

VERWENDUNGSZWECK

Der Eisen-Farbstoff von Sigma-Aldrich dient zur histologischen Färbung von Eisen in Blut- oder Knochenmarkfilmen. Die Eisenfarbstoff-Reagenzien dienen zur „In-vitro-Diagnostik“.

Der Eisen-Farbstoff beruht auf der bekannten Preußisch-Blau-Reaktion,¹ bei der ionisches Eisen mit saurem Ferrocyanid reagiert und eine blaue Farbe produziert. Es werden sowohl Standardverfahren wie auch ein Verfahren zum schnellen Färben in der Mikrowelle²⁻⁴ beschrieben.

REAGENZIEN

KALIUM-FERROCYANID-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT20-1

Kalium-Ferrocyanid, 4 Gew.-%.

SALZSÄURE-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT20-2

Salzsäure, 1,2 mmol/l.

PARAROSANILIN-LÖSUNG, Bestell-Nr. HT20-3

Pararosanilin-Hydrochlorid, 1 Gew.-%, in Methanol mit Stabilisator.

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Die Reagenzien bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren. Die Reagenzien sind bis zu dem auf den Etiketten angegebenen Verfalldatum stabil.

VORBEREITUNG:

Die EISEN-FÄRBE-ARBEITSLÖSUNG wird durch Mischen gleicher Volumina von Kalium-Ferrocyanid-Lösung, Bestell-Nr. HT20-1, und Salzsäure-Lösung, Bestell-Nr. HT20-2, zubereitet. Nur ein Mal verwenden und dann entsorgen.

Die PARAROSANILIN-ARBEITSLÖSUNG wird durch Hinzufügen von 1 ml Pararosanilin-Lösung, Bestell-Nr. HT20-3, zu 50 ml Wasser zubereitet. Jeden Tag frisch zubereiten. Nur ein Mal verwenden und dann entsorgen.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Iron TISSUE-TROL Kontrollobjektträger sind in Paraffin eingebettetes menschliches Gewebe mit Eisen und sollten als potenziell infektiös behandelt werden.

US- Gefahren- und Sicherheitsangaben

Vorsicht: Kontakt und Einatmen der Kalium-Ferrocyanid-Lösung vermeiden. Zielorgan: Blut.

Salzsäurelösung ist TOXISCH. Bei Einatmen toxisch. Verursacht Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Pararosanilin-Lösung ist ENTZÜNDLICH und TOXISCH. Kann Krebs verursachen. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Exposition vermeiden – vor Gebrauch spezielle Anweisungen einholen. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Kontakt mit der Haut vermeiden. Vorsichtsmaßnahmen gegen elektrostatische Entladungen treffen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Reagenz-Alkohol ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Nerven und Leber.

Methanol ist ENTZÜNDLICH und TOXISCH. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Vorsichtsmaßnahmen gegen elektrostatische Entladungen treffen. Kontakt mit der Haut vermeiden. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Xylen ist ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Mögliches Risiko einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit. Schädigungen des ungeborenen Kindes möglich. Schädlich bei Einatmen und beim Kontakt mit der Haut. Reizt die Atemwege und die Haut. Gefahr ernster Augenschäden. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

EU- Gefahren- und Sicherheitsangaben

Pararosanilin-Lösung ist HOCHENTZÜNDLICH und TOXISCH. Kann Krebs verursachen. Hochentzündlich. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Beschränkt auf berufsmäßige Verwendung. Achtung – Exposition vermeiden – vor Gebrauch

spezielle Anweisungen einholen. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Reagenz-Alkohol ist HOCHENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Methanol ist HOCHENTZÜNDLICH und TOXISCH. Hochentzündlich. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Xylen ist SCHÄDLICH. Entzündlich. Schädlich bei Einatmen und bei Kontakt mit der Haut. Reizt die Haut. Kontakt mit den Augen vermeiden.

VERFAHREN:

PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Jegliche gut zubereiteten Gewebeschnitte, die bei 5–6 Mikron geschnitten und in neutralem gepuffertem Formalin fixiert wurden, eignen sich für eine Eisenfärbung. Blut- und Knochenmarkfilme werden auf herkömmliche Art zubereitet, mindestens 30 Minuten an der Luft getrocknet und in reinem Methanol 7 Minuten fixiert.⁵

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

Für jeden Durchlauf sollten positive Kontrollobjektträger, wie Sigma Iron Tissue-Trol™, Bestell-Nr. I 3387, miteinbezogen werden.

