillált víz	950 ml
feloldás keveréssel és melegítéssel	
Adja hozzá a hematoxylin oldatot a forró alaun oldathoz, és melegítse forráspontig. Vegye ki az oldatot a forró helyről.	
Nátrium-jodát	370 mg
hozzáadás keverés közben és lehűtés gyorsan vízfürdőben	
100%-os ecetsav	4 ml
ezután Töltse palackokba és zárja le gyorsan. Szűrje le használat előtt.	

Sósav 0,1 %-os, vizes

Kb. 100 ml oldat elkészítéséhez keverje össze az alábbiakat:

Desztillált víz	100 ml
Sósav, 25%-os	0,4 ml

Papanicolaou-féle színezés

Elv

A citológiai mintákhoz leginkább használt színező eljárás a Papanicolaou-féle technika, és annak rendeltetése barmsejtek színezése citológiai mintákban.

Első lépésben a sejtmagokat színezik progresszív vagy regresszív módon hematoxylin oldattal.

A progresszív hematoxylin színezési eljárásban a színezés végrehajtása megtörténik a végpontig, ezután a tárgylemezt csapvíz alatt kékítik.

A regresszív eljárásban az anyagot túlszínezik és a felesleges színezőoldatot savas öblítő lépésekben távolítják el, amit a kékítő lépés követ.

A sejtmagstruktúrák jobban megkülönböztethetők, és jobban láthatók a regresszív módszerben.

A második színezési lépés citoplazmatikus színezés narancsszínű színezőoldattal, különösen érett és keratinizált sejtek kimutatására. .

A harmadik színezési lépésben az ún. sokszínű oldat használatos, amely eozin, világos zöld SF és Bismarck barna keveréke. A sokszínű oldat használatos a pikkelyes sejtek megkülönböztetésének demonstrálására.

Mintaanyag

Nőgyógyászati és nem nőgyógyászati minták (pl. köpet, vizelet, kenetek finom tüvel leszívott biopsziákból (FNAB), effúziók, öblítések)

Reagens

A Papanicolaous-féle színezékhez szükséges még:

Kat. sz.	1.06887	Papanicolaou-oldat 2b (Orange II. oldat) cytologiai célra	500 ml, 2,5 l
vagy			
Kat. sz.	1.06888	Papanicolaou-oldat 2a (Orange G oldat, OG6) cytologiai célra	500 ml, 1 l, 2,5 l
vagy			
Kat. sz.	1.09271	Papanicolaou-oldat 3a (polikróm oldat EA31) cytologiai célra	500 ml, 2,5 l
vagy			
Kat. sz.	1.09272	Papanicolaou-oldat 3b (polikróm oldat EA50) cytologiai célra	500 ml, 1 l, 2,5 l
vagy			
Kat. sz.	1.06329	Nátrium-hidrogénkarbonát EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Minta-előkészítés

A mintavételt kiképzett személyzetnek kell végrehajtani. Minden mintát a legkorszerűbb technológiával kell kezelni. Minden mintát világosan fel kell címkézni. Megfelelő műszereket kell használni mintavételhez és előkészítéshez. Kövesse a gyártó utasításait az alkalmazásra / használatra vonatkozóan. A megfelelő kisegítő reagens használatakor be kell tartani a megfelelő utasításokat.

Kenetminták rögzítése

Nedves rögzítés azonnal M-FIX® rögzítósprayvel legalább 10 percig vagy nedves rögzítés azonnal 96 %-os etanolban legalább 30 percig. Amikor a kenetek M-FIX® anyaggal rögzítettek, elhagyható a színezés előtti 1 - 4 öblítő lépés növekvő etanolsorozatban.

Reagens-előkészítés

A Papanicolaou-oldat 2a (Orange G oldat, OG6), a Papanicolaou-oldat 2b (Orange II. oldat), a Papanicolaou-oldat 3a (polikróm oldat EA31) és a Papanicolaou-oldat 3b (polikróm oldat EA50) színezésre használt oldatok használatra készek, az oldatok hígítása nem szükséges és az csak a színezési eredmény és a stabilitás rosszabbodását eredményezi. **Ajánlott az oldatok szűrése használatuk előtt.**

1,5 %-os nátrium-hidrogénkarbonát oldat

Kb. 1000 ml oldat elkészítéséhez adja hozzá és oldja fel az alábbiakat:

Nátrium-hidrogénkarbonát	15 g
Desztillált víz	1000 ml

Eljárás

Regresszív színezés a színező cellában

A tárgylemezeket bele kell meríteni az oldatokba és rövid ideig ott mozgatni, az egyszerű bemerítés önmagában nem megfelelő színezési eredményeket ad.

Az individuális színező lépések után hagyni kell a tárgylemezeket jól lecsepegni, az oldatok szükségtelen keresztzennyeződésének elkerülése végett. A megadott időket be kell tartani az optimális színezési eredmény garantálása céljából.

Tárgylemez rögzített kenettel	
Etanol 96 %-os*	10 sec
Etanol 80-os %*	10 sec
Etanol 70-os %*	10 sec
Etanol 50-os %*	10 sec
Desztillált víz	10 sec
Gill-féle hematoxilin oldat	5 perc
vagy Harris-féle hematoxilin oldat	6 perc
Desztillált víz	10 sec
Sósav 0,1 %-os, vizes	10 sec
Desztillált víz	10 sec
1,5 %-os nátrium-hidrogénkarbonát oldat	1 perc
Folyó csapvízben	3 perc
Etanol 70-os %	30 sec
Etanol 80-os %	30 sec
Etanol 96-os %	30 sec
Papanicolaou-oldat 2a (Orange G oldat) vagy Papanicolaou-oldat 2b (Orange II. oldat)	3 perc
Etanol 96-os %	30 sec

Etanol 96-os %	30 sec
Papanicolaou-oldat 3a (polikróm oldat EA31) vagy Papanicolaou-oldat 3b (polikróm oldat EA50)	3 perc
Etanol 96-os %	30 sec
Etanol 96-os %	30 sec
Etanol 100-os %	5 perc
Keverék, amely a következőkből áll: Etanol 100-os % + Neo-Clear™ vagy xilol (1 + 1)	2 perc
Tisztítsa meg Neo-Clear™ vagy xilol.	5 perc
Tisztítsa meg Neo-Clear™ vagy xilol.	5 perc
Rakja fel a Neo-Clear™ anyaggal nedvesített tárgylemezeket Neo-Mount™ használatával vagy a xilollal nedvesített tárgylemezeket pl. Entellan™ new használatával és fedje le üveglappal.	

* Ezek a lépések kihagyhatók, amikor a kenetek rögzítése M-FIX® anyaggal történt.

Dehidratálás (növekvő alkoholsorozatok) és xilol vagy Neo-Clear™ használatával történt tisztítás után a citológiai minták felrakhatók bármilyen vízmentes felrakó szerrel (pl. Entellan™ new, DPX új vagy Neo-Mount™) és fedőüveggel, majd tárolhatók. Immerziós olaj használata javasolt a színezett tárgylemezek elemzésére >40x mikroszkópos nagyítás mellett.

Eredmény

Színezés az alábbival	3a / EA31	3b / EA50
Citoplazma cianofil (bazofil) eozinofil (acidofil) keratinized	kékes-zöldtől zöldig rózsaszín rózsaszín-narancsszínű	kékes-zöld rózsaszín rózsaszín-narancsszínű
Eritrociták	vörös	
Sejtmag	kéktől sötét ibolyáig	
Mikroorganizmusok	szürke-kék	

H&E színezés

Elv

A hematoxylin és eozin (H&E) színezési módszer a leggyakrabban használatos hisztológiai anyagok színezésére. A színezési mechanizmus fizikai-kémiai folyamat.

Az első lépésben a pozitívan töltött nukleáris festék (hematoxylin) kötődik a negatívan töltött sejtmag nukleinsavának negatívan töltött foszfátsoportjához.

A második lépés a kontrasztszínezés negatívan töltött anionos xanthén festékkel (eozin Y, eozin B vagy eritrozin B). Ez kötődik a pozitívan töltött plazmafehérjékhez.

A két módszer megkülönböztethető. A progresszív hematoxylin színezési eljárásban a színezés végrehajtása megtörténik a végpontig, ezután a tárgylemezt csapvíz alatt kékítik. A regresszív eljárásban az anyagot túlszínezik és a felesleges színezőoldatot savas öblítő lépésekben távolítják el, amit a kékítő lépés követ. A sejtmagstruktúrák jobban megkülönböztethetők, és jobban láthatók a regresszív módszerben.

Mintaanyag

Formalinnal rögzített paraffinba beágyazott szövet (3 - 4 µm vastag paraffinmetszetek) metszetei, vagy kriometszetek használatosak kiinduló anyagként.

Reagens

A H&E színezékhez szükséges még:

Kat. sz.	1.09844	Eosin Y, 0,5%-os vizes oldat mikroszkópiai célra	1 l, 2,5 l
vagy			
Kat. sz.	1.02439	Eozin Y, 0,5%-os alkoholos oldat mikroszkópiai célokra	500 ml, 2,5 l
vagy			
Kat. sz.	1.17081	Eozin Y, 1%-os alkoholos oldat mikroszkópiai célokra	1 l

Minta-előkészítés

A mintavételt kiképzett személyzetnek kell végrehajtani. Minden mintát a legkorszerűbb technológiával kell kezelni. Minden mintát világosan fel kell címkézni. Megfelelő műszereket kell használni mintavételhez és előkészítéshez. Kövesse a gyártó utasításait az alkalmazásra / használatra vonatkozóan. A megfelelő kisegítő reagens használatakor be kell tartani a megfelelő utasításokat. Paraffinmentesítse és rehidratálja a paraffinmetszeteket a szokásos módon.

Reagens-előkészítés

Eosin Y, 0,5%-os vizes oldat (kat. sz. 1.09844)
Eozin Y, 0,5%-os alkoholos oldat (kat. sz. 1.02439)
Eozin Y, 1%-os alkoholos oldat (kat. sz. 1.17081)

Az eozinszínezés intenzívebbé tételéhez pl.1,0 ml jégecetet kell 500 ml munkaoldathoz hozzáadni.
A savassá tett munkaoldat kb. 750 mintához elegendő; azonban legkésőbb 14 nap múlva fel kell újítani.
Alkoholos Eozin Y oldatok használatakor rövidebb alkoholsorozatokat (96 %-os etanollal és csak 10 másodperc reakcióidővel kezdve) kell használni az individuális színezési eljárásokban.

Eozin B oldat és eritrozin oldat, 0,5 %-os, vizes

Az elkészítési módszer a megfelelő festék használati utasításában ismertetett.

Eljárás

Paraffinmetszetek regresszív színezése

Színezés a színező cellában

Paraffinmentesítse a hisztológiai tárgylemezeket a szokásos módon, majd rehidratálja csökkenő alkoholsorozatban.
Az individuális színező lépések után hagyni kell a tárgylemezeket jól lecsepegni, az oldatokat szükségtelen keresztszennyeződésének elkerülése végett.
A megadott időket be kell tartani az optimális színezési eredmény garantálása céljából.

Tárgylemez paraffinos résszel	
Desztillált víz	1 perc
Gill-féle hematoxilin oldat vagy Harris-féle hematoxilin oldat	3 perc
Sósav 0,1 %-os, vizes	2 sec
Folyó csapvízben	3 - 5 perc
Eosin Y, 0,5%-os vizes oldat vagy Eozin Y, 0,5%-os alkoholos oldat* vagy Eozin Y, 1%-os alkoholos oldat*	3 perc
Folyó csapvízben	30 sec
Etanol 70-os %	1 perc
Etanol 70-os %	1 perc
Etanol 96-os %	1 perc
Etanol 96-os %	1 perc
Etanol 100-os %	1 perc
Etanol 100-os %	1 perc
Xylene vagy Neo-Clear™	5 perc
Xylene vagy Neo-Clear™	5 perc
Rakja fel a Neo-Clear™ anyaggal nedvesített tárgylemezeket Neo-Mount™ használatával vagy a xilollal nedvesített tárgylemezeket pl.Entellan™ new használatával és fedje le üveglappal.	

* Alkoholos Eozin Y oldatok használatakor rövidebb alkoholsorozatokat (96 %-os etanollal és csak 10 másodperc reakcióidővel kezdve) kell használni az individuális színezési eljárásokban.

Dehidratálás (növekvő alkoholsorozatok) és xilol vagy Neo-Clear™ használatával történt tisztítás után a hisztológiai minták felrakhatók bármilyen vízmentes felrakó szerrel (pl. DPX új, Entellan™ new, Neo-Mount™) és fedőüveggel, majd tárolhatók.
Immerziós olaj használata javasolt a színezett tárgylemezek elemzésére >40x mikroszkópos nagyítás mellett.

Eredmény

Sejtmag	sötétkéktől sötét ibolyáig
Citoplazma, sejtközi anyagok	rózsaszíntől pirosig
Eritrociták	sárgától narancsig

Hibaelhárítás

Citoplazma és kötőszövet-struktúrák gyenge színezése

Az eozinszínezés intenzívebbé tételéhez (pl.jégecet használatával) savasított munkaoldatot kell használni.
Nem savasított oldat használata gyengén színezett citoplazmát és kötőszövet-struktúrákat eredményez, ezért tanácsos követni a megadott reagens-készítési protokollt az optimális színezési eredmény eléréséhez.
A savassá tett munkaoldat kb. 750 mintához elegendő; azonban legkésőbb 14 nap múlva fel kell újítani.

Műszaki megjegyzések

A használt mikroszkóp meg kell feleljen az orvosi diagnosztikai laboratórium követelményeinek.
A frissen készített színező oldatokat használás előtt le kell szűrni.
Feltöltés előtt távolítsa el a többlet immerziós olajat.

Analitikai teljesítményjellemzők

A "Hematoxilin, kristályos (C.I. 75290)" színezi és ezáltal láthatóvá teszi a biológiai struktúrákat, amint ismertetjük ezen Használati utasítás "Eredmény" c. fejezeteiben. Csak engedélyezett és kiképzett személyek hajthatják végre a termék használatát, többek között a minta- és reagens-előkészítését, a mintafeldolgozást, a hisztokezelést, és hozhatnak a megfelelő kontrollokra vonatkozó döntéseket és még sok mást.

A termék analitikai teljesítményét meg kell erősíteni minden termékfürdő ellenőrzésével.

Az alábbi színezésekre 100%-os arányban megerősítést nyert a termék anaitikai teljesítménye a specificitás, érzékenység és reprodukálhatóság vonatkozásában:

	Inter-assay specificitás	Inter-assay érzékenység	Intra-assay specificitás	Intra-assay érzékenység
Citológiai színezés				
Sejtmag	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma cianofil (bazofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma eozinofil (acidofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrociták	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmusok	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E színezés				
Sejtmag	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Sejtközi anyagok	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrociták	20/20	20/20	7/7	7/7

Analitikai teljesítmény eredmények

Intra- (ugyanabban az adagban végrehajtva) és inter-assay (különböző adagokban végrehajtva) adatok megadják a helyesen színezett struktúrák számát a végrehajtott vizsgálatok számának arányában.

Ezen teljesítményértékelés megerősíti, hogy a termék alkalmas a rendeltetés szerinti használatra és megbízhatóan teljesít.

Diagnosztika

Diagnózt csak engedélyezett és kiképzett személyzet készíthet.
Érvényes nomenklatúrákat kell használni.
Ez a módszer kiegészítésként használható a humán diagnosztikában.
További vizsgálatokat kell kiválasztani és bevezetni elismert módszerek szerint.
Megfelelő kontrollokat kell végezni minden alkalmazásnál, a helytelen eredmény elkerülése végett.

Tárolás

Tárolja a Hematoxilin, kristályos (C.I. 75290) - mikroszkópiai célra +2 °C - +30 °C-on.

Élettartam

A Hematoxilin, kristályos (C.I. 75290) - mikroszkópiai célra használható a megadott lejárati ideig.

A palack első felnyitása után a tartalom használható a megadott lejárati ideig, ha a tárolás +2 °C - +30 °C hőmérsékleten történt.

A palackokat mindig szorosan lezárva kell tartani.

További utasítások

Csak professzionális használatra.

Hibák elkerülése végett az alkalmazást csak kiképzett személyzet hajthatja végre.
A munka biztonságára és a minőségbiztosításra vonatkozó országos útmutatókat be kell tartani.
A szabványnak megfelelően felszerelt mikroszkópokat kötelező használni.

Fertőzés elleni védelem

Hatékony intézkedéseket kell tenni a fertőzés elleni védelemre, a laboratóriumi útmutatókkal összhangban.

Megsemmisítési utasítások

A csomagot az aktuális megsemmisítési útmutatókkal összhangban kell megsemmisíteni.
A használt oldatokat, illetve a lejárt szavatossági idejű oldatokat speciális hulladékként kell megsemmisíteni, a helyi útmutatásokkal összhangban.
Megsemmisítésre vonatkozó információ kapható a www.microscopy-products.com oldalról, a "Hints for Disposal of Microscopy Products" (Ötletek mikroszkópiai termékek megsemmisítésére) gyors hivatkozás alatt. Az EU jelenleg érvényes, anyagok és keverékek osztályozására, címkézésére és csomagolására vonatkozó, 1272/2008. sz RENDELETE (EC) van érvényben, amely javítja és hatályon kívül helyezi a 67/548/EEC és 1999/45/EC direktívákat, és javítja az (EC) 1907/2006. sz rendeletet.

Kisegítő reagensek

Kat. sz.	1.00063	Jégecet (100%-os ecetsav) vízmentes, EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.00316	Sósav, 25%-os EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.00579	DPX új nem-vizes rögzítőszersz mikroszkópiai célra	500 ml
Kat. sz.	1.00974	Etanol kb. 1% etil-metil-ketonnal denaturált, EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.01047	Alumínium-kálium-szulfát-dodekahidrát EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. sz.	1.02439	Eozin Y, 0,5%-os alkoholos oldat mikroszkópiai célokra	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.03981	M-FIX® fixálószpray citodiagnosztikai célra	100 ml, 1 l
Kat. sz.	1.04699	Immerziós olaj mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 100 ml, 500 ml
Kat. sz.	1.05174	Hematoxinoldat, Gill-III szerint módosítva mikroszkópiai célra	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.05175	Hematoxinoldat, Gill-II szerint módosítva mikroszkópiai célra	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.06329	Nátrium-hidrogénkarbonát EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. sz.	1.06525	Nátrium-jodát EMSURE®	100 g
Kat. sz.	1.06887	Papanicolaou-oldat 2b (Orange II. oldat) cytologiai célra	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.06888	Papanicolaou-oldat 2a (Orange G oldat, OG6) cytologiai célra	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.07961	Entellan™ new gyorsfedőanyag a mikroszkópiához	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. sz.	1.08298	Xylene (isomerikus elegy) szövettani célokra	4 l
Kat. sz.	1.09016	Neo-Mount™ vízmentes fedőanyag mikroszkópiai célra	100 ml-es csepegtető palackban, 500 ml
Kat. sz.	1.09271	Papanicolaou-oldat 3a (polikróm oldat EA31) cytologiai célra	500 ml, 2,5 l
Kat. sz.	1.09272	Papanicolaou-oldat 3b (polikróm oldat EA50) cytologiai célra	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.09621	Etilénglikol EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. sz.	1.09843	Neo-Clear™ (xilolhelyettesítő) mikroszkópiai célra	5 l
Kat. sz.	1.09844	Eosin Y-solution 0.5% aqueous mikroszkópiai célra	1 l, 2,5 l
Kat. sz.	1.17081	Eozin Y, 1%-os alkoholos oldat mikroszkópiai célokra	1 l
Kat. sz.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Veszélyminősítés

Kat. sz. 1.04302

Kérjük, vegye figyelembe a címkére nyomtatott veszélyminősítést és a biztonsági adatlapon megadott információt.
A biztonsági adatlap megtalálható a webhelyen, illetve megkapható kérésre.

