

AVSEDD ANVÄNDNING

Sigma-Aldrich Retikelfärg är avsedd för påvisning av retikulära fibrer. Retikelfärgreagenser är avsedda för "in vitro-diagnostik".

Huvudfunktionen för retikulära fibrer är att ge stöd. De påträffas normalt i hela kroppen, speciellt i lever, lymfkörtlar, mjälte och njurar.¹ Ammoniakaliska silverfärger är de mest allmänt använda metoderna för påvisning av retikulära fibrer. I Gordon och Sweets procedur oxideras vävnadssnitt med kaliumpermanganat där oxalsyra avlägsnar överflödigt kaliumpermanganat. Järnammoniumsulfat agerar som sensibiliseringsmedel. Efter silverimpregneringen används formalin för att reducera silvret till dess synliga, metalliska form. Guldklorid tonar snitten och allt reducerat silver avlägsnas med natriumtiosulfat. En motfärg kan användas om så önskas.²

REAGENSER

NATRIUMHYDROXIDLÖSNING, katalognummer HT102-1
3 % vattenhaltig lösning (100 ml)

KALIUMPERMANGANATLÖSNING, katalognummer HT102-2
1 % vattenhaltig lösning (100 ml)

OXALSYRALÖSNING, katalognummer HT102-3
1 % vattenhaltig lösning (100 ml)

JÄRNAMMONIUMSULFATLÖSNING, katalognummer HT102-4
2,5 % vattenhaltig lösning (500 ml)

SILVERNITRATLÖSNING, katalognummer HT102-5
10 % vattenhaltig lösning (50 ml)

GULDKLORIDLÖSNING, katalognummer HT102-6
0,2 % vattenhaltig lösning (100 ml)

NATRIUMTIOSULFATLÖSNING, katalognummer HT102-7
5 % vattenhaltig lösning (500 ml)

FÖRVARING OCH STABILITET:

Förvara oöppnad retikelfärgsats i kylskåp (2–8 °C). Efter öppnandet kan natriumhydroxid-, kaliumpermanganat-, oxalsyra-, järnammoniumsulfat- och natriumtiosulfatlösningar förvaras i kylskåp eller i rumstemperatur (2–26 °C). Förvara silvernitrat- och guldkloridlösningar i kylskåp (2–8 °C). Reagenser är stabila till det utgångsdatum som visas på etiketten.

Bruksfärdigt silvernitrat skall användas endast en gång och därefter kastas.

I torr form kan ammoniakaliska salter utgöra en explosionsrisk. Låt inte ammoniakalisk silverlösning torka ut. Förvara ammoniakalisk silverlösning i plastflaskor – inte i glasflaskor. Wallington rekommenderade inaktivering av den ammoniakaliska silverlösningen genom tillsats av utspädd saltsyra eller natriumkloridlösning.³

FÖRSÄMRING:

Kaliumpermanganatlösning bör vara purpurfärgad. Lösningen kan användas flera gånger men bör kasseras om den brunfärgas.

BEREDNING:

Beredning av AMMONIAKALISK SILVERNITRATLÖSNING:

1. Pipettera 5 ml silvernitratlösning, HT102-5, i en Erlenmeyer-flaska.
2. Under det att flaskan oavbrutet skakas eller snurras tillsätts droppvis så mycket koncentrerad ammoniumhydroxid att det precipitat som bildats helt löses upp. Tillsätt inte för mycket ammoniumhydroxid.
3. Tillsätt 5 ml natriumhydroxidlösning, katalognummer HT102-1, till flaskan. Lösningen kommer att färgas svart och precipitat bildas. Snurra oavbrutet flaskan och tillsätt droppvis koncentrerad ammoniumhydroxid tills precipitatet precis löses upp. Vid denna punkt bör lösningen inte vara helt klar.
OBS: Om ingen grumling finns kvar, tillsätt droppvis silvernitratlösning, katalognummer HT102-5, tills en droppe får lösningen att bli permanent grumlig. Endast en svag grumling är önskvärd.
4. Späd den resulterande lösningen till 50 ml med destillerat eller avjoniserat vatten. Filtrera i en kemiskt ren Coplinburk. Använd en gång och kassera därefter.

