

USO PREVISTO

La colorazione fibre reticolari di Sigma-Aldrich è idonea per la rivelazione delle fibre reticolari. I reagenti per la colorazione delle fibre reticolari sono riservati al solo "uso diagnostico in vitro".

Le fibre reticolari svolgono essenzialmente una funzione di supporto. Normalmente si trovano in tutto il corpo, in particolare nel fegato, nei linfonodi, nella milza e nei reni.¹ I metodi più utilizzati per la rivelazione delle fibre reticolari sono quelli basati sulle colorazioni in argento ammoniacale. Nella procedura di Gordon e Sweets, le sezioni di tessuto vengono ossidate mediante permanganato di potassio e l'acido ossalico viene impiegato per rimuovere il permanganato di potassio in eccesso. Il solfato di ammonio ferrico agisce come sensibilizzante. Dopo l'impregnazione con argento, la formalina viene utilizzata per ridurre l'argento nella sua forma metallica visibile. Il cloruro d'oro è impiegato per rivelare le sezioni, mentre il tiosolfato di sodio è impiegato per rimuovere tutto l'argento non ridotto. Se lo si desidera, è possibile utilizzare una colorazione di contrasto.²

REAGENTI

SOLUZIONE IDROSSIDO DI SODIO, n. di catalogo HT102-1
Soluzione acquosa 3% (100 ml)

SOLUZIONE PERMANGANATO DI POTASSIO, n. di catalogo HT102-2
Soluzione acquosa 1% (100 ml)

SOLUZIONE ACIDO OSSALICO, n. di catalogo HT102-3
Soluzione acquosa 1% (100 ml)

SOLUZIONE SOLFATO DI AMMONIO FERRICO, n. di catalogo HT102-4
Soluzione acquosa 2,5% (500 ml)

SOLUZIONE NITRATO D'ARGENTO, n. di catalogo HT102-5
Soluzione acquosa 10% (50 ml)

SOLUZIONE CLORURO D'ORO, n. di catalogo HT102-6
Soluzione acquosa 0,2% (100 ml)

SOLUZIONE TIOSOLFATO DI SODIO, n. di catalogo HT102-7
Soluzione acquosa 5% (500 ml)

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il kit di colorazione per fibre reticolari non aperto in frigorifero (2–8°C). Dopo l'apertura, le soluzioni di idrossido di sodio, permanganato di potassio, acido ossalico, solfato di ammonio ferrico e tiosolfato di sodio possono essere conservate in frigorifero o a temperatura ambiente (2–26°C). Conservare le soluzioni di nitrato d'argento e cloruro d'oro in frigorifero (2–8°C). I reagenti si mantengono stabili sino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

La soluzione di lavoro di nitrato d'argento deve essere utilizzata una sola volta e quindi eliminata.

I sali di ammoniaca secchi possono costituire un rischio di esplosione. Non lasciare che la soluzione d'argento ammoniacale si secchi. Conservare la soluzione d'argento ammoniacale in flaconi di plastica. Evitare l'uso del vetro. Per rendere inattiva la soluzione d'argento ammoniacale, Wallington consigliava l'aggiunta di una soluzione diluita di acido cloridrico o cloruro di sodio.³

DETERIORAMENTO

Il permanganato di potassio deve essere di colore viola. La soluzione può essere utilizzata svariate volte, ma deve essere eliminata se diventa marrone.

PREPARAZIONE

Per preparare la SOLUZIONE DI NITRATO D'ARGENTO AMMONIACALE:

1. Pipettare 5 ml di soluzione di nitrato d'argento, HT102-5, in una beuta di Erlenmeyer.
2. Sotto una cappa di aspirazione, sempre continuando ad agitare o scuotere la beuta, aggiungere l'idrossido di ammonio concentrato goccia a goccia, finché il precipitato che si era formato non si scioglie completamente. Non aggiungere idrossido di ammonio in quantità eccessiva.
3. Aggiungere 5 ml di soluzione di idrossido di sodio (n. di catalogo HT102-1) nella beuta. La soluzione diventa nera e si forma un precipitato. Agitare continuamente la beuta e aggiungere idrossido di ammonio concentrato goccia a goccia, finché il precipitato non si scioglie. In questa fase la soluzione non dovrebbe apparire del tutto limpida.
NOTA Se non resta nessuna traccia di torbidità, aggiungere la soluzione di nitrato d'argento (n. di catalogo HT102-5) goccia a goccia, finché una goccia non lascia la soluzione permanentemente torbida. L'obiettivo è il raggiungimento di una lieve torbidità.
4. Diluire la soluzione con acqua distillata o deionizzata fino ad ottenere un volume di 50 ml. Filtrare in una vaschetta Coplin pulita chimicamente. Utilizzare una sola volta e scartare.