A termék fő összetevői

Kat. sz. 1.04302

C.I. 75290

 $C_{16}H_{14}O_6$

M = 302,29 g/mol

száritási veszteség max. 10 %

Általános megjegyzés

Ha ezen eszköz használata során vagy használata eredményeképpen súlyos incidens történt, kérjük, jelentse a gyártónak és/vagy jóváhagyott képviselőnek, illetve az országos hatóságoknak.

Irodalom

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Súlyos szemirritációt okoz.

P264: A használatot követően a bőrt alaposan meg kell mosni.

P280: Szemvédő/ arcvédő használata kötelező.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P337 + P313: Ha a szemirritáció nem múlik el: orvosi ellátást kell kérni.

Felülvizsgálati előzmények

verzió	Módosítással kapcsolatos megjegyzé
2024-Jul-18	A Felülvizsgálati előzmények bevezetésével készült első változat



Nézze meg a használati utasítást



Gyártó



Katalógus szám



Tételkód



Vigyázat, olvassa el a mellékelt dokumentumokat



Lejáratási idő: ÉÉÉÉ-HH-NN



Hőmérséklet-tartomány

Status: 2024-Jul-18

A Merck Life Science üzletága az USA-ban és Kanadában MilliporeSigma néven működik.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Németország és/vagy leányvállalatai. Minden jog fenntartva. Merck és Sigma-Aldrich a Merck KGaA, Darmstadt, Németország, védjegyei. Minden más védjegy megfelelő tulajdonosa birtokában van. A védjegyekre vonatkozó információ rendelkezésre áll nyilvánosan elérhető forrásokból.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Mikroskopija

Hematoksilīna, kristālisks (C.I.75290)

mikroskopiskai izmeklēšanai

Tikai profesionālai lietošanai

IVD *in vitro* diagnostikas medicīniska ierīce



Paredzētais pielietojums

Šo "Hematoksilīna, kristālisks (C.I.75290) - mikroskopiskai izmeklēšanai" izmanto cilvēka šūnu diagnostikā, lai veiktu cilvēka izcelsmes parauga materiāla histoloģisko un citoloģisko izmeklēšanu. Tā ir sausa krāsviela, ko izmanto krāsošanas šķiduma pagatavošanai, kas kopā ar citiem mūsu piedāvātajiem *in vitro* diagnostikas izstrādājumiem nodrošina mērķa struktūru izvērtēšanu diagnostiskos nolūkos (veicot fiksāciju, ieguldīšanu, krāsošanu ar iepriekš minēto hematoksilīna šķidumu, kontrastkrāsošanu, nostiprināšanu) hematoloģiskajos un citoloģiskajos parauga materiālos.

Nekrāsotām struktūrām ir relatīvi neliels kontrasts, un tās ir ārkārtīgi grūti atšķirt gaismas mikroskopā. Šādos gadījumos ar krāsošanas šķidumiem iekrāsoti preparāti palīdz pilnvarotam un kvalificētam speciālistam labāk noteikt formu un struktūru. Lai noteiktu galīgo diagnozi, jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas un validētas metodes.

Šis krāsošanas šķidums, kuram pirms lietošanas nepieciešama papildu sagatavošana, nodrošina tikai pārskata krāsošanu mērķa struktūru diferenciāldiagnostikai šūnu un audu komponentos, kas norādīti turpmākajā sadaļā "Rezultāts". Specifiskākam pielietojumam ieteicams izmantot Pēc Gila II modificēts hematoksilīna šķidums, kat. nr. 1.05175, Pēc Gila III modificēts hematoksilīna šķidums, kat. nr. 1.05174, Mayer's hemalum šķidums mikroskopiskai izmeklēšanai, kat. nr. 1.09249 vai Papanicolaou šķiduma 1b hematoksilīna šķidumu S citoloģiskai izmeklēšanai, kat. nr. 1.09254.

Reāģenti

Kat. nr. 1.04302

Hematoksilīna, kristālisks (C.I.75290)
mikroskopiskai izmeklēšanai

25 g, 100 g, 1 kg

Krāsu indeksa Nr.: 75290

Papildus nepieciešams:

Kat. nr.	1.09621	Etilēnglikols analīzei EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. nr.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Kat. nr.	1.00974	Denaturēts etanols ar apm. 1% metiletilketona analīzei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.01047	Alumīnija kālija sulfāta dodekahidrāts analīzei EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. nr.	1.06525	Nātrija jodāts analīzei EMSURE®	100 g
Kat. nr.	1.00063	100% Bezūdens etiķskābe (ledus) analīzei EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.00316	25% Sālsskābe analīzei EMSURE®	1 l, 2,5 l

Reāģentu sagatavošana

Hematoksilīna šķidums saskaņā ar Gill

Lai sagatavotu apm. 1000 ml šķiduma, samaisiet šādas sastāvdaļas:

Etilēnglikola un destilēta ūdens šķidums

Etilēnglikols	250 g
Destilēts ūdens	730 ml
sajauciet un izšķīdiniet	

Krāsošanas šķidums

Hematoksilīna, kristālisks (C.I.75290)	2 g
Nātrija jodāts	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
izšķīdiniet iepriekš minētajā etilēnglikola un destilēta ūdens šķīdumā	
100% Etiķskābe	20 ml
pievienojiet. Maisiet 1 stundu istabas temperatūrā. Filtrējiet pirms lietošanas.	

Hematoksilīna šķidums saskaņā ar Harris

Lai sagatavotu apm. 1000 ml šķiduma, samaisiet šādas sastāvdaļas:

Hematoksilīna šķidums

Hematoksilīna, kristālisks (C.I.75290)	5 g
Etanols	50 ml
karsējot izšķīdiniet ūdens peldē	

Alauns šķidums

Alumīnija kālija sulfāta dodekahidrāts	100 g
Destilēts ūdens	950 ml
izšķīdiniet sajaucot un karsējot	
Maisot pievienojiet hematoksilīna šķidumu karstam alauna šķīdumam un uzkarsējiet līdz vārīšanās brīdim. Nopemiet šķidumu no karsēšanas vietas.	
Nātrija jodāts	370 mg
pievienojiet maisot un ātri atdzesējiet ūdens peldē	
100% Etiķskābe	4 ml
pievienojiet. Filtrējiet pudelēs un rūpīgi noslēdziet. Filtrējiet pirms lietošanas.	

0,1% sālsskābes ūdens šķidums

Lai sagatavotu apm. 100 ml šķiduma, samaisiet šādas sastāvdaļas:

Destilēts ūdens	100 ml
25% Sālsskābe	0,4 ml

Papanicolaou krāsošana

Principi

Visbiežāk izmantotā citoloģisko paraugu krāsošanas procedūra ir krāsošana pēc Papanicolaou tehnikas, un tā ir paredzēta eksfoliēto šūnu krāsošanai citoloģiskajos paraugos.

Pirmā soļa laikā šūnas kodolus krāso ar hematoksilīna šķidumu, izmantojot progresīvo vai regresīvo krāsošanas metodi.

Veicot progresīvo krāsošanu ar hematoksilīnu, krāsošanu izpilda līdz procesa beigām un pēc tam priekšmetstiklu zilina krāna ūdenī.

Veicot regresīvo krāsošanu, materiālu krāso ar pārmērīgu krāsošanas šķiduma daudzumu un lieko krāsošanas šķidumu atdala, skalojot ar skābi, pēc tam veic zilināšanas soli.

Kodola struktūras labāk diferencējas un ir labāk saskatāmas, izmantojot regresīvo krāsošanas metodi.

Otrā krāsošanas soļa laikā krāso citoplazmu ar oranžu krāsošanas šķidumu, lai īpaši izceltu nobriedušās un keratinizētās šūnas.

Trešajā krāsošanas solī izmanto tā saukto polihromatisko šķidumu – eozīna, gaiši zaļā SF un Bismarka brūnā maisījumu. Polihromatisko šķidumu izmanto plakanā epitēlija šūnu diferenciācijas atspoguļošanai.

Parauga materiāls

Ginekoloģiski un neginekoloģiski paraugi, piemēram, krēpas, urīns, iztriepes no tievās adatas aspirācijas biopsijām (TAAB), izsvīdumi, skalojumi

Reaģenti

Papanicolaou krāsošanai papildus nepieciešams:

Kat. nr.	1.06887	Papanicolaou šķīduma 2b oranžā II šķīdums citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
vai			
Kat. nr.	1.06888	Papanicolaou šķīduma 2a oranžā G šķīdums (OG6) citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 1 l, 2,5 l
vai			
Kat. nr.	1.09271	Papanicolaou šķīduma 3a polihromatiskais šķīdums EA 31 citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
vai			
Kat. nr.	1.09272	Papanicolaou šķīduma 3b polihromatiskais šķīdums EA 50 citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 1 l, 2,5 l
vai			
Kat. nr.	1.06329	Nātrija hidrogēnkarbonāts analīzei EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Parauga sagatavošana

Paraugs jāpaņem kvalificētam personālam.

Strādājot ar visiem paraugiem, jāizmanto modernākās tehnoloģijas.

Visi paraugi skaidri jāmarķē.

Paraugu paņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Ievērojiet ražotāja norādījumus par pielietojumu/lietošanu.

Ja izmantojat atbilstošus papildu reaģentus, jāievēro atbilstošā lietošanas instrukcija.

Iztriepes paraugu fiksācija

Tūlītēja mitrā fiksācija ar izsmidzināmu fiksācijas līdzekli M-FIX® 10 min. vai tūlītēja mitrā fiksācija 96% etilspirtā 30 min.

Ja iztriepes fiksē ar M-FIX®, pirms krāsošanas var izlaist 1.–4. skalošanas soli ar etilspirtu pieaugošā koncentrācijā.

Reaģentu sagatavošana

Papanicolaou šķīduma 2a oranžā G šķīdums (OG6), Papanicolaou šķīduma 2b oranžā II šķīdums, Papanicolaou šķīduma 3a polihromatiskais šķīdums EA 31 un Papanicolaou šķīduma 3b polihromatiskais šķīdums EA 50 krāsošanai ir gatavi lietošanai, šķīdumu atšķaidīšana nav nepieciešama un tikai pasliktina krāsošanas rezultātu un krāsojuma stabilitāti.

Pirms lietošanas šķīdumus ieteicams filtrēt.

1,5% nātrija hidrogēnkarbonāta šķīdums

Lai sagatavotu apm. 1000 ml šķīduma, pievienojiet un izšķīdiniet šādas sastāvdaļas:

Nātrija hidrogēnkarbonāts	15 g
Destilēts ūdens	1000 ml

Procedūra

Regresīvā krāsošana krāsošanas traukā

Priekšmetstiklīni jāiemērc un mazliet jāpakustina šķīdumos, tikai iemērķšana nenodrošina atbilstošus krāsošanas rezultātus.

Pēc katras krāsošanas darbības priekšmetstiklīņiem jāļauj pilnībā notecēt, lai nepieļautu nevajadzīgu savstarpēju piesārņojumu ar šķīdumiem.

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstiklīņš ar fiksētu iztriepi	
96% Etanols*	10 sek.
80% Etanols*	10 sek.
70% Etanols*	10 sek.
50% Etanols*	10 sek.
Destilēts ūdens	10 sek.
Hematoksilīna šķīdums saskaņā ar Gill vai	5 min.
Hematoksilīna šķīdums saskaņā ar Harris	6 min.
Destilēts ūdens	10 sek.
0,1% sāļsskābes ūdens šķīdums	10 sek.
Destilēts ūdens	10 sek.
1,5% nātrija hidrogēnkarbonāta šķīdums	1 min.
Tekošs krāna ūdens	3 min.
70% Etanols	30 sek.
80% Etanols	30 sek.
96% Etanols	30 sek.
Papanicolaou šķīduma 2a oranžā G šķīdums vai	3 min.
Papanicolaou šķīduma 2b oranžā II šķīdums	
96% Etanols	30 sek.

96% Etanols

Papanicolaou šķīduma 3a polihromatiskais šķīdums EA 31 vai

Papanicolaou šķīduma 3b polihromatiskais šķīdums EA 50

30 sek.

3 min.

96% Etanols

96% Etanols

100% Etanols

Maisījums, kas sastāv no: 100% etanols + Neo-Clear™ vai ksilēns (1 + 1)

Dzidrināt ar Neo-Clear™ vai ksilēns.

Dzidrināt ar Neo-Clear™ vai ksilēns.

30 sek.

5 min.

2 min.

5 min.

5 min.

Nostipriniet Neo-Clear™ samitrinātos priekšmetstiklīņus ar Neo-Mount™ vai ksilēnā samitrinātos priekšmetsiklīņus ar, piem., Entellan™ new un pārklājiet ar segstiklīņu.

* Šos soļus var izlaist, ja iztriepes ir fiksētas ar M-FIX®.

Pēc dehidratācijas (spirta atšķaidījumu sērija augošā koncentrācijā) un dzidrināšanas ar ksilēnu vai Neo-Clear™, citoloģiskos paraugus var nostiprināt ar ūdeni nesaturošiem nostiprināšanas līdzekļiem (piem., Entellan™ new, DPX new vai Neo-Mount™), pārklāt ar segstiklīņu un pēc tam uzglabāt.

Krāsoto priekšmetstiklīņu analīzei ar mikroskopa palielinājumu > 40 x ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Rezultāts

Krāsošana ar	3a / EA 31	3b / EA 50
Citoplazma cianofila (bazofila) eozinofila (acidofila) keratinizēta	zilganzaļa līdz zaļa rozā rozīgi-oranža	zilganzaļa rozā rozīgi-oranža
Eritrocīti	sarkani	
Kodoli	zili līdz tumši violeti	
Mikroorganismi	pelēkzili	

H&E krāsošana

Princips

Krāsošana ar hematoksilīnu un eozīnu (H&E) ir visbiežāk izmantotā metode histoloģiskā materiāla krāsošanai. Krāsošanas mehānisma pamatā ir fizikāli-ķīmisks process.

Pirmā soļa laikā pozitīvi lādētā kodola krāsviela (hematoksilīns) piesaistās negatīvi lādētajām nukleīnskābju fosfāta grupām šūnas kodolā.

Otrais solis ir kontrastkrāsošana ar negatīvi lādētu anjonu ksatēna krāsvielu (eozīns Y, eozīns B vai eritrozīns B). Tā piesaistās pozitīvi lādētajām plazmas olbaltumvielām.

Pieejamas divas metodes. Veicot progresīvo krāsošanu ar hematoksilīnu, krāsošanu izpilda līdz procesa beigām un pēc tam priekšmetstiklīņu zilina krāna ūdenī. Veicot regresīvo krāsošanu, materiālu krāso ar pārmērīgu krāsošanas šķīduma daudzumu un lieko krāsošanas šķīdumu atdala, skalojot ar skābi, pēc tam veic zilināšanas soli.

Kodola struktūras labāk diferencējas un ir labāk saskatāmas, izmantojot regresīvo krāsošanas metodi.

Parauga materiāls

Sākuma materiāli ir formalinā fiksētu audu griezumi, kas ieguldīti parafinā (3 – 4 μm biezi parafīna griezumi), vai kriogriezumi.

Reaģenti

H&E krāsošanai papildus nepieciešams:

Kat. nr.	1.09844	0,5% Eozīna Y ūdens šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l, 2,5 l
vai			
Kat. nr.	1.02439	0,5% Eozīna Y spirta šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
vai			
Kat. nr.	1.17081	1% Eozīna Y spirta šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l

Parauga sagatavošana

Paraugs jāpaņem kvalificētam personālam.

Strādājot ar visiem paraugiem, jāizmanto modernākās tehnoloģijas.

Visi paraugi skaidri jāmarķē.

Paraugu paņemšanai un sagatavošanai jāizmanto piemēroti instrumenti.

Ievērojiet ražotāja norādījumus par pielietojumu/lietošanu.

Ja izmantojat atbilstošus papildu reaģentus, jāievēro atbilstošā lietošanas instrukcija.

Deparafinizējiet un rehidratējiet parafīna griezumus, izmantojot standarta metodi.

Reaģentu sagatavošana

0,5% Eozīna Y ūdens šķīdums (kat. nr. 1.09844)
0,5% Eozīna Y spirta šķīdums (kat. nr. 1.02439)
1% Eozīna Y spirta šķīdums (kat. nr. 1.17081)

Lai pastiprinātu eozīna krāsojumu, piemēram, 500 ml darba šķīduma jāpievieno 1,0 ml ledus etiķskābes.

Paskābinātā darba šķīduma pietiek aptuveni 750 paraugiem, tomēr tas ne vēlāk kā pēc 14 dienām jāatjauno.

Ja tiek izmantots eozīna Y spirta šķīdums, atsevišķās krāsošanas procedūrās jāpielieto īsāka spirta atšķaidījumu sērija (sākot ar 96% etilspirtu un reakciju veicot tikai 10 sekundes).

0,5% eozīna B un eritrozīna ūdens šķīdums

Sagatavošanas metode ir aprakstīta attiecīgās krāsvielas lietošanas instrukcijā.

Procedūra

Parafīna griezumu regresīvā krāsošana

Krāsošana krāsošanas traukā

Deparfinizējiet histoloģisko paraugu priekšmetstikliņus, izmantojot standarta metodi, un rehidratējiet ar spirta atšķaidījumu sēriju dilstošā koncentrācijā.

Pēc katras krāsošanas darbības priekšmetstikliņiem jāļauj pilnībā notecēt, lai nepieļautu nevajadzīgu savstarpēju piesārņojumu ar šķīdumiem.

