

TILSIGTET ANVENDELSE

Sigma-Aldrichs reticulumfarvestof er beregnet til påvisning af retikulære fibre. Reticulumfarvestof er til in vitro diagnostisk anvendelse.

Retikulære fibres hovedfunktion er at give støtte. Fibrene findes normalt i hele kroppen, især i lever, lymfekirtel, milt og nyre.¹ Ammoniakholdige sølvfarvestoffer er de mest almindeligt anvendte metoder til påvisning af retikulære fibre. I Godon og Sweets' procedure oxideres vævssnit med kaliumpermanganat med oxalsyre, der fjerner overskydende kaliumpermanganat. Ferriammoniumsulfat virker som sensibilisator. Efter sølvimprægneringen anvendes formalin til at reducere sølvet til dets synlige metaform. Guldklorid toner vævssnittene, og evt. ureduceret sølv fjernes med natriumthiosulfat. Der kan evt. anvendes kontrastfarve.²

REAGENSER

NATRIUMHYDROXIDOPLØSNING, katalognr. HT102-1

3 % vandig opløsning (100 ml)

KALIUMPERMANGANATOPLØSNING, katalognr. HT102-2

1 % vandig opløsning (100 ml)

OXALSYREOPLØSNING, katalognr. HT102-3

1 % vandig opløsning (100 ml)

FERRIAMMONIUMSULFATOPLØSNING, katalognr. HT102-4

2,5 % vandig opløsning (500 ml)

SØLVNITRATOPLØSNING, katalognr. HT102-5

10 % vandig opløsning (50 ml)

GULDKLORIDOPLØSNING, katalognr. HT102-6

0,2 % vandig opløsning (100 ml)

NATRIUMTHIOSULFATOPLØSNING, katalognr. HT102-7

5 % vandig opløsning (500 ml)

OPBEVARING OG STABILITET:

Uåbnet reticulumfarvestofsæt opbevares i køleskab (2–8 °C). Efter åbning kan natriumhydroxid-, kaliumpermanganat-, oxalsyre-, ferriammoniumsulfat- og natriumthiosulfatopløsninger opbevares i køleskab eller ved stuetemperatur (2–26 °C). Sølvnitrat- og guldkloridopløsninger opbevares i køleskab (2–8 °C). Reagenser er stabile indtil udløbsdatoen, som er angivet på etiketten.

Sølvnitrat-brugsopløsning er til engangsbrug. Skal kasseres efter brug.

I tør form kan ammoniakalte være eksplosionsfarlige. Ammoniaksvølpopløsning må ikke tørre ud. Brugt ammoniaksvølpopløsning skal opbevares i flasker af plast. Må ikke opbevares i flasker af glas. Wallington har anbefalet, at ammoniaksvølpopløsning deaktiveres ved at tilsætte fortyndet saltsyre eller natriumkloridopløsning.³

FORRINGELSE:

Kaliumpermanganatopløsning skal være lilla. Opløsningen kan anvendes flere gange, men den skal kasseres, hvis den bliver brun.

KLARGØRING:

Klargøring af AMMONIAKSØLVNITRATOPLØSNING:

1. Pipetter 5 ml sølvnitratopløsning, HT102-5, i en Erlenmeyer-flaske.
2. I et stinkskab tilsættes koncentreret ammoniumhydroxid dråbevis, mens flasken hele tiden rystes eller vendes, indtil det dannede bundfald er fuldstændigt opløst. Der må ikke tilsættes for meget ammoniumhydroxid.
3. Tilsæt 5 ml natriumhydroxidopløsning, katalognr. HT102-1, til indholdet i flasken. Opløsningen bliver sort, og der dannes bundfald. Under uafbrudt omrysten af flasken tilsættes koncentreret ammoniumhydroxid dråbevis, indtil bundfaldet lige netop er opløst. På dette trin må opløsningen ikke være helt klar.
BEMÆRK: Hvis der ingen uklarhed er, skal der tilsættes sølvnitratopløsning, katalognr. HT102-5, dråbevis, indtil en dråbe får opløsningen til at blive permanent uklar. Der bør kun være en svag uklarhed.
4. Fortynd denne opløsning til 50 ml med destilleret eller deioniseret vand. Filtrer i en kemisk ren Coplin-skål. Til engangsbrug. Skal kasseres efter brug.

10 % formalinopløsning klargøres ved at fortynde 5 ml formaldehyd, 37–40 %, med 45 ml destilleret eller deioniseret vand. Lav en frisk opløsning hver dag.

Kaliumpermanganatopløsningen og oxalsyreopløsningen skal deles i to aliquoter på 50 ml. Hver aliquot kan anvendes 5 gange, og skal derefter kasseres. Brugt reagens må ikke blandes med ubrugt opløsning i den originale flaske.

De andre reagenser leveres klar til brug.

FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatataget for opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

Reticulum TISSUE-TROL-kontrolobjektglas er paraffinindstøbte humane vævssnit, der indeholder reticulum. De skal behandles som potentielt infektiøse.

Amerikanske risiko- og sikkerhedserklæringer

Natriumhydroxidopløsning er ÆTSENDE. Ættningsfare. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Tilsmudset tøj tages straks af. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Kaliumpermanganatopløsning. Skadelig for organismer, der lever i vand, kan forårsage uønskede langtidsvirkninger i vandmiljøet. Advarsel: Undgå kontakt og indånding.

Oxalsyreopløsning er ÆTSENDE. Ættningsfare. Farlig ved hudkontakt og ved indtagelse. Mulighed for fosterskader. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Tilsmudset tøj tages straks af. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Målorganer: nyrer og nerver.

Ferriammoniumsulfatopløsning er LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjne og hud. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker.

