

VERWENDUNGSZWECK

Der Retikulum-Farbstoff von Sigma-Aldrich wird zum Nachweis von Retikulinfasern verwendet. Die Retikulum-Farbstoff-Reagenzien dienen zur „In-vitro-Diagnostik“.

Die Retikulinfasern haben hauptsächlich stützende Funktion. Sie kommen normalerweise im gesamten Körper vor, insbesondere in Leber, Lymphknoten, Milz und Nieren.¹ Ammoniakalische Silberfarbstoffe sind die am häufigsten verwendeten Methoden zum Nachweis von Retikulinfasern. Beim Verfahren nach Gordon und Sweets werden die Gewebeschnitte mit Kaliumpermanganat oxidiert und das überschüssige Kaliumpermanganat mit Oxalsäure entfernt. Eisen-III-Ammoniumsulfat fungiert als Antikörper. Nach der Silberimpregnierung wird Formalin verwendet, um das Silber zu seiner sichtbaren metallischen Form zu reduzieren. Goldchlorid färbt die Schnitte, und Natriumthiosulfat entfernt sämtliches unreduziertes Silber. Falls gewünscht, kann eine Gegenfärbung durchgeführt werden.²

REAGENZIEN

NATRIUMHYDROXID-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-1

3 % wässrige Lösung (100 ml)

KALIUMPERMANGANAT-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-2

1 % wässrige Lösung (100 ml)

OXALSÄURE-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-3

1 % wässrige Lösung (100 ml)

EISEN-III-AMMONIUM-SULFAT-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-4

2,5 % wässrige Lösung (500 ml)

SILBERNITRAT-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-5

10 % wässrige Lösung (50 ml)

GOLDCHLORID-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-6

0,2 % wässrige Lösung (100 ml)

NATRIUMTHIOSULFAT-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT102-7

5 % wässrige Lösung (500 ml)

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Das ungeöffnete Retikulum-Farbstoff-Kit im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Nach dem Öffnen können die Natrium-Hydroxid-, Kaliumpermanganat-, Oxalsäure-, Eisen-III-Ammonium-Sulfat- und Natrium-Thiosulfat-Lösungen im Kühlschrank oder bei Raumtemperatur (2–26 °C) aufbewahrt werden. Die Silber-Nitrat- und Goldchlorid-Lösung im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum stabil.

Die Silber-Nitrat-Arbeitslösung sollte nur ein Mal verwendet und dann entsorgt werden. In trockener Form können Ammoniumsalze explosionsgefährlich sein. Die ammoniakalische Silber-Lösung darf nicht austrocknen. Verwendete ammoniakalische Silber-Lösung in Kunststoffflaschen aufbewahren – nicht in Glas. Wallington empfahl zur Inaktivierung der ammoniakalischen Silber-Lösung eine Zugabe verdünnter Salzsäure oder Natriumchlorid-Lösung.³

PRODUKTVERFALL:

Die Kaliumpermanganat-Lösung sollte violett sein. Die Lösung kann mehrmals verwendet werden, sollte aber entsorgt werden, wenn sie sich braun verfärbt.

VORBEREITUNG:

Zubereitung der AMMONIAKALISCHEN SILBERNITRAT-LÖSUNG:

- 5 ml Silbernitrat-Lösung, HT102-5, in einen Erlenmeyer-Kolben pipettieren.
- Unter einem Abzug bei ständigem Schütteln des Kolbens konzentriertes Ammoniumhydroxid tropfenweise zugeben, bis sich das gebildete Präzipitat vollständig aufgelöst hat. Nicht zu viel Ammoniumhydroxid zugeben.
- 5 ml Natrium-Hydroxid-Lösung, Bestell-Nr. HT102-1, in den Kolben geben. Die Lösung verfärbt sich schwarz, und es bildet sich ein Präzipitat. Den Kolben weiter schütteln und tropfenweise Ammoniumhydroxid zugeben, bis sich das Präzipitat gerade auflöst. Nach diesem Arbeitsgang sollte die Lösung durchsichtig sein.
HINWEIS: Falls keine Trübungen mehr vorhanden sind, tropfenweise Silbernitrat-Lösung, Bestell-Nr. HT102-5, zugeben, bis ein Tropfen die Lösung permanent trübt. Es ist nur eine schwache Trübung ist erwünscht.
- Die so erhaltene Lösung mit destilliertem oder entionisiertem Wasser auf 50 ml verdünnen. In eine chemisch reine Coplin-Küvette filtrieren. Nur ein Mal verwenden und dann entsorgen.

