

## POUŽITÍ

Barviva železa Sigma-Aldrich jsou určena k použití v histologickém barvení železa v krevních filmech nebo filmech s kostní dřeví. Reagencie Iron Stain jsou určena k použití v "diagnostice in vitro."

Barviva na železo jsou založena na dobře známé reakci berlínské modře, ve které ionty železa reagují s kyanoželeznatánem a produkují modrou barvu. Popsány jsou obě metody, standardní postup a postup pro rychlé barvení v mikrovlnné<sup>2-4</sup> troubě.

## REAGENCIE

**ROZTOK FERROKYANIDU DRASELNÉHO**, katalogové č. HT20-1  
Ferrokyanid draselný, 4 % w/v.

**ROZTOK KYSELINY CHLOROVODÍKOVÉ**, katalogové č. HT20-2  
Kyselina chlorovodíková, 1,2 mmol/l.

**ROZTOK PARAROSANILINU**, katalogové č. HT20-3  
Hydrochlorid pararosanilinu, 1 % w/v, v methanolu se stabilizátorem.

### ULOŽENÍ A STABILITA:

Skladujte reagencie při pokojové teplotě (18-26 °C). Reagencie jsou stabilní po dobu použitelnosti uvedené na štítcích.

### PŘÍPRAVA:

PRACOVNÍ ROZTOK BARVIVA NA ŽELEZO se připravuje smícháním stejných dílů roztoku ferrokyanidu draselného, katalogové č. HT20-1 a roztoku kyseliny chlorovodíkové, katalogové č. HT20-2. Použít pouze jednou, potom zlikvidovat.

PRACOVNÍ ROZTOK PARAROSANILINU se připravuje přidáním 1 mL roztoku pararosanilinu, katalogové č. HT20-3 do 50 mL vody. Připravit denně čerstvý. Použít jednou a znehodnotit.

### BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagenty. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a bezpečnosti.

Kontrolní skříčka TISSUE-TROL na železo jsou lidské tkáňové řezy zalité v parafínu obsahující železo a je třeba s nimi zacházet jako s potencionálně infekčními.

### US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí roztoku ferrokyanidu draselného. Zasažené orgány: Krev.

Roztok kyseliny chlorovodíkové je TOXICKÝ. Při vdechnutí jedovatý. Způsobuje popáleniny. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Roztok pararosanilinu je HOŘLAVÝ A TOXICKÝ. Může způsobit rakovinu. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Zabraňte expozici - před použitím se seznamte se zvláštními pokyny. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Zamezte kontaktu s kůží. Přijměte příslušná bezpečnostní opatření proti výbojům statické elektřiny. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Reagenční alkohol je HOŘLAVÝ A DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy. Zasažené orgány: Nervy a játra.

Methanol je HOŘLAVÝ A TOXICKÝ. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Přijměte příslušná bezpečnostní opatření proti výbojům statické elektřiny. Zamezte kontaktu s kůží. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Xylen je HOŘLAVÝ A ŠKODLIVÝ. Možné riziko poruch plodnosti. Může poškodit nenarozené dítě. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí dýchací systém a pokožku. Riziko vážného poškození očí. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

### EU Prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok pararosanilinu je VYSOCE HOŘLAVÝ A TOXICKÝ. Může způsobit rakovinu. Vysoce hořlavý. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Pouze pro profesionální uživatele. Pozor - zamezte expozici - před použitím se seznamte se zvláštními pokyny. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Reagenční alkohol je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Methanol je vysoce HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Vysoce hořlavý. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Xylen je ŠKODLIVÝ. Hořlavý. Škodlivý je vdechnutím a v kontaktu s pokožkou. Dráždí oči. Zamezte kontaktu s očima.

## POSTUP:

### ODBĚR VZORKŮ:

Doporučuje se provádět odběr vzorků v souladu s dokumentem M29-A2 směrnice NCCLS. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplné zajištění, že krevní vzorky nebo tkáň nebudou přenášet infekci. Proto všechny krevní deriváty nebo tkáňové vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční.

Lze použít jakékoli tkáňové řezy nařezané na tloušťku 5-6 mikronů, fixované v neutrálním pufovaném formalinu. Krevní filmy nebo filmy s kostní dřeví se připravují obvyklým způsobem, suší na vzduchu nejméně 30 minut a fixují se v absolutním methanolu po dobu 7 minut.<sup>5</sup>

### POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:

Positivní kontrolní skříčka, například Sigma Iron TISSUE-TROL™, katalogové č. I 3387, je třeba zařadit do každého cyklu

Ethanol, absolutní nebo reagenční alkohol

Methanol, bez acetonu, (POZNÁMKA: potřebné pouze pro krevní filmy nebo filmy kostní dřeví)

### POUZE PRO POSTUP S MIKROVLNNOU TROUBOU:

Mikrovlnná trouba ACCUMATE™ H2100, katalogová č. A 9084 (110 v) nebo A 9209 (220 v)  
Nádoby pro barvení, katalogové č. S 5641

### POZNÁMKY:

Před použitím mikrovlnné trouby Sigma-Aldrich H2100 Microwave se prosím seznamte s Návodem k použití výrobce.

