

REF 10219

15 ... 25 °C

Verwendungszweck:

Färben von Zellkernen

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verwendungszweck

Hämatoxylin bzw. Hämaun-Lösungen sind Zellkernfärbelösungen für die Histologie und Zytologie. Sie werden für Kernfärbungen in Abstrichpräparaten, Dünnschichtpräparaten, Gefrierschnitten und Paraffinschnitten verwendet.

Die Färbelösung Hämatoxylin, sauer nach Mayer kann einzeln oder in Kombination mit Eosin (z.B. Artikel-Nr.: 12199) in der H&E-Färbung angewendet werden.

Die Färbelösung ist ausschließlich für die professionelle Anwendung als in-vitro Diagnostikum im histologischen bzw. zytologischen Labor vorgesehen.

Prinzip

Hämatoxylin ist ein Naturfarbstoff, der aus dem Blauholzbaum (*Haematoxylum campechianum*) durch Extraktion gewonnen wird. Grundlage der Hämaun-Färbung ist zunächst eine Oxidation des Hämatoxylin zu Hämatein. Durch Zugabe von Metallsalzen kommt es zu einer Komplexbildung der Metallionen mit dem Hämatein. Es entsteht ein Hämatoxylinlack, der stark positiv geladen ist. Dieser reagiert mit den negativ geladenen Phosphatgruppen der nukleären DNS. Hierbei entsteht die typisch blau-violette Farbe der Hämatoxylin-Färbemittel. Gefärbt wird in saurer Lösung. Durch Spülen mit Leitungswasser kommt es zu einer charakteristischen blauen Farbe (Bläuen). Mit diesem Schritt kommt es gleichzeitig zu einer Fixierung der Färbung. Hämatoxylinlacke sind bei höheren pH-Werten schlechter löslich.

Reagenz

Wirksame Bestandteile

1000 ml Aqua dest. / VE-Wasser (CAS-Nr.: 7732-18-5)
100 g Kaliäun p.A. (CAS-Nr.: 7784-24-9)
50 ml Ethanol 96 % vergällt (CAS-Nr.: 64-17-5)
5 g Hämatoxylin (C.I.: 75290) (CAS-Nr.: 517-28-2, 475-25-2)
16 ml Aqua dest. / VE-Wasser (CAS-Nr.: 7732-18-5)
1 g Kaliumpermanganat (CAS-Nr.: 7722-64-7)

Besondere Hinweise

Bereits geöffnete Flaschen müssen stets fest verschlossen aufbewahrt werden.

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Erwartete Ergebnisse:

Zellkerne: blau

Optional:
Gegenfärbung mit Eosin 0,5%ig, wässrig
(Artikel-Nr.: 12199)

Zytoplasma: rosa-rot
Erythrozyten: orange

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:

Wir empfehlen vor der diagnostischen Verwendung die Lösungen über einen Referenzvergleich zu prüfen. Dies kann über das Mitführen einer bekannten Referenzprobe erfolgen.

Vorsichtsmaßnahmen:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Personal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Probennahme:

Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen. Hierbei ist zu gewährleisten, dass frische Proben unmittelbar nach Probennahme ordnungsgemäß fixiert werden. Hämatoxylin-Lösungen können nach Fixierung in gebräuchlichen Fixiermitteln angewandt werden. (Formalin freie Fixiermittel wurden noch nicht auf ihre Anwendbarkeit untersucht). Die Fixierung bestimmt die Intensität des Färberegebnisses.

Hinweise zur Durchführung:

Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik behandelt werden. Die visuelle Auswertung sollte nur von geeignetem und geschultem Personal durchgeführt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Wir empfehlen das Ergebnis mit anderen Methoden/Untersuchungen zu bestätigen.