Lai nodrošinātu optimālu krāsošanas rezultātu, jāievēro norādītie laiki.

Priekšmetstikliņš ar parafīna griezumu	
Destilēts ūdens	1 min.
Hematoksilīna šķīdums saskaņā ar Gill vai Hematoksilīna šķīdums saskaņā ar Harris	3 min.
0,1% sāļsskābes ūdens šķīdums	2 sek.
Tekošs krāna ūdens	3 - 5 min.
0,5% Eozīna Y ūdens šķīdums vai 0,5% Eozīna Y spirta šķīdums* vai 1% Eozīna Y spirta šķīdums*	3 min.
Tekošs krāna ūdens	30 sek.
70% Etanols	1 min.
70% Etanols	1 min.
96% Etanols	1 min.
96% Etanols	1 min.
100% Etanols	1 min.
100% Etanols	1 min.
Ksilēns vai Neo-Clear™	5 min.
Ksilēns vai Neo-Clear™	5 min.
Nostipriniet Neo-Clear™ samitrinātos priekšmetstikliņus ar Neo-Mount™ vai ksilēnā samitrinātos priekšmetsikliņus ar, piem., Entellan™ new un pārklājiet ar segstikliņu.	

* Ja tiek izmantots eozīna Y spirta šķīdums, atsevišķās krāsošanas procedūrās jāpielieto īsāka spirta atšķaidījumu sērija (sākot ar 96% etilspirtu un reakciju veicot tikai 10 sekundes).

Pēc dehidratācijas (spirta atšķaidījumu sērija augošā koncentrācijā) un dzidrināšanas ar ksilēnu vai Neo-Clear™ histoloģiskos paraugus var nostiprināt ar ūdeni nesaturošiem nostiprināšanas līdzekļiem (piem., DPX new, Entellan™ new, Neo-Mount™), pārklāt ar segstikliņu un pēc tam uzglabāt.

Krāsoto priekšmetstikliņu analīzei ar mikroskopa palielinājumu > 40 x ieteicams izmantot imersijas eļļu.

Rezultāts

Kodoli	tumši zili līdz tumši violeti
Citoplazma, starpšūnu vielas	rozā līdz sarkanas
Eritrocīti	dzeltenīgi līdz oranži

Traucējumu novēršana

Citoplazmas un saistaudu struktūru vāja iekrāsošanās

Eozīna krāsojuma pastiprināšanai jāizmanto paskābināts darba šķīdums (izmantojot, piemēram, ledus etiķskābi).

Nepaskābināta šķīduma izmantošana citoplazmu un saistaudu struktūras iekrāso vājāk, tāpēc ir ieteicams ievērot norādīto reaģentu sagatavošanas protokolu, lai sasniegtu optimālu krāsošanas rezultātu.

Paskābinātā darba šķīduma pietiek aptuveni 750 paraugiem, tomēr tas ne vēlāk kā pēc 14 dienām jāatjauno.

Tehniskas piezīmes

Izmantotajam mikroskopam jāatbilst medicīniskās diagnostiskās laboratorijas prasībām.

Svaigi sagatavotie krāsošanas šķīdumi pirms lietošanas jāfiltrē.

Pirms uzpildīšanas notīriet imersijas eļļas atliekas.

Analītiskās veikspējas raksturojums

“Hematoksilīna, kristālīks (C.I.75290)” nokrāso un tādējādi vizualizē bioloģiskās struktūras, kā aprakstīts šīs lietošanas instrukcijas nodaļās “Rezultāts”. Šo izstrādājumu drīkst lietot tikai pilnvarotas un kvalificētas personas; lietošana ietver (bet ne tikai) paraugu un reaģentu sagatavošanu, rīkošanos ar paraugu, histoloģisko paraugu apstrādi, lēmumu pieņemšanu par piemērotu kontroļu uzmantošanu u.c.

Izstrādājuma analītiskā veikspēja ir apstiprināta, pārbaudot katru izstrādājuma sēriju.

Turpmāk minētajām krāsvielām apstiprinātais izstrādājuma analītiskās veikspējas specifiskums, jutība un atkārtojamība ir 100%:

	Specifiskums starp analīzes sērijām	Jutīgums starp analīzes sērijām	Specifiskums vienā analīzes sērijā	Jutīgums vienā analīzes sērijā
Citoloģiskā krāsošana				
Kodoli	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma cianofila (bazofila)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma eozinofila (acidofila)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocīti	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganismi	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E krāsošana				
Kodoli	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Starpšūnu vielas	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocīti	20/20	20/20	7/7	7/7

Analītiskās veikspējas rezultāti

Datos, kas iegūti, analizējot vienu analīzes sēriju un dažādas analīzes sērijas, norādīts pareizi iekrāsoto struktūru skaits attiecībā pret veikto analīžu skaitu.

Šie veikspējas novērtējuma rezultāti apstiprina, ka izstrādājums ir piemērots paredzētajam pielietojumam un tā darbība ir uzticama.

Diagnostika

Diagnoze jānosaka tikai pilnvarotam un kvalificētam personālam.

Jāizmanto apstiprināta terminoloģija.

Šo metodi var izmantot kā papildmetodi diagnozes noteikšanai cilvēkiem.

Jāizvēlas un jāveic papildu izmeklējumi, izmantojot atzītas metodes.

Katrā lietošanas reizē jāizmanto piemērotas kontroles, lai izvairītos no nepareiza rezultāta iegūšanas.

Uzglabāšana

Hematoksilīna, kristālīks (C.I.75290) - mikroskopiskai izmeklēšanai uzglabājiet no +2°C līdz +30°C temperatūrā.

Derīguma termiņš

Hematoksilīna, kristālīks (C.I.75290) - mikroskopiskai izmeklēšanai drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam.

Pēc pirmās pudeles atvēršanas tās saturu drīkst lietot līdz norādītajam derīguma termiņam, ja to uzglabā no +2°C līdz +30°C temperatūrā.

Pudeles vienmēr jāuzglabā cieši noslēgtas.

Papildu norādījumi

Tikai profesionālai lietošanai.

Lai izvairītos no kļūdām, lietot drīkst tikai kvalificēts personāls.

Jāievēro valsts norādījumi par darba drošību un kvalitātes nodrošināšanu.

Jālieto mikroskopi ar standartam atbilstošu aprikojumu.

Aizsardzība pret infekcijām

Jāizmanto efektīvi pasākumi aizsardzībai pret infekcijām atbilstoši laboratorijas vadlīnijām.

Norādījumi par likvidēšanu

Iepakojums jālikvidē atbilstoši spēkā esošajām vadlīnijām par likvidēšanu. Izlietotie šķīdumi un šķīdumi, kuriem beidzies derīguma termiņš, jālikvidē kā speciālie atkritumi atbilstoši vietējām vadlīnijām. Informāciju par likvidēšanu skatiet tīmekļa vietnē www.microscopy-products.com, noklikšķinot uz ātrās saites „Hints for Disposal of Microscopy Products” (Ieteikumi mikroskopiskai izmeklēšanai izmantoto izstrādājumu likvidēšanai). ES šobrīd ir spēkā REGULA (EK) Nr. 1272/2008 par vielu un maisījumu klasificēšanu, marķēšanu un iepakojšanu un ar ko groza un atceļ Direktīvas 67/548/EEK un 1999/45/EK un groza Regulu (EK) Nr. 1907/2006.

Papildu reaģenti

Kat. nr.	1.00063	100% Bezūdens etiķskābe (ledus) analīzei EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.00316	25% Sālsskābe analīzei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.00579	DPX new ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml
Kat. nr.	1.00974	Denaturēts etanols ar apm. 1% metiletilketona analīzei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.01047	Alumīnija kālija sulfāta dodekahidrāts analīzei EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. nr.	1.02439	0,5% Eozīna Y spirta šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.03981	M-FIX® izsmidzināmo fiksācijas līdzekli citoloģiskai izmeklēšanai	100 ml, 1 l
Kat. nr.	1.04699	Imersijas eļļa mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināša- nas pudele, 100 ml, 500 ml
Kat. nr.	1.05174	Pēc Gila III modificēts hematoksilīna šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.05175	Pēc Gila II modificēts hematoksilīna šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.06329	Nātrija hidroģēnkarbonāts analīzei EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. nr.	1.06525	Nātrija jodāts analīzei EMSURE®	100 g
Kat. nr.	1.06887	Papanicolaou šķīduma 2b oranžā II šķīdums citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.06888	Papanicolaou šķīduma 2a oranžā G šķīdums (OG6) citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.07961	Entellan™ new ātrās nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. nr.	1.08298	Ksilēns (izomēru maisījums) histoloģiskai izmeklēšanai	4 l
Kat. nr.	1.09016	Neo-Mount™ ūdeni nesaturoša nostiprināšanas vide mikroskopiskai izmeklēšanai	100 ml pilināša- nas pudele, 500 ml
Kat. nr.	1.09271	Papanicolaou šķīduma 3a polihromatiskais šķīdums EA 31 citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 2,5 l
Kat. nr.	1.09272	Papanicolaou šķīduma 3b polihromatiskais šķīdums EA 50 citoloģiskai izmeklēšanai	500 ml, 1 l,
Kat. nr.	1.09621	Etilēnglikols analīzei EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4l, 10 l
Kat. nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksilēna aizvietotājs) mikroskopiskai izmeklēšanai	5 l
Kat. nr.	1.09844	0,5% Eozīna Y ūdens šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l, 2,5 l
Kat. nr.	1.17081	1% Eozīna Y spirta šķīdums mikroskopiskai izmeklēšanai	1 l
Kat. nr.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Bīstamības klasifikācija

Kat. nr. 1.04302
Lūdzu, ievērojiet marķējumā norādīto bīstamības klasifikāciju un drošības datu lapā sniegto informāciju.
Drošības datu lapa ir pieejama tīmekļa vietnē un pēc pieprasījuma.

Galvenās izstrādājuma sastāvdaļas

Kat. nr. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
Žāvēšanas zudumi max. 10%

Vispārēja piezīme

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai lietošanas rezultātā rodas nopietns negadījums, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī vietējai regulējošai iestādei.

Literatūra

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

P264: Pēc izmantošanas ādu kārtīgi nomazgāt.
P280: Izmantot acu aizsargus/ sejas aizsargus.
P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi izskaloj ar ūdeni vairākas minūtes. Izņem kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt.
Turpināt skatot.
P337 + P313: Ja acu iekaisums nepāriet: lūdziet mediķu palīdzību.

Pārskatījumu vēsture

Versija	Izmaiņu komentārs
2024-Jul-18	Sākotnējā versija ar pārskatījumu vēstures pievienošanu



Skatīt lietošanas instrukciju



Ražotājs



Kataloga numurs



Sērijas kods



Uzmanību! Skatīt pievienotos dokumentus



Izlietot līdz
GGGG-MM-DD



Temperatūras ierobežojums

Status: 2024-Jul-18

ASV un Kanādā uzņēmums Merck uzņēmējdarbību, kas saistīta ar Life Science, veic kā uzņēmums MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Vācija un/vai tā meitasuzņēmumi. Visas tiesības aizsargātas. Merck un Sigma-Aldrich ir uzņēmuma Merck KGaA, Darmstadt, Vācija preču zīmes. Pārējās preču zīmes ir attiecīgo īpašnieku īpašums. Sīkāka informācija par preču zīmēm ir pieejama publiski pieejamos avotos.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Mikroskopija

Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290)

mikroskopijai

Tik profesionaliam naudojimui

IVD In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Numatytoji paskirtis

Šis „Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290) - mikroskopijai“ naudojamas žmogaus-medicininį ląstelių diagnostikai ir padeda atlikti kilmės mėginių medžiagos histologiniams ir citologiniams tyrimams. Tai sausas dažiklis, naudojamas paruošti dažymo tirpalą, kurį naudojant kartu su kitais *in vitro* diagnostikos produktais iš mūsų asortimento, tikslinės struktūros gali būti vertinamos diagnostikos tikslais (fiksuoiant, įterpiant, dažant pirmiau nurodytu hematoksilino tirpalu, kontrastuojant, gėdiant) histologinių ir citologinių ėminių medžiagose.

Nedažytos struktūros yra palyginti mažai kontrastingos ir jas labai sunku atskirti šviesiniu mikroskopu. Vaizdai, sukurti naudojant dažymo tirpalus, padeda įgaliotam ir kvalifikuotam tyrėjui tokiais atvejais geriau nustatyti formą ir struktūrą. Tam, kad būtų nustatyta galutinė diagnozė, reikia atlikti papildomus tyrimus taikant pripažintus ir galiojančius metodus.

Šis dažymo tirpalas, kurį prieš naudojant reikia papildomai paruošti, naudojamas tik apžvalginiam dažymui diferencijuojant tikslines ląsteles ir audinių komponentų struktūras, kaip išvardyta toliau skirsnyje „Rezultatas“. Siauresniam pritaikymui rekomenduojame šiuos produktus: Kat. Nr. 1.05175 Hematoksilino tirpalas, modifikuotas pagal Gill II, Kat. Nr. 1.05174 Hematoksilino tirpalas, modifikuotas pagal Gill III, Kat. Nr. 1.09249 Mayer hemalumo tirpalas mikroskopijai arba Kat. Nr. 1.09254 Papanicolaou tirpalas 1b Hematoksilino tirpalas S citologijai.

Reagentai

Kat. Nr. 1.04302

Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290)
mikroskopijai

25 g, 100 g, 1 kg

Spalvos indekso Nr.: 75290

Taip pat reikalinga:

Kat. Nr.	1.09621	Etieno glikolis analizei EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. Nr.	227617	Aluminiū sulfatė octadecahydratė ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
arba			
Kat. Nr.	1.00974	Etanolis, denatūruotas maždaug 1 % metilo etilo ketono, skirtas analizei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.01047	Aluminiū kalio sulfatė dodekahidratas analizei EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. Nr.	1.06525	Natrio jodatas analizei EMSURE®	100 g
Kat. Nr.	1.00063	Acto rūgštis (ledinė) 100 % bevandenė analizei EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.00316	Druskos rūgštis 25 % analizei EMSURE®	1 l, 2,5 l

Reagentų paruošimas

Hematoksilino tirpalas pagal Gill

Norėdami paruošti apie 1000 ml tirpalo, sumaišykite:

Etieno glikolio / distiliuoto vandens tirpalas

Etieno glikolis	250 g
Distiliuotas vanduo	730 ml
maišyti ir ištirpinti	

Dažymo tirpalas

Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290)	2 g
Natrio jodatas	0,2 g
Aluminiū sulfatė octadecahydratė	17,6 g
ištirpinti pirmiau nurodytame etieno glikolio / distiliuoto vandens tirpale	
Acto rūgštis 100 %	20 ml
įdėti. Maišyti 1 valandą kambario temperatūroje. Išfiltruoti prieš naudojimą.	

Hematoksilino tirpalas pagal Harris

Norėdami paruošti apie 1000 ml tirpalo, sumaišykite:

Hematoksilino tirpalas

Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290)	5 g
Etanolis	50 ml
ištirpinti kaitinant vandens vonelėje	

Alūno tirpalas

Aluminiū kalio sulfatė dodekahidratas	100 g
Distiliuotas vanduo	950 ml
ištirpinti maišant ir kaitinant	
Į karštą alaun tirpalą maišant įpilti hematoksilino tirpalo ir kaitinti iki virimo. Paimti tirpalą iš karštos vietos.	
Natrio jodatas	370 mg
įdėti maišant ir greitai atvėsinti vandens vonelėje	
Acto rūgštis 100 %	4 ml
įdėti. Filtruoti buteliukuose ir sandariai uždaryti. Išfiltruoti prieš naudojimą.	

Druskos rūgštis 0,1 %, vandeninė

Norėdami paruošti apie 100 ml tirpalo, sumaišykite:

Distiliuotas vanduo	100 ml
Druskos rūgštis 25 %	0,4 ml

Papanicolaou dažymas

Principas

Dažniausiai naudojama citologinių ėminių dažymo procedūra yra Papanicolaou metodas, skirtas citologinių ėminių eksfoliacinėms ląstelėms dažyti.

Pirmojo etapo metu ląstelių branduoliai progresyviai arba regresyviai nudažomi hematoksilino tirpalu.

Taikant progresyvųjį dažymo hematoksilinu metodą, dažymas atliekamas iki galo, po to stiklis melsvinamas vandentiekio vandenyje.

Taikant regresyvųjį metodą medžiaga nudažoma per daug, o dažymo tirpalo perteklius pašalinamas skalaujant rūgštimi, po to atliekamas melsvinimas. Taikant regresyvųjį metodą branduolių struktūros būna labiau diferencijuotos ir geriau matomos.

Antrasis dažymo etapas yra citoplazmos nudažymas oranžiniu dažymo tirpalu, ypač brandžioms ir keratinizuotoms ląstelėms pademonstruoti.

Trečiajame dažymo etape naudojamas vadinamasis polichrominis tirpalas, kuris yra eozino, šviesiai žalios SF ir Bismarko rudos spalvos mišinys. Polichrominis tirpalas naudojamas plokščiųjų ląstelių diferenciacijai pademonstruoti.

Mėginių medžiaga

Ginekologiniai ir neginekologiniai ėminiai, tokie kaip skrepliai, šlapimas, plonos adatos aspiracinės biopsijos (FNAB) tepinėliai, efuzijos, skalavimai

LT

Reagentai			
Taip pat reikalinga Papanicolaous dažymui:			
Kat. Nr.	1.06887	Papanicolaou tirpalas 2b Oranžinis II tirpalas citologijai	500 ml, 2,5 l
arba			
Kat. Nr.	1.06888	Papanicolaou tirpalas 2a Oranžinis G tirpalas (OG6) citologijai	500 ml, 1 l, 2,5 l
arba			
Kat. Nr.	1.09271	Papanicolaou tirpalas 3a polichrominis tirpalas EA 31 citologijai	500 ml, 2,5 l
arba			
Kat. Nr.	1.09272	Papanicolaou tirpalas 3b polichrominis tirpalas EA 50 citologijai	500 ml, 1 l, 2,5 l
arba			
Kat. Nr.	1.06329	Natrio hidrokarbonata analizei EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai. Visi mėginiai turi būti apdorojami naudojant pažangiausias technologijas. Visi mėginiai turi būti aiškiai sužymėti. Mėginiams imti ir ruošti turi būti naudojami tinkami instrumentai. Laikykites gamintojo pateiktų taikymo ir naudojimo instrukcijų. Naudojant atitinkamus pagalbinius reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų.

