

POUŽITÍ

Barvivo pro retikul Sigma-Aldrich je určeno k demonstraci retikulárních vláken. Reagencie retikulového barviva jsou určeny k "diagnostice in vitro."

Hlavní funkcí retikulárních vláken je výztuž. Normálně se nacházejí po celém těle, zejména v játrech, lymfatické uzlině, slezině a ledvině.¹ Amoniaková stříbrná barviva jsou nejčastěji používanými metodami pro demonstraci retikulárních vláken. V postupu Gordona a Sweetse jsou tkáňové řezy okysličovány manganistanem draselným s kyselinou šťavelovou, která odstraňuje přebytky manganistanu draselného. Železito-amonný síran působí jako senzibilizátor. Po impregnaci stříbra, se používá formalin k redukci stříbra na svoji viditelnou formu kovu. Chlorid zlata tónuje řezy a neredukované stříbro se odstraní thiosulfátem sodným. Je-li to potřeba, lze barvit kontrastním barvivem.²

REAGENCIE

ROZTOK HYDROXIDU SODNÉHO, katalogové č. HT102-1
3 % vodný roztok (100 mL)

ROZTOK MANGANISTANU DRASELNÉHO, katalogové č. HT102-2
1 % vodný roztok (100 mL)

ROZTOK KYSELINY ŠTAVELOVÉ, katalogové č. HT102-3
1 % vodný roztok (100 mL)

ROZTOK SÍRANU ŽELEZITO-AMONNÉHO, katalogové č. HT102-4
2,5 % vodný roztok (500 mL)

ROZTOK NITRÁTU STŘÍBRA, katalogové č. HT102-5
10 % vodný roztok (50 mL)

ROZTOK CHLORIDU ZLATA, katalogové č. HT102-6
0,2 % vodný roztok (100 mL)

ROZTOK THIOSÍRANU SODNÉHO, katalogové č. HT102-7
5 % vodný roztok (500 mL)

ULOŽENÍ A STABILITA:

Kit retikulového barviva skladujte uzavřený v lednici (2-8 °C). Po otevření lze skladovat hydroxid sodný, manganistan draselný, kyselinu šťavelovou, síran železito-amonný a thiosíran sodný v ledničce nebo při pokojové teplotě (2-26 °C). Roztoky nitrátu stříbra a chloridu zlata skladujte v lednici (2-8 °C). Reagencie jsou stabilní po dobu použitelnosti uvedené na štítcích.

Pracovní roztok nitrátu stříbrného je třeba použít pouze jednou a potom zlikvidovat.

V suché formě mohou být amoniakové soli nebezpečně explozivní. Nenechte roztok amoniakálního stříbra vyschnout. Skladujte použitý roztok amoniakálního stříbra v umělohmotných láhvích - neskladujte ve skle Wallington doporučuje inaktivaci roztoku amoniakálního stříbra přidáním zředěné kyseliny chlorovodíkové nebo roztoku chloridu sodného.³

ZHORŠENÍ:

Manganistan draselný musí mít nachovou barvu. Roztok lze používat opakovaně, ale je třeba ho zlikvidovat, pokud má hnědé zabarvení.

PŘÍPRAVA:

Příprava ROZTOKU AMONIAKÁLNÍHO STŘÍBRNÉHO NITRÁTU:

1. Pipetujte 5 mL roztoku stříbrného nitrátu, HT102-5, do Erlenmeyerovi baňky.
2. Přidávejte za stálého míchání baňkou kapku po kapce koncentrovaného hydroxidu amonného, až se vytvořená sraženina úplně rozpustí. Nepřidávejte příliš hydroxidu amonného.
3. Přidejte do baňky 5 mL roztoku hydroxidu sodného, katalogové č. HT102-1. Roztok zhnědne a začne se vytvářet sraženina. Neustále baňkou dělejte vířivý pohyb a přidejte kapku po kapce koncentrovaný hydroxid amonný, až se sraženiny téměř rozpustí. V tomto stádiu roztok není úplně čirý.
POZNÁMKA: Pokud v roztoku nezůstala žádná sraženina, přidejte kapku po kapce roztok nitrátu stříbra, katalogové č. HT102-5, až se roztok permanentně zakalí. Zakalení má být pouze málo zřetelné.
4. Zředte výsledný roztok na 50 mL použitím destilované nebo deionizované vody. Přefiltrujte do chemicky čisté nádoby Coplin. Použít jednou a znehodnotit.