Empfehlung:

Eventuell auftretende Niederschläge oder Ausfällungen bei häufiger Anwendung können durch Filtration über übliche Faltenfilter beseitigt werden.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

Zur vollständigen Durchführung der Färbung werden folgende Reagenzien benötigt:

- Alkoholreihe in ver. Konzentrationen, siehe Verfahren
- Ethanol 96% vergällt, Artikel-Nr.: 11470
- z.B. Eosin 0,5%ig, wässrig, Artikel-Nr.: 12199
- Eindeckmittel

REF 10219

15 ... 25 °C

Verwendungszweck:

Färben von Zellkernen

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verfahren

Verwendung:

Das Reagenz wird als Kernfarbstoff in verschiedenen Färbeprozessen der Histologie und Zytologie angewendet. Eine Färbung wird bei fixierten und unfixierten Gewebeproben erzielt. Vor der Färbung ist die Gewebeprobe ggf. zu Entparaffinieren und zu Wässern. In einem Färbeprotokoll ist die Verwendung eines Hämatoxylinfarbstoffes grundsätzlich als erster Färbeschritt nach der Entparaffinierung oder Entplastung bzw. nach der Wässerung frisch fixierter Proben durchzuführen.

Ein Beispiel für ein Färbeprotokoll sieht wie folgt aus:

**Regressiv+Progressis Eingehen!?
auf pH-Wert eingehen**

Beispiel für eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung:

- | | | |
|-----|--|-------|
| (1) | Schnitte entparaffinieren | |
| (2) | Schnitte mit absteigender Alkoholreihe rehydratisieren | |
| (3) | Aqua dest. | 3 min |
| (4) | Hämatoxylin, sauer nach Mayer | 5 min |
| (5) | Fliessend Wässern in Leitungswasser | 5 min |
| (6) | Eosin 0,5%ig, wässrig ^(*optional) | 5 min |
| (7) | Fliessend Wässern in Leitungswasser | 4 min |
| (8) | Entwässern mit aufsteigender Alkoholreihe | |
| (9) | Klären mit Xylol, eindecken | |

^{*optional}

Zur Gegenfärbung können verschiedene Eosine angewendet werden, wie z.B.:

Eosin 0,2%ig, wässrig	Artikel-Nr.:12217
Eosin 0,5%ig, wässrig	Artikel-Nr.:12199
Eosin 1,0%ig, wässrig	Artikel-Nr.:10177
Eosin 2,0%ig, wässrig	Artikel-Nr.:12221
Eosin 0,2%ig, alkoholisch	Artikel-Nr.:13017
Eosin 1,0%ig, alkoholisch	Artikel-Nr.:11503
Eosin 2,0%ig, alkoholisch	Artikel-Nr.:13021
Eosin 0,5%ig, methanolisch	Artikel-Nr.:12433
Eosin 10,0%ig, methanolisch	Artikel-Nr.:11936

Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheit des Labors und den jeweils zu bearbeitenden Fragestellungen des Anwenders orientieren.

Weitere mögliche Verwendungen der Komponente wurden im Rahmen der Leistungsbewertung nicht getestet.

Literaturangaben

Literatur zu diesem Verfahren

1. Waldeyer, W. (1863): Untersuchung über den Ursprung und den Verlauf des Axencylinders bei Wirbellosen und Wirbelthieren. – Henle Pfeifer Z Rat Med, 20: 193-256
2. Böhmer, F. (1865): Zur pathologischen Anatomie der Meningitis cerebromedullaris epidemica. – Aeztl. Intelligenzbl., 12: 539-550
3. Busch, H. (1878): Über die Doppelfärbung des Ossificationsrandes mit Eosin und Haematoxylin. – Arch. Physiol. : 594-595
4. Ehrlich, P. (1886): Technische Mitteilung über Herstellung des sauren Hämatoxylins und des sauren Eosin-Hämatoxylins. – Zeitsch.fuer wissenschaftliche Mikroskopie und (fuer) mikrosk. Technik, 3:150

Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

1. BANCROFT, J. D. & GAMBLE, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone (Edinburg, London, New York).
2. BÖCK, P. (1989): Romeis: Mikroskopische Technik. – 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg (München, Wien, Baltimore).
3. BURCK, H.-C. (1988): Histologische Technik – Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. – 6. Auflage, Thieme Verlag (Stuttgart, New York).
4. HOROBIN, R. W. & KIERNAN, J. A. (2002): CONN's Biological Stains – A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochrome for Use in Biology and Medicine.
5. MULISCH, M. & WELSCH, U. (2010): Romeis – Mikroskopische Technik. – 18. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag (Heidelberg)

Ergebnisbeispiel

