

COLORAZIONE CON EMATOSSILINA-EOSINA

Principio

Metodo di colorazione di routine utilizzato in istologia e citologia. La colorazione si basa su due fasi: la prima è la colorazione nucleare con un colorante basico (ematossilina) e la seconda la colorazione citoplasmatica con un colorante acido xantenico (eosina).

L'ematossilina combinata con sali di alluminio, ferro o cromo forma un colorante attivo, l'emateina, formato dall'ossidazione dell'ematossilina. Questo colorante viene utilizzato come colorante nucleare, colorando i nuclei di blu/nero e permettendone un chiaro dettaglio. Per questo motivo, viene spesso utilizzato con un colorante citoplasmatico, generalmente l'eosina, che fornisce una gradazione dal rosa al rosso alle strutture e alle matrici cationiche (che l'ematossilina non colora o colora solo molto debolmente). Ciò conferisce un buon contrasto ai preparati microscopici, facilitandone l'osservazione.

Materiale

Sezioni di paraffina, sezioni congelate, materiale citologico clinico.

Reagenti

Codice	Descrizione
251299	Eosina giallastra (C.I. 45380) per diagnosi clinica (*)
256879	Eosina giallastra 1% soluzione alcolica per diagnosi clinica (*)
251301	Eosina giallastra 1% soluzione idroalcolica per diagnosi clinica (*)
255298	Ematossilina Carazzi per diagnosi clinica (*)
253949	Soluzione di ematossilina di Harris per diagnosi clinica (*)
256991	Soluzione di ematossilina Harris per diagnosi clinica (*)
252081	Fillossina B (C.I. 45410) per la diagnosi clinica
251008	Acido acetico glaciale per la diagnosi clinica
251769	Xilene, miscela di isomeri per la diagnosi clinica (*)
192695	Etanolo 70% v/v (BP) grado farmaceutico
251085	Etanolo 96% v/v per diagnosi clinica (*)
251086	Etanolo assoluto per diagnosi clinica (*)
253681	Eukitt®, terreno di montaggio per diagnosi clinica

Preparazione delle soluzioni

- Soluzione madre di floxina: sciogliere 1,0 g di floxina B (C.I. 45410) in acqua e portare a 100,0 ml con acqua.
- Soluzione madre di eosina Floxin: a seconda della presentazione dell'eosina da utilizzare, preparare quanto segue. Mescolare i componenti, omogeneizzare bene e conservare in un luogo buio.

1. Con eosina gialla (C.I. 45380)

Eosina Soluzione madre	10 ml
Floxina Soluzione madre	1 ml
Etanolo 96%	78 ml
Acido acetico glaciale	0.4 ml

2. Con una soluzione idroalcolica giallastra di eosina all'1%.

Eosina Soluzione idroalcolica giallastra 1	10 ml
Floxin Soluzione madre	1 ml
Etanolo 96	78 ml
Acido acetico glaciale	0.4 ml

3. Con una soluzione alcolica giallastra di eosina all'1%.

Soluzione di eosina giallastra	10 ml
Soluzione madre di floxina	1 ml
Acqua	9 ml

Procedura

STAGE	REAGENTE	TEMPI
Décore	Xilene	3 x 5 min
Idratare	Etanolo assoluto	7 min
	Etanolo 90	7 min
	Etanolo 70	7 min
	Acqua distillata	7 min
Macchiare	Se ematossilina Harris o Harris modificata	6 min
	Se ematossilina Carazzi	6-9 min a seconda delle dimensioni del campione
	Acqua normale	5 min
	Acido acetico 2	10 - 20 s
Pulire	Acqua di rubinetto	5 min
Ruotare la macchia (1)	Etanolo 96	1 minuto
Pulire	Soluzione di eosina e ploxina	5 min
Macchia Disidratare Decerare	Etanolo 70	5 s
	Etanolo 90	5 s
	Etanolo assoluto	1 minuto
	Etanolo assoluto	5 min
Idratare	Xilene	5 s + 5 min di asciugatura
STAGE	Xilene	5 min + asciugatura
Décore	Mezzo di montaggio	TEMPI

⁽¹⁾ Se si utilizza l'ematossilina Carazzi, saltare questa fase.

Risultati

	Ematossilina di Harris	Ematossilina di Harris modificata	Ematossilina Carazzi
Nuclei (Nuclei)	Blu intenso	Bluastro	Azzurro-violetto
Citoplasma e	Diverse tonalità di	Varie tonalità	Varie tonalità di ro

Il tono dei risultati varia a seconda dell'ematossilina utilizzata e non dell'eosina.

Nota tecnica

Filtrare eventuali tracce di terra presenti nella soluzione. Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti di un laboratorio di diagnostica clinica. Se si utilizza un coloratore automatico, è necessario seguire le istruzioni e il software del produttore.

Preparazione del campione

Tutti i campioni devono essere trattati secondo lo stato dell'arte. Tutti i campioni devono essere etichettati in modo inequivocabile.

Diagnostica

La diagnostica deve essere eseguita solo da personale autorizzato e qualificato. Ogni applicazione deve essere sottoposta a controlli adeguati per escludere risultati errati.

Immagazzinamento

La soluzione colorante deve essere conservata a temperatura ambiente.

Scadenza

Il prodotto, conservato alla temperatura indicata e in un contenitore ben chiuso, può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Note sull'uso

Per evitare errori, la colorazione deve essere eseguita da personale specializzato. Solo per uso professionale. È necessario rispettare le linee guida nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di garanzia della qualità.

Consigli sullo smaltimento dei rifiuti

Le soluzioni usate e scadute devono essere smaltite come rifiuti pericolosi e devono essere rispettate le norme locali sullo smaltimento dei rifiuti. Per ulteriori domande sullo smaltimento, inviare un'e-mail a info.es@itwreagents.com. All'interno dell'UE, i requisiti basati sulla Direttiva 67/548/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose sono validi nella versione pertinente.

Classificazione delle sostanze pericolose

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e le informazioni contenute nella scheda di sicurezza.

Produttore

Panreac Química S.L.U.

an ITW Company

C/Garraf, 2 – Polígono Pla de la Bruguera

E-08211 Castellar del Vallès

(Barcelona) España

Tel. (+34) 937 489 400

Fax (+34) 937 489 401

(*) Certificato CE secondo IVDR 2017/746, per uso professionale.