Tepinėlių mėginių fiksavimas

Iš karto fiksuoti drėgnuoju būdu su purškiamuoju fiksatoriumi M-FIX® mažiausiai 10 min. arba iš karto fiksuoti drėgnuoju būdu 96 % etanolyje mažiausiai 30 min. Kai tepinėliai fiksuojami su M-FIX®, prieš dažymą galima nevykdyti didėjančios etanolio sekos 1–4 skalavimo žingsnių.

Reagentų paruošimas

Dažymui naudojami Papanicolaou tirpalas 2a Oranžinis G tirpalas (OG6), Papanicolaou tirpalas 2b Oranžinis II tirpalas, Papanicolaou 3a polichromatinis tirpalas EA 31 ir Papanicolaou 3b polichromatinis tirpalas EA 50 yra paruošti naudojimui; šių tirpalų skiedimas nėra būtinas, dėl to tik pablogėja dažymo rezultatas ir rezultatų stabilumas. **Prieš naudojant tirpalus rekomenduojama juos išfiltruoti.**

Natrio hidrokarbonata tirpalas 1,5 %

Norėdami paruošti apie 1000 ml tirpalo, įdėkite ir ištirpinkite:

Natrio hidrokarbonata	15 g
Distiliuotas vanduo	1000 ml

Procedūra

Regresyvusis dažymas dažymo kameroje

Stiklelius reikia panardinti į tirpalus ir trumpai juose pajudinti, nes vien tik panardinus dažymo rezultatai būna nepakankami. Siekiant išvengti nereikalingo tirpalų kryžminio užteršimo, po atskirų dažymo etapų reikia leisti stikleliams gerai nuvarvėti. Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

Stiklelis su fiksuotu tepinėliu	
Etanolis 96 %*	10 sek
Etanolis 80 %*	10 sek
Etanolis 70 %*	10 sek
Etanolis 50 %*	10 sek
Distiliuotas vanduo	10 sek
Hematoksilino tirpalas pagal Gill arba	5 min
Hematoksilino tirpalas pagal Harris	6 min
Distiliuotas vanduo	10 sek
Druskos rūgštis 0,1 %, vandeninė	10 sek
Distiliuotas vanduo	10 sek
Natrio hidrokarbonata tirpalas 1,5 %	1 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	3 min
Etanolis 70 %	30 sek
Etanolis 80 %	30 sek
Etanolis 96 %	30 sek
Papanicolaou tirpalas 2a Oranžinis G tirpalas arba	3 min
Papanicolaou tirpalas 2b Oranžinis II tirpalas	
Etanolis 96 %	30 sek
Etanolis 96 %	30 sek

Papanicolaou tirpalas 3a polichrominis tirpalas EA 31 arba	3 min
Papanicolaou tirpalas 3b polichrominis tirpalas EA 50	
Etanolis 96 %	30 sek
Etanolis 96 %	30 sek
Etanolis 100 %	5 min
Mišinys, kurį sudaro: etanolis 100 % + Neo-Clear™ arba ksilenas (1 + 1)	2 min
Skaidrinkite Neo-Clear™ arba ksilenu.	5 min
Skaidrinkite Neo-Clear™ arba ksilenu.	5 min
Uždengkite Neo-Clear™ sudrėkintus stiklelius su Neo-Mount™ arba ksilenu sudrėkintus stiklelius su, pvz., Entellan™ new ir dengiamuoju stikleliu.	

* Šiuos žingsnius galima praleisti, jeigu tepinėliai fiksuojami su M-FIX®.

Po dehidracijos (didėjančia alkoholio serija) ir nuskaidrinimo ksilenu arba Neo-Clear™, citologinius mėginius galima dengti bevandenėmis dengimo medžiagomis (pvz., Entellan™ new, DPX new arba Neo-Mount™) ir dengia-muoju stikleliu, o po to padėti laikyti. Analizuojant dažytus stiklelius, kurių mikroskopinis didinimas >40x, reko-menduojama naudoti imersinę alyvą.

Rezultatas

Dažymas su	3a / EA 31	3b / EA 50
Citoplazma cianofilinė (bazofilinė) eozinofilinė (acidofilinė) keratinizuota	nuo melsvai žalios iki žalios rausva rausvai oranžinė	melsvai žalia rausva rausvai oranžinė
Eritrocitai	raudona	
Branduoliai	nuo mėlynos iki tamsiai violetinės	
Mikroorganizmai	pilka-mėlyna	

H&E dažymas

Principas

Dažymo hematoksilinu ir eozinu (H&E) metodas yra dažniausiai naudojamas histologinei medžiagai dažyti. Dažymas yra fizikinis ir cheminis procesas. Pirmajame etape teigiamai įkrautas branduolio dažiklis (hematoksilinas) pri-sijungia prie neigiamai įkrautų ląstelės branduolio nukleino rūgšties fosfatinių grupių. Antrasis etapas yra kontrastavimas neigiamai įkrautu anijoniniu ksanteno da-žikliu (eozinu Y, eozinu B arba eritrozinu B). Jis jungiasi prie teigiamai įkrautų plazmos baltymų. Galima išskirti du metodus. Taikant progresyvųjį dažymo hematoksilinu me-todą, dažymas atliekamas iki galo, po to stiklelis melsvinamas vandentiekio vandenyje. Taikant regresyvųjį metodą medžiaga nudažoma per daug, o dažymo tirpalo perteklius pašalinamas skalaujant rūgštimi, po to atliekamas melsvinimas. Taikant regresyvųjį metodą branduolių struktūros būna labiau diferencijuo-tos ir geriau matomos.

Mėginių medžiaga

Kaip pradinė medžiaga naudojami formaline fiksuoto, į parafiną įterpto audinio pjūviai (3–4 µm storio parafininiai pjūviai) arba kriopjūviai.

Reagentai

Taip pat reikalinga H&E dažymui:

Kat. Nr.	1.09844	Eozino Y tirpalas 0,5 %, vandeninis, mikroskopijai	1 l, 2,5 l
arba			
Kat. Nr.	1.02439	Eozino Y tirpalas 0,5 %, alkoholinis, mikroskopijai	500 ml, 2,5 l
arba			
Kat. Nr.	1.17081	Eozino Y tirpalas 1 %, alkoholinis, mikroskopijai	1 l

Mėginių paruošimas

Mėginius turi paimti kvalifikuoti darbuotojai. Visi mėginiai turi būti apdorojami naudojant pažangiausias technologijas. Visi mėginiai turi būti aiškiai sužymėti. Mėginiams imti ir ruošti turi būti naudojami tinkami instrumentai. Laikykites gamintojo pateiktų taikymo ir naudojimo instrukcijų. Naudojant atitinkamus pagalbinius reagentus, būtina laikytis atitinkamų naudojimo instrukcijų. Deparafinuokite ir rehidratuokite parafininius pjūvius įprastu būdu.

Reagentų paruošimas

Eozino Y tirpalas 0,5 %, vandeninis (Kat. Nr. 1.09844)
Eozino Y tirpalas 0,5 %, alkoholinis (Kat. Nr. 1.02439)
Eozino Y tirpalas 1 %, alkoholinis (Kat. Nr. 1.17081)

Kad eozino dažymas būtų intensyvesnis, į 500 ml darbinio tirpalo reikia įpilti, pvz., 1,0 ml ledinės acto rūgšties.
Parūgštinto darbinio tirpalo užtenka maždaug 750 ėminių, tačiau jį reikia atnaujinti ne vėliau kaip po 14 dienų.
Naudojant alkoholinius Eozino Y tirpalus, atskiroms dažymo procedūroms reikia naudoti trumpesnę alkoholio seriją (pradedant nuo 96 % etanolio ir taikant vos 10 sekundžių reakcijos trukmę).

Eozino B tirpalas ir eritrozino tirpalas 0,5 %, vandeninis
Paruošimo būdas aprašytas atitinkamo dažiklio naudojimo instrukcijoje.

Procedūra

Regresyvusis parafininių pjūvių dažymas

Dažymas dažymo kameroje
Deparafinuokite histologinius stiklelius įprastiniu būdu ir rehidratuokite mažėjančioje alkoholio serijoje.
Siekiant išvengti nereikalingo tirpalų kryžminio užteršimo, po atskirų dažymo etapų reikia leisti stikleliams gerai nuvarvėti.
Norint užtikrinti optimalų dažymo rezultatą, reikia laikytis nurodyto laiko.

Stiklelis su parafininių pjūvių	
Distiliuotas vanduo	1 min
Hematoksilino tirpalas pagal Gill arba Hematoksilino tirpalas pagal Harris	3 min
Druskos rūgštis 0,1 %, vandeninė	2 sek
Tekantis vanduo iš čiaupo	3 - 5 min
Eozino Y tirpalas 0,5 %, vandeninis arba Eozino Y tirpalas 0,5 %, alkoholinis* arba Eozino Y tirpalas 1 %, alkoholinis*	3 min
Tekantis vanduo iš čiaupo	30 sek
Etanolis 70 %	1 min
Etanolis 70 %	1 min
Etanolis 96 %	1 min
Etanolis 96 %	1 min
Etanolis 100 %	1 min
Etanolis 100 %	1 min
Ksileno arba Neo-Clear™	5 min
Ksileno arba Neo-Clear™	5 min
Uždenkite Neo-Clear™ sudrėkintus stiklelius su Neo-Mount™ arba ksilenu sudrėkintus stiklelius su, pvz., Entellan™ new ir dengiamuoju stikleliu.	

* Naudojant alkoholinius Eozino Y tirpalus, atskiroms dažymo procedūroms reikia naudoti trumpesnę alkoholio seriją (pradedant nuo 96 % etanolio ir taikant vos 10 sekundžių reakcijos trukmę).

Po dehidracijos (didėjančia alkoholio serija) ir nuskaidrinimo ksilenu arba Neo-Clear™, histologinius mėginius galima dengti bevandenėmis dengimo medžiagomis (pvz., DPX new, Entellan™ new, Neo-Mount™) ir dengiamuoju stikleliu, o po to padėti laikyti.
Analizuojant dažytus stiklelius, kurių mikroskopinis didinimas >40x, rekomenduojama naudoti imersinę alyvą.

Rezultatas

Branduoliai	nuo tamsiai mėlynos iki tamsiai violetinės spalvos
Citoplazma, tarpląstelinės medžiagos	nuo rausvos iki raudonos spalvos
Eritrocitai	nuo geltonos iki oranžinės spalvos

Triekčių šalinimas
Silpnas citoplazmos ir jungiamojo audinio struktūrų nudažymas
Eozino dažymui suintensyvinti reikia naudoti parūgštiną darbinį tirpalą (pvz., ledinę acto rūgštį).
Naudojant nerūgštiną tirpalą, citoplazma ir jungiamojo audinio struktūros bus nudažytos silpnai, todėl, norint gauti optimalų dažymo rezultatą, patartina laikytis nurodyto reagento paruošimo protokolo.
Parūgštinto darbinio tirpalo užtenka maždaug 750 ėminių, tačiau jį reikia atnaujinti ne vėliau kaip po 14 dienų.

Techninės pastabos

Naudojamas mikroskopas turi atitikti medicininės diagnostikos laboratorijos reikalavimus.
Prieš naudojimą šviežiai paruoštus dažymo tirpalus reikia išfiltruoti.
Prieš pildami pašalinkite imersinės alyvos perteklių.

Analitinio veiksmingumo savybės

„Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290)“ nudažo ir taip vizualizuoja biologines struktūras, kaip aprašyta šios naudojimo instrukcijos skyriuose „Rezultatai“. Gaminį gali naudoti tik įgalioti ir kvalifikuoti asmenys, įskaitant, be kita ko, mėginių ir reagentų ruošimą, mėginių tvarkymą, histologinį apdorojimą, sprendimus dėl tinkamų kontrolės priemonių ir kt.
Gaminio analitinis veiksmingumas patvirtinamas tiriant kiekvieną pagamintą partiją.
Toliau išvardytiems dažymo atvejams gaminio specifiškumo, jautrumo ir pakartojamumo analitinis veiksmingumas buvo patvirtintas 100 %:

	Tyrimų tarpusavio specifiškumas	Tyrimų tarpusavio jautrumas	Tyrimo vidinis specifiškumas	Tyrimo vidinis jautrumas
Citologinis dažymas				
Branduoliai	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma cianofilinė (bazofilinė)	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma eozinofilinė (acidofilinė)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocitai	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmai	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E dažymas				
Branduoliai	20/20	20/20	7/7	7/7
Citoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Tarpląstelinės medžiagos	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrocitai	20/20	20/20	7/7	7/7

Analitinio veiksmingumo rezultatai

Duomenys apie teisingai nudažytų struktūrų skaičių, palyginti su atliktų tyrimų skaičiumi, pateikiami tyrimo viduje (su ta pačia partija) ir tarp tyrimų (su skirtingomis partijomis).

Šio veiksmingumo vertinimo rezultatai patvirtina, kad gaminyms yra tinkamas naudoti pagal paskirtį ir veikia patikimai.

Diagnostika

Diagnozę turi nustatyti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai.
Turi būti naudojamos tinkamos klasifikacijos.
Šis metodas gali būti papildomai naudojamas žmonių diagnostikai.
Papildomi tyrimai turi būti parenkami ir atliekami pagal pripažintus metodus.
Kad būtų išvengta neteisingų rezultatų, kiekvieno naudojimo metu turėtų būti taikomi tinkami kontrolės metodai.

Laikymas

Laikykite Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290) - mikroskopijai nuo +2 °C iki +30 °C temperatūroje.

Tinkamumo laikas

Hematoksilino, kristalinis (C.I.75290) - mikroskopijai galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos.
Pirmą kartą atidarius buteliuką, laikant nuo +2 °C iki +30 °C temperatūroje, turinį galima naudoti iki nurodyto tinkamumo naudoti termino pabaigos.
Buteliukai visada turi būti sandariai uždaryti.

Papildomos instrukcijos

Tik profesionaliam naudojimui.
Tam, kad būtų išvengta klaidų, naudoti turi tik kvalifikuotas personalas.
Būtina laikytis nacionalinių darbo saugos ir kokybės užtikrinimo gairių.
Turi būti naudojami pagal standartus įrengti mikroskopai.

Apsauga nuo infekcijos

Reikia imtis veiksmingų priemonių apsaugoti nuo infekcijos pagal laboratorijos rekomendacijas.

Šalinimo instrukcijos

Pakuotę reikia išmesti laikantis galiojančių šalinimo gairių.
Panaudoti tirpalai ir tirpalai, kurių tinkamumo naudoti terminas pasibaigęs, turi būti šalinami kaip specialiosios atliekos pagal vietos gaires. Informacijos apie šalinimą galima rasti pasinaudojus greitąja nuoroda „Hints for Disposal of Microscopy Products“ adresu www.microscopy-products.com. ES taikomas šiuo metu galiojantis REGLAMENTAS (EB) Nr. 1272/2008 dėl cheminių medžiagų ir mišinių klasifikavimo, ženklinimo ir pakavimo, iš dalies keičiantis ir panaikinantis Direktyvas 67/548/EEB bei 1999/45/EB ir iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 1907/2006.

Pagalbiniai reagentai

Kat. Nr.	1.00063	Acto rūgštis (ledinė) 100 % bevandenė analizei EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.00316	Druskos rūgštis 25 % analizei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.00579	DPX new nevandeninė dengimo terpė mikroskopijai	500 ml
Kat. Nr.	1.00974	Etanolis, denatūruotas maždaug 1 % metilo etilo ketono, skirtas analizei EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.01047	Aliuminio kalio sulfato dodekahidratas analizei EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. Nr.	1.02439	Eozino Y tirpalas 0,5 %, alkoholinis, mikroskopijai	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.03981	M-FIX® purškiamasis fiksatorius citodiagnozei	100 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.04699	Imersinė alyva, skirta mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 100 ml, 500 ml
Kat. Nr.	1.05174	Hematoksilino tirpalas, modifikuotas pagal Gill III, skirtas mikroskopijai	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.05175	Hematoksilino tirpalas, modifikuotas pagal Gill II, skirtas mikroskopijai	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.06329	Natrio hidrokarbonata analizei EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. Nr.	1.06525	Natrio jodatas analizei EMSURE®	100 g
Kat. Nr.	1.06887	Papanicolaou tirpalas 2b Oranžinis II tirpalas citologijai	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.06888	Papanicolaou tirpalas 2a Oranžinis G tirpalas (OG6) citologijai	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.07961	Entellan™ new greito dengimo terpė mikroskopijai	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. Nr.	1.08298	Ksilenas (izomerinis mišinys) histologijai	4 l
Kat. Nr.	1.09016	Neo-Mount™ bevandenė dengimo terpė mikroskopijai	100 ml lašinimo buteliukas, 500 ml
Kat. Nr.	1.09271	Papanicolaou tirpalas 3a polichrominis tirpalas EA 31 citologijai	500 ml, 2,5 l
Kat. Nr.	1.09272	Papanicolaou tirpalas 3b polichrominis tirpalas EA 50 citologijai	500 ml, 1 l,
Kat. Nr.	1.09621	Etileno glikolis analizei EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4l, 10 l
Kat. Nr.	1.09843	Neo-Clear™ (ksileno pakaitalas) mikroskopijai	5 l
Kat. Nr.	1.09844	Eozino Y tirpalas 0,5 %, vandeninis, mikroskopijai	1 l, 2,5 l
Kat. Nr.	1.17081	Eozino Y tirpalas 1 %, alkoholinis, mikroskopijai	1 l
Kat. Nr.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Pavojingumo klasifikacija

Kat. Nr. 1.04302
Laikykites etiketėje išspausdintos pavojingumo klasifikacijos ir saugos duomenų lape pateiktos informacijos.
Saugos duomenų lapą galima rasti svetainėje arba specialiai paprašyti.

Pagrindiniai gaminio komponentai

Kat. Nr. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
nuostoliai džiovinant maks. 10 %

Bendro pobūdžio pastaba

Jei naudojant šią priemonę arba dėl jos naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo šalies kompetentingai institucijai.

Literatūra

- Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
- Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
- Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
- Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
- Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
- Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
- Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
- Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
- Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Sukelia smarkų akių dirginimą.

P264: Po naudojimo kruopščiai nuplauti odą.

P280: Mūvėti naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

P337 + P313: Jei akių dirginimas nepraeina: kreiptis į gydytoją.

Peržiūrų istorija

Versija	Pakeitimo komentaras
2024-Jul-18	Pradinė versija su peržiūrų istorijos įžanga

„Merck“ Life Science verslas JAV ir Kanadoje veikia pavadinimu „MilliporeSigma“.

