

## UTILIZAÇÃO PREVISTA

A Coloração de retículo da Sigma-Aldrich destina-se a demonstrar as fibras reticulares. Os reagentes de coloração de retículo destinam-se à "utilização em diagnóstico in vitro."

A função principal das fibras reticulares é proporcionar apoio. Estas fibras encontram-se normalmente espalhadas pelo organismo, em especial no fígado, gânglio linfático, baço e rins.<sup>1</sup> As colorações pela prata amoniacal consistem nos métodos utilizados com mais frequência para a demonstração das fibras reticulares. No procedimento de Gordon e Sweets, as secções tecidulares são oxidadas pelo permanganato de potássio e o ácido oxálico remove o permanganato de potássio em excesso. O sulfato de amónio férrico actua como sensibilizador. Após a impregnação pela prata, utiliza-se formalina para reduzir a prata para a sua forma metálica visível. O cloreto de ouro dá uma tonalidade às secções e quaisquer restos de prata que não tiverem sido reduzidos são removidos pelo tiossulfato de sódio. Caso se pretenda, poderá ser utilizado um contracorante.<sup>2</sup>

## REAGENTES

### SOLUÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO, N.º de Catálogo HT102-1

Solução aquosa a 3% (100 mL)

### SOLUÇÃO DE PERMANGANATO DE POTÁSSIO, N.º de Catálogo HT102-2

Solução aquosa a 1% (100 mL)

### SOLUÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO, N.º de Catálogo HT102-3

Solução aquosa a 1% (100 mL)

### SOLUÇÃO DE SULFATO DE AMÓNIO FÉRRICO, N.º de Catálogo HT102-4

Solução aquosa a 2,5% (500 mL)

### SOLUÇÃO DE NITRATO DE PRATA, N.º de Catálogo HT102-5

Solução aquosa a 10% (50 mL)

### SOLUÇÃO DE CLORETO DE OURO, N.º de Catálogo HT102-6

Solução aquosa a 0,2% (100 mL)

### SOLUÇÃO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO, N.º de Catálogo HT102-7

Solução aquosa a 5% (500 mL)

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Armazenar o kit de coloração de retículo não aberto no frigorífico (2–8°C). Após a abertura, as soluções de hidróxido de sódio, permanganato de potássio, ácido oxálico, sulfato de amónio férrico e tiossulfato de sódio podem ser armazenadas no frigorífico ou à temperatura ambiente (2–26°C). Armazenar as soluções de nitrato de prata e cloreto de ouro no frigorífico (2–8°C). Os reagentes permanecem estáveis até ao final dos prazos de validade indicados nos rótulos.

A solução de trabalho de nitrato de prata deverá ser utilizada uma única vez e, em seguida, eliminada.

Os sais amoniacais em estado seco poderão constituir risco de explosão. Não permitir que a solução de prata amoniacal seque por completo. Armazenar a solução de prata amoniacal em frascos de plástico – não armazenar em recipientes de vidro. Segundo Wallington, deverá proceder-se à inactivação da solução de prata amoniacal através da adição de solução de cloreto de sódio ou ácido clorídrico diluído.<sup>3</sup>

### DETERIORAÇÃO:

A solução de permanganato de potássio deverá apresentar uma cor púrpura. A solução pode ser utilizada várias vezes, mas deverá ser eliminada se ficar com uma cor castanha.

### PREPARAÇÃO:

Para preparar a SOLUÇÃO DE NITRATO DE PRATA AMONICAL:

1. Pipetar 5 mL de solução de nitrato de prata, HT102-5, num frasco de Erlenmeyer.
2. Numa cúpula, enquanto se agita ou se roda continuamente o frasco, adicionar hidróxido de amónio concentrado gota a gota, até que o precipitado que se formou fique completamente dissolvido. Não adicionar uma quantidade excessiva de hidróxido de amónio.
3. Adicionar 5 mL de solução de hidróxido de sódio, N.º de Catálogo HT102-1, ao frasco. A solução ficará preta e verificar-se-á a formação de um precipitado. Continuar a rodar o frasco em torvelinho e adicionar o hidróxido de amónio concentrado, gota a gota, até que o precipitado se dissolva. Nesta altura, a solução não deverá ter um aspecto completamente transparente.  
NOTA: Se não permanecer qualquer indício de turvação, adicionar solução de nitrato de prata, N.º de Catálogo HT102-5, gota a gota, até que uma gota resulte na turvação permanente da solução. O objectivo é obter apenas uma ligeira turvação.
4. Diluir a solução resultante em 50 mL de água destilada ou água desionizada. Filtrar para uma jarra de Coplin quimicamente limpa. Utilizar uma vez e, em seguida, eliminar.

Preparar a solução de formalina a 10%, diluindo 5 mL de formaldeído, 37–40%, com 45 mL de água destilada ou água desionizada. Preparar diariamente uma solução fresca.

A solução de permanganato de potássio e a solução de ácido oxálico deverão ser divididas em duas alíquotas de 50 mL cada. É possível utilizar cada alíquota 5 vezes e, em seguida, eliminá-la. Não misturar reagente utilizado com solução não utilizada no frasco original.

Os restantes reagentes fornecidos estão prontos para serem utilizados.

### PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

As lâminas de controlo Reticulum TISSUE-TROL são lâminas de tecido humano embebidas em parafina que contêm retículo, pelo que devem ser consideradas como potencialmente infecciosas.

### Declarações de riscos e segurança dos EUA

A solução de hidróxido de sódio é CORROSIVA. Provoca queimaduras. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Despir imediatamente todo o vestuário contaminado. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Solução de permanganato de potássio. Nociva para organismos aquáticos, pode causar efeitos negativos a longo prazo no ambiente aquático. Atenção: Evitar o contacto e inalação.

A solução de ácido oxálico é CORROSIVA. Provoca queimaduras. Nociva em contacto com a pele e em caso de ingestão. Pode ser prejudicial para o feto. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Despir imediatamente todo o vestuário contaminado. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Órgãos alvo: Rins e nervos.

A solução de sulfato de amónio férrico é IRRITANTE. Irritante para os olhos e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

Solução de nitrato de prata. Nociva para organismos aquáticos, pode causar efeitos negativos a longo prazo no ambiente aquático. Atenção: Evitar o contacto e inalação. Órgãos alvo: Sangue e nervos.

Solução de cloreto de ouro. Atenção: Evitar o contacto e inalação.

A solução de tiossulfato de sódio é IRRITANTE. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

A solução de formalina a 10% é NOCIVA. Nociva por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Nociva: possibilidade de efeitos irreversíveis por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Pode provocar sensibilização por inalação e em contacto com a pele. Não respirar os vapores. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Risco cancerígeno potencial. Contém formaldeído. Facilmente absorvido pela pele. Órgãos alvo: Olhos e rins. Substância cancerígena segundo Prop. 65 Calif.

A solução de hidróxido de amónio é CORROSIVA e perigosa para o ambiente. Nociva em caso de ingestão. Provoca queimaduras. Muito tóxica para os organismos aquáticos. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Evitar libertação no ambiente. Consultar instruções/fichas de dados de segurança especiais.

O álcool reagente é INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado. Órgãos alvo: Nervos e fígado.

O xilol é INFLAMÁVEL e NOCIVO. Possibilidade de risco de comprometimento da fertilidade. Pode ser prejudicial para o feto. Nocivo por inalação e em contacto com a pele. Irritante para as vias respiratórias e pele. Risco de lesões oculares graves. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Declarações de riscos e segurança da UE (Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para estas substâncias)

A solução de hidróxido de sódio é CORROSIVA. Provoca queimaduras. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Solução de permanganato de potássio. Nociva para organismos aquáticos, pode causar efeitos negativos a longo prazo no ambiente aquático. Evitar libertação no ambiente. Consultar instruções/fichas de dados de segurança especiais. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Não respirar os vapores.