10 % formalinlösning framställs genom att späda 5 ml formaldehyd, 37–40 %, med 45 ml destillerat eller avjoniserat vatten. Bereds färsk dagligen.

Kaliumpermanganatlösningen och oxalsyralösningen bör uppdelas i två 50 ml alikvoter. Varje alikvot kan användas 5 gånger och sedan kastas. Blanda inte använd reagens med oanvänd lösning i originalflaskan.

Andra reagenser tillhandahålls bruksfärdiga.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER:

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser ska iakttas. Kassera avfall enligt lokala lagar och bestämmelser. Se Faktablad om materialsäkerhet för uppdaterad information om risker, faror eller säkerhet.

Retikel TISSUE-TROL kontrollobjektglas är paraffinbäddade humana vävnadssnitt som innehåller retikel och bör betraktas som potentiellt smittsamma.

Amerikanska risk- och säkerhetsbestämmelser

Natriumhydroxidlösning är FRÅTANDE. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Ta genast av alla nedstänkta kläder. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Kaliumpermanganatlösning. Skadligt för vattenorganismer, kan ha långvariga biverkningar i vattenmiljön. Försiktighetsåtgärder: Undvik kontakt och inandning.

Oxalsyralösning är FRÅTANDE. Frätande. Skadlig vid hudkontakt och förtäring. Kan ge fosterskador. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Ta genast av alla nedstänkta kläder. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Målorgan: njurar och nerver.

Järnammoniumsulfatlösning är IRRITERANDE. Irriterar ögon och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.

Silvernitratlösning. Skadligt för vattenorganismer, kan ha långvariga biverkningar i vattenmiljön. Försiktighetsåtgärder: Undvik kontakt och inandning. Målorgan: blod och nerver. Guldkloridlösning. Försiktighetsåtgärder: Undvik kontakt och inandning.

Natriumtiosulfatlösning är IRRITERANDE. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.

10 % formalinlösning är FARLIG. Skadlig vid inandning, hudkontakt och förtäring. Farligt: möjlig risk för bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Kan orsaka sensibilisering vid inandning och hudkontakt. Undvik inandning av ångor. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Kan ge cancer. Innehåller formaldehyd. Absorberas lätt genom huden. Målorgan: ögon och njurar. Calif. Prop. 65 Karcinogen.

Ammoniumhydroxidlösning är FRÅTANDE och miljöfarlig. Farligt vid förtäring. Frätande. Mycket giftigt för vattenorganismer. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Undvik utsläpp till miljön. Läs särskilda instruktioner/varuinformationsblad.

Reagensalkohol är BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder. Målorgan: nerver och lever.

Xylen är BRANDFARLIGT och FARLIGT. Möjlig risk för nedsatt fortplantningsförmåga. Kan ge fosterskador. Farligt vid inandning och hudkontakt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Risk för svåra ögonskador. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Risk- och säkerhetsbestämmelser enligt EU (Försiktighet: Substanserna är inte fullständigt testade ännu)

Natriumhydroxidlösning är FRÅTANDE. Frätande. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Kaliumpermanganatlösning. Skadligt för vattenorganismer, kan ha långvariga biverkningar i vattenmiljön. Undvik utsläpp till miljön. Läs särskilda instruktioner/varuinformationsblad. Undvik kontakt med hud och ögon. Undvik inandning av ångor.

Järnammoniumsulfatlösning. Undvik kontakt med hud och ögon. Andas inte in spray. Silvernitratlösning. Skadligt för vattenorganismer, kan ha långvariga biverkningar i vattenmiljön. Undvik kontakt med hud och ögon. Undvik inandning av ångor.

Guldkloridlösning. Undvik kontakt med hud och ögon. Andas inte in spray. Natriumtiosulfatlösning. Undvik kontakt med hud och ögon. Andas inte in spray. 10 % formalinlösning är FARLIG. Skadlig vid inandning, hudkontakt och förtäring. Misstänks kunna ge cancer. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.

