

APLICACIÓN

La tinción de retículo de Sigma-Aldrich se utiliza para demostrar fibras reticulares. Los reactivos de tinción de retículo son para uso diagnóstico *in vitro*.

La función principal de las fibras reticulares es proporcionar soporte. Normalmente, se encuentran en todo el cuerpo, especialmente en el hígado, nodo linfático, bazo y riñón¹. Las tinciones de plata amoniacal son los métodos más comúnmente utilizados para la demostración de fibras reticulares. En el procedimiento de Gordon y Sweets, los cortes de tejido se oxidan mediante permanganato potásico, y el exceso de éste se elimina con ácido oxálico. El sulfato de amoníaco férrico actúa de sensibilizador. Después de la impregnación, se utiliza formol para reducir la plata a su forma metálica visible. El cloruro de oro colorea los cortes y la plata sin reducir se elimina mediante tiosulfato sódico. Si se desea, puede realizarse una contratinción².

REACTIVOS

SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO SÓDICO, número de catálogo HT102-1

Solución acuosa al 3 % (100 ml)

SOLUCIÓN DE PERMANGANATO POTÁSICO, número de catálogo HT102-2

Solución acuosa al 1 % (100 ml)

SOLUCIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO, número de catálogo HT102-3

Solución acuosa al 1 % (100 ml)

SOLUCIÓN DE SULFATO DE AMONIACO FÉRRICO, número de catálogo HT102-4

Solución acuosa al 2,5 % (500 ml)

SOLUCIÓN DE NITRATO DE PLATA, número de catálogo HT102-5

Solución acuosa al 10 % (50 ml)

SOLUCIÓN DE CLORURO DE ORO, número de catálogo HT102-6

Solución acuosa al 0,2 % (100 ml)

SOLUCIÓN DE TIOSULFATO SÓDICO, número de catálogo HT102-7

Solución acuosa al 5 % (500 ml)

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Conservar el kit de tinción de retículo sin abrir en el frigorífico (2–8 °C). Una vez abiertas, las soluciones de hidróxido sódico, permanganato potásico, ácido oxálico, sulfato de amoníaco férrico y tiosulfato sódico pueden guardarse en el frigorífico o a temperatura ambiente (2–26 °C). Guardar las soluciones de nitrato de plata y cloruro de oro en el frigorífico (2–8 °C). Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas.

La solución de trabajo de nitrato de plata debe utilizarse sólo una vez y luego debe desecharse.

Las sales de amoníaco secas constituyen un peligro de explosión. No permita que la solución de plata amoniacal se seque. Guarde la solución de plata amoniacal en frascos de plástico, no de vidrio. Wallington recomienda la inactivación de la solución de plata amoniacal mediante la adición de solución de ácido clorhídrico diluido o cloruro sódico³.

DETERIORO:

La solución de permanganato potásico debe ser púrpura. La solución puede utilizarse varias veces, pero debe desecharse si presenta un color marrón.

PREPARACIÓN:

Para preparar la SOLUCIÓN DE NITRATO DE PLATA AMONICAL:

1. Pipetear 5 ml de solución de nitrato de plata, HT102-5, en un matraz de Erlenmeyer.
2. Sacudiendo o moviendo el matraz en círculos continuamente, añadir hidróxido de amonio concentrado, gota a gota, hasta que el precipitado formado quede totalmente disuelto. No añadir demasiado hidróxido de amonio.
3. Añadir 5 ml de solución de hidróxido sódico, número de catálogo HT102-1, al matraz. La solución se volverá negra y se formará un precipitado. Sacudiendo o moviendo el matraz en círculos continuamente, añadir hidróxido de amonio concentrado, gota a gota, hasta que el precipitado formado quede disuelto. En este punto, la solución no debe ser totalmente transparente.
NOTA: Si no hay turbidez, añadir solución de nitrato de plata, número de catálogo HT102-5, gota a gota, hasta que una de las gotas haga que la solución sea permanentemente turbia. La turbidez debe ser ligera.
4. Diluir la solución resultante con agua destilada o desionizada, hasta