10 % roztok formalínu připravíte zředěním 5 mL formaldehydu, 37-40 %, s 45 mL destilované nebo deionizované vody. Připravovat denně čerstvý.

Roztok manganistanu draselného a roztok kyseliny šťavelové je třeba rozdělít na dva 50-mL podíly. Každý díl lze použít 5krát, potom je potřeba ho zlikvidovat. Nemíchejte použitou reagencii s nepoužitým roztokem v původní láhvi.

Ostatní reagencie jsou dodávána připravená k okamžitému použití.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagenciami. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a bezpečnosti.

Kontrolní sklíčka TISSUE-TROL na retikul jsou lidské tkáňové řezy zalité v parafínu obsahující retikul a je třeba s nimi zacházet jako s potencionálně infekčními.

US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok hydroxidu sodného je ŽÍRAVÝ. Způsobuje popáleniny. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Odstraňte okamžitě kontaminovaný oděv. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Roztok manganistanu draselného. Škodlivý pro vodní organismy, může způsobit dlouhodobé negativní dopady ve vodním prostředí. Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí.

Roztok kyseliny šťavelové je ŽÍRAVÝ. Způsobuje popáleniny. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Možné riziko pro nenarozený plod. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Odstraňte okamžitě kontaminovaný oděv. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. Zasažené orgány: Ledviny a nervy.

Roztok síranu železito-amonného je DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice.

Roztok nitrátu stříbra. Škodlivý pro vodní organismy, může způsobit dlouhodobé negativní dopady ve vodním prostředí. Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí. Zasažené orgány: Krev a nervy.

Roztok chloridu zlata. Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí.

Roztok thiosíranu sodného je DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice.

10 % roztok formalínu je ŠKODLIVÝ. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Může způsobit přecitlivělost vdechnutím a při kontaktu s pokožkou. Nevdechujte výpary. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Možné riziko rakoviny. Obsahuje formaldehyd. Lehce absorbovatelný kůží. Zasažené orgány: Oči a ledviny. Calif. Prop. 65 karcinogen.

Roztok hydroxidu amonného je ŽÍRAVÝ a nebezpečný pro životní prostředí. Škodlivý při požití. Způsobuje popáleniny. Velmi toxický pro vodní organismy. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zabraňte úniku do životního prostředí. Viz speciální instrukce / bezpečnostní listy.

Reagenční alkohol je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádoby uchovávejte těsně uzavřené. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy. Zasažené orgány: Nervy a játra.

Xylen je HOŘLAVÝ a ŠKODLIVÝ. Možné riziko poruch plodnosti. Může poškodit nenarozené dítě. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí dýchací systém a pokožku. Riziko vážného poškození očí. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

EU Prohlášení o rizicích a bezpečnosti (Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná)

Roztok hydroxidu sodného je ŽÍRAVÝ. Způsobuje popáleniny. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Roztok manganistanu draselného. Škodlivý pro vodní organismy, může způsobit dlouhodobé negativní dopady ve vodním prostředí. Zabraňte úniku do životního prostředí. Viz speciální instrukce / bezpečnostní listy. Zamezte kontaktu s kůží a očima. Nevdechujte výpary.

Roztok síranu železito-amonného. Zamezte kontaktu s kůží a očima. Nevdechujte výpary.

Roztok nitrátu stříbra. Škodlivý pro vodní organismy, může způsobit dlouhodobé negativní dopady ve vodním prostředí. Zamezte kontaktu s kůží a očima. Nevdechujte výpary.

Roztok chloridu zlata. Zamezte kontaktu s kůží a očima. Nevdechujte výpary.

Roztok thiosíranu sodného. Zamezte kontaktu s kůží a očima. Nevdechujte výpary.

10 % roztok formalínu je ŠKODLIVÝ. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Omezené důkazy o karcinogenním vlivu. Může způsobit přecitlivělost kontaktem s pokožkou. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice.

Roztok hydroxidu amonného je ŽÍRAVÝ a nebezpečný pro životní prostředí. Způsobuje popáleniny. Velmi toxický pro vodní organismy. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zabraňte úniku do životního prostředí. Viz speciální instrukce / bezpečnostní listy.