Per preparare la soluzione di formalina al 10%, diluire 5 ml di formaldeide al 37–40% con 45 ml di acqua distillata o deionizzata. Preparare giornalmente.

La soluzione di permanganato di potassio e la soluzione di acido ossalico devono essere suddivise in due aliquote da 50 ml ciascuna. Ogni aliquota può essere utilizzata 5 volte prima di essere scartata. Non mescolare il reagente già usato con la soluzione non ancora usata nel flacone originale.

Altri reagenti sono forniti pronti per l'uso.

PRECAUZIONI

Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Fare riferimento al foglio dati relativo alla sicurezza dei materiali per informazioni aggiornate riguardanti i rischi, i pericoli e la sicurezza associati all'uso di questi prodotti.

I vetrini di controllo TISSUE-TROL per fibre reticolari contengono sezioni di tessuto umano sparaffinate e devono essere considerati potenziali veicoli di infezioni.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.S.A.)

La soluzione di idrossido di sodio è **CORROSIVA**. Causa ustioni. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Rimuovere immediatamente eventuali indumenti contaminati. Indossare indumenti adeguatamente protettivi, guanti e protezione per gli occhi e il viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Soluzione di permanganato di potassio. Nociva per gli organismi acquatici. A lungo termine, può provocare effetti negativi per l'ambiente acquatico. Attenzione: evitare il contatto e l'inalazione.

La soluzione di acido ossalico è **CORROSIVA**. Causa ustioni. Nociva a contatto con la cute o per ingestione. Possibile rischio di danni al feto. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Rimuovere immediatamente eventuali indumenti contaminati. Indossare indumenti adeguatamente protettivi, guanti e protezione per gli occhi e il viso. Organi colpiti: reni e nervi.

La soluzione di solfato di ammonio ferrico è **IRRITANTE**. Irritante per gli occhi e la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi.

Soluzione di nitrato d'argento. Nociva per gli organismi acquatici. A lungo termine, può provocare effetti negativi per l'ambiente acquatico. Attenzione: evitare il contatto e l'inalazione. Organi colpiti: sangue e nervi.

Soluzione di cloruro d'oro. Attenzione: evitare il contatto e l'inalazione.

La soluzione di tiosolfato di sodio è **IRRITANTE**. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi.

La soluzione di formalina al 10% è **NOCIVA**. Nociva per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nociva: possibile rischio di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Può causare sensibilizzazione in caso di inalazione e contatto con la cute. Non respirare i vapori. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile). Possibilità di effetti cancerogeni. Contiene formaldeide. Viene assorbita facilmente attraverso la pelle. Organi colpiti: occhi e reni. Sostanza cancerogena (California Proposition 65).

La soluzione di idrossido di ammonio è **CORROSIVA** e pericolosa per l'ambiente. Nociva per ingestione. Causa ustioni. Molto tossica per gli organismi acquatici. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti adeguatamente protettivi, guanti e protezione per gli occhi e il viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile). Non disperdere nell'ambiente. Consultare le istruzioni speciali o le schede di sicurezza.

L'alcol anidro è **INFIAMMABILE** e **IRRITANTE**. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei. Organi colpiti: nervi e fegato.

Lo xilene è **INFIAMMABILE** e **NOCIVO**. Possibile rischio di riduzione della fertilità. Può provocare danni al feto. Nocivo per inalazione e a contatto con la cute. Irritante per il sistema respiratorio e la cute. Rischio di gravi lesioni oculari. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti adeguatamente protettivi, guanti e protezione per gli occhi e il viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.E.) – Attenzione: sostanze non ancora pienamente testate!

La soluzione di idrossido di sodio è **CORROSIVA**. Causa ustioni. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare guanti idonei e una protezione adeguata per gli occhi e il viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Soluzione di permanganato di potassio. Nociva per gli organismi acquatici. A lungo termine, può provocare effetti negativi per l'ambiente acquatico. Non disperdere nell'ambiente. Consultare le istruzioni speciali o le schede di sicurezza. Evitare il contatto con la cute e gli occhi. Non respirare i vapori.

Soluzione di solfato di ammonio ferrico. Evitare il contatto con la cute e gli occhi. Non respirare i vapori.

Soluzione di nitrato d'argento. Nociva per gli organismi acquatici. A lungo termine, può provocare effetti negativi per l'ambiente acquatico. Evitare il contatto con la cute e gli occhi. Non respirare i vapori.

Soluzione di cloruro d'oro. Evitare il contatto con la cute e gli occhi. Non respirare i vapori. Soluzione di tiosolfato di sodio. Evitare il contatto con la cute e gli occhi. Non respirare i vapori.

La soluzione di formalina al 10% è **NOCIVA**. Nociva per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Prove insufficienti di effetti cancerogeni. Può causare sensibilizzazione in caso di contatto con la cute. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi.