Die 10%ige Formalin-Lösung wird durch Verdünnen von 5 ml Formaldehyd, 37–40 %, mit 45 ml destilliertem oder entionisiertem Wasser zubereitet. Jeden Tag frisch zubereiten.

Die Kaliumpermanganat-Lösung und die Oxalsäure-Lösung sollten in zwei Aliquots von je 50-ml aufgeteilt werden. Jedes Aliquot kann 5 Mal verwendet und dann entsorgt werden. Die verwendeten Reagenzien nicht mit der frischen Lösung in der Originalflasche vermischen.

Die anderen Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Reticulum TISSUE-TROL Kontrollobjektträger sind in Paraffin eingebettete menschliche Gewebe mit Retikulum und sollten als potenziell infektiös behandelt werden.

US-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Natriumhydroxid-Lösung ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Jegliche kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Kaliumpermanganat-Lösung. Schädlich für Wasserorganismen; kann langfristig Umweltschäden im Gewässersystem verursachen. Vorsicht: Nicht einatmen und Kontakt vermeiden.

Oxalsäure-Lösung ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken. Mögliches Risiko einer Schädigung des ungeborenen Kindes. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Jegliche kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Zielorgane: Nieren und Nerven.

Eisen-III-Ammoniumsulfat-Lösung ist ein REIZMITTEL. Reizt Augen und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.

Silbernitrat-Lösung. Schädlich für Wasserorganismen; kann langfristig Umweltschäden im Gewässersystem verursachen. Vorsicht: Nicht einatmen und Kontakt vermeiden. Zielorgane: Blut und Nerven.

Goldchlorid-Lösung. Vorsicht: Nicht einatmen und Kontakt vermeiden.

Natriumthiosulfat-Lösung ist ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.

10% Formalin-Lösung ist SCHÄDLICH. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Bei Einatmen oder Kontakt mit der Haut kann es zu einer Sensibilisierung kommen. Dämpfe nicht einatmen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Mögliches Krebsrisiko. Enthält Formaldehyd. Wird leicht durch die Haut aufgenommen. Zielorgane: Augen und Nieren. Laut Calif. Prop. 65 als Karzinogen eingestuft.

Ammonium-Hydroxid-Lösung ist ÄTZEND und gefährlich für die Umwelt. Bei Verschlucken schädlich. Verursacht Verätzungen. Hochtöxisch für Wasserorganismen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Siehe spezielle Anweisungen/Sicherheitsdatenblätter.

Reagenz-Alkohol ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Nerven und Leber.

Xylen ist ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Mögliches Risiko einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit. Schädigungen des ungeborenen Kindes möglich. Schädlich bei Einatmen und beim Kontakt mit der Haut. Reizt die Atemwege und die Haut. Gefahr erster Augenschäden. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben (Vorsicht: Substanzen sind noch nicht vollständig geprüft)

Natriumhydroxid-Lösung ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Kaliumpermanganat-Lösung. Schädlich für Wasserorganismen; kann langfristig Umweltschäden im Gewässersystem verursachen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Siehe spezielle Anweisungen/Sicherheitsdatenblätter. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Dämpfe nicht einatmen.

Eisen-III-Ammoniumsulfat-Lösung. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Spray nicht einatmen.

Silbernitrat-Lösung. Schädlich für Wasserorganismen; kann langfristig Umweltschäden im Gewässersystem verursachen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Dämpfe nicht einatmen.