© 2024 „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija ir (arba) jos filialai. Visos teisės saugomos. „Merck“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija, prekių ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamios informacijos apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose šaltiniuose.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com



1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Mikroskopi

Hematoksylin kryst. (C.I.75290)

for mikroskopi

Kun til profesjonell bruk

IVD

Medisinsk enhet til *in vitro*-diagnostikk

CE

Tiltenkt formål

Denne "Hematoksylin kryst. (C.I.75290) - for mikroskopi" brukes til medisinsk cellediagnostisering hos mennesker og bidrar til histologiske og cytologiske undersøkelser av prøvemateriale fra mennesker. Dette er et tørt fargestoff som brukes for å tilberede en fargeløsning som, når den brukes sammen med andre produkter til *in vitro*-diagnostikk fra vår portefølje, gjør at målstrukturer kan evalueres til diagnostiske formål (ved hjelp av fiksering, innstøping, farging med den ovennevnte hematoksylinløsningen, kontrastfarging, montering) i histologisk og cytologisk prøvemateriale.

Ufargede strukturer har relativt lav kontrast og er ekstremt vanskelige å skjelle under lysmikroskopet. Bildene som opprettes ved bruk av fargingsløsningene hjelper den autoriserte og kvalifiserte forskeren med bedre å definere formen og strukturen i slike tilfeller. Ytterligere tester må utføres i samsvar med anerkjente, gyldige metoder for å oppnå en definitiv diagnose.

Denne fargeløsningen, som må tilberedes ytterligere før den kan brukes, er utelukkende tiltenkt som en oversiktsfarging ved differensiering av målstrukturene i cellen og vevskomponentene oppført nedenfor i avsnittet "Resultat". For mer spesifikke bruksområder anbefaler vi bruk av kat.nr. 1.05175 Hematoksylin løsning modifisert i.h.t. Gill II, kat.nr. 1.05174 Hematoksylin løsning modifisert i.h.t. Gill III, kat.nr. 1.09249 Mayers hemalum løsning for mikroskopi eller kat.nr. 1.09254 Papanicolaous oppløsning 1b hematoksylinoppløsning S for cytologi.

Reagenser

Kat.nr. 1.04302

Hematoksylin kryst. (C.I.75290)

for mikroskopi

Fargeindeksnr.: 75290

25 g, 100 g, 1 kg

Også påkrevd:

Kat.nr.	1.09621	Etylenglykol for analyse EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat.nr.	227617	Aluminium sulfat octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Kat.nr.	1.00974	Etanol denaturert med ca. 1 % metyletylketon for analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.01047	Aluminiumkaliumsulfat dodekahydrat for analyse EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat.nr.	1.06525	Natriumjodat for analyse EMSURE®	100 g
Kat.nr.	1.00063	Eddiksyre (iseddik) 100 % vannfri for analyse EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.00316	Saltsyre 25 % for analys EMSURE®	1 l, 2,5 l

Tilberedning av reagens

Hematoksylin løsning i.h.t. Gill

For tilberedning av ca. 1000 ml løsningsblanding:

Løsning av etylenglykol / destillert vann

Etylenglykol	250 g
Destillert vann	730 ml
bland og løs opp	

Fargingsløsning

Hematoksylin kryst. (C.I.75290)	2 g
Natriumjodat	0,2 g
Aluminium sulfat octadecahydrate	17,6 g
løs opp i den ovennevnte løsningen av etylenglykol / destillert vann	
Eddiksyre 100 %	20 ml
tilsett. Rør i 1 time i romtemperatur. Filtrer før bruk.	

Hematoksylin løsning i.h.t. Harris

For tilberedning av ca. 1000 ml løsningsblanding:

Hematoksylin løsning

Hematoksylin kryst. (C.I.75290)	5 g
Etanol	50 ml
løs opp under oppvarming i et vannbad	

Alun løsning

Aluminiumkaliumsulfat dodekahydrat	100 g
Destillert vann	950 ml
løs opp ved å røre og varme opp	
Tilsett hematoksylinløsningen i den varme alunløsningen under omrøring og oppkoking. Fjern løsningen fra det varme stedet.	
Natriumjodat	370 mg
tilsett under omrøring og kjøøl ned raskt i vannbad	
Eddiksyre 100 %	4 ml
tilsett. Filtrer i flasker og lukk forsiktig. Filtrer før bruk.	

Saltsyre 0,1 %, vannholdig

For tilberedning av ca. 100 ml løsningsblanding:

Destillert vann	100 ml
Saltsyre 25 %	0,4 ml

Papanicolaous farging

Prinsipp

Den hyppigst brukte prosedyren for cytologiske prøver er Papanicolaous teknikk, og er tiltenkt for farging av eksfoliative celler i cytologiske prøver.

I det første trinnet farges cellekjernene enten progressivt eller regressivt med en hematoksylinløsning.

I den progressive hematoksylinfargingsmetoden utføres farging til endepunktet, deretter farges objektglasset blått i vann fra springen.

Med den regressive metoden blir materialet overfarget, og overflødig fargeløsning fjernes ved hjelp av syreskyllingstrinn, etterfulgt av blåfargings-trinnet.

Strukturene i kjernen er bedre differensiert og mer synlige med den regressive metoden.

Det andre fargetrinnet er cytoplasmafarging med oransje fargeløsning, spesielt for visualisering av modne og keratiniserte celler.

I det tredje fargingstrinnet brukes den såkalte polykromiske løsningen, en blanding av eosin, lysegrønn SF og Bismarck-brun. Den polykromiske løsningen brukes til visualisering av differensiering av plateepitelceller.

Prøvemateriale

Gynekologiske og ikke-gynekologiske prøver som sputum, urin, utstryk fra biopsier med finnålsaspirasjon (FNAB), effusjoner, skyllinger

Reagenser

Også påkrevd for Papanicolaous farging:

Kat.nr.	1.06887	Papanicolaous oppløsning 2b oransje II-oppløsning for cytologi	500 ml, 2,5 l
eller			
Kat.nr.	1.06888	Papanicolaous oppløsning 2a oransje G-oppløsning (OG6) for cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.09271	Papanicolaous oppløsning 3a polykromatisk oppløsning EA 31 for cytologi	500 ml, 2,5 l
eller			
Kat.nr.	1.09272	Papanicolaous oppløsning 3b polykromatisk oppløsning EA 50 for cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.06329	Natriumhydrogenkarbonat for analyse EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Prøvetilberedning

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell. Alle prøver skal behandles ved bruk av den nyeste teknologien. Alle prøver skal merkes tydelig. Egnede instrumenter skal brukes for å ta og tilberede prøver. Følg instruksjonene fra produsenten for applisering/bruk. Ved bruk av de tilsvarende hjelpereagensene må den tilsvarende bruksanvisningen følges.

Fiksering av utstryksprøver

Fukt fikseringen umiddelbart med sprayfiksativet M-FIX® i minst 10 min eller fukt fikseringen umiddelbart i etanol 96 % i minst 30 min. Når utstrykene er fiksert med M-FIX®, kan skylletrinn 1–4 i sekvensen med stigende etanolkonsentrasjon før farging forbigås.

Tilberedning av reagens

Papanicolaous oppløsning 2a oransje G-oppløsning (OG6), Papanicolaous oppløsning 2b oransje II-oppløsning, Papanicolaous oppløsning 3a polykromatisk oppløsning EA 31 og Papanicolaous oppløsning 3b polykromatisk oppløsning EA 50 til farging er bruksklare. Fortynning av løsningene er ikke nødvendig, og vil kun resultere i nedsatt fargeresultat og stabilitet. **Det er anbefalt å filtrere løsningene før bruk.**

Natriumhydrogenkarbonatløsning 1,5 %

For tilberedning av ca. 1000 ml løsning, tilsett og løs opp:

Natriumhydrogenkarbonat	15 g
Destillert vann	1000 ml

Prosedyre

Regressiv farging i fargingscellen

Objektglassene skal senkes ned i og bevegtes raskt rundt i løsningene. Kun nedsenking gir utilstrekkelige fargingsresultater. Objektglassene må få dryppe godt av etter de enkelte fargingstrinnene for å unngå unødvendig krysskontaminasjon av løsningene. De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargingsresultat.

Objektglass med fiksert utstryk	
Etanol 96 %*	10 sekunder
Etanol 80 %*	10 sekunder
Etanol 70 %*	10 sekunder
Etanol 50 %*	10 sekunder
Destillert vann	10 sekunder
Hematoksylin løsning i.h.t. Gill eller Hematoksylin løsning i.h.t. Harris	5 minutter 6 minutter
Destillert vann	10 sekunder
Saltsyre 0,1 %, vannholdig	10 sekunder
Destillert vann	10 sekunder
Natriumhydrogenkarbonatløsning 1,5 %	1 minutter
Rennende vann fra springen	3 minutter
Etanol 70 %	30 sekunder
Etanol 80 %	30 sekunder
Etanol 96 %	30 sekunder
Papanicolaous oppløsning 2a oransje G-oppløsning eller Papanicolaous oppløsning 2b oransje II-oppløsning	3 minutter

Etanol 96 %	30 sekunder
Etanol 96 %	30 sekunder
Papanicolaous oppløsning 3a polykromatisk oppløsning EA 31 eller Papanicolaous oppløsning 3b polykromatisk oppløsning EA 50	3 minutter
Etanol 96 %	30 sekunder
Etanol 96 %	30 sekunder
Etanol 100 %	5 minutter
Blanding bestående av: Etanol 100 % + Neo-Clear™ eller xylen (1 + 1)	2 minutter
Klargjør med Neo-Clear™ eller xylen.	5 minutter
Klargjør med Neo-Clear™ eller xylen.	5 minutter
Monter våte Neo-Clear™-objektglass med Neo-Mount™ eller våte xylen-objektglass med f.eks. Entellan™ ny og dekkglass.	

* Disse trinnene kan forbigås når utstrykene er fiksert med M-FIX®.

Etter dehydrering (serie med stigende alkoholnivå) og klaring med xylen eller Neo-Clear™, kan histologiske objektglass dekkas med ethvert ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. Entellan™ ny, DPX ny eller Neo-Mount™) og et dekkglass, og kan deretter lagres. Bruk av bløtleggingsolje er anbefalt for analysering av fargede objektglass med en mikroskopforstørrelse på > 40x.

Resultat

Farging med	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplasma cyanofil (basofil) eosinofil (acidofil) keratinisert	blågrønn til grønn rosa rosaoransj	blågrønn rosa rosaoransj
Erytrocytter	rød	
Kjerner	blå til mørk fiolett	
Mikroorganismer	gråblå	

H&E farging

Prinsipp

Fargingsmetoden H&E (hematoksylin og eosin) er den hyppigst brukte metoden for farging av histologisk materiale. Fargingsmekanismen er en fysikokjemisk prosess. I det første trinnet bindes det positivt ladde kjernefargestoffet (hematoksylin) til de negativt ladde fosfatgruppene fra nukleinsyre i cellekjernen. Det andre trinnet er kontrastfarging med negativt ladet anionisk xantenfargestoff (eosin Y, eosin B eller erytrosin B). Dette bindes til de positivt ladde plasmaproteinene. Det finnes to ulike metoder. I den progressive hematoksylinfargingsmetoden utføres farging til endepunktet, deretter farges objektglasset blått i vann fra springen. Med den regressive metoden blir materialet overfarget, og overflødig fargeløsning fjernes ved hjelp av syreskyllingstrinn, etterfulgt av blåfargingstrinnet. Strukturene i kjernen er bedre differensiert og mer synlige med den regressive metoden.

Prøvemateriale

Snitt av formalinfiksert, parafininnstøpt vev (3–4 µm tykke parafinsnitt) eller kryosnitt brukes som startmateriale.

Reagenser

Også påkrevd for H&E farging:

Kat.nr.	1.09844	Eosin Y-løsning 0,5% vandig for mikroskopi	1 l, 2,5 l
eller			
Kat.nr.	1.02439	Eosin Y-oppløsning 0,5 % alkoholholdig for mikroskopi	500 ml, 2,5 l
eller			
Kat.nr.	1.17081	Eosin Y-oppløsning 1 %, alkoholholding for mikroskopi	1 l

Prøvetilberedning

Prøvetakingen skal utføres av kvalifisert personell. Alle prøver skal behandles ved bruk av den nyeste teknologien. Alle prøver skal merkes tydelig. Egnede instrumenter skal brukes for å ta og tilberede prøver. Følg instruksjonene fra produsenten for applisering/bruk. Ved bruk av de tilsvarende hjelpereagensene må den tilsvarende bruksanvisningen følges. Avparafiniser og rehydrer parafinsnitt på normal måte.

Tilberedning av reagens

Eosin Y-løsning 0,5 % vanig (kat.nr. 1.09844)
Eosin Y-oppløsning 0,5 % alkoholholdig (kat.nr. 1.02439)
Eosin Y-oppløsning 1 %, alkoholholdig (kat.nr. 1.17081)

For å forsterke eosinfargingen må f.eks. 1,0 ml iseddiksyre tilsettes i 500 ml arbeidsløsning.
Den surgjorte arbeidsløsningen er tilstrekkelig for omtrent 750 prøver, men bør fornyes senest etter 14 dager.
Ved bruk av alkoholholdige eosin Y-løsninger må en kortere alkoholserie (starter med etanol 96 % og en reaksjonstid på kun 10 sekunder) brukes i de individuelle fargingsprosedyrene.

Eosin B-løsning og erytrosinløsning 0,5 %, vannholdig

Tilberedningsmetoden beskrives i bruksanvisningen for det relevante fargestoffet.

Prosedyre
Regressiv farging av parafinsnitt
Farging i fargingscellen

Avparafiniser histologiske objektglass på normal måte og rehydrer i en serie med avtakende alkoholnivå.
Objektglassene må få dryppe godt av etter de enkelte fargingstrinnene for å unngå unødvendig krysskontaminasjon av løsningene.
De angitte tidene skal overholdes for å garantere et optimalt fargingsresultat.

Objektglass med parafinsnitt	
Destillert vann	1 minutt
Hematoksylin løsning i.h.t. Gill eller Hematoksylin løsning i.h.t. Harris	3 minutter
Saltsyre 0,1 %, vannholdig	2 sekunder
Rennende vann fra springen	3 - 5 minutter
Eosin Y-løsning 0,5 % vanig eller Eosin Y-oppløsning 0,5 % alkoholholdig* eller Eosin Y-oppløsning 1 %, alkoholholdig*	3 minutter
Rennende vann fra springen	30 sekunder
Etanol 70 %	1 minutt
Etanol 70 %	1 minutt
Etanol 96 %	1 minutt
Etanol 96 %	1 minutt
Etanol 100 %	1 minutt
Etanol 100 %	1 minutt
Xylen eller Neo-Clear™	5 minutter
Xylen eller Neo-Clear™	5 minutter
Monter våte Neo-Clear™-objektglass med Neo-Mount™ eller våte xylen-objektglass med f.eks. Entellan™ ny og dekkglass.	

* Ved bruk av alkoholholdige eosin Y-løsninger må en kortere alkoholserie (starter med etanol 96 % og en reaksjonstid på kun 10 sekunder) brukes i de individuelle fargingsprosedyrene.

Etter dehydrering (serie med stigende alkoholnivå) og klaring med xylen eller Neo-Clear™, kan histologiske objektglass dekkas med ethvert ikke-vannholdig monteringsmedium (f.eks. DPX ny, Entellan™ ny, Neo-Mount™) og et dekkglass, og kan deretter lagres.
Bruk av bløtleggingsolje er anbefalt for analysering av fargede objektglass med en mikroskopforstørrelse på > 40x.

Resultat	
Kjerner	mørk blå til mørk fiolett
Cytoplasma, intercellulære stoffer	rosa til rød
Erytrocytter	gul til oransje

Feilsøking
Svak farging av cytoplasma- og bindevevsstrukturer

For å forsterke eosinfargingen bør en surgjort arbeidsløsning (med f.eks. iseddiksyre) benyttes.
Siden bruken av en ikke-surgjort løsning vil resultere i svakt fargede cytoplasma og bindevevsstrukturer, er det anbefalt å følge den angitte reagenstilberedningsprotokollen for å oppnå et optimalt fargeresultat.
Den surgjorte arbeidsløsningen er tilstrekkelig for omtrent 750 prøver, men bør fornyes senest etter 14 dager.

Tekniske merknader

Det anvendte mikroskopet skal oppfylle kravene til et medisinsk diagnostisk laboratorium.
De ferskt tilberedte fargeløsningene skal filtreres før bruk.
Fjern overflødig bløtleggingsolje før fylling.

Analytiske ytelsesegenskaper

“Hematoksylin kryst. (C.I.75290)” farger og synliggjør dermed biologiske strukturer, som beskrevet i ”Resultat”-kapitlene i denne bruksanvisningen. Produktet skal kun brukes av autoriserte og kvalifiserte personer, inkludert bl.a. tilberedning av prøver og reagenser, prøvehåndtering, histologisk prosessering, beslutninger om egnede kontroller osv.
Den analytiske ytelsen av produktet bekreftes ved å teste hvert produktionsparti.

For følgende farginger ble analytisk ytelse bekreftet med tanke på produktets spesifisitet, sensitivitet og repeterbarhet med en et resultat på 100 %:

	Spesifisitet mellom analyser	Sensitivitet mellom analyser	Spesifisitet innen analyse	Sensitivitet innen analyse
Cytologisk farging				
Kjerner	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma cyanofil (basofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma eosinofil (acidofil)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocytter	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganismer	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E farging				
Kjerner	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplasma	20/20	20/20	7/7	7/7
Intercellulære stoffer	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocytter	20/20	20/20	7/7	7/7

Analytiske ytelsesresultater

Data fra intraanalyser (utført på samme parti) og interanalyser (utført på forskjellige partier) lister opp antallet korrekt fargede strukturer sammenlignet med antallet utførte analyser.

Resultatene av denne ytelsesevalueringen bekrefter at produktet er egnet for den tiltenkte bruken og har pålitelig ytelse.

Diagnostikk
Diagnoser skal kun stilles av autorisert og kvalifisert personell.
Gyldig terminologi må benyttes.
Denne metoden kan brukes som et supplement i diagnostikk hos mennesker.
Ytterligere tester må velges og implementeres i samsvar med anerkjente metoder.
Egnede kontroller skal utføres med hver applisering for å unngå et feilaktig resultat.

Oppbevaring
Oppbevar Hematoksylin kryst. (C.I.75290) - for mikroskopi ved +2 °C til +30 °C.

Holdbarhet
Hematoksylin kryst. (C.I.75290) - for mikroskopi kan brukes frem til den angitte utløpsdatoen.
Etter anbrudd av flasken kan innholdet brukes frem til den angitte utløpsdatoen når det oppbevares ved +2 °C til +30 °C.
Flaskene må holdes godt lukket til enhver tid.

Yderligere anvisninger
Kun til profesjonel brug.
For at undgå feil må produktet kun anvendes af faguddannet personale.
Nationale bestemmelser vedrørende arbejdssikkerhed og kvalitetssikring skal overholdes.
Der skal anvendes mikroskoper, der udstyret i henhold til de gældende standarder.

