

HEMATOXYLIN H



In vitro diagnosztikus orvostechnikai eszköz



BIOGNOST®

Harris féle módosított Hematoxylin magfestéshez

Szövetteni preparátumok erős, regresszív festéséhez

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ



Katalógus szám: HEMH-OT-100 (100 ml) HEMH-OT-500 (500 ml) HEMH-OT-1L (1000 ml) HEMH-OT-2.5L (2500 mL)

Bevezetés

A BioGnost Hematoxylin H oldat egy, a szövettanban már jól ismert formula, mely kifejezetten precíz sejtmag festéséhez használatos. A hematoxylin regresszív módú alkalmazása rutin eljárás a hematoxylin-eosin festés során. A hematoxylint a festő kékfából (Haematoxylon campechianum L.) vonják ki. A Hematoxylin hemateinné oxidálódik és fém ionokkal kötődik, majd a hematein tartós magfestékké válik. A pozitív töltésű hematein komplex a sejtmagban található DNS negatív töltésű foszfát ionjaihoz kötődik, létrehozva ezzel a karakterisztikus kék színeződést. Az eredeti, Harris féle Hematoxylin oldat egy higany-oxid segítségével oxidált formula. A BioGnost Harris féle hematoxylin oldata annak toxicitása miatt nem tartalmaz higany-oxidot, helyette a környezetkímélőbb nátrium-jodátot használják előállításakor. A hematoxylin H a sejtmagi membránt, nucleoplazmát és nucleolust különösen jól festi.

Termék leírása

HEMATOXYLIN H - Regresszív magfestéshez használatos reagens a szövettanban. Optimálisan oxidált hematoxylint tartalmaz nátrium-jodáttal, aluminium ionokat és antioxidánsokat tartalmaz.

A festés során használatos egyéb eszközök, reagensek:

- Fixálószer, mint a BioGnost neutrális pufferezett formalin oldata: Formaldehyde NB 4%, Formaldehyde NB 10%
- Dehidráló/rehidráló szerek, mint a BioGnost alkohol oldatok: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100
- Derítő oldatok, mint a BioClear xilol vagy helyettesítői, mint a BioClear New, mely alifás szénhidrogén alapú
- Beágyazó közeg, mint a BioGnost granulált paraffinja, a BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro.
- Magas minőségű tárgylemezek, mint a VitroGnost SUPER GRADE vagy a BioGnost több, mint 30 tárgylemez típusa közül bármelyik.
- Differenciáló reagens, mint a BioGnost Acid alkohol
- Kékitő oldat, mint a BioGnost Scott's oldata, vagy Bluing reagens
- Fedő anyag, mint a BioGnost BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost fedőlemezek 18 x 18 mm-es mérettől 24 x 60 mm-es méretig
- Kontrasztfestő reagens, mint a BioGnost eosin oldatok

Szövetteni metszetek előkészítése

- Fixáljuk a szövetmintákat (4% NB Formaldehyde, 10% NB Formaldehyde), öblítsük vízben és dehidráljuk felszálló alkoholsorozatban (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100).
- Derítsünk közbűlső médiumban, xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítő oldatban (BioClear New).
- Itassuk át és öntsük ki a szövetmintát paraffinba (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Metsszük a paraffin blokkot 4-6 µm vastag metszetekre és húzzuk fel azokat VitroGnost tárgylemezre.