Solução de sulfato de amónio férrico. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Não respirar o spray.

Solução de nitrato de prata. Nociva para organismos aquáticos, pode causar efeitos negativos a longo prazo no ambiente aquático. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Não respirar os vapores.

Solução de cloreto de ouro. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Não respirar o spray. Solução de tiossulfato de sódio. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Não respirar o spray.

A solução de formalina a 10% é NOCIVA. Nociva por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Prova limitada de um efeito cancerígeno. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

A solução de hidróxido de amónio é CORROSIVA e perigosa para o ambiente. Provoca queimaduras. Muito tóxica para os organismos aquáticos. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados.

Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Evitar libertação no ambiente. Consultar instruções/fichas de dados de segurança especiais.

O álcool reagente é **ALTAMENTE INFLAMÁVEL** e **IRRITANTE**. Altamente inflamável. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

O xilol é **NOCIVO**. Inflamável. Nocivo por inalação e em contacto com a pele. Irritante para a pele. Evitar o contacto com os olhos.

## PROCEDIMENTO

### COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

Fixar a amostra em formalina tamponada neutra a 10%, processada e embebida em parafina. Cortar em secções de parafina com 4 a 5 microns. Incorporar os controlos apropriados.

### MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

As lâminas de controlo positivo, como as Sigma Reticulum TISSUE-TROL, N.º de Catálogo R 4768, devem ser incluídas em cada execução

Realizar uma contracoloração (opcional) com solução de eosina Y ou solução de vermelho permanente nuclear, N.º de Catálogo N 3020, vermelho permanente nuclear a 0,1% em sulfato de alumínio a 5%

Solução de hidróxido de amónio, concentrada

Etanol, absoluto

Solução de formalina, 10%

Álcool reagente

Xilol

Pinças de plástico ou revestidas com parafina

Jarras de Coplin, quimicamente limpas

### NOTA:

Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

### PROCEDIMENTO:

1. Desparafinar as secções e hidratar em água destilada.
2. Oxidar as secções em solução de permanganato de potássio durante **5 minutos**.
3. Lavar as lâminas em água da torneira durante **2 minutos**.
4. Branquear em solução de ácido oxálico durante **2 minutos** ou até as secções ficarem incolores.
5. Lavar as lâminas em água da torneira durante **2 minutos**.
6. Sensibilizar as secções em sulfato de amónio férrico durante **15 minutos**.
7. Lavar as lâminas em diversos banhos de água destilada.
8. Impregnar as secções com solução de nitrato de prata amoniacal durante **2 minutos**.
9. Lavar bem as lâminas em água destilada.
10. Desoxidar as secções durante **2 minutos** em solução de formalina 10%.
11. Lavar as lâminas em água da torneira durante **3 minutos**.
12. Proceder à viragem das secções em solução de cloreto de ouro durante **10 minutos**.
13. Lavar as lâminas em água destilada.
14. Colocar as lâminas em solução de tiosulfato de sódio durante **1 minuto**.
15. Lavar as lâminas em água da torneira durante **2 minutos**.
16. Realizar um contracoloração, opcional, com solução de vermelho permanente durante **3-5 minutos** ou uma solução de eosina Y durante **1-2 minutos**. Normalmente, todas as secções, à excepção das provenientes do fígado, são contracoradas. Lavar bem em água.
17. Desidratar em dois banhos, cada um com etanol a 95% e etanol absoluto.
18. Limpar em xilol e montar com resina sintética.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Retículo – Preto

Fundo – Vermelho pálido a cor-de-rosa (caso seja realizada uma contracoloração com vermelho permanente nuclear)

Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EUA +1 314 771 5765

Assistência Técnica: chamada paga no destino +1 314 771 3122

ou endereço de correio electrónico: clintech@sial.com

Para encomendar: chamada paga no destino +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

## 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

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º HT102

Revisão Anterior: 2003-09

Revisto: 2005-01



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