

## INDICATIONS

Le colorant réticulum de Sigma-Aldrich sert à mettre en évidence les fibres réticulaires. Les réactifs du colorant réticulum sont destinés à un « usage diagnostique in vitro ».

Les fibres réticulaires servent essentiellement de support. On les trouve normalement dans tout le corps, et en particulier dans le foie, les ganglions lymphatiques, la rate et les reins.<sup>1</sup> Les colorants argent ammoniacal sont les méthodes les plus utilisées dans la mise en évidence des fibres réticulaires. Dans la procédure de Gordon et Sweets, les coupes de tissus sont oxydées avec du permanganate de potassium, de l'acide oxalique est ensuite utilisé pour retirer l'excès de permanganate de potassium. Le sulfate d'ammonium ferrique est utilisé comme sensibilisateur. Après l'imprégnation à l'argent, on utilise du formol pour réduire l'argent à sa forme métallique visible. Le chlorure d'or teint les coupes, et l'argent qui n'a pas été réduit est retiré à l'aide de thiosulfate de sodium. Un contre-colorant peut être utilisé si nécessaire.<sup>2</sup>

## RÉACTIFS

### SOLUTION D'HYDROXYDE DE SODIUM, référence N° HT102-1

Solution aqueuse à 3 % (100 ml)

### SOLUTION DE PERMANGANATE DE POTASSIUM, référence N° HT102-2

Solution aqueuse à 1 % (100 ml)

### SOLUTION D'ACIDE OXALIQUE, référence N° HT102-3

Solution aqueuse à 1 % (100 ml)

### SOLUTION DE SULFATE D'AMMONIUM FERRIQUE, référence N° HT102-4

Solution aqueuse à 2,5 % (500 ml)

### SOLUTION DE NITRATE D'ARGENT, référence N° HT102-5

Solution aqueuse à 10 % (50 ml)

### SOLUTION DE CHLORURE D'OR, référence N° HT102-6

Solution aqueuse à 0,2 % (100 ml)

### SOLUTION DE THIOSULFATE DE SODIUM, référence N° HT102-7

Solution aqueuse à 5 % (500 ml)

### CONSERVATION ET STABILITÉ :

Conserver le kit de coloration au réticulum non ouverte au réfrigérateur (2–8 °C). Après avoir été ouverts, l'hydroxyde de sodium, le permanganate de potassium, les solutions d'acide oxalique, de sulfate d'ammonium ferrique et de thiosulfate de sodium peuvent être conservés au réfrigérateur ou à température ambiante (2–26 °C). Conserver les solutions de nitrate d'argent et de chlorure d'or au réfrigérateur (2–8 °C). Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur les étiquettes.

La solution de nitrate d'argent ne doit être utilisée qu'une seule fois puis jetée.

Lorsqu'ils se présentent sous forme sèche, les sels ammoniacaux peuvent présenter un risque d'explosion. Ne pas laisser sécher la solution d'argent ammoniacal. Conserver la solution d'argent ammoniacal utilisée dans des flacons en plastique – ne pas la conserver dans un flacon en verre. Wallington recommande d'inactiver la solution d'argent ammoniacal en ajoutant de l'acide chlorhydrique dilué ou une solution de chlorure de sodium.<sup>3</sup>

### ALTÉRATION :

La solution de permanganate de potassium doit être violette. La solution peut être utilisée plusieurs fois mais doit être éliminée si elle vire au brun.

### PRÉPARATION :

Pour préparer la SOLUTION DE NITRATE D'ARGENT AMMONIACAL :

