Sigma-Aldrich_®

1.09204.0100 1.09204.0103 1.09204.0500 1.09204.0503 1.09204.1000 1.09204.1022 1.09204.2500 1.09204.9025

Mikroskopie

Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung

für die Mikroskopie

Nur für professionelle Anwendung



In Vitro Diagnostikum



Zweckbestimmung

Die vorliegende "Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung - für die Mikroskopie" wird für die human-medizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der hämatologischen, klinisch-zytologischen und histologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um eine Färbelö-sung, welche zusammen mit anderen In Vitro Diagnostika aus unserem Portfolio Zielstrukturen (mittels Fixieren, Einbetten, Anfärben, Gegenfärben, Eindecken) in human-hämatologischem, histologischem und klinisch-zytologischem Untersuchungsgut, wie z.B. Gesamtblut- und Knochenmarkausstriche, sowie Paraffinschnitte, 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.

Prinzip

In der hämatologischen Anwendung, wird die Giemsa-Färbung oft in Kombination mit anderen Färbelösungen eingesetzt, z.B. mit der May-Grünwald-Lösung als Pappenheim (MGG)-Übersichtsfärbung. Dabei werden die Zellkerne überwiegend rot gefärbt, was auf der molekularen Wechselwirkung zwischen dem Eosin G Farbstoff und einem Azur B-DNA Komplex basiert. Die beiden Farbstoffe bilden einen Eosin G-Azur B-DNA Komplex, wobei die Intensität der resultierenden Färbung vom Azur B-Gehalt und dem Verhältnis von Azur B zu Eosin G abhängt. Des Weiteren kann das Färberesultat durch Faktoren wie Fixierung, Färbezeiten, dem pH-Wert der Lösungen und der Puffersubstanzen beeinflusst werden.

In der Histologie und der klinisch-zytologischen Anwendung wird die Giemsa-Färbung ohne zusätzliche Färbungen als erweiterte Übersichtsfärbung eingesetzt. Dabei wird die Färbung der verschiedenen Zellbestandteile durch die Vorbehandlung des Materials beeinflusst. Hier erscheinen chromatinhaltige Strukturen (z.B. Zellkerne) in verschiedenen Blautönen, während die azidophilen Bestandteile in unterschiedlichen Rottönen dargestellt werden.

Probenmaterial

Als Ausgangsmaterial werden Schnitte von Formalin fixiertem, Paraffin eingebettetem Gewebe (3 - 4 µm dicke Paraffinschnitte) oder auch frische, native Gesamtblut- und Knochenmarkausstriche, sowie klinisches Material aus der Zytologie wie Urinsediment, Sputum, Ausstriche von Feinnadel-Aspirations-Biopsien (FNAB), Spülflüssigkeiten, Imprinte verwendet.

Reagenzien

Art. 109468

oder

Art. 109204 Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung für die Mikroskopie

100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l

11, 2,51, 51

Zusätzlich erforderlich:

Art. 106009 Methanol zur Analyse EMSURE®

ACS,ISO,Reag. Ph Eur Puffertabletten pH 7,2

100 tabs zur Herstellung von Pufferlösung nach WEISE für Blutausstrichfärbungen

Art. 111373 Puffertabletten pH 6,4 100 tabs

zur Herstellung von Pufferlösung nach WEISE für

Blutausstrichfärbungen oder

Art. 111374 Puffertabletten pH 6,8 100 tabs zur Herstellung von Pufferlösung nach WEISE für

Blutausstrichfärbungen

für die Färbung von Paraffinschnitten:

Art. 100063 Essigsäure (Eisessig) 100% wasserfrei 1 l, 2,5 l zur Analyse EMSURE

ACS,ISO,Reag. Ph Eur

Art. 109634 2-Propanol zur Analyse EMSURE® 1 |, 2,5 |, 5 |

ACS,ISO,Reag. Ph Eur

für die Pappenheim-Färbung:

Art. 101424 May-Grünwalds Eosin-Methylenblaulösung 100 ml, 500 ml, modifiziert für die Mikroskopie

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.

Paraffinschnitte in typischer Weise entparaffinieren und rehydratisieren.

Hinweis für Giemsa Färbung von Paraffinschnitten

Für die Giemsa-Färbung von Paraffinschnitten unbedingt eigene Klärungsbäder mit Xylol oder Neo-Clear® (Art. 109843) verwenden, da Ethanolspuren in den Lösungen zur Entfärbung der Präparate führen können.