Ammoniumhydroxidlösning är FRÅTANDE och miljöfarlig. Frätande. Mycket giftigt för vattenorganismer. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Undvik utsläpp till miljön. Läs särskilda instruktioner/varuinformationsblad.

Reagensalkohol är MYCKET BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Mycket brandfarligt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Xylen är FARLIGT. Brandfarligt. Farligt vid inandning och hudkontakt. Irriterar huden. Undvik kontakt med ögonen.

PROCEDUR

PROVTAGNING:

Provtagningen bör utföras i enlighet med NCCLS dokument M29-A2. Ingen känd testmetod ger fullständig garanti för att blodprov eller vävnad inte överför infektion. Alla blodderivat eller vävnadsprov bör därför anses vara potentiellt smittsamma.

Fixera provet i 10 % neutralbuffrat formalin, behandla och paraffinbädda. Skär paraffinsnitt till 4 till 5 mikroner. Införliva lämpliga kontroller.

SPECIELLA MATERIAL SOM BEHÖVS, MEN INTE MEDFÖLJER:

Positiva kontrollobjektglas, som t.ex. Sigma Reticulum TISSUE-TROL, katalognummer R-4768, bör inkluderas i varje körning
Motfärg (valfritt) Eosin Y-lösning eller nukleär Fast Red-lösning, katalognummer N 3020, nukleär Fast Red 0,1 % i 5 % aluminumsulfat
Ammoniumhydroxidlösning, koncentrerad
Etanol, ren
Formalinlösning, 10 %
Reagensalkohol
Xylen
Tång, i plast eller paraffinbelagd
Coplinburkar, kemiskt rena

OBS:

Data som erhållits från denna procedur tjänar endast som ett hjälpmedel vid diagnos och bör granskas tillsammans med andra kliniska, diagnostiska tester eller information.

PROCEDUR:

1. Avparaffinera snitten och hydratisera till destillerat vatten.
2. Oxidera snitten i kaliumpermanganatlösning i **5 minuter**.
3. Skölj objektglaset i kranvatten i **2 minuter**.
4. Blek i oxalsyralösning i **2 minuter** eller tills snitten är färglösa
5. Tvätta objektglaset i kranvatten i **2 minuter**.
6. Sensibilisera snitten i järnammoniumsulfat i **15 minuter**.
7. Skölj objektglaset i flera byten destillerat vatten.
8. Impregnera snitten med ammoniakalisk silvernitratlösning i **2 minuter**.
9. Skölj objektglaset väl med destillerat vatten.
10. Reducera snitten i **2 minuter** i 10 % formalinlösning.
11. Tvätta objektglaset i kranvatten i **3 minuter**.
12. Tona snitten i guldkloridlösning i **10 minuter**.
13. Skölj objektglaset i destillerat vatten.
14. Placera snitten i natriumtiosulfatlösning i **1 minut**.
15. Tvätta objektglaset i kranvatten i **2 minuter**.
16. Motfärga, om så önskas, med nukleär Fast Red-lösning i **3–5 minuter** eller Eosin Y-lösning i **1–2 minuter**. I allmänhet motfärgas alla snitt utom leversnitt. Tvätta väl i vatten.
17. Dehydratisera i två byten vardera med 95 % etanol och ren etanol.
18. Rena i xylen och montera med syntetisk harts.

PRESTANDAEGENSKAPER

Retikel – svart
Bakgrund – skår till rosa (vid motfärgning med nukleär Fast Red)

Om observerade resultat skiljer sig från förväntade resultat, kontakta Sigma-Aldrich tekniska service för assistans.

REFERENSER

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. garanterar att deras produkter överensstämmer med informationen i denna och andra Sigma-Aldrich-publikationer. Kunden måste avgöra produktens(ernas) lämplighet för deras speciella användning. Ytterligare villkor kan gälla. Se baksidan av fakturan eller packsedeln för ytterligare försäljningsvillkor.

Procedurnummer HT102
Föregående revidering: 2003-09
Reviderad: 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: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 3122

eller e-post till clintech@sial.com

För beställningar: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland 49-7329-970