1. À l'aide d'une pipette, prélever 5 ml de solution de nitrate d'argent, HT102-5, dans une fiole Erlenmeyer.
2. Sous une hotte, tout en secouant ou en faisant tourner constamment la fiole, ajouter de l'ammoniaque concentrée, goutte à goutte, jusqu'à ce que le précipité formé soit complètement dissout. Ne pas ajouter trop d'ammoniaque.
3. Ajouter 5 ml de solution d'hydroxyde de sodium, référence N° HT102-1, dans la fiole. La solution vira au noir et un précipité se formera. Faire tourner constamment la fiole et ajouter de l'ammoniaque concentrée, goutte à goutte, jusqu'à ce que le précipité se dissolve. À ce moment-là, la solution doit être légèrement trouble.  
REMARQUE : Si elle n'est plus du tout trouble, ajouter la solution de nitrate d'argent, référence N° HT102-5, goutte à goutte, jusqu'à ce qu'une goutte trouble la solution de façon permanente. Seule une légère turbidité est souhaitable.
4. Avec de l'eau distillée ou déionisée, diluer la solution obtenue à 50 ml. Filtrer dans une jarre de Coplin chimiquement propre. Utiliser une seule fois puis jeter.

La solution de formol à 10 % se prépare en diluant 5 ml de formaldéhyde, 37–40 %, dans 45 ml d'eau distillée ou déionisée. Préparer une nouvelle solution chaque jour.

La solution de permanganate de potassium et la solution d'acide oxalique doivent être réparties en deux aliquotes de 50 ml. Chaque aliquote peut être utilisée 5 fois puis jetée. Ne pas mélanger un réactif utilisé avec une solution non utilisée dans son flacon d'origine.

Les autres réactifs sont prêts à l'emploi.

### PRÉCAUTIONS :

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour des informations actualisées sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Les lames de contrôle TISSUE-TROL réticulum sont des coupes de tissus humains incluses en paraffine contenant du réticulum et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Informations sur les risques ou la sécurité (États-Unis)

La solution d'hydroxyde de sodium est CORROSIVE. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Solution de permanganate de potassium. Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique. Attention : Éviter tout contact et inhalation.

La solution d'acide oxalique est CORROSIVE. Provoque des brûlures. Nocif par contact avec la peau et par ingestion. Risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. Organes cibles : reins et nerfs.

La solution de sulfate d'ammonium ferrique est IRRITANTE. Irritation des yeux et de la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

Solution de nitrate d'argent. Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique. Attention : Éviter tout contact et inhalation. Organes cibles : sang et nerfs.

Solution de chlorure d'or Attention : Éviter tout contact et inhalation.

La solution de thiosulfate de sodium est IRRITANTE. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

La solution de formol à 10 % est NOCIVE. Nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Nocif : danger d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Peut entraîner une sensibilisation par inhalation ou par contact avec la peau. Ne pas respirer les vapeurs. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Peut provoquer le cancer. Contient du formaldéhyde. Facilement absorbée par la peau. Organes cibles : yeux et reins. Calif. Prop. 65 – Carcinogène.

La solution d'ammoniaque est CORROSIVE et dangereuse pour l'environnement. Nocif par ingestion. Provoque des brûlures. Très toxique pour les organismes aquatiques. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Éviter le rejet dans l'environnement. Se référer aux fiches d'instructions spéciales / fiches toxicologiques.

L'alcool réactif est INFLAMMABLE et IRRITANT. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. Conserver le récipient fermé hermétiquement. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié. Organes cibles : nerfs et foie.

Le xylène est INFLAMMABLE et NOCIF. Risque possible d'altération de la fertilité. Risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. Nocif par inhalation et par contact avec la peau. Irritant pour les voies respiratoires et la peau. Risques de lésions oculaires graves. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Informations sur les risques ou la sécurité (Europe) (Attention : ces substances n'ont pas encore été testées entièrement)

La solution d'hydroxyde de sodium est CORROSIVE. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Solution de permanganate de potassium. Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique. Éviter le rejet dans l'environnement. Se référer aux fiches d'instructions spéciales / fiches toxicologiques. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas respirer les vapeurs.

Solution de sulfate d'ammonium ferrique. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas respirer les vapeurs.

Solution de nitrate d'argent. Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas respirer les vapeurs.

Solution de chlorure d'or. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas respirer les vapeurs.

Solution de thiosulfate de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Ne pas respirer les vapeurs.

La solution de formol à 10% est NOCIVE. Nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Indices limités d'effet carcinogène. Peut entraîner une sensibilisation par inhalation ou par contact avec la peau. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

La solution d'ammoniaque est CORROSIVE et dangereuse pour l'environnement. Provoque des brûlures. Très toxique pour les organismes aquatiques. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de

protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Éviter le rejet dans l'environnement. Se référer aux fiches d'instructions spéciales / fiches toxicologiques.

