

Gebrauchsanweisung
Harris' hematoxylin
solution
(Papanicolaous solution 1a)



„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ wird für die zytologische Krebs- und Zyklusdiagnostik¹ für die humanmedizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der zytologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um eine gebrauchsfertige Färbelösung, welche zytologische Zielstrukturen (mittels Fixieren, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken) in human-gynäkologischem und klinisch-zytologischem Untersuchungsgut für die Diagnostik auswertbar macht.

Die Papanicolaous-Färbung ist die meist genutzte Färbemethode für zytologisches Material. Sie ermöglicht eine vollwertige Aussage über Dignität, Hormonstatus und Vaginalflora. Darüber hinaus kann sie auch zur Anfärbung in der Karzinomdiagnostik eingesetzt werden.

Färbemechanismus:

Der Mechanismus der H&E-Färbung ist im ersten Schritt eine Coulombwechselwirkung des positiv geladenen Kernfarbstoffes (Hämatoxylin) an die negativ geladenen Phosphatgruppen der Nucleinsäuren im Zellkern. Die Kerne erscheinen blau bis dunkelviolet. Der zweite Schritt ist die Zytoplasmafärbung mit einer Orangefärbelösung, die besonders die reifen und verhornten Zellen darstellt. Die Zielstrukturen werden in unterschiedlichen Intensitäten orange gefärbt.

Man unterscheidet die progressive Hämatoxylin-Färbung, bei der bis zum Endpunkt gefärbt wird und dann im Leitungswasser gebläut und haltbar gemacht (diese Methode wird im Folgenden beschrieben) von der regressiven Methode. Dort wird mit Hämatoxylin überfärbt, der Überschuss an Farbe wird in sauren Differenzierschritten wieder entfernt. Auch hier wird mit Leitungswasser gebläut und die Färbung haltbar gemacht. Bei der regressiven Färbung erscheinen die Kernstrukturen differenzierter und sind besser sichtbar.

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

Verwendetes Gewebe:

Als Ausgangsmaterial werden Schnitte von formalin-fixiertem, paraffin-eingebettetem Gewebe (3 - 4 µm dicke Paraffinschnitte) oder auch Gefrierschnitte, sowie klinisches Material aus der Zytologie wie Urinsediment, Sputum, Ausstriche von Feinnadel-Aspirations-Biopsien (FNAB), Spüflüssigkeiten, Imprinte, Ergüsse verwendet.

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.

Schnitte in typischer Weise entparaffinieren und rehydratisieren.

Reagenz Vorbereitung:

Die zur Färbung verwendeten „Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ ist gebrauchsfertig, das Verdünnen der Lösung ist nicht notwendig und mindert das Färbeergebnis und die Haltbarkeit. Es wird empfohlen, die Lösung vor Gebrauch zu filtrieren.

Durchführung Progressive Färbung
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 Färbeschritten 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.
Wasser dest.	20 sec.
„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ Art. Nr.: 6.00.05.0002.07	3 min.
Fließendes Leitungswasser	3 min.
Ethanol 70%	30 sec.
Ethanol 80%	30 sec.
Ethanol 96%	30 sec.
Orange G-Lösung (Papanicolaous Lösung 2a)	3 min.
Ethanol 96%	30 sec.
Ethanol 96%	30 sec.
Polychromlösung EA 31 (Papanicolaous Lösung 3a)	3 min.
Ethanol 96%	30 sec.
Ethanol 96%	30 sec.
Ethanol 100%	5 min.
Gemisch aus: Ethanol 100% + Xylol	2 min.
Xylol	5 min.
Xylol	5 min.
Eindecken mit EUKITT® (Art. Nr.: 6.00.01.0001), EUKITT® neo (Art. Nr.: 6.00.01.0003) oder EUKITT® UV (Art. Nr.: 6.00.01.0005). Bei EUKITT® UV und EUKITT® neo kann auf die drei letzten Xylolschritte verzichtet werden.	

Histologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. EUKITT®, EUKITT® neo oder EUKITT® UV) und Deckglas eingedeckt und gelagert werden. Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung >40x wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Durchführung Regressive Färbung Färbung in der Färbeküvette

Die Objektträger müssen in die Lösungen eingetaucht und kurz bewegt werden, einfaches Hineinstellen ergibt ungenügende Färberegebnisse. Die Objektträger sollten nach den einzelnen Färbeschritten gut abtropfen, so kann eine unnötige Verschleppung von Lösungen vermieden werden. Für ein optimales Färberegebnis 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.
Wasser dest.	10 sec.
„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ Art. Nr.: 6.00.05.0002.07	6 min.
Wasser dest.	10 sec.
Wässrige Salzsäure 0,1%	10 sec.
Wasser dest.	10 sec.
Wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung 1,5%	1 min.
Fließendes Leitungswasser	3 min.
Ethanol 70%	30 sec.
Ethanol 80%	30 sec.
Ethanol 96%	30 sec.
Orange G-Lösung (Papanicolaous Lösung 2a)	3 min.
Ethanol 96%	30 sec.
Ethanol 96%	30 sec.
Polychromlösung EA 31 (Papanicolaous Lösung 3a)	3 min.
Ethanol 96%	30 sec.
Ethanol 96%	30 sec.
Ethanol 100%	5 min.
Gemisch aus: Ethanol 100% + Xylol	2 min.
Xylol	5 min.
Xylol	5 min.
Eindecken mit EUKITT® (Art. Nr.: 6.00.01.0001), EUKITT® neo (Art. Nr.: 6.00.01.0003) oder EUKITT® UV (Art. Nr.: 6.00.01.0005). Bei EUKITT® UV und EUKITT® neo kann auf die vier letzten Schritte verzichtet werden.	

Histologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. EUKITT®, EUKITT® neo oder EUKITT® UV) und Deckglas eingedeckt und gelagert werden.

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

Auswertung:

Färbung mit	3a / EA 31
Zytoplasma -cyanophil (basophil) -eosinophil (acidophil) -verhornt	blau-grün bis grün rosa rosa-orange
Erythrozyten	rot
Zellkerne	blau bis dunkelviolet
Mikroorganismen	grau-blau
Trichomonaden	grau-grün

Technische Hinweise:

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinisch-diagnostischen Labors entsprechen. Werden Histoprozessoren oder Färbearomaten verwendet, sind die Bedienungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten. Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

Diagnostik:

Diagnosen sind nur von autorisierten und geschulten Personen zu erstellen. Gültige Nomenklaturen sind anzuwenden. Weiterführende Tests sind nach anerkannten Methoden auszuwählen und durchzuführen.

Lagerung:

„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ bei +15 °C bis +25 °C lagern. Bei Lagertemperaturen unter +15 °C kann es Farbstoffausfällungen kommen. Die Farbstofflösungen sollten dann für 2 - 3 Stunden in ein Wasserbad mit ca. 60 °C gestellt und vor Gebrauch filtriert werden.



Warnung:

Vor der Verwendung bitte alle Informationen sorgfältig lesen.



Biogefährdung:

Achten Sie auf den Einsatz von geeigneter persönlicher Schutzausrüstung beim Umgang mit potentiell infektiösem Probenmaterial.



Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden:

Eine Beschädigung der Verpackung kann zum Austritt von „Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“. Bedenken sie generell die Gefahr einer Benetzung und treffen Sie geeignete Sicherheitsmaßnahmen (z.B. das Tragen von Handschuhen).



Verwendbar bis:

„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ kann bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.

Nach dem ersten Öffnen der Flasche bei +15 °C bis +25 °C aufbewahrt bis zum Verfallsdatum verwendbar.

Die Flaschen sind stets gut geschlossen zu halten.

Hersteller:



ORSAtec GmbH
Max-Fischer-Straße 11
86399 Bobingen
Germany



Tel. +49 761 81077
E-Mail: info@orsatec.de

<http://www.eukitt.de>

Gebrauchshinweise:

„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ ist gebrauchsfertig und kann ohne weitere Vorbereitungs-schritte eingesetzt werden.



Gebrauchsanweisung beachten:

Der Einsatz von „Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“ sollte entsprechend der Gebrauchsanweisung der jeweiligen System- bzw. Reagenzienlieferanten oder nach ihrem eigenen validierten Verfahren erfolgen.

Nationale Richtlinien für Arbeitssicherheit und Qualitätssicherung sind zu befolgen. Entsprechend dem Standard ausgestattete Mikroskope sind zu verwenden.



Warnung:

Nur für professionelle Anwendung!

Um Fehler zu vermeiden, ist die Anwendung von ausgebildetem Fachpersonal durchzuführen.

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. 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.

„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“:

Art. Nr.: 6.00.05.0001.07.04.01 1000 mL

„Harris' hematoxylin solution (Papanicolaous solution 1a)“

Art. Nr.: 6.00.05.0001.07.04.01

H- und P-Sätze:

Verursacht schwere Augenschäden (H318). Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen (P280). BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen (P305+P351+P338). Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen (P310).