Beskyttelse mod infektioner
Der skal træffes effektive foranstaltninger til beskyttelse mod infektioner i henhold til laboratoriets retningslinjer.

Bortskaffelse
Emballagen skal bortskaffes i overensstemmelse med de gældende bestemmelser for bortskaffelse.
Brugte opløsninger og opløsninger, hvor holdbarheden er udløbet, skal bortskaffes som særligt affald i overensstemmelse med de lokale bestemmelser. Oplysninger om bortskaffelse kan findes under linket “Hints for Disposal of Microscopy Products” (Tip til bortskaffelse af produkter til mikroskopi) under www.microscopy-products.com. I EU skal den gældende FORORDNING (EF) nr. 1272/2008 om klassificering, mærkning og emballering af stoffer og blandinger og om ændring og ophævelse af direktiv 67/548/EØF og 1999/45/EF og om ændring af forordning (EF) nr. 1907/2006 overholdes.

Øvrige reagenser

Kat.nr.	1.00063	Eddiksyre (iseddik) 100 % vannfri for analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.00316	Saltsyre 25 % for analys EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.00579	DPX ny vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	500 ml
Kat.nr.	1.00974	Etanol denaturert med ca. 1 % metyletylketon for analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.01047	Aluminiumkaliumsulfat dodekahydrat for analyse EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat.nr.	1.02439	Eosin Y-oppløsning 0,5 % alkoholholdig for mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.03981	M-FIX® spray fiksering for cytodiagnos	100 ml, 1 l
Kat.nr.	1.04699	Immerjonsolje for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 100 ml, 500 ml
Kat.nr.	1.05174	Hematoksylin løsning modifisert i.h.t. Gill III for mikroskopi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.05175	Hematoksylin løsning modifisert i.h.t. Gill II for mikroskopi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.06329	Natriumhydrogenkarbonat for analyse EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat.nr.	1.06525	Natriumjodat for analyse EMSURE®	100 g
Kat.nr.	1.06887	Papanicolaous oppløsning 2b oransje II-oppløsning for cytologi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.06888	Papanicolaous oppløsning 2a oransje G-oppløsning (OG6) for cytologi	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.07961	Entellan™ ny hurtig monteringsmedium for mikroskopi	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat.nr.	1.08298	Xylene (isomer blanding) for histologi	4 l
Kat.nr.	1.09016	Neo-Mount™ vannfritt monteringsmedium for mikroskopi	100 ml pipette-flaske, 500 ml
Kat.nr.	1.09271	Papanicolaous oppløsning 3a polykromatisk oppløsning EA 31 for cytologi	500 ml, 2,5 l
Kat.nr.	1.09272	Papanicolaous oppløsning 3b polykromatisk oppløsning EA 50 for cytologi	500 ml, 1 l,
Kat.nr.	1.09621	Etylenglykol for analyse EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat.nr.	1.09843	Neo-Clear™ (xylensubstitutt) for mikroskopi	5 l
Kat.nr.	1.09844	Eosin Y-løsning 0,5% vandig for mikroskopi	1 l, 2,5 l
Kat.nr.	1.17081	Eosin Y-oppløsning 1 %, alkoholholding for mikroskopi	1 l
Kat.nr.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Fareklassifikasjon

Kat.nr. 1.04302
Overhold fareklassifikasjonen som er trykt på etiketten og informasjonen i sikkerhetsdatabladet.
Sikkerhetsdatabladet er tilgjengelig på nettstedet og på anmodning.

Hovedkomponenter i produktet

Kat.nr. 1.04302
C.I. 75290
C₁₆H₁₄O₆
M = 302,29 g/mol
tap ved tørking maks. 10 %

Generell merknad

Hvis en alvorlig hendelse oppstår under bruk av denne enheten eller som følge av denne bruken, må det rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant, samt til dine nasjonale myndigheter.

Litteratur

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

P264: Vask hud grundig etter bruk.

P280: Benytt vernebriller/ ansiktsskjerm.

P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

P337 + P313: Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.

Revisjonshistorikk

Versjon	Endringskommentar
2024-Jul-18	Opprinnelig versjon med innføring av revisjonshistorikk



1.04302.0025

1.04302.0100

1.04302.1000

REF

Mikroskopia

Hematoxylín, kryštalický (C.I.75290)

pre mikroskopiu

Iba na profesionálne použitie

IVD

Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*

CE

Určený účel

Táto „Hematoxylín, kryštalický (C.I.75290) - pre mikroskopiu“ je určený na humánno-medicínsku bunkovú diagnostiku a slúži na histologické a cytologické vyšetrenie vzoriek ľudského pôvodu. Ide o suché farbivo na farbenie, ktoré sa používa na prípravu farbiaceho roztoku, ktorý pri použití spolu s ďalšími *in vitro* diagnostickými produktmi z nášho portfólia vytvára cieľové štruktúry na vyhodnotenie pre diagnostické účely (fixáciou, vložení, farbením vyššie uvedeným hematoxylínovým roztokom, kontrastným farbením, uchyténím) v histologických a cytologických vzorkách.

Nesfarbené štruktúry sú relatívne málo kontrastné a pod svetelným mikroskopom ich možno veľmi ťažko rozlíšiť. Snímky vytvorené použitím farbiacich roztokov pomáhajú autorizovanému a kvalifikovanému odborníkovi v týchto prípadoch lepšie definovať tvar a štruktúru. Na stanovenie konečnej diagnózy je potrebné vykonať ďalšie testy podľa uznaných a platných metód.

Tento farbiaci roztok, ktorý si pred použitím vyžaduje ďalšiu prípravu, slúži výlučne na prehľadné farbenie pri diferenciácii cieľových štruktúr bunkových a tkanivových zložiek uvedených nižšie v časti „Výsledok“. Pre špecifickéjšie aplikácie odporúčame použitie kat. č. 1.05175 Hematoxylín, roztok, modifikovaný podľa Gill II, kat. č. 1.05174 Hematoxylín, roztok, modifikovaný podľa Gill III, kat. č. 1.09249 Mayerovo hemalum, roztok pre mikroskopiu alebo kat. č. 1.09254 Papanicolaouov roztok 1b, roztok hematoxylínu S pre cytológiu.

Reagencie

Kat. č. 1.04302

Hematoxylín, kryštalický (C.I.75290)
pre mikroskopiu

25 g, 100 g, 1 kg

Farbný index č.: 75290

Tiež požadované:

Kat. č.	1.09621	Etylénglykol pre analýzu EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. č.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Kat. č.	1.00974	Etanol denaturovaný, s asi 1 % metyletylketónu, pre analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.01047	Síran draselno-hlinitý dodekahydrát pre analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. č.	1.06525	Jodičnan sodný pre analýzu EMSURE®	100 g
Kat. č.	1.00063	Kyselina octová (ľadová) 100 % bezvodá, pre analýzu EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.00316	Kyselina chlorovodíková 25 % pre analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l

Príprava reagentie

Roztok hematoxylínu podľa na Gill

Na prípravu približne 1000 ml zmesi roztoku:

Etylénglykol / roztok destilovanej vody

Etylénglykol	250 g
Destilovaná voda	730 ml
zmiešať a rozpustiť	

Farbiaci roztok

Hematoxylín, kryštalický (C.I.75290)	2 g
Jodičnan sodný	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
rozpustiť vo vyššie uvedenom roztoku etylénglykolu / destilovanej vody	
Kyselina octová 100 %	20 ml
dodatočne. Miešať 1 hodinu pri izbovej teplote. Pred použitím prefiltrovať.	

Roztok hematoxylínu podľa k Harrisovi

Na prípravu približne 1000 ml zmesi roztoku:

Roztok hematoxylínu

Hematoxylín, kryštalický (C.I.75290)	5 g
Etanol	50 ml
rozpustiť pri zahrievaní vo vodnom kúpeli	

Roztok kamenca

Síran draselno-hlinitý dodekahydrát	100 g
Destilovaná voda	950 ml
rozpustiť miešaním a zahrievaním	
Pridajte hematoxylínový roztok do horúceho alaunového roztoku za stáleho miešania roztok a zahrejte ho do varu. Roztok odstráňte z horúceho miesta.	
Jodičnan sodný	370 mg
pridajte za stáleho miešania a rýchlo ochladte vo vodnom kúpeli	
Kyselina octová 100 %	4 ml
dodatočne. Prefiltrujte vo fľašiach a dôkladne zavrite. Pred použitím prefiltrovať.	

Kyselina chlorovodíková 0,1 %, vodná

Na prípravu približne 100 ml zmesi roztoku:

Destilovaná voda	100 ml
Kyselina chlorovodíková 25 %	0,4 ml

Farbenie Papanicolaou

Princíp

Najpoužívanejším postupom farbenia cytologických vzoriek je Papanicolaouova technika, ktorá je určená na farbenie exfoliatívnych buniek v cytologických vzorkách.

V prvom kroku sa bunkové jadrá postupne (progresívne) alebo regresívne farbia roztokom hematoxylínu.

Pri metóde postupného farbenia hematoxylínom sa farbenie vykonáva až do konca, potom sa sklíčko zamodrí vo vode z vodovodu.

Pri regresívnej metóde sa materiál prefarbí a prebytok farbiaceho roztoku sa odstráni opláchnutím kyselinou, po ktorom nasleduje modrenie. Štruktúry jadier sú pri regresívnej metóde diferencovanejšie a lepšie viditeľné.

Druhým krokom farbenia je cytoplazmatické farbenie oranžovým farbiacim roztokom, najmä na preukázanie zreých a zrohovatených buniek.

V treťom kroku farbenia sa používa tzv. polychrómový roztok, zmes eozínu, svetlozelenej SF a Bismarckovej hnedej. Polychrómový roztok sa používa na preukázanie rozlíšenia skvamózných buniek.

Materiál vzorky

Gynenekologické a negynekologické vzorky ako spútum, moč, stery z tenko-ihlových aspiračných biopsií (FNAB), efúzie, výplachy

SK

Reagencie			
Vyžaduje sa aj na farbenie Papanicolaou:			
Kat. č.	1.06887	Papanicolaouov roztok 2b, oranž II, roztok pre cytológiu	500 ml, 2,5 l
alebo			
Kat. č.	1.06888	Papanicolaouov roztok 2a, oranž G, roztok (OG 6) pre cytológiu	500 ml, 1 l, 2,5 l
alebo			
Kat. č.	1.09271	Papanicolaouov roztok 3a, polychromatický roztok EA 31 pre cytológiu	500 ml, 2,5 l
alebo			
Kat. č.	1.09272	Papanicolaouov roztok 3b, polychromatický roztok EA 50 pre cytológiu	500 ml, 1 l, 2,5 l
alebo			
Kat. č.	1.06329	Hydrogénuhličitan sodný pre analýzu EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Príprava vzorky

Odber vzoriek musí robiť kvalifikovaný personál. Všetky vzorky sa musia spracovávať použitím najmodernejšej technológie. Všetky vzorky sa musia jasne označiť. Pri odbere a príprave vzoriek sa musia používať vhodné prístroje. Pri aplikácii/používaní dodržujte pokyny výrobcu. Pri používaní príslušných pomocných reagensí je potrebné dodržiavať príslušné návody na používanie.

Fixácia vzoriek sterov

Mokrú fixáciu sprejovým fixatívom M-FIX® na min. 10 min alebo mokrú fixáciu okamžite v etanole 96 % na min. 30 min. Keď sa roztery zafixujú pomocou M-FIX®, je možné pred farbením vynechať kroky oplachovania 1 – 4 vo vzostupnej etanolovej sekvencii.

Príprava reagencie

Papanicolaouov roztok 2a, oranž G, roztok (OG 6), Papanicolaouov roztok 2b, oranž II, roztok Papanicolaouov roztok 3a, polychromatický roztok EA 31 a Papanicolaouov roztok 3b, polychromatický roztok EA 50 používané na farbenie sú pripravené na použitie, riedenie roztokov nie je potrebné a spôsobuje len zhoršenie výsledku farbenia a ich stability. **Pred použitím sa odporúča roztoky prefiltrovať.**

Roztok hydrogénuhličitanu sodného 1,5 %

Na prípravu približne 1000 ml roztoku sa pridá a rozpustí:

Hydrogénuhličitan sodný	15 g
Destilovaná voda	1000 ml

Postup

Regresívne farbenie vo farbiacej kyvete

Podložné sklíčka sa musia ponoriť a nakrátko sa musí s nimi pohybovať v roztokoch, samotné ponorenie neposkytuje dostatočné výsledky sfarbenia. Po ukončení jednotlivých krokov farbenia by sa mali podložné sklíčka nechať dobre odkvapkať, aby nedošlo k prípadnej zbytočnej krížovej kontaminácii roztokov. Uvedené časy je potrebné dodržať, aby bol zaručený optimálny výsledok sfarbenia.

Podložné sklíčko s fixovaným sterom	
Etanol 96 %*	10 sek
Etanol 80 %*	10 sek
Etanol 70 %*	10 sek
Etanol 50 %*	10 sek
Destilovaná voda	10 sek
Roztok hematoxylínu podľa na Gill alebo Roztok hematoxylínu podľa k Harrisovi	5 min 6 min
Destilovaná voda	10 sek
Kyselina chlorovodíková 0,1 %, vodná	10 sek
Destilovaná voda	10 sek
Roztok hydrogénuhličitanu sodného 1,5 %	1 min
Tečúca voda z vodovodu	3 min
Etanol 70 %	30 sek
Etanol 80 %	30 sek
Etanol 96 %	30 sek
Papanicolaouov roztok 2a, oranž G, roztok alebo Papanicolaouov roztok 2b, oranž II, roztok	3 min

Etanol 96 %	30 sek
Etanol 96 %	30 sek
Papanicolaouov roztok 3a, polychromatický roztok EA 31 alebo Papanicolaouov roztok 3b, polychromatický roztok EA 50	3 min
Etanol 96 %	30 sek
Etanol 96 %	30 sek
Etanol 100 %	5 min
Zmes pozostávajúca z: Etanol 100 % + Neo-Clear™ alebo xylén (1 + 1)	2 min
Prečistite pomocou Neo-Clear™ alebo xylénu.	5 min
Prečistite pomocou Neo-Clear™ alebo xylénu.	5 min
Vlhčená sklíčka Neo-Clear™ fixujte pomocou Neo-Mount™ alebo xylénové vlhčené sklíčka napr. pomocou Entellan™ new a krycím sklíčkom.	

* Tieto kroky je možné vynechať, keď sú roztery zafixované pomocou M-FIX®.

Po dehydratácii (vzostupná alkoholová séria) a vyčistení pomocou xylénu alebo Neo-Clear™ je možné cytologické vzorky fixovať pomocou bezvodých fixačných prostriedkov (napr. Entellan™ new, DPX new alebo Neo-Mount™) a krycieho sklíčka a potom ich uskladniť. Pri analýze sfarbených podložných sklíčok s mikroskopickým zväčšením > 40x sa odporúča používať imerzný olej.

Výsledok

Farbenie pomocou	3a / EA 31	3b / EA 50
Cytoplazma kyanofilné (bazofilné) eosinofilné (acidofilné) keratinizované	modro-zelená až zelená ružová ružovo-oranžová	modro-zelená ružová ružovo-oranžová
Erytrocyty	červená	
Jadro	modrá až tmavofialová	
Mikroorganizmy	sivo-modrá	

Farbenie H&E

Princíp

Farbiaca metóda hematoxylínu a eozínu (H&E) je spôsob najčastejšie používaný na farbenie histologického materiálu. Mechanizmus farbenia je fyzikálno-chemický proces.

V prvom kroku sa kladne nabité jadrové farbivo (hematoxylín) viaže na záporne nabité fosfátové skupiny nukleovej kyseliny bunkového jadra. Druhým krokom je kontrastné farbenie záporne nabitým aniónovým xanténovým farbivom (eozín Y, eozín B alebo erytrozín B). To sa viaže na kladne nabité plazmatické proteíny.

Rozlišujú sa dve metódy. Pri metóde postupného farbenia hematoxylínom sa farbenie vykonáva až do konca, potom sa sklíčko zamodrí vo vode z vodovodu. Pri regresívnej metóde sa materiál prefarbí a prebytok farbiaceho roztoku sa odstráni opláchnutím kyselinou, po ktorom nasleduje modrenie. Štruktúry jadier sú pri regresívnej metóde diferencovanejšie a lepšie viditeľné.

Materiál vzorky

Ako východiskové materiály sa používajú rezy formalínom fixovaného tkania-va zaliate do parafínu (parafínové rezy s hrúbkou 3 – 4 µm) alebo kryorezy.

Reagencie

Vyžaduje sa aj na farbenie H&E:

Kat. č.	1.09844	Eozín G, vodný 0,5 % roztok pre mikroskopiu	1 l, 2,5 l
alebo			
Kat. č.	1.02439	Eozín Y, 0,5 % alkoholový roztok pre mikroskopiu	500 ml, 2,5 l
alebo			
Kat. č.	1.17081	Eozín Y, 1 % roztok, alkoholový pre mikroskopiu	1 l

Príprava vzorky

Odber vzoriek musí robiť kvalifikovaný personál. Všetky vzorky sa musia spracovávať použitím najmodernejšej technológie. Všetky vzorky sa musia jasne označiť. Pri odbere a príprave vzoriek sa musia používať vhodné prístroje. Pri aplikácii/používaní dodržujte pokyny výrobcu. Pri používaní príslušných pomocných reagensí je potrebné dodržiavať príslušné návody na používanie. Parafínové rezy deparafinizujte a rehydratujte bežným spôsobom.

Príprava reagentie

Eozín G, vodný 0,5 % roztok (kat. č. 1.09844)
Eozín Y, 0,5 % alkoholový roztok (kat. č. 1.02439)
Eozín Y, 1 % roztok, alkoholový (kat. č. 1.17081)

Pre zintenzívnenie eozínového farbenia, napr. 1,0 ml ľadovej kyseliny octovej je potrebné pridať 500 ml pracovného roztoku.
Okyslený pracovný roztok postačuje na približne 750 vzoriek; mal by sa však obnoviť najneskôr po 14 dňoch.
Pri používaní alkoholových roztokov Eozínu Y sa pri jednotlivých farbiaciach postupoch musí použiť kratšia alkoholová séria (začínajúca 96 % etanolom a reakčným časom iba 10 sekúnd).

Roztok Eozín B a erytrozínový roztok 0,5 % vodný
Spôsob prípravy je opísaný v návode na použitie príslušného farbiva.