Goldchlorid-Lösung. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Spray nicht einatmen. Natriumthiosulfat-Lösung. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Spray nicht einatmen. 10%ige Formalin-Lösung ist SCHÄDLICH. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Kontakt mit der Haut kann zu einer Sensibilisierung führen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.

Ammonium-Hydroxid-Lösung ist ÄTZEND und gefährlich für die Umwelt. Verursacht Verätzungen. Hochtöxisch für Wasserorganismen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Siehe spezielle Anweisungen/Sicherheitsdatenblätter.

Reagenz-Alkohol ist HOCHENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Xylen ist SCHÄDLICH. Entzündlich. Schädlich bei Einatmen und bei Kontakt mit der Haut. Reizt die Haut. Kontakt mit den Augen vermeiden.

VERFAHREN

PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probennahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Die Probe in 10 % neutralem, gepuffertem Formalin fixieren, verarbeiten und in Paraffin einbetten. Paraffinschnitte mit 4 bis 5 Mikron schneiden. Geeignete Kontrollen integrieren.

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

Für jeden Durchlauf sollten positive Kontrollobjektträger, wie Sigma Reticulum TISSUE-TROL Objektträger, Bestell-Nr. R 4768, miteinbezogen werden.

Gegenfärbung (wahlweise) mit Eosin Y Lösung oder Nuclear Fast Red-Lösung, Bestell-Nr. N 3020, Nuclear Fast Red 0,1 % in 5 % Aluminiumsulfat

Ammoniumhydroxid-Lösung, konzentriert

Ethanol, absolut

Formalinlösung, 10 %

Reagenz-Alkohol

Xylen

Zange, aus Kunststoff oder mit Paraffin beschichtet

Coplin-Küvetten, chemisch rein

HINWEIS:

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

VERFAHREN:

1. Die Gewebeschnitte entparaffinieren und zu destilliertem Wasser hydrieren.
2. Die Gewebeschnitte **5 Minuten** in Kaliumpermanganat-Lösung oxidieren.
3. Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **2 Minuten** waschen.
4. In Oxalsäure-Lösung **2 Minuten** oder bis die Schnitte farblos sind bleichen.
5. Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **2 Minuten** waschen.
6. Die Gewebeschnitte in Eisen-III-Ammoniumsulfat **15 Minuten** sensibilisieren.
7. Die Objektträger in mehrmals gewechseltem destilliertem Wasser waschen.
8. Die Gewebeschnitte mit ammoniakalischer Silbernitrat-Lösung **2 Minuten** imprägnieren.
9. Die Objektträger mit destilliertem Wasser gründlich spülen.
10. Die Gewebeschnitte **2 Minuten** in 10%iger Formalin-Lösung reduzieren.
11. Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **3 Minuten** waschen.
12. Die Gewebeschnitte **10 Minuten** in Goldchlorid-Lösung tönen.
13. Die Objektträger in destilliertem Wasser spülen.
14. Die Objektträger **1 Minute** in Natriumthiosulfat-Lösung geben.
15. Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **2 Minuten** waschen.
16. Falls erwünscht, mit Nuclear Fast Red-Lösung **3-5 Minuten** oder einer Eosin Y Lösung **1-2 Minuten** gegenfärben. Im Allgemeinen werden alle Gewebeschnitte, außer denen der Leber, gegengefärbt. In Wasser gründlich waschen.
17. In je zwei Mal gewechseltem 95%igem Ethanol und reinem Ethanol dehydrieren.
18. In Xylen klären und mit einem synthetischen Harz fixieren.

LEISTUNGSMERKMALE

Retikulum — Schwarz

Hintergrund — Pink bis Rosa (bei Gegenfärbung mit Nuclear Fast Red)

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

LITERATURANGABEN

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. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. HT102

Vorherige Ausgabe: 2003-09

Revidiert: 2005-01



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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122
oder Email an clintech@sial.com
Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970