Vorbehandlung von Knochenmark- und Beckenkammstanzen

Optimale Ergebnisse werden durch OSTEOSOFT® milde Entkalkungs-Lösung (Art. 101728) erzielt.

Die fixierten Stanzen werden für 18 - 24 Stunden in OSTEOSOFT® zum schonenden Entkalken eingelegt und anschließend dem Histoprozessing überführt.

Blöckchen werden vorsichtig angeschnitten und wenn notwendig, für 20 min mit OSTEOSOFT® nachbehandelt.

Reagenzvorbereitung

Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung

Die Lösung ist eine konzentrierte Färbelösung und muss vor Gebrauch wie angegeben mit einer Pufferlösung verdünnt werden. Die verdünnte Färbelösung ist vor Gebrauch zu filtrieren.

Pufferlösung

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

Puffertablette, Art. 111373 (pH 6,4), Art. 111374 (pH 6,8) oder Art. 109468 (pH 7,2) abhängig vom gewünschten Färbeergebnis	1 Tablette
Aqua dest.	1000 ml

Verdünnte Giemsas-Färbelösung für manuelle Färbung

Zur Herstellung von etwa 200 ml Lösung werden zusammengegeben:

Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung	10 ml
Pufferlösung	190 ml
Gut mischen, 10 min stehen lassen und bei Bedarf filtrieren	

Verdünnte Giemsas-Färbelösung für Färbung im Färbeautomaten

Zur Herstellung von etwa 300 ml Lösung werden zusammengegeben:

Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung	25 ml
Pufferlösung	275 ml
Gut mischen, 10 min stehen lassen und bei Bedarf filtrieren	

In den verdünnten Färbelösungen bilden sich oft Farbstoffniederschläge, die durch erneutes Filtrieren entfernt werden können.

Essigsäure 0,1 %, wässrig

Zur Herstellung von etwa 1000 ml Lösung werden zusammengegeben:

Essigsäure 100 %	1 ml
Aqua dest.	1000 ml

Giemsa-Färbung

Durchführung

Luftgetrocknete Ausstriche

Färbung in der Färbeküvette / auf der Färbebank

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 luftgetrocknetem Ausstrich		
Methanol	3 min	
Verdünnte Giemsas-Färbelösung für manuelle Färbung	20 min	
Pufferlösung	1 min	
Pufferlösung	1 min	
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)		

Färbung im Färbeautomat

Für ein optimales Färbeergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden

	Zeit	Station	Dip		
Objektträger mit luftgetrocknetem Ausstrich					
Methanol	3 min	2	an		
Verdünnte Giemsas-Färbelösung für Färbung im Färbeautomaten	20 min	3	an		
Pufferlösung	1 min	4	an		
Fließendes Leitungswasser	2 min	5	an		
Trocknen	3 min	6	-		

Für die Lagerung von hämatologischen Präparaten über mehrere Monate wird das Eindecken mit Eindeckmittel (z.B. Neo-Mount®, DPX Neu, Entellan® Neu) und Deckglas empfohlen. Ohne Eindecken ist die Färbung etwa 3 Tage, mit Immersionsöl bedeckt nur einige Stunden stabil.

Zytologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear®, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. Entellan® Neu, 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

-	Pufferlösung pH 6,4	Pufferlösung pH 6,8	Pufferlösung pH 7,2
Zellkerne bzw. Chromatin	rot bis violett	rot bis violett	rot bis violett
Zytoplasma der Lymphozyten	blau	blau	blau
Zytoplasma der Monozyten	graublau	graublau	graublau
neutrophile Granula	hellviolett	hellviolett	hellviolett
eosinophile Granula	rötlich bis rotbraun	rötlich bis rotbraun	rötlich bis rotbraun
basophile Granula	dunkelviolett	dunkelviolett	dunkelviolett
Thrombozyten	violett	violett	violett
Erythrozyten	rötlich	rötlich	rötlich-bräunlich

Pappenheim-Färbung

mit May-Grünwalds-Lösung und Giemsas-Lösung

Durchführung

Luftgetrocknete Ausstriche

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 luftgetrocknetem Ausstrich	
May-Grünwalds Eosin-Methylenblaulösung modifiziert	3 min
Verdünnte Giemsas-Färbelösung für manuelle Färbung	20 min
Pufferlösung	1 min
Pufferlösung	1 min
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trocke	nschrank)