Postup
Regresívne farbenie parafrínových rezov
Farbenie vo farbiacej kyvete

Histologické podložné sklíčka deparafrinujte bežným spôsobom a rehydratujte v zostupnej alkoholovej sérii.
Po ukončení jednotlivých krokov farbenia by sa mali podložné sklíčka nechať dobre odkvapkať, aby nedošlo k prípadnej zbytočnej krížovej kontaminácii roztokov.
Uvedené časy je potrebné dodržať, aby bol zaručený optimálny výsledok sfarbenia.

Podložné sklíčko s parafrínový rez	
Destilovaná voda	1 min
Roztok hematoxylínu podľa na Gill alebo Roztok hematoxylínu podľa k Harrisovi	3 min
Kyselina chlorovodíková 0,1 %, vodná	2 sek
Tečúca voda z vodovodu	3 - 5 min
Eozín G, vodný 0,5 % roztok alebo Eozín Y, 0,5 % alkoholový roztok* alebo Eozín Y, 1 % roztok, alkoholový*	3 min
Tečúca voda z vodovodu	30 sek
Etanol 70 %	1 min
Etanol 70 %	1 min
Etanol 96 %	1 min
Etanol 96 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Etanol 100 %	1 min
Xylén alebo Neo-Clear™	5 min
Xylén alebo Neo-Clear™	5 min
Vlhčená sklíčka Neo-Clear™ fixujte pomocou Neo-Mount™ alebo xylénové vlhčené sklíčka napr. pomocou Entellan™ new a krycím sklíčkom.	

* Pri používaní alkoholových roztokov Eozínu Y sa pri jednotlivých farbiaciach postupoch musí použiť kratšia alkoholová séria (začínajúca 96 % etanolom a reakčným časom iba 10 sekúnd).

Po dehydratácii (vzostupná alkoholová séria) a vyčistení pomocou xylénu alebo Neo-Clear™ je možné histologické vzorky fixovať pomocou bezvodých fixačných prostriedkov (napr. DPX new, Entellan™ new, Neo-Mount™) a krycieho sklíčka a potom ich uskladniť.
Pri analýze sfarbených podložných sklíčok s mikroskopickým zväčšením > 40x sa odporúča používať imerzný olej.

Výsledok	
Jadro	tmavomodré až tmavofialové
Cytoplazma, medzibunkové látky	ružová až červená
Erytrocyty	žltá až oranžová

Odstraňovanie problémov
Slabé zafarbenie cytoplazmy a štruktúr spojivového tkaniva

Pre zintenzívnenie eozínového farbenia, sa má použiť okyslený pracovný roztok (s použitím napr.ľadovej kyseliny octovej). Použitie nekyslého roztoku bude mať za následok slabé zafarbenie cytoplazmy a štruktúr spojivového tkaniva, preto sa odporúča dodržiavať uvedený protokol prípravy reagentie, aby sa dosiahol optimálny výsledok farbenia.
Okyslený pracovný roztok postačuje na približne 750 vzoriek; mal by sa však obnoviť najneskôr po 14 dňoch.

Technické poznámky
Použitý mikroskop musí spĺňať požiadavky lekárskeho diagnostického laboratória.
Čerstvo pripravené farbiace roztoky sa majú pred použitím prefiltrovať.
Pred plnením odstráňte prebytočný imerzný olej.

Analytické výkonnostné charakteristiky
„Hematoxylín, kryštalicý (C.I.75290)“ vyfarbí a tým vizualizuje biologické štruktúry, ako je opísané v kapitolách „Výsledok“ tohto návodu na používanie. Používanie tohto produktu môžu vykonávať len autorizované a kvalifikované osoby, čo medzi iným zahŕňa prípravu vzoriek a reagentií, manipuláciu so vzorkami, spracovanie histologických procesov, rozhodnutia týkajúce sa vhodných kontrol a podobne.
Analytická výkonnosť produktu sa potvrdzuje testovaním každej výrobnéj šarže.
U nasledujúcich sfarbení sa potvrdila analytická výkonnosť z hľadiska špecifity, citlivosti a opakovateľnosti produktu s percentuálnou hodnotou 100 %:

	Špecifi- ta medzi testami	Citlivosť medzi testami	Špecificita v rámci testu	Citlivosť v rámci testu
Cytologické farbenie				
Jadro	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma kyanofilné (bazofilné)	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma eosinofilné (acidofilné)	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocyty	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmy	20/20	20/20	7/7	7/7
Farbenie H&E				
Jadro	20/20	20/20	7/7	7/7
Cytoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Medzibunkové látky	20/20	20/20	7/7	7/7
Erytrocyty	20/20	20/20	7/7	7/7

Výsledky analytickej výkonnosti

Údaje v rámci jedného testu (vykonané na tej istej šarži) a medzi testami (vykonané na rôznych šaržiach) udávajú počet správne sfarbených štruktúr v pomere k počtu vykonaných testov.

Výsledky tohto hodnotenia výkonnosti potvrdzujú, že produkt je vhodný na zamýšľané použitie a spoľahlivo funguje.

Diagnostika
Diagnostiku môže vykonávať len autorizovaný a kvalifikovaný personál. Musí sa používať platné názvoslovie.
Táto metóda sa môže doplnkovo použiť v oblasti humánnej diagnostiky. Ďalšie testy je potrebné vybrať a vykonať podľa uznaných metód.
Pri každej aplikácii je potrebné vykonať vhodné kontroly, aby sa zamedzilo nesprávnemu výsledku.

Skladovanie
Hematoxylín, kryštalicý (C.I.75290) - pre mikroskopiu skladujte pri teplote +2 °C až +30 °C.

Doba použiteľnosti
Hematoxylín, kryštalicý (C.I.75290) - pre mikroskopiu je možné používať až do uvedeného dátumu expirácie.
Po prvom otvorení fľaše je možné obsah používať až do uvedeného dátumu expirácie za predpokladu, že sa skladuje pri teplote +2 °C až +30 °C.
Fľaše musia byť vždy tesne uzavreté.

Ďalšie pokyny
Iba na profesionálne použitie.
Aby sa zamedzilo chybám, aplikáciu musí vykonávať iba kvalifikovaný personál.
Je potrebné dodržiavať národné smernice týkajúce sa bezpečnosti práce a zabezpečenia kvality.
Musia sa používať mikroskopy so zodpovedajúcim vybavením podľa normy.

Ochrana pred infekciou
Na ochranu pred infekciou je potrebné prijať účinné opatrenia v súlade s laboratórnymi smernicami.

Pokyny týkajúce sa likvidácie
Obal musí byť zlikvidovaný v súlade s platnými pokynmi na likvidáciu. Použité roztoky a roztoky, ktorým uplynula doba použiteľnosti, sa musia likvidovať ako špeciálny odpad v súlade s miestnymi smernicami. Informácie o likvidácii možno získať pod odkazom „Hints for Disposal of Microscopy Products“ na webovej stránke www.microscopy-products.com. V rámci EÚ sa aktuálne uplatňuje nariadenie (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, o zmene, doplnení a zrušení smerníc 67/548/EHS a 1999/45/ES a o zmene a doplnení nariadenia (ES) č. 1907/2006.

Pomocné reagenty

Kat. č.	1.00063	Kyselina octová (ľadová) 100 % bezvodá, 1 l, 2,5 l pre analýzu EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	
Kat. č.	1.00316	Kyselina chlorovodíková 25 % pre analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.00579	DPX new nevodné fixačné médium pre mikroskopiu	500 ml
Kat. č.	1.00974	Etanol denaturovaný, s asi 1 % metyletylketónu, pre analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.01047	Síran draselno-hlinitý dodekahydrát pre analýzu EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. č.	1.02439	Eozín Y, 0,5 % alkoholový roztok pre mikroskopiu	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.03981	M-FIX® fixačný sprej pre cytodiagnostiku	100 ml, 1 l
Kat. č.	1.04699	Imerzný olej pre mikroskopiu	fľaša na kvapka- nie s objemom 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.05174	Hematoxylin, roztok, modifikovaný podľa Gill III pre mikroskopiu	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.05175	Hematoxylin, roztok, modifikovaný podľa Gill II pre mikroskopiu	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.06329	Hydrogénuhlíčan sodný pre analýzu EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. č.	1.06525	Jodičnan sodný pre analýzu EMSURE®	100 g
Kat. č.	1.06887	Papanicolaouov roztok 2b, oranž II, roztok pre cytológiu	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.06888	Papanicolaouov roztok 2a, oranž G, roztok (OG 6) pre cytológiu	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.07961	Entellan™ new médium pre rýchlu fixáciu, pre mikroskopiu	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č.	1.08298	Xylene (zmes izomérov) pre histológiu	4 l
Kat. č.	1.09016	Neo-Mount™ bezvodé fixačné médium pre mikroskopiu	fľaša na kvapka- nie s objemom 100 ml, 500 ml
Kat. č.	1.09271	Papanicolaouov roztok 3a, polychromatický roztok EA 31 pre cytológiu	500 ml, 2,5 l
Kat. č.	1.09272	Papanicolaouov roztok 3b, polychromatický roztok EA 50 pre cytológiu	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.09621	Etylenglykol pre analýzu EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. č.	1.09843	Neo-Clear™ (náhrada xylénu) pre mikroskopiu	5 l
Kat. č.	1.09844	Eozín G, vodný 0,5 % roztok pre mikroskopiu	1 l, 2,5 l
Kat. č.	1.17081	Eozín Y, 1 % roztok, alkoholový pre mikroskopiu	1 l
Kat. č.	227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Klasifikácia nebezpečenstva

Kat. č. 1.04302

Dodržiavajte klasifikáciu nebezpečenstva vytlačenú na etikete a informácie uvedené v bezpečnostných listoch.

Bezpečnostný list je k dispozícii na webových stránkach a na vyžiadanie.

Hlavné komponenty produktu

Kat. č. 1.04302

C.I. 75290

C₁₆H₁₄O₆

M = 302,29 g/mol

strata sušením max. 10 %

Všeobecná poznámka

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažný incident, nahláste ho výrobcovi a/alebo jeho autorizovanému zástupcovi a vášmu vnútroštátnemu orgánu.

Literatúra

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

P264: Po manipulácii starostlivo umyte pokožku.

P280: Noste ochranné okuliare/ ochranu tváre.

P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P337 + P313: Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/ starostlivosť.

História revízií

Verzia	Poznámka k úprave
2024-Jul-18	Prvá verzia s uvedením časti História revízií



Prečítajte si návod
na používanie



Výrobca



Katalógové číslo



Kód šarže



Pozor, pozrite si sprievod-
nú dokumentáciu



Použitie do
RRRR-MM-DD



Teplotné ob-
medzenia

Status: 2024-Jul-18

Life Science spoločnosť Merck pôsobí v USA a Kanade pod názvom MilliporeSigma.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko a/alebo jej pobočky. Všetky práva vyhradené. Merck a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov. Detailné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii z verejne dostupných zdrojov.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440

www.sigmaaldrich.com

MERCK

1.04302.0025
1.04302.0100
1.04302.1000

REF

Mikroskopi

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)

mikroskopi için

Yalnızca profesyonel kullanım içindir

IVD *In vitro* Tanısal Tıbbi Cihaz

CE

Kullanım amacı

Bu "Hematoksilin krist. (C.I. 75290) - mikroskopi için" insan-tıbbi hücre tanılaması için kullanılır ve insan kaynaklı numune materyalinin histolojik ve sitolojik incelemesine hizmet eder. Portföyümüzdeki diğer *in vitro* tanısal ürünlerle birlikte kullanıldığında, histolojik ve sitolojik numune materyallerinde hedef yapıları tanısal amaçlar için değerlendirilebilir hale getiren (fiksasyon, gömme, yukarıdaki hematoksilen solüsyonuyla boyama, karşıt boyama, montaj yoluyla) bir boyama solüsyonu hazırlamak için kullanılan bir kuru boyama maddesidir.

Boyanmamış yapıların kontrastı görece düşüktür ve ışık mikroskobu altında ayırt edilmeleri son derece zordur. Boyama solüsyonlarının kullanılmasıyla oluşturulan görüntüler, yetkili ve kalifiye araştırmacının bu gibi durumlarda form ve yapıyı daha iyi tanımlamasına yardımcı olur. Kesin tanıya ulaşmak için bilinen ve geçerli yöntemlere uygun şekilde ileri testler yapılmalıdır.

Kullanımdan önce daha fazla hazırlık gerektiren bu boyama solüsyonu, sadece aşağıdaki "Sonuç" bölümünde listelenen hücre ve doku bileşenlerinin hedef yapılarının diferansiyasyonunda genel boyama için kullanılır. Daha spesifik uygulamalar için, Kat. No. 1.05175 Hematoksilin çözeltisi modifiye Gill II uyarınca; Kat. No. 1.05174 Hematoksilin çözeltisi modifiye Gill III uyarınca, Kat. No. 1.09249 Mayer hemalum çözeltisi mikroskopi için, veya Kat. No. 1.09254 Papanicolaou çözeltisi 1b hematoksilin çözeltisi S sitoloji için.

Reaktifler

Kat. No. 1.04302

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)

mikroskopi için

Renk İndeks No.: 75290

25 g, 100 g, 1 kg

Ayrıca gerekenler:

Kat. No. 1.09621	Etilen glikol analiz için EMSURE® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. No. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate $\geq 97\%$ (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg
Kat. No. 1.00974	Etanol yaklaşık %1 metil etil keton ile denatüre edilmiş analiz için EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.01047	Aluminyum potasyum sülfat dodekahidrat analiz için EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. No. 1.06525	Sodyum iyodür analiz için EMSURE®	100 g
Kat. No. 1.00063	Asetik asit (glacial) %100 susuz analiz için EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.00316	Hidroklorik asit %25 analiz için EMSURE®	1 l, 2,5 l

Reaktifin hazırlanması

Gill'e göre edilmiş hematoksilen solüsyonu

Yaklaşık 1000 ml solüsyon karışımının hazırlanması için:

Etilen glikol/distile su solüsyonu

Etilen glikol	250 g
Distile su	730 ml
karıştırın ve çözündürün	

Boyama solüsyonu

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)	2 g
Sodyum iyodür	0,2 g
Aluminium sulfate octadecahydrate	17,6 g
yukarıdaki etilen glikol/distile su solüsyonunda çözündürün	
Asetik asit %100	20 ml
ekleyin. Oda sıcaklığında 1 saat karıştırın. Kullanmadan önce filtreleyin.	

Harris'e göre edilmiş hematoksilen solüsyonu

Yaklaşık 1000 ml solüsyon karışımının hazırlanması için:

Hematoksilen solüsyonu

Hematoksilin krist. (C.I. 75290)	5 g
Etanol	50 ml
ısıtma altında bir su banyosunda çözündürün	

Alum solüsyonu

Aluminyum potasyum sülfat dodekahidrat	100 g
Distile su	950 ml
karıştırarak ve ısıtarak çözündürün	
Hematoksilen solüsyonunu sıcak alum solüsyonuna karıştırarak ekleyin ve kaynayınca kadar ısıtın. Solüsyonu sıcak yerden çıkarın.	
Sodyum iyodür	370 mg
karıştırarak ekleyin ve bir su banyosunda hızla soğutun	
Asetik asit %100	4 ml
ekleyin. Şişelere süzün ve dikkatle kapatın. Kullanmadan önce filtreleyin.	

Hidroklorik asit %0,1, sulu

Yaklaşık 100 ml solüsyon karışımının hazırlanması için:

Distile su	100 ml
Hidroklorik asit %25	0,4 ml

Papanicolaou boyama

Prencip

Sitolojik numuneler için en çok kullanılan boyama prosedürü Papanicolaou tekniğidir ve sitolojik numunelerdeki eksfoliyatif hücrelerin boyanması amacını taşır.

İlk adımda, hücre çekirdekleri bir hematoksilen solüsyonu ile progresif veya regresif yöntemle boyanır.

Progresif hematoksilen boyama yönteminde, boyama sonlanma noktasına kadar gerçekleştirilir, ardından lam musluk suyunda mavileştirilir.

Regresif yöntemde ise, materyal önce fazla boyanır ve boyama solüsyonunun fazlası asitle durulama adımlarıyla ve ardından mavileştirme adımıyla uzaklaştırılır.

Regresif yöntemde, çekirdek yapıları farklılaştırılır ve daha belirgin görünür.

İkinci boyama adımı, özellikle olgun ve keratinize hücrelerin gösterilmesi için oranj boyama solüsyonu ile sitoplazmik boyamadır.

Üçüncü boyama adımında ise eozin, açık yeşil SF ve Bismarck kahverengisinin bir karışımı olan polikrom solüsyon kullanılır. Polikrom çözelti, skuamöz hücrelerin diferansiyasyonunun gösterilmesi için kullanılır.

Numune materyali

Balgam, idrar, ince iğne aspirasyon biyopsilerinden (İİAB) yaymalar, efüzyonlar, durulama sıvıları gibi jinekolojik olan ve jinekolojik olmayan numuneler

Reaktifler

Papanicolaou boyaması için de gerekenler:

Kat. No. 1.06887	Papanicolaou çözeltisi 2b Orange II çözeltisi sitoloji için	500 ml, 2,5 l
veya		
Kat. No. 1.06888	Papanicolaou çözeltisi 2a Orange G çözeltisi (OG6) sitoloji için	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.09271	Papanicolaou çözeltisi 3a polikromatik çözelti EA 31 sitoloji için	500 ml, 2,5 l
veya		
Kat. No. 1.09272	Papanicolaou çözeltisi 3b polikromatik çözelti EA 50 sitoloji için	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.06329	Sodyum hidrojen karbonat analiz için EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg

Numunelerin hazırlanması

Numuneler kalifiye personel tarafından alınmalıdır.

Tüm numuneler en son teknoloji kullanılarak işlem görmelidir.

Tüm numuneler açıkça etiketlenmelidir.

Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun aletler kullanılmalıdır.

Üreticinin uygulama/kullanım talimatlarını izleyin.

İlgili yardımcı reaktifleri kullanırken ilgili kullanım talimatlarına uyulmalıdır.

Yayma numunelerinin fiksasyonu

Sprey fiksatif M-FIX® ile hemen min. 10 dakika ıslak fiksasyon veya %96 etanol içinde hemen min. 30 dakika ıslak fiksasyon yapılmalıdır.

Yaymalar M-FIX® ile fiks edilmişse, boyamadan önce artan etanol dizisinin deki 1-4 durulama adımları atlanabilir.

Reaktifin hazırlanması

Boyama için kullanılan Papanicolaou çözeltisi 2a Orange G çözeltisi (OG6), Papanicolaou çözeltisi 2b Orange II çözeltisi, Papanicolaou çözeltisi 3a polikromatik çözelti EA 31 ve Papanicolaou çözeltisi 3b polikromatik çözelti EA 50 kullanıma hazırdır, solüsyonların seyreltilmesi gereksizdir ve sadece boyama sonucunun ve stabilitesinin bozulmasına neden olur.