Zbytky železa lze odstranit použitím fixativ s obsahem kyseliny.<sup>7</sup>

Údaje získané z tohoto postupu slouží pouze jako diagnostická pomůcka a měly by se prověřit ve spojení s jinými klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

### POSTUP:

#### POSTUP PRO TKÁŇOVÉ ŘEZY:

1. Odstraňte parafin a hydratujte řezy deionizovanou vodou.
2. Vložte skříčka do pracovního roztoku barviva na železo na **10 minut**.
3. Opláchněte v deionizované vodě.
4. Proveďte barvení v roztoku pararosanilinu na **3-5 minut**.
5. Opláchněte v deionizované vodě.
6. Rychle dehydratujte alkoholem a xylenem a namontujte.

#### POSTUP PRO KREVNÍ FILMY NEBO FILMY KOSTNÍ DŘEVÍ:

1. Vložte fixované filmy do pracovního roztoku barviva na železo na **10 minut**.
2. Opláchněte v deionizované vodě.
3. Proveďte kontrastní barvení v délce **5 minut** v pracovním roztoku pararosanilinu.
4. Propláchněte v deionizované vodě a usušte na vzduchu.

#### MIKROVLNNÝ POSTUP ACCUMATE™ H2100:

1. Odstraňte parafin ze skříček a hydratujte řezy deionizovanou vodou. Jestliže používáte nátěry periferní krve nebo kostní dřeví, fixujte v methanolu po dobu **7 minut**, potom hydratujte v deionizované vodě.
2. Vložte skříčka do **40 mL** pracovního roztoku barviva na železo umístěného v umělohmotné nádobě Coplin. Před umístěním do trouby volně zakryjte nádoby Coplin víkem nebo použijte nádoby Coplin s víky opatřenými otvory.
3. Spusťte mikrovlnnou troubu na **400 wattů** na **30 sekund**. Po použití zlikvidovat.
4. Opláchněte v deionizované vodě.
5. Vložte skříčka do **40 mL** pracovního roztoku pararosanilinu umístěného v umělohmotné nádobě Coplin.
6. Spusťte mikrovlnnou troubu na **800 wattů** na **10 sekund**. Inkubujte **2 minuty**. Použít jednou a znehodnotit.
7. Tkáňové řezy propláchněte v deionizované vodě, dehydratujte rychle řadou alkoholů, vyčistěte v xyleny a namontujte. Krevní nátěry a nátěry kostní dřeví je třeba propláchnout v deionizované vodě a usušit na vzduchu.

## CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

### TKÁŇOVÉ ŘEZY

Pigment železa — Světle modrý  
Jádra — Červená  
Cytoplazma — Světle růžová

POZNÁMKA: Těžké usazeniny jsou tmavě modré.

### KREVNÍ FILMY NEBO FILMY KOSTNÍ DŘEVÍ

**Erythroblasty:** Jsou to jaderné erythrocyty obsahující nejméně jedno malé modré zrníčko. Jestliže modrá zrníčka obklopují jádro, buňka je okružní erythroblast.

**Siderocyty:** Jsou to nejaderné erythrocyty obsahující nejméně jedno modré zrnko.

**Retikuloendoteliální železo:** Obvykle jsou vidět jako modré částice na filmu dřeví nebo modré částice v cytoplazmě nebo fagocytické buňky.

Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

---

## REFERENCE

---

1. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed. DC Sheehan, BB Hrapchak, Editors, CV Mosby, St. Louis (MO) 1980 p 217
2. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
3. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
4. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
5. Carson: A Self Instructional Text. ASCP Press, Chicago (IL), 1990
6. Atlas of Cytochemistry and Immunochemistry of Hematologic Neoplasms. T Sun, C-Y Li, LT Yam, Editors, ASCP, Chicago (IL), 1985, p 205
7. Theory and Practice of Histological Techniques, 5th Edition JD Bancroft, M Gamble, Editors Churchill Livingstone, New York 2002 p 244

Sigma-Aldrich, Inc. garantuje, že její produkty se shodují s informacemi obsaženými v této a jiných publikacích Sigma-Aldrich. Kupující musí stanovit vhodnost produktu(ů) pro dané použití. Mohou platit dodatečné podmínky. Viz zadní strana faktury nebo útržek obalu, kde jsou uvedeny dodatky k prodejním podmínkám.

Postup č. HT20  
Předchozí revize: 2003-09  
Revidováno: 2006-08



EC REP

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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765

Technické služby: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-3122

nebo e-mailujte na [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Objednávky: 800-325-3010 nebo volejte na 314-771-5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

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