Färbung auf der Färbebank

Für ein optimales Färbeergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Objektträger mit luftgetrocknetem Ausstrich			
May-Grünwalds Eosin-Me- thylenblaulösung modifiziert		vollständig bedecken	3 min
Pufferlösung	1 ml	vermischen	
Verdünnte Giemsas-Färbelö- sung für manuelle Färbung		vollständig bedecken	20 min
Pufferlösung		spülen	
Lufttrocknen (z.B. über Nacht oder bei 50 °C im Trockenschrank)			ank)

Für die Lagerung von hämatologischen Präparaten über mehrere Monate wird das Eindecken mit Eindeckmittel (z.B. Neo-Mount®, DPX Neu, Entellan® Neu) und Deckglas empfohlen. Ohne Eindecken ist die Färbung etwa 3 Tage, mit Immersionsöl bedeckt nur einige Stunden stabil.

Zytologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear®, mit nicht-wässrigen Eindeckmitteln (z.B. Entellan® Neu, 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

3	Pufferlösung pH 6,4	Pufferlösung pH 6,8	Pufferlösung pH 7,2
	pii 0, 4	pii 0,6	pii 7,2
Zellkerne bzw. Chromatin	rotviolett	purpur bis violett	violett
Zytoplasma der Lymphozyten	blau	blau	blau
Zytoplasma der Monozyten	graublau	graublau	graublau
neutrophile Granula	hellviolett	hellviolett	violett
eosinophile Granula	ziegelrot	ziegelrot	rotbraun
basophile Granula	dunkelviolett	dunkelviolett bis schwarz	dunkelviolett bis schwarz
Thrombozyten	violett	violett	violett
Erythrozyten	rötlich	rötlich	rötlich-grau

Giemsa-Färbung

Durchführung

Paraffinschnitte von Beckenkammstanzen und Nachweis von Helicobacter pylori

Färbung in der Färbeküvette

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

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

Für ein optimales Färbeergebnis sollten die angegebenen Zeiten eingehalten werden.

Für die Giemsa-Färbung von Paraffinschnitten unbedingt eigene Klärungsbäder mit Xylol oder Neo-Clear® (Art. 109843) verwenden, da Ethanolspuren in den Lösungen zur Entfärbung der Präparate führen können.

Objektträger mit histologischem Präparat	
Aqua dest.	10 sec
Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung (unverdünnt, filtriert)	15 min
Essigsäure 0,1 %	10 sec
Aqua dest.	10 sec
2-Propanol	10 sec
2-Propanol	10 sec
2-Propanol	10 sec
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.	

Histologische Präparate können nach der Entwässerung (aufsteigende Alkoholreihe), klären mit Xylol oder Neo-Clear®, mit nicht-wässrigen Eindeck-mitteln (z.B. DPX Neu, Entellan® Neu, 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

Zellkerne, Zellen	blau bis dunkelblau
Kollagen, Osteoid	blassblau
eosinophile Granula	rot
saure Mukopolysaccharide, Mastzellgranula, Knorpelmatrix	rötlich-violett
azidophile Substanzen	orangerot
Helicobacter pylori	blau bis dunkelblau

Technische Hinweise

Das verwendete Mikroskop sollte den Anforderungen eines medizinischdiagnostischen Labors entsprechen.

Werden Histoprozessoren und Färbeautomaten verwendet, sind die Bedienungsanweisungen des Geräte- und Softwareherstellers zu beachten. Die verdünnte Farbstofflösung ist vor Gebrauch zu filtrieren.

Überschüssiges Immersionsöl ist vor dem Archivieren zu entfernen.

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.

Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung - für die Mikroskopie bei +15 °C bis +25 °C lagern.

Haltbarkeit

Die Giemsas Azur-Eosin-Methylenblaulösung - für die Mikroskopie 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.

Kapazität

3500 - 5000 Färbungen / 500 ml

Gebrauchshinweise

Nur für professionelle Anwendung.

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

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.