Ethanol, absolut, oder Reagenzalkohol

Methanol, Azetonfrei, (HINWEIS: nur für Blut-/Knochenmarkfilme erforderlich)

NUR FÜR MIKROWELLENVERFAHREN:

ACCUMATE™ H2100 Mikrowellenherd, Bestell-Nr. A 9084 (110 V) oder A 9209 (220 V) Färbeschalen, Bestell-Nr. S 5641

HINWEIS:

Falls der Sigma-Aldrich H2100 Mikrowellenherd benutzt wird, bitte die in der Bedienungsanleitung enthaltenen Anweisungen beachten.

Eisenablagerungen können mit säurehaltigen Fixiermitteln entfernt werden.⁷

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

VERFAHREN:

VERFAHREN FÜR GEWEBESCHNITTE:

1. Das Gewebe entparaffinieren und zu entionisiertem Wasser hydrieren.
2. Die Objektträger **10 Minuten** in Eisenfarbstoff-Arbeitslösung geben.
3. In entionisiertem Wasser spülen.
4. In Pararosanilin-Arbeitslösung **3–5 Minuten** färben.
5. In entionisiertem Wasser spülen.
6. Schnell mit Alkohol und Xylen dehydrieren und fixieren.

VERFAHREN FÜR BLUT- ODER KNOCHENMARKFILME:

1. Die fixierten Filme **10 Minuten** in Eisenfarbstoff-Arbeitslösung geben.
2. In entionisiertem Wasser spülen.
3. In Pararosanilin-Arbeitslösung **5 Minuten** gegenfärben.
4. Kurz mit entionisiertem Wasser spülen und an der Luft trocknen lassen.

ACCUMATE™ H2100 MIKROWELLENVERFAHREN:

1. Die Objektträger entparaffinieren und zu entionisiertem Wasser hydrieren. Falls peripheres Blut oder Knochenmarkabstriche gefärbt werden, **7 Minuten** in Methanol fixieren, dann zu entionisiertem Wasser hydrieren.
2. Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Eisenfarbstoff-Arbeitslösung stellen. Die Coplin-Küvette mit dem Deckel lose abdecken, bevor sie in die Mikrowelle gegeben wird, oder Coplin-Küvetten mit Löchern im Deckel verwenden.
3. In der Mikrowelle bei **400 Watt 30 Sekunden** erhitzen. Die Lösung nach Gebrauch entsorgen.
4. In entionisiertem Wasser spülen.
5. Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Pararosanilin-Arbeitslösung stellen.
6. In der Mikrowelle bei **800 Watt 10 Sekunden** erhitzen. **2 Minuten** inkubieren lassen. Nur ein Mal verwenden und dann entsorgen.
7. Die Gewebeschnitte in entionisiertem Wasser spülen, mit Alkoholen dehydrieren, in Xylen klären und fixieren. Blut- oder Knochenmarkabstriche sollten in entionisiertem Wasser gespült werden und an der Luft trocknen.

LEISTUNGSMERKMALE

GEWEBESCHNITTE

Eisenpigment – Helles Blau
Zellkerne – Rot
Zytoplasma – Hellrosa

HINWEIS: Schwere Ablagerungen erscheinen dunkelblau.

BLUT- ODER KNOCHENMARKFILME

Sideroblasten: Das sind kernhaltige Erythrozyten mit mindestens einem kleinen blauen Granulum. Falls die blauen Granuli den Zellkern umgeben, ist die Zelle ein ringförmiger Sideroblast.

Siderozyten: Das sind nicht-kernhaltige Erythrozyten mit mindestens einem blauen Granulum.

Retikuloendotheliales Eisen: Wird normalerweise als blaue Partikel auf dem Markfilm oder als blaue Partikel im Zytoplasma oder in Phagozyten wahrgenommen.

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

LITERATURANGABEN

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. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. HT20
Vorherige Ausgabe: 2003-09
Revidiert: 2006-08



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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122
oder Email an clintech@sial.com
Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970