Hematoxylin-eosin (HE) festési módszer, PROGRESSZÍV

1. Deparaffináljunk 3 váltás xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New) 2 percig mindhárom váltásban
2. Rehidráljunk 2 váltás 100%-os alkohol oldatban (Histanol 100) – 5 percig az első, 3 percig a második váltásban
3. Rehidráljunk 95%-os alkohol oldatban (Histanol 95) – 2 percig
4. Rehidráljunk desztillált vízben – 2 percig
5. Fessünk Hematoxylin H oldattal – 3-5 percig
Megjegyzés: Ha kicsapódás tapasztalható a Hematoxylin HP, Pap 1A oldatban, vagy fémes réteg ül ki a folyadék felszínére, a reagent használat előtt szűrjük át
6. Mossuk a metszeteket desztillált vízzel, amíg nem távozik több festék a metszetekből
7. Kékitjük a sejtmagokat Scott's oldattal vagy Bluing reagenssel – 1 percig
Megjegyzés: Állítsuk le a kékités folyamatát, ha a magok intenzív kékek. Amennyiben nem áll rendelkezésre Scott's vagy Bluing oldat, folyó csapvíz alatt öblítsük a metszeteket – 3-5 percig.
8. Merítsük a metszeteket desztillált vízbe.
9. Amennyiben alkoholos eosinnal festünk, merítsük a metszeteket 95%-os alkohol oldatba (Histanol 95). Hagyjuk ki ezt a lépést vizes eosin oldat használata esetén.
10. Fessünk az eosin kontrasztfestő oldatok egyikével a kívánt színintenzitás eléréséig – 15 másodpercig
Megjegyzés: Amennyiben alkoholos eosin oldatban festünk, a kívánt színintenzitás sokkal gyorsabban alakul ki (15 másodperc). Vizes bázisú eosin oldat használata esetén az ajánlott inkubációs idő 90 másodperc és 2 perc között.
11. Öblítsünk csapvízben – 2 percig
12. Dehidráljunk 2 váltás 95%-os alkohol oldatban (Histanol 95) – 10-15 másodperc mindkét váltásban
13. Dehidráljunk 3 váltás 100%-os alkohol oldatban (Histanol 100) - 10-15 másodperc mindhárom váltásban
14. Derítsünk 2 váltás xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítő reagensben (BioClear New) – 2 percig mindkét váltásban

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedő médiummal. Amennyiben BioClear xilolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xilol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C, vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xilol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

Hematoxylin-eosin (HE) festési módszer, REGRESSZÍV

1. Deparaffináljunk 3 váltás xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New) 2 percig mindhárom váltásban
2. Rehidráljunk 2 váltás 100%-os alkohol oldatban (Histanol 100) – 5 percig az első, 3 percig a második váltásban
3. Rehidráljunk 95%-os alkohol oldatban (Histanol 95) – 2 percig
4. Rehidráljunk desztillált vízben – 2 percig
5. Fessünk Hematoxylin H oldattal – 4-8 percig
Megjegyzés: Ha kicsapódás tapasztalható a Hematoxylin HP, Pap 1A oldatban, vagy fémes réteg ül ki a folyadék felszínére, a reagenst használat előtt szűrjük át
6. Mossuk a metszeteket desztillált vízzel, amíg nem távozik több festék a metszetekből
7. Differenciáljuk a metszeteket Acid alkoholal – 3-10 mártás
Megjegyzés: Ez a lépés eltávolítja a felesleges Hematoxylin-t a nucleolusokból és a citoplazmából. A nucleusok elszíntelenése következhet be, ha túl sokáig inkubálunk a reagenssel.
8. Öblítsünk desztillált vízben
9. Kékszínűt a sejtmagokat Scott's oldattal vagy Bluing reagenssel – 1 percig
Megjegyzés: Állítsuk le a kékszínűt a magok intenzív kéke. Amennyiben nem áll rendelkezésre Scott's vagy Bluing oldat, folyó csapvíz alatt öblítsük a metszeteket – 3-5 percig.
10. Merítsük a metszeteket desztillált vízbe.
11. Amennyiben alkoholos eosinnal festünk, merítsük a metszeteket 95%-os alkohol oldatba (Histanol 95). Hagyjuk ki ezt a lépést vizes eosin oldat használata esetén.
12. Fessünk az eosin kontrasztfestő oldatok egyikével a kívánt színintenzitás eléréséig – 15 másodpercig
Megjegyzés: Amennyiben alkoholos eosin oldatban festünk, a kívánt színintenzitás sokkal gyorsabban alakul ki (15 másodperc). Vizes bázisú eosin oldat használata esetén az ajánlott inkubációs idő 90 másodperc és 2 perc között.
13. Öblítsünk csapvízben – 2 percig
14. Dehidráljunk 2 váltás 95%-os alkohol oldatban (Histanol 95) – 10-15 mártás mindkét váltásban
15. Dehidráljunk 3 váltás 100%-os alkohol oldatban (Histanol 100) - 10-15 mártás mindhárom váltásban
16. Derítsünk 2 váltás xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítő reagensben (BioClear New) – 2 percig mindkét váltásban