Sølvnitratopløsning: Skadelig for organismer, der lever i vand, kan forårsage uønskede langtidsvirkninger i vandmiljøet. Advarsel: Undgå kontakt og indånding. Målorganer: blod og nerver.

Guldkloridopløsning. Advarsel: Undgå kontakt og indånding.

Natriumthiosulfatopløsning er LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker.

10 % formalinopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Kan give allergi ved indånding og hudkontakt. Undgå indånding af dampe. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Kan være kræftfremkaldende. Indeholder formaldehyd. Optages nemt gennem huden. Målorganer: øjne og nyrer. Calif. Prop. 65 carcinogen.

Ammoniumhydroxidopløsning er ÆTSENDE og farlig for miljøet. Farlig ved indtagelse. Ættningsfare. Meget giftig for organismer, der lever i vand. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Undgå udslip til omgivelserne. Se de særlige instruktions-/sikkerhedsdatablade.

Reagensalkohol er BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning. Målorganer: nerver og lever.

Xylen er BRÆNDBAR og SUNDHEDSSKADELIG. Risiko for nedsat frugtbarhed. Kan forårsage fosterskader. Farlig ved indånding og ved hudkontakt. Irriterer åndedrætsorganerne og huden. Risiko for alvorlig øjenskade. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Risiko- og sikkerhedserklæringer i EU (Advarsel: Stofferne er endnu ikke fuldt ud testet)

Natriumhydroxidopløsning er ÆTSENDE. Ættningsfare. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Kaliumpermanganatopløsning. Skadelig for organismer, der lever i vand, kan forårsage uønskede langtidsvirkninger i vandmiljøet. Undgå udslip til omgivelserne. Se de særlige instruktions-/sikkerhedsdatablade. Undgå kontakt med huden og øjnene. Undgå indånding af dampe.

Ferriammoniumsulfatopløsning. Undgå kontakt med huden og øjnene. Undgå indånding af spray.

Sølvnitratopløsning: Skadelig for organismer, der lever i vand, kan forårsage uønskede langtidsvirkninger i vandmiljøet. Undgå kontakt med huden og øjnene. Undgå indånding af dampe.

Guldkloridopløsning. Undgå kontakt med huden og øjnene. Undgå indånding af spray. Natriumthiosulfatopløsning. Undgå kontakt med huden og øjnene. Undgå indånding af spray.

10 % formalinopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Kan give allergi ved hudkontakt. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker.

Ammoniumhydroxidopløsning er ÆTSENDE og farlig for miljøet. Ættningsfare. Meget giftig for organismer, der lever i vand. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Undgå udslip til omgivelserne. Se de særlige instruktions-/sikkerhedsdatablade.

Reagensalkohol er MEGET BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Meget brandfarlig. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Xylen er SUNDHEDSSKADELIGT. Brændbart. Farligt ved indånding og ved hudkontakt. Irriterer huden. Undgå kontakt med øjnene.

PROCEDURE

PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29-A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøver eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver behandles som potentielt infektiøse.

Fikser prøven i 10 % neutral bufferformalin, behandl, og indstøb i paraffin. Skær paraffinsnit ved 4-5 mikron. Inkorporer passende kontrolobjektglas.

SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER:

Positive kontrolobjektglas, såsom Sigmas reticulum TISSUE-TROL, katalognr. R 4768, skal medtages i hver kørsel

Kontrastfarvestof (valgfrigt): eosin Y-opløsning eller Nuclear Fast Red-opløsning, katalognr. N 3020, Nuclear Fast Red 0,1 % i 5 % aluminiumsulfat

Ammoniumhydroxidopløsning, koncentrat

Ethanol, ren

Formalinopløsning, 10 %

Reagensalkohol

Xylen

Pincet af plast eller paraffinbelagt

Coplin-skåle, kemisk rene

BEMÆRK:

De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

PROCEDURE:

1. Afparaffiner vævssnit, og hydrer til destilleret vand.
2. Oxider vævssnit i kaliumpermanganatopløsning i **5 minutter**.
3. Skyl objektglassene under vandhanevand i **2 minutter**.
4. Bleg i oxalsyreopløsning i **2 minutter**, eller til vævssnittene er farveløse
5. Vask objektglassene i vandhanevand i **2 minutter**.
6. Sensibiliser vævssnittene i ferriammoniumsulfat i **15 minutter**.
7. Vask objektglassene i flere hold destilleret vand.
8. Imprægner vævssnittene med ammoniaksløvnitratopløsning i **2 minutter**.
9. Skyl objektglassene grundigt med destilleret vand.
10. Reducer vævssnittene i **2 minutter** i 10 % formalinopløsning.
11. Vask objektglassene i vandhanevand i **3 minutter**.
12. Ton vævssnittene i guldkloridopløsning i **10 minutter**.
13. Skyl objektglassene i destilleret vand.
14. Anbring objektglassene i natriumthiosulfatopløsning i **1 minut**.
15. Vask objektglassene i vandhanevand i **2 minutter**.
16. Kontrastfarv evt. med Nuclear Fast Red-opløsning i **3-5 minutter** eller med en eosin Y-opløsning i **1-2 minutter**. Normalt kontrastfarves alle vævssnit undtagen vævssnit fra lever. Vask grundigt i vand.
17. Dehydrer i to hold 95 % ethanol og to hold ren ethanol.
18. Klar i xylene, og monter med syntetisk resin.

RESULTATKARAKTERISTIKA

- Reticulum – Sort
Baggrund – Lyserød til rosa (ved kontrastfarvning med Nuclear Fast Red)

Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes for yderligere hjælp.

HENVISNINGER

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. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel for yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedure nr. HT102
Tidligere revision: 2003-09
Revideret: 2005-01



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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Teknisk service: +1 314 771 3122
eller e-mail clintech@sial.com
Bestilling: +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland 49-7329-970