L'alcool réactif est **FACILEMENT INFLAMMABLE** et **IRRITANT**. Facilement inflammable. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. Conserver le récipient fermé hermétiquement. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié.

Le xylène est **NOCIF**. Inflammable. Nocif par inhalation et par contact avec la peau. Irritant pour la peau. Éviter tout contact avec les yeux.

## PROTOCOLE

### PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément au document M29-A2 du NCCLS. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Fixer les échantillons dans du formol neutre tamponné à 10 %, traiter et inclure en paraffine. Effectuer des coupes de paraffine de 4 à 5 microns. Intégrer les contrôles appropriés.

### MATÉRIELS SPECIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :

Des lames de contrôle positives, telles les TISSUE-TROL réticulum de Sigma, référence N° R 4768, doivent être incluses dans chaque test  
Contre-colorer (facultatif) avec la solution d'éosine Y ou la solution de rouge nucléaire, référence N° N 3020, le rouge nucléaire 0,1 % dans du sulfate d'aluminium à 5 %  
Solution d'ammoniaque, concentrée  
Éthanol, absolu  
Solution de formol, 10 %  
Réactif Alcool  
Xylène  
Pincettes en plastique ou enduites de paraffine  
Jarres de Coplin, chimiquement propres

### REMARQUE :

Les données obtenues par cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement à d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

### PROTOCOLE :

- Déparaffiner les coupes et les hydrater avec de l'eau déionisée.
- Oxyder les coupes dans la solution de permanganate de potassium pendant **5 minutes**.
- Rincer les lames à l'eau du robinet pendant **2 minutes**.
- Décolorer dans la solution d'acide oxalique pendant **2 minutes** ou jusqu'à ce que les coupes n'aient plus aucune couleur.
- Laver les lames à l'eau du robinet pendant **2 minutes**.
- Sensibiliser les coupes dans du sulfate d'ammonium ferrique pendant **15 minutes**.
- Laver les lames à distillée, changée plusieurs fois.
- Imprégner les coupes avec la solution de nitrate d'argent ammoniacal pendant **2 minutes**.
- Bien rincer les lames à l'eau distillée
- Réduire les coupes pendant **2 minutes** dans une solution de formol à 10 %.
- Laver les lames à l'eau du robinet pendant **3 minutes**.
- Teinter les coupes dans la solution de chlorure d'or pendant **10 minutes**.
- Rincer les lames à l'eau distillée.
- Placer les lames dans la solution de thiosulfate de sodium pendant **1 minute**.
- Laver les lames à du robinet pendant **2 minutes**.
- Contre-colorer, si nécessaire, avec la solution de rouge nucléaire pendant **3 à 5 minutes** ou avec la solution d'éosine Y pendant **1 à 2 minutes**. En général, toutes les coupes, à l'exception de celles du foie, sont contre-colorées. Bien laver à l'eau.
- Déshydrater dans de l'alcool à 95 % et de l'éthanol absolu changés deux fois.
- Nettoyer dans du xylène et monter avec de la résine synthétique.

## PERFORMANCE

Réticulum	Noir
Fond	Rose – toutes nuances – (si contre-coloré par du rouge nucléaire)



Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le service technique Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

## RÉFÉRENCES

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

Sigma-Aldrich, Inc. garantit la conformité de ses produits avec les informations contenues dans la présente notice et dans les autres notices Sigma-Aldrich. L'utilisateur doit s'assurer que le(s) produit(s) est/sont adapté(s) à l'utilisation qu'il souhaite en faire. D'autres conditions générales peuvent s'appliquer. Voir au verso de la facture ou du bordereau de commande les conditions générales de vente et autres informations.

Protocole N° HT102  
Révision précédente : 2003-09  
Révision : 2005-01

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

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 États-Unis +1 314 771 5765  
Service technique : en PCV au +1 314 771 3122  
ou adresser un email à [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Pour commander : en PCV au +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

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