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedő médiummal. Amennyiben BioClear xilolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xilol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C, vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xilol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

A festés eredménye

Sejtmagok – Kék

Citoplazma, kollagén, izomrostok, erythrocyták – a pink különböző árnyalatai

Megjegyzés:

Az ajánlott festési eljárás a nem standardizált, nagyrészt sokéves klinikai és laboratóriumi tapasztalaton alapuló módszer. A festés intenzitása a festékeknek és reagensnek való kitettség időtartamától függ. A festési eljárás változtatható egyéni preferencia szerint amennyiben megfelel a citológiai technikák alapelveinek.

A minta előkészítése és diagnosztika

A minta levételéhez és előkészítéséhez csak erre alkalmas eszközt használjon. A minták feldolgozása korszerű körülmények között és világos megjelöléssel végezhető. Mindig kövesse a gyártó használati útmutatóját. A hibák elkerülése érdekében a festési eljárást és annak kiértékelését arra jogosult és képzett szakszemélyzet végezze el. Kiértékeléshez az orvosi diagnosztikai laboratóriumok követelményrendszerének megfelelő mikroszkópot használjon.

Munka- és környezetvédelem

A terméket a munkavédelmi és környezetvédelmi irányelveknek megfelelően használja. A használt vagy lejárt szavatossági idejű oldatokat a nemzeti ajánlásoknak megfelelően veszélyes anyagként kell kezelni és megsemmisíteni. Az ehhez a festési eljárásához alkalmazott reagens veszélyesek lehetnek az emberi egészségre. A folyamat során vizsgált minták fertőzésveszélyt jelenthetnek. Az emberi egészség megóvása érdekében a jó laboratóriumi gyakorlatnak megfelelő ajánlott védő intézkedések betartása javasolt. A termékek a rajtuk található figyelmeztető jelzéseknek, valamint a BioGnost termékbiztonsági adatlapjaiban leírtaknak megfelelően kezelendők.

Tárolás, stabilitás és lejárati idő

A Hematoxylin H oldat szorosan lezárt eredeti csomagolásában 15°C és 25°C között tárolandó. A reagens száraz helyen tartandó, nem fagyasztható és ne tegyük ki direkt napfénynek. A gyártás és a lejárati dátuma a termékcímkén található.

Referenciák

1. Baker, J.R. (1962): Experiments on the action of mordants. 2. Aluminium-hematein. Q.J.Microsc. Sci. p103 493-517.
2. Conn, J. (1977): Biological Stains, 9th ed., Baltimore: Williams and Wilkins Co.
3. Harris, H.F. (1898): A new method of "ripening" haematoxylin. Microsc. Bull. (Philadelphia) Dec. 47.
4. Harris, H.F. (1900): On the rapid conversion of haematoxylin into haematein in staining reactions. J. Appl. Microsc. p3 777-780.

HEMH-OT-X, V15-EN15, 08 July 2019, AK/IŠP

	Lásd a mellékelt dokumentumon		Tárolási hőmérséklet		Tesztek száma csomagolásonként		Termékkód		Európai minősítés
	Lásd a mellékelt útmutatót		Hőtől és fénytől védve tárolandó		Minőségét megőrzi		Lot szám		Gyártó
	In vitro diagnosztikai alkalmazásra		Száraz helyen tárolandó		Vigyázat, törékeny				



BIOGNOST Ltd.
Medjugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.bionost.com

