

Barvení hematoxylin-eosin

Barvení hematoxylinem a eosinem (HE) patří mezi základní přehledné barvení, které se používá k přípravě polotekných řezů.

Příprava roztoků

Hematoxylin

- do laboratoře je hematoxylin dodáván jako nažloutlý krystalický prášek;
- aby roztok hematoxylinu barvil, musí se oxidovat pomocí oxidačních činidel (např. jodičnan sodný či draselný, železité ionty). Tím se přemění na hematein;
- z hemateinu se dále musí vytvořit barevný tzv. lak hemateinu pomocí mořidla;
- mezi neznámější mořidla patří kamence (např. kamenec draselný = síran hlinito-draselný), podle nich pak rozlišujeme druhy hematoxylinů;
- z často používaných hematoxylinů jmenujme např. Harrisův, Gillův, Heidenheinův

Eosin

Eosinů existuje několik druhů. Liší se svou rozpustností, chemickým složením a také barvou:

1. **bromeosiny** – eosin žlutý, červený
2. **jodeosiny** – erytrosiny

Barvení

Řezy tkáně na podložních sklíčkách jsou připraveny k barvení, které sestává z těchto kroků:

- deparafinace;
- zavodnění;
- vlastní barvení;
- odvodnění;
- projasnění;
- zamontování;

Deparafinace a zavodnění

Řezy se musí zbavit parafínu před barvením ve vodných roztocích. To se provádí **sestupnou alkoholovou řadou**.

Postup

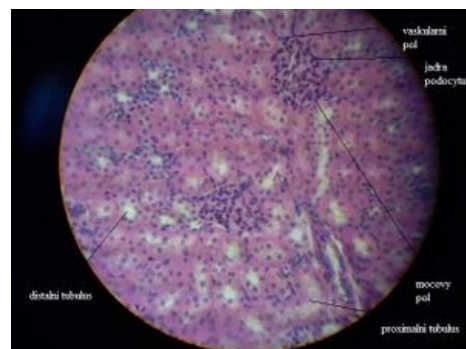
1	xylén	5 min
2	xylén	5 min
3	96 % etanol	3-5 min
4	80 % etanol	3-5 min
4	70 % etanol	3-5 min
5	vypírání ve vodě	5 min

Vlastní barvení

1. odparafínované a zavodněné řezy se barví nejprve roztokem hematoxylinu **3-10 minut**. Doba barvení závisí na:
 - druhu hematoxylinu;
 - stáří roztoku;
 - druhu tkáně;
 - na fixaci.
2. následuje oplach ve vodě
3. možným krokem je tzv. diferenciací v kyselém etanolu, krátce a za kontroly v mikroskopu
4. praní v tekoucí vodě **5 minut**
5. následuje barvení eosinem **1-3 minuty**
6. oplach v destilované vodě

Pokud jsou řezy přebarveny, krátce diferencujeme v *80% alkoholu*.

Odvodnění



Barvení HE – ledvina.

Odvodnění se provádí **vzestupnou alkoholovou řadou** (obrácená sestupná).

- xylen 5 minut,
- xylen 5 minut.

Řezy se v xylenu zároveň **projasní**. Po projasnění musí být zcela průhledné, nesmí na nich zůstat bělavě zakalená místa, což je známkou toho že řezy nebyly dobře odvodněny.

Montování nabarvených řezů

Montovací medium musí být průhledná látka s vysokým indexem lomu (co nejbližší sklu), která nezmění zabarvení tkáně.

Druhy montovacích medií

Nemísitelné s vodou

Rozpustné v xylenu. Řezy musejí být řádně odvodněny a prosyceny např. xylenem.

- PŘ.: dříve kanadský balzám, cedrový olej, dnes např. Solakryl.

Mísitelné s vodou

Rozpustné ve vodě, zavírání bez předchozího odvodnění.

- PŘ.: glycerin, glycerinová želatina, levulózový sirup

Způsob provedení

1. Kapka montovacího média se kápne na preparát na podložním skle, krycí sklíčko se opatrně, ze šikma, přikládá, aby se nevytvořily vzduchové bublinky. Případné bublinky lze vytlačit mírným tlakem na krycí sklíčko např. pinzetou apod.
2. Řez při montování nesmí oschnout.
3. Hotový preparát se vloží do termostatu (37 °C), kde zaschne montovací medium.

Odkazy

Související články

- Barvení ve světelné mikroskopii
- Histochemie
- Burriho barvení
- Gramovo barvení
- Barvení chromozomů
- AZAN

Použitá literatura

- VACEK, Zdeněk. *Histologie a histologická technika. Díl 2, Histologická technika*. 1. vydání. Brno : Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1996. 184 s. ISBN 80-7013-202-7.