Solüsyonların kullanımdan önce filtrelenmesi önerilir.

Sodyum hidrojen karbonat solüsyonu %1,5

Yaklaşık 1000 ml solüsyonun hazırlanması için şunları ekleyin ve çözdürün:

Sodyum hidrojen karbonat	15 g
Distile su	1000 ml

Prosedür

Regresif boyama hücresinde boyama

Lamlar solüsyonlara daldırılmalı ve içinde kısa süre hareket ettirilmelidir; tek başına basit bir daldırma işlemi tek başına yetersiz boyama sonuçları verecektir.

Solüsyonlarda gereksiz çapraz kontaminasyonlardan kaçınmak için bir önlem olarak, ayrı boyama adımlarından sonra lamların iyice damlmasına izin verilmelidir.

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürele uyulmalıdır.

Sabitlenmiş yaymalı lam	
Etanol %96*	10 sn
Etanol %80*	10 sn
Etanol %70*	10 sn
Etanol %50*	10 sn
Distile su	10 sn
Gill'e göre edilmiş hematoksilen solüsyonu veya Harris'e göre edilmiş hematoksilen solüsyonu	5 dk
Distile su	6 dk
Hidroklorik asit %0,1, sulu	10 sn
Distile su	10 sn
Sodyum hidrojen karbonat solüsyonu %1,5	1 dk
Akan musluk suyu	3 dk
Etanol %70	30 sn
Etanol %80	30 sn
Etanol %96	30 sn

Papanicolaou çözeltisi 2a Orange G çözeltisi veya Papanicolaou çözeltisi 2b Orange II çözeltisi	3 dk
Etanol %96	30 sn
Etanol %96	30 sn
Papanicolaou çözeltisi 3a polikromatik çözelti EA 31 veya Papanicolaou çözeltisi 3b polikromatik çözelti EA 50	3 dk
Etanol %96	30 sn
Etanol %96	30 sn
Etanol %100	5 dk
Şunlardan oluşan karışım: %100 Etanol + Neo-Clear™ veya ksilen (1 + 1)	2 dk
Neo-Clear™ veya ksilen ile berraklaştırın.	5 dk
Neo-Clear™ veya ksilen ile berraklaştırın.	5 dk
Neo-Clear™ ıslak lamları Neo-Mount™ ile veya ksilen ıslak lamları örn. Entellan™ new ve lamel ile kapatın.	

* Yaymalar M-FIX® ile fiks edilmişse bu adımlar atlanabilir.

Dehidratasyondan (artan alkol serisi) ve ksilen veya Neo-Clear™ ile berraklaştırmadan sonra, sitolojik numuneler susuz montaj ajanlarıyla (örn. Entellan™ new, DPX yeni veya Neo-Mount™) ve lamel ile kapatılabilir ve ardından saklanabilir.

Mikroskopik büyüme > 40x olan boyalı lamların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Sonuç

Boyama:	3a / EA 31	3b / EA 50
Sitoplazma siyanofilik (bazofilik) eozinofilik (asidofilik) keratinize	mavi-yeşil ila yeşil pembe pembe-oranj	mavi-yeşil pembe pembe-oranj
Eritrositler	kırmızı	
Çekirdekler	mavi ila koyu viyole	
Mikroorganizmalar	gri-mavi	

H&E boyama

Prensip

Hematoksilen ve eozin (H&E) boyama yöntemi, histoloji materyallerinin boyanmasında en sık kullanılan yöntemdir. Boyama mekanizması fizyokimyasal bir süreçtir.

Birinci adımda, pozitif yüklü nükleer boya (hematoksilen), hücre çekirdeğinin nükleik asidinin negatif yüklü fosfat gruplarına bağlanır.

İkinci adım, negatif yüklü anyonik ksanten boya (eozin Y, eozin B veya eritrosin B) ile karşıt boyamadır. Bu, pozitif yüklü plazma proteinlerine bağlanır.

İki farklı yöntem uygulanmaktadır. Progresif hematoksilen boyama yönteminde, boyama sonlanma noktasına kadar gerçekleştirilir, ardından lam musluk suyunda mavileştirilir. Regresif yöntemde ise, materyal önce fazla boyanır ve boyama solüsyonunun fazlası asitle durulama adımlarıyla ve ardından mavileştirme adımıyla uzaklaştırılır.

Regresif yöntemde, çekirdek yapıları farklılaştırılır ve daha belirgin görünür.

Numune materyali

Formalin fiksle parafine gömülü doku kesitleri (3-4 µm kalınlığında parafin kesitleri) veya donuk kesitler başlangıç materyali olarak kullanılır.

Reaktifler

H&E boyaması için de gerekenler:

Kat. No. 1.09844	Eosin Y-çözeltisi %0.5 sulu mikroskopi için	1 l, 2,5 l
veya		
Kat. No. 1.02439	Eozin Y-çözeltisi %0.5 alkollü mikroskopi için	500 ml, 2,5 l
veya		
Kat. No. 1.17081	Eosin Y solüsyonu %1, alkolik mikroskopi için	1 l

Numunelerin hazırlanması

Numuneler kalifiye personel tarafından alınmalıdır.

Tüm numuneler en son teknoloji kullanılarak işlem görmelidir.

Tüm numuneler açıkça etiketlenmelidir.

Numunelerin alınması ve hazırlanması için uygun aletler kullanılmalıdır.

Üreticinin uygulama/kullanım talimatlarını izleyin.

İlgili yardımcı reaktifleri kullanırken ilgili kullanım talimatlarına uyulmalıdır.

Parafin kesitlerini geleneksel şekilde deparafinize ve rehydrate edin.

Reaktifin hazırlanması

Eosin Y-çözeltisi %0.5 sulu (Kat. No. 1.09844)
Eozin Y-çözeltisi %0.5 alkollü (Kat. No. 1.02439)
Eosin Y solüsyonu %1, alkolik (Kat. No. 1.17081)

Eozin boyamasının yoğunlaştırılması için, örn. 500 ml çalışma solüsyonuna 1,0 ml buzlu asetik asit ilave edilmelidir.

Asidifiye çalışma solüsyonu yaklaşık 750 numune için yeterlidir, ama en geç 14 gün içinde yenilenmesi gerekir.

Alkollü Eozin Y solüsyonlarını kullanırken, bireysel boyama prosedürlerinde daha kısa bir alkol serisi (%96 etanol ile başlama ve sadece 10 saniyelik reaksiyon süresi) kullanılmalıdır.

Eozin B solüsyonu ve eritrosin solüsyonu %0,5, sulu

Hazırlama yöntemi, ilgili boyanın kullanım talimatlarında açıklanmıştır.

Prosedür

Parafin kesitlerinin regresif boyanması

Boyama hücresinde boyama

Histolojik lamları geleneksel şekilde deparafinize edin ve azalan bir alkol serisinde rehidrate edin.

Solüsyonlarda gereksiz çapraz kontaminasyonlardan kaçınmak için bir önlem olarak, ayrı boyama adımlarından sonra lamların iyice damlmasına izin verilmelidir.

Optimum bir boyama sonucunu garanti etmek için belirtilen sürelere uyulmalıdır.

Parafin bölümlü lam	
Distile su	1 dk
Gill’e göre edilmiş hematoksilen solüsyonu veya Harris’e göre edilmiş hematoksilen solüsyonu	3 dk
Hidroklorik asit %0,1, sulu	2 sn
Akan musluk suyu	3 - 5 dk
Eosin Y-çözeltisi %0.5 sulu veya Eozin Y-çözeltisi %0.5 alkollü* veya Eosin Y solüsyonu %1, alkolik*	3 dk
Akan musluk suyu	30 sn
Etanol %70	1 dk
Etanol %70	1 dk
Etanol %96	1 dk
Etanol %96	1 dk
Etanol %100	1 dk
Etanol %100	1 dk
Ksilen veya Neo-Clear™	5 dk
Ksilen veya Neo-Clear™	5 dk
Neo-Clear™ ıslak lamları Neo-Mount™ ile veya ksilen ıslak lamları örn. Entellan™ new ve lamel ile kapatın.	

* Alkollü Eozin Y solüsyonlarını kullanırken, bireysel boyama prosedürlerinde daha kısa bir alkol serisi (%96 etanol ile başlama ve sadece 10 saniyelik reaksiyon süresi) kullanılmalıdır.

Dehidratasyondan (artan alkol serisi) ve ksilen veya Neo-Clear™ ile berraklaştırmadan sonra, histolojik numuneler susuz montaj ajanlarıyla (örn. DPX yeni, Entellan™ new, Neo-Mount™) ve lamel ile kapatılabilir ve ardından saklanabilir.

Mikroskopik büyütme > 40x olan boyalı lamların analizi için daldırma yağı kullanılması önerilir.

Sonuç

Çekirdekler	koyu mavi ile koyu viyole
Sitoplazma, interselüler maddeler	pembe ile kırmızı
Eritrositler	sarı ile oranj

Sorun giderme

Sitoplazma ve bağ dokusu yapılarının zayıf boyanması

Eozin boyamasının yoğunlaştırılması için, asitlendirilmiş (örn. buzlu asetik asit kullanılarak) bir çalışma solüsyonu kullanılmalıdır.

Asitleştirilmemiş bir solüsyonun kullanılması sitoplazma ve bağ doku yapılarında zayıf bir boyanma ile sonuçlanacağından, en iyi boyama sonucunu elde etmek için belirtilen Reaktif hazırlama protokolüne uyulması önerilir.

Asidifiye çalışma solüsyonu yaklaşık 750 numune için yeterlidir, ama en geç 14 gün içinde yenilenmesi gerekir.

Teknik notlar

Kullanılan mikroskop, bir tıbbi tanı laboratuvarının gereksinimlerini karşılamalıdır.

Taze hazırlanan boyama solüsyonları kullanımdan önce filtrelenmelidir.

Doldurmadan önce fazla daldırma yağını çıkarın.

Analitik performans karakteristikleri

“Hematoksilin krist. (C.I. 75290)”, bu Kullanma Kılavuzunun “Sonuç” bölümlerinde açıklandığı gibi, biyolojik yapıları boyar ve görünür hale getirir. Ürünün kullanımı sadece yetkili ve kalifiye kişiler tarafından gerçekleştirilmelidir ve buna numune ve reaktif hazırlama, numune elleçleme, histolojik proses, uygun kontrollere ilişkin kararlar ve daha fazlası dahildir.

Ürünün analitik performansı, her bir üretim partisinin test edilmesiyle onaylanmıştır.

Şu boyalar için ürünün özgüllüğü, duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği açısından analitik performans %100 oranında doğrulandı:

	Testler Arası Özgüllük	Testler Arası Duyarlılık	Test İçi Özgüllük	Test İçi Duyarlılık
Sitolojik boyama				
Çekirdekler	20/20	20/20	7/7	7/7
Sitoplazma siyanofilik (bazofilik)	20/20	20/20	7/7	7/7
Sitoplazma eozinofilik (asidofilik)	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrositler	20/20	20/20	7/7	7/7
Mikroorganizmalar	20/20	20/20	7/7	7/7
H&E boyama				
Çekirdekler	20/20	20/20	7/7	7/7
Sitoplazma	20/20	20/20	7/7	7/7
Interselüler maddeler	20/20	20/20	7/7	7/7
Eritrositler	20/20	20/20	7/7	7/7

Analitik performans sonuçları

Test içi (aynı parti üzerinde gerçekleştirilen) ve testler arası (farklı partiler üzerinde gerçekleştirilen) veriler, yapılan test sayısına göre doğru şekilde boyanmış yapıların sayısını listeler.

Bu Performans Değerlendirmesinin sonuçları, ürünlerin amaçlanan kullanıma uygun olduğunu ve güvenilir şekilde çalıştığını doğrular.

Tanılama

Tanılama sadece yetkili ve kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

Geçerli isimlendirmeler kullanılmalıdır.

Bu yöntem, insan teşhislerinde tamamlayıcı olarak kullanılabilir.

Daha ileri testler, tanınmış yöntemlere göre seçilmeli ve uygulanmalıdır.

Hatalı bir sonuçtan kaçınmak için her uygulamayla birlikte uygun kontroller gerçekleştirilmelidir.

Saklama

Hematoksilin krist. (C.I. 75290) - mikroskopi için +2 °C ila +30 °C’de saklayın.

Raf ömrü

Hematoksilin krist. (C.I. 75290) - mikroskopi için, belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişenin ilk açılışından sonra, içeriği +2 °C ile +30 °C arasında saklandığında belirli süre kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Şişeler her zaman sıkıca kapalı durumda tutulmalıdır.

Diğer talimatlar

Yalnızca profesyonel kullanım içindir.

Hatalardan kaçınmak için uygulama sadece kalifiye personel tarafından yapılmalıdır.

İş güvenliği ve kalite güvencesi ile ilgili ulusal yönergelere uyulmalıdır.

Standarda uygun şekilde donatılmış mikroskoplar kullanılmalıdır.

Enfeksiyona karşı korunma

Laboratuvar yönergeleri doğrultusunda, enfeksiyona karşı korunmak için etkili önlemler alınmalıdır.

İmha talimatları

Paket, yürürlükteki imha yönergelerine uygun şekilde imha edilmelidir.

Kullanılmış ve raf ömrü dolmuş olan solüsyonlar yerel yönergelere uygun şekilde özel atık olarak atılmalıdır. İmha ile ilgili bilgiler,

www.microscopy-products.com adresinde “Mikroskopi Ürünlerinin İmhasına İlişkin İpuçları” Hızlı Bağlantısı altında verilmiştir. AB içinde şu anda, maddelerin ve karışımların sınıflandırılması, etiketlenmesi ve paketlenmesine ilişkin olarak, 67/548/EEC ve 1999/45/EC Yönergelerinin değiştirilmesi ve yürürlükten kaldırılması ve 1907/2006 Sayılı Yönetmeliğin (EC) değiştirilmesi ile, 1272/2008 Sayılı (AT) YÖNETMELİK geçerlidir.

Yardımcı reaktifler

Kat. No. 1.00063	Asetik asit (glacial) %100 susuz analiz için EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.00316	Hidroklorik asit %25 analiz için EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.00579	DPX yeni susuz kapama ortamı mikroskopi için	500 ml
Kat. No. 1.00974	Etanol yaklaşık %1 metil etil keton ile denatüre edilmiş analiz için EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.01047	Aluminyum potasyum sülfat dodekahidrat analiz için EMSURE® ACS,Reag. Ph Eur	1 kg
Kat. No. 1.02439	Eozin Y-çözeltisi %0.5 alkollü mikroskopi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.03981	M-FIX® sprey sabitleyici sitodiyagnoz için	100 ml, 1 l
Kat. No. 1.04699	İmmersiyon yağı mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 100 ml, 500 ml
Kat. No. 1.05174	Hematoksilin çözeltisi modifiye Gill III uyarınca mikroskopi için	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.05175	Hematoksilin çözeltisi modifiye Gill II uyarınca mikroskopi için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.06329	Sodyum hidrojen karbonat analiz için EMSURE® ACS,Reag.Ph Eur	500 g, 1 kg, 5 kg
Kat. No. 1.06525	Sodyum iyodür analiz için EMSURE®	100 g
Kat. No. 1.06887	Papanicolaou çözeltisi 2b Orange II çözeltisi sitoloji için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.06888	Papanicolaou çözeltisi 2a Orange G çözeltisi (OG6) sitoloji için	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.07961	Entellan™ new hızlı destek besiyeri mikroskopi için	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. No. 1.08298	Ksilen (izometrik karışım) histoloji için	4 l
Kat. No. 1.09016	Neo-Mount™ susuz destek besiyeri mikroskopi için	100 ml'lik damlatma şişesi, 500 ml
Kat. No. 1.09271	Papanicolaou çözeltisi 3a polikromatik çözelti EA 31 sitoloji için	500 ml, 2,5 l
Kat. No. 1.09272	Papanicolaou çözeltisi 3b polikromatik çözelti EA 50 sitoloji için	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.09621	Etilen glikol analiz için EMSURE® Reag. Ph Eur,Reag. USP	1 l, 2,5 l, 4 l, 10 l
Kat. No. 1.09843	Neo-Clear™ (ksilen yedeği) mikroskopi için	5 l
Kat. No. 1.09844	Eosin Y-çözeltisi %0.5 sulu mikroskopi için	1 l, 2,5 l
Kat. No. 1.17081	Eosin Y solüsyonu %1, alkolik mikroskopi için	1 l
Kat. No. 227617	Aluminium sulfate octadecahydrate ≥97% (Sigma-Aldrich)	100 g, 500 g, 2,5 kg

Tehlike sınıflandırması

Kat. No. 1.04302

Lütfen etikette yazılı olan tehlike sınıflandırmasına ve güvenlik bilgi formunda verilen bilgilere uyun.

Güvenlik bilgi formu web sitesinde ve talep üzerine mevcuttur.

Ürünün ana bileşenleri

Kat. No. 1.04302

C.I. 75290

 $C_{16}H_{14}O_6$

M = 302,29 g/mol

kuruma kaybı maks. %10

Genel açıklama

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımının bir sonucu olarak ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal makamınıza bildirin.

Literatür

1. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
2. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, sixth Edition
4. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002
5. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
6. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
7. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
8. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams & Wilkins, fourth Edition
9. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban & Fischer, 2. Auflage
10. Gynäkologische Zytodiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Hans-Jürgen Soost und Sigfried Baur, Georg Thieme Verlag, 5. überarbeitete Auflage



H319: Ciddi göz tahrişine yol açar.

P264: Elleçlemeden sonra cildi iyice yıkayın.

P280: Göz koruyucu/ yüz koruyucu kullanın.

P305 + P351 + P338: GÖZLERDE İSE: birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Kontakt lens varsa ve kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin.

P337 + P313: Göz tahrişi kalıcı ise: Tıbbi yardım/ bakım alın.

Revizyon Geçmişi

Sürüm	Değişiklik Yorumu
2024-Jul-18	Revizyon Geçmişi girişiyle birlikte ilk sürüm.



Kullanım talimatlarına başvurun



Üretici



Katalog numarası



Parti kodu



Dikkat, beraberindeki belgelere bakın



Son kullanma tarihi: YYYY-AA-GG



Sıcaklık sınırlaması

Status: 2024-Jul-18

Merck'in Life Science bölümü, ABD ve Kanada'da MilliporeSigma olarak faaliyet göstermektedir.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Almanya ve/veya bağlı şirketleri. Tüm Hakları Saklıdır. Merck ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya'nın ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerine aittir. Ticari markalarla ilgili ayrıntılı bilgiler kamuoyuna açık kaynaklarda mevcuttur.



Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.sigmaaldrich.com

MERCK