Hilfs	Hilfsreagenzien			
Art.	100063	Essigsäure (Eisessig) 100% wasserfrei zur Analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l	
Art.	100496	Formaldehydlösung 4%, gepuffert, pH 6,9 (ca. 10% Formalinlösung) für die Histologie	350 ml und 700 ml (in Weithalsflasche), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®	
Art.	100579	DPX Neu wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	500 ml	
Art.	100974	Ethanol vergällt mit ca. 1 % Ethylmethyl- keton zur Analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l	
Art.	101424	May-Grünwalds Eosin-Methylenblaulösung modifiziert für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml 1 l, 2,5 l	
Art.	101728	OSTEOSOFT® milde Entkalkungslösung	1 l, 10 l Titripac®	
Art.	103699	Immersionsöl Type N nach ISO 8036 für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche	
Art.	104699	Immersionsöl für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 100 ml, 500 ml	
Art.	106009	Methanol zur Analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 l, 2,5 l, 5 l	
Art.	107961	Entellan® Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie	100 ml, 500 ml 1 l	
Art.	108298	Xylol (Isomerengemisch) für die Histologie	4	
Art.	109016	Neo-Mount® wasserfreies Eindeckmittel für die Mikroskopie	100-ml-Tropf- flasche, 500 ml	
Art.	109203	Giemsas Azur-Eosin-Methylenblau für die Mikroskopie	25 g, 100 g	
Art.	109468	Puffertabletten pH 7,2 zur Herstellung von Pufferlösung nach WEISE	100 tabs	
Art.	109634	für Blutausstrichfärbungen 2-Propanol zur Analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1 , 2,5 , 5	
Art.	109843	Neo-Clear® (Xylol-Ersatz) für die Mikroskopie	5 I	
Art.	111373	Puffertabletten pH 6,4 zur Herstellung von Pufferlösung nach WEISE für Blutausstrichfärbungen	100 tabs	
Art.	111374	Puffertabletten pH 6,8 zur Herstellung von Pufferlösung nach WEISE für Blutausstrichfärbungen	100 tabs	
Art.	111609	Histosec® Pastillen Erstarrungspunkt 56-58°C Einbettungsmittel für die Histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg	
Art.	115161	Histosec® Pastillen (ohne DMSO) Erstarrungspunkt 56-58°C Einbettungsmittel für die Histologie	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg	

Gefahrstoffeinstufung

Art. 109204

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. 109204	
C.I.52015 + Azur	4,1 g/
C.I.45380	2,4 g/
enthält CH₃OH	
11 = 0.99 kg	

Weitere IVD-Produkte Art. 100869 Entellan® Neu für Eindeckautomaten 500 ml für die Mikroskopie Wrights Eosin-Methylenblaulösung Art. 101383 100 ml, 500 ml, für die Mikroskopie 2,51 Eosin G-Lösung 0,5% alkoholisch 500 ml, 2,5 l Art. 102439 für die Mikroskopie Formaldehydlösung min. 37% säurefrei stabilisiert mit etwa 10% Methanol und Art. 103999 1 l, 2,5 l, 25 l Calciumcarbonat für die Histologie Art. 105174 Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach 500 ml, 1 l, 2,5 l Gill III für die Mikroskopie Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill II 500 ml, 2,5 l Art. 105175 für die Mikroskopie Leishmans Eosin-Methylenblaulösung Art. 105387 500 ml modifiziert für die Mikroskopie Art. 109844 Eosin G-Lösung 0,5% wässrig 1 l, 2,5 l für die Mikroskopie Hemacolor® Schnellfärbung von Art. 111661 1 set Blutausstrichen

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.

Färbeset für die Mikroskopie

für die Mikroskopie

Eosin G - Lösung 1%, alkoholisch

Literatur

Art. 117081

- 1. Atlas der klinischen Hämatologie, Löffler, Rastetter, Haferlach, 2004, Springer Verlag 6. Auflage
- 2. Theory and Practice of Histological Techniques, John d. Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone Elsevier, Sixth Edition
- 3. Histological & Histochemical Methods, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, Second Edition
- 4. Romeis Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
- 5. Sobotta, Lehrbuch Histologie, Welsch, 2006, Urban&Fischer, 2. Auflage
- 6. Atlas of clinical cytology, Paul Lopez Cardozo, EM editon medizin
- 7. Klinische Hämatologie, Herbert Begemann, 1975, Georg Thieme Verlag,
- 8. 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









code

Gebrauchsanweisung beachten

Hersteller





Verwendbar bis Temperatur-JJJJ-MM-TT begrenzung

Status: 2020-Sep-17

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

Achtuna, Bealeitdoku-

mentation beachten

www.microscopy-products.com
EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321 Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd. 2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8 Phone: +1 800-565-1400