Reagenční alkohol je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádoby uchovávejte těsně uzavřené. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Xylen je ŠKODLIVÝ. Hořlavý. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí oči. Zamezte kontaktu s očima.

POSTUP

ODBĚR VZORKŮ:

Doporučuje se provádět odběr vzorků v souladu s dokumentem M29-A2 směrnice NCCLS. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplné zajištění, že krevní vzorky nebo tkáň nebudou přenášet infekci. Proto všechny krevní deriváty nebo tkáňové vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční.

Vzorky fixujte v 10 % neutrálním pufovaném formalínu, zpracujte a zalijte parafínem. Nařežte parafínové řezy na tloušťku 4 až 5 mikronů. Přidejte příslušné kontroly.

POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:

Pozitivní kontrolní sklíčka, například Sigma TISSUE-TROL pro retikul, katalogové č. A 4768, je třeba zařadit do každého cyklu
Provedte kontrastní barvení (volitelné) roztokem eosin Y nebo roztokem jaderného barviva Fast Red, katalogové č. N 3020, nukleární fast red 0,1 % v 5 % síranu hlinitém
Koncentrovaný roztok hydroxidu amonného
Ethanol, absolutní
Formalinový roztok, 10 %
Reagenční alkohol
Xylen
Kleště, umělohmotné nebo potažené parafínem
Nádoby Coplin, chemicky čisté

POZNÁMKA:

Údaje získané z tohoto postupu slouží pouze jako diagnostická pomůcka a měly by se prověřit ve spojení s jinými klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

POSTUP:

1. Odstraňte parafín a hydratujte řezy destilovanou vodou.
2. Okysličte řezy v roztoku manganistanu draselného na **5 minut**.
3. Promyjte sklíčka ve vodovodní vodě po dobu **2 minut**.
4. Zavlážete roztokem kyseliny šťavelové na **2 minuty** nebo až se řezy zabarví
5. Promyjte sklíčka ve vodovodní vodě po dobu **2 minut**.
6. Provedte senzitivizaci řezů v síranu železito-amonném na **15 minut**.
7. Opláchnout sklíčka v několika lázních destilované vody.
8. Impregnujte řezy roztokem amoniakálního nitrátu stříbra na **2 minuty**.
9. Proplachněte důkladně sklíčka v destilované vodě.
10. Provedte redukci řezů na **2 minuty** v 10 % roztoku formalínu.
11. Promyjte sklíčka ve vodovodní vodě po dobu **3 minut**.
12. Tónujte řezy v roztoku chloridu zlata na **10 minut**.
13. Opláchněte v destilované vodě
14. Vložte sklíčka do roztoku thiosíranu sodného na **1 minutu**.
15. Promyjte sklíčka ve vodovodní vodě po dobu **2 minut**.
16. Je-li potřeba, proveďte kontrastní barvení roztokem jaderného barviva Fast Red na **3–5 minut** nebo roztokem eosin Y na **1–2 minuty**. V zásadě se barví kontrastním barvivem všechny řezy s výjimkou řezů z jater. Opláchněte ve vodovodní vodě.
17. Dehydratujte vždy ve dvou lázních 95 % ethanolu a absolutního ethanolu.
18. Vyčistěte v xylynu a namontujte pomocí syntetického kaučuku.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

Retikulum	— Černě
Pozadí	— Růžově až růžovo červeně (pokud je provedeno kontrastní barvení pomocí jaderného barviva Fast Red)

Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

REFERENCE

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed, CV Mosby Co., St. Louis, MO, 1980, pp 181-182
2. Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 150-155
3. Wallington, EF (1965): The explosive properties of ammoniacal-silver solutions. J Med Lab Technol, 22, 220-223

Sigma-Aldrich, Inc. garantuje, že její produkty se shodují s informacemi obsaženými v této a jiných publikacích Sigma-Aldrich. Kupující musí stanovit vhodnost produktu(ů) pro dané použití. Mohou platit dodatečné podmínky. Viz zadní strana faktury nebo útržek obalu, kde jsou uvedeny dodatky k prodejním podmínkám.

Postup č. HT102
Předchozí revize: 2003-09
Revidováno: 2005-01



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham, TW20 9BD Velká Británie

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765
Technické služby: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-3122
nebo e-mailujte na clintech@sial.com
Objednávky: 800-325-3010 nebo volejte na 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Německo 49-7329-970