La soluzione di idrossido di ammonio è **CORROSIVA** e pericolosa per l'ambiente. Causa ustioni. Molto tossica per gli organismi acquatici. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti adeguatamente protettivi, guanti e protezione per gli occhi e il viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile). Non disperdere nell'ambiente. Consultare le istruzioni speciali o le schede di sicurezza.

L'alcol anidro è **FACILMENTE INFIAMMABILE** e **IRRITANTE**. Facilmente infiammabile. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei.

Lo xilene è **NOCIVO**. Infiammabile. Nocivo per inalazione e a contatto con la cute. Irritante per la cute. Evitare il contatto con gli occhi.

PROCEDURA

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Per la raccolta dei campioni, attenersi alla procedura descritta nel documento NCCLS numero M29-A2. Nessun metodo di analisi noto garantisce con assoluta certezza che i campioni di sangue o il tessuto non trasmettano infezioni. Di conseguenza tutti i derivati del sangue e i campioni di tessuto devono essere considerati potenziali veicoli di infezioni.

Fissare i campioni in formalina neutra tamponata al 10%, preparare e sparaffinare. Tagliare le sezioni sparaffinate a 4–5 micron. Includere i controlli appropriati.

MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Ad ogni seduta utilizzare vetrini di controllo positivi, quali Sigma TISSUE-TROL per fibre reticolari (n. di catalogo R 4768).

Colorazione di contrasto (facoltativo): soluzione eosina Y o soluzione rosso nucleare (n. di catalogo N 3020); rosso nucleare 0,1% in solfato di alluminio al 5%.

Soluzione di idrossido di ammonio, concentrata

Etanolo assoluto

Soluzione di formalina al 10%

Alcol anidro

Xilene

Pinze di plastica oppure rivestite di paraffina

Vaschette Coplin, pulite chimicamente

NOTA

I dati generati da questa procedura sono da utilizzarsi soltanto a sostegno della diagnosi e devono essere valutati congiuntamente ad altri esami e dati diagnostici.

PROCEDURA

1. Deparaffinare le sezioni e idratare in acqua distillata.
2. Ossidare le sezioni in soluzione di permanganato di potassio per **5 minuti**.
3. Sciacquare i vetrini in acqua di rubinetto per **2 minuti**.
4. Candeggiare in soluzione di acido ossalico per **2 minuti** o finché il colore delle sezioni svanisce completamente.
5. Lavare i vetrini in acqua di rubinetto per **2 minuti**.
6. Sensibilizzare le sezioni in solfato di ammonio ferrico per **15 minuti**.
7. Lavare i vetrini cambiando più volte l'acqua distillata.
8. Impregnare le sezioni con soluzione di nitrato d'argento ammoniacale per **2 minuti**.
9. Sciacquare con cura i vetrini in acqua distillata.
10. Ridurre le sezioni per **2 minuti** in soluzione di formalina al 10%.
11. Lavare i vetrini in acqua di rubinetto per **3 minuti**.
12. Rivelare le sezioni in soluzione di cloruro d'oro per **10 minuti**.
13. Sciacquare i vetrini in acqua distillata.
14. Collocare i vetrini in soluzione di tiosolfato di sodio per **1 minuto**.
15. Lavare i vetrini in acqua di rubinetto per **2 minuti**.
16. Applicare la colorazione di contrasto, se lo si desidera, utilizzando una soluzione di rosso nucleare per **3–5 minuti** o una soluzione di eosina Y per **1–2 minuti**. In genere la colorazione di contrasto si applica a tutte le sezioni, eccetto le sezioni epatiche. Lavare accuratamente in acqua.
17. Disidratare in due ricambi di etanolo al 95% e due ricambi di etanolo assoluto.
18. Chiarificare in xilene e montare con resina sintetica.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Fibre reticolari – Nero
Sfondo – Da rosa a rosa pallido (se è applicata la colorazione di contrasto con rosso nucleare)



Se i risultati osservati si discostano dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per informazioni di supporto.

BIBLIOGRAFIA

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. garantisce che i propri prodotti sono conformi alle informazioni contenute nel presente documento e in altre pubblicazioni Sigma-Aldrich. Spetta all'acquirente stabilire se i prodotti sono idonei all'uso particolare che ne viene fatto. È possibile che sussistano ulteriori termini e condizioni. Vedere il retro della fattura o la distinta di imballaggio per i termini e le condizioni di vendita.

Procedura n. HT102
Revisione precedente: 2003-09
Revisione: 2005-01

  AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD (Regno Unito)

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 (USA) +1 314 771 5765
Assistenza tecnica: a carico del destinatario +1 314 771 3122
o tramite e-mail all'indirizzo clintech@sial.com
Per ordinare: a carico del destinatario +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim (Germania) 49-7329-970