

POUŽITÍ

Reagencie mucikarminového barvení Sigma-Aldrich ACCUSTAIN® jsou určeny k barvení mucinů tkáňě epitelálního původu. Reagencie mucikarminového barvení jsou určena k použití v "diagnostice in vitro."

Tkáňové kyselé mukopolysacharidy mohou být prokázány řadou technik. Mucikarminový postup Mayera, modifikovaný Southgatem,¹ dosahuje výborného kontrastu mezi červeným zbarvením mucinu a jiných komponent buněk. Hliník, obsažený v preparátu, tvoří chelátový komplex s mucinem, ke kterému karmín připojuje tvorbu barevné skvrny.² Barvivo projevuje vůči mucinům epitelálního původu specificitu, přičemž muciny fibroblastického původu se barví slabě.³ Jeho největší použití je při identifikaci primárních nádorových oblastí a při rozlišování na mucin negativních nediferencovaných lézí skvamózních buněk z adenokarcinomů pozitivních na mucin.² Postup popisovaný společností Sigma-Aldrich je podobný postupu Southgateho. Stabilní roztok tartrazinu byl nahrazen pro metanilovou žlut. Zahnuje mucikarminovou barvicí techniku pro rychlé barvení v mikrovlnné troubě.⁴⁻⁶

REAGENCIE

ROZTOK MUCICARMINU, katalogová č. HT30-1-8 nebo HT30-1-16
Karmín, certifikovaný, 10 g/l, hydroxid hlinitý, 10 g/l a chlorid hlinitý, 5 g/l, v ethanolu, 50 % v/v.

ROZTOK TARTRAZINU, katalogová č. HT30-2-4 nebo HT30-2-8
Tartrazinu, 0,25 % [w/v] a kyselina octová, 0,25 % [v/v].

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Mucikarminový roztok skladujte v lednici (2-8 °C). Reagencie jsou stabilní po dobu použitelnosti uvedené na štítku.

Pracovní roztok mucikarminu je stabilní 2-3 dny, je-li skladován v lednici (2-8 °C).

PŘÍPRAVA:

Pracovní roztok mucikarminu se připraví zředěním mucikarminového roztoku v poměru 1:4 s vodou z vodovodu (např. 10 mL mucikarminového roztoku a 30 mL vody z vodovodu). Tartrazinový roztok a Gill's 3 hematoxylin jsou připraveny k okamžitému použití.

Roztoky jsou stabilní až do uvedeného data použitelnosti.

Substitut Scott's Tap Water se připraví zředěním 1 dílu koncentráту Scott's Tap Water Substitute s 9 díly deionizované vody. Roztok je stabilní až do uvedeného data použitelnosti.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagenciemi. 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 sklíčka Mucicarmin TISSUE-TROL jsou lidské tkáňové řezy zalité v parafínu obsahující kolagenovou a svalovou tkáň a je třeba s nimi zacházet jako s potenciálně infekčními.

US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok výtazku mucikarminu je HOŘLAVÝ A ŠKODLIVÝ. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. Zasažené orgány: Oči a nervy.

Scott's Tap Water Substitute. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela testovaná)

Reagenční alkohol je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádoby uchovávejte těsně uzavřené. Chraňte před zdrojem 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.

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. Chraňte před zdrojem 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).

Roztok Weigertův železitý hematoxylin, část A je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Roztok Weigertův železitý hematoxylin, část B 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).

Roztoky Gill Hematoxylin jsou ŠKODLIVÉ. Škodlivý při požití. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy. Zasažené orgány: Játra a ledviny.

EU Prohlášení o rizicích a bezpečnosti (Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná)

Roztok výtazku mucikarminu je VYSOCE HOŘLAVÝ A ŠKODLIVÝ. Vysoce hořlavý. Škodlivé při vdechnutí, v kontaktu s pokožkou a spolknutím. Škodlivý: možné riziko ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Udržujte mimo zdrojů zapálení - zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice.

Scott's Tap Water Substitute. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela testovaná)

Reagenční alkohol je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Nádoby uchovávejte těsně uzavřené. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

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

Roztok Weigertův železitý hematoxylin, část A je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Roztoky Gill Hematoxylin jsou ŠKODLIVÉ. Škodlivý při požití. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

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.

Jakékoli dobře fixované parafinové řezy nařezané na tloušťku 4-6 mikronů.

POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY:

Positivní kontrolní sklíčka, například Sigma Mucin TISSUE-TROL, katalogové č. M 9543, je třeba zařadit do každého cyklu

ROZTOK TARTRAZINU, katalogová č. HT30-2-4 nebo HT30-2-8
Reagenční alkohol

Xylen

POUZE PRO STANDARDNÍ POSTUP:

Set Weigertova železitého hematoxylinu

Nádoby pro barvení, katalogové č. S 5134

POUZE PRO POSTUP S MIKROVLNNOU TROUBOU:

Hematoxylinové roztoky, Gill č. 3

Koncentrát Scott's Tap Water Substitute, katalogové č. S 5134

Barvicí nádoby Coplin s víky s otvory, katalogové č. C 8338

Mikrovlnná trouba ACCUMATE™ H2100, katalogová č. A 9084 (110 v) nebo A 9209 (220 v)

POZNÁMKY:

Při přípravě pracovního roztoku mucikarminu nenahrazujte deionizovanou nebo destilovanou vodu z vodovodu.

Maskování mucinu se může vyskytnout, je-li barvení jader nebo kontrastní barvení příliš intenzivní.

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:

STANDARDNÍ POSTUP:

1. Podle návodu na štítku připravte pracovní roztok Weigertova železitého hematoxylinu.
2. Odstraňte parafin ze sklíček deionizovanou vodou.
3. Barvěte v pracovním roztoku Weigertova železitého hematoxylinu po dobu **5 minut**.
4. Promyjte sklíčka v tekoucí vodě po dobu **5 minut**.
5. Proveďte barvení v pracovním roztoku mucikarminu po dobu **30 minut** nebo déle při **pokojevé teplotě**. Kontrolní sklíčka zkoumejte pod mikroskopem.
6. **POZNÁMKA:** Doba barvení může být snížena za předpokladu, že se barvicí proces provádí při teplotě 37 °C nebo 56 °C.
7. Opláchněte v deionizované vodě
8. Proveďte barvení v roztoku tartrazinu **1-5 sekund**.
9. Sklíčka propláchněte, dehydratujte alkoholem, vyčistěte v xyleny a namontujte.

MIKROVLNNÝ POSTUP ACCUMATE™ H2100:

1. Odstraňte parafin ze sklíček a hydratujte řezy deionizovanou vodou.
2. Umístěte sklíčka do roztoku **40 mL** hematoxylinu Gill č. 3 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 **800 wattů** na **10 sekund**.
4. Promyjte sklíčka v tekoucí vodě po dobu **1-2 minut**.
5. Vložte sklíčka do **40 mL** pracovního roztoku mucikarminu.
6. Spusťte mikrovlnnou troubu na **800 wattů** na **20 sekund**. Opatrně smíchejte roztok pipetou nebo tyčinkou aplikátoru. Inkubujte **5 minut**.
7. Opláchněte pečlivě v deionizované vodě
8. Proveďte kontrastní barvení v roztoku tartrazinu na **30 sekund** při **pokojevé teplotě**.
9. Opláchněte rychle v deionizované vodě
10. Dehydratujte rychle řadou alkoholu a vyčistěte v xyleny. Sklíčka namontujte.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

Jádra	—	Modře
Mucin	—	Tmavě růžová až červená
Váček Cryptococci	—	Tmavě růžová až červená
Další tkáňové součásti	—	Žluté

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

REFERENCE

1. Handbook of Histopathological Techniques, 2nd ed., CFA Culling, Editor, Butterworth Inc., London, 1963
2. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed. DC Sheehan, BB Hrapchak, Editors, Mosby, St. Louis, MO, 1980
3. Selected Histochemical and Histopathologic Methods, SW Thompson, RD Hunt, Editors, CC Thomas, Springfield, IL, 1966, p 453
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986

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. HT30
Předchozí revize: 2003-03
Revidováno: 2003-09



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
Objednávky: 800-325-3010 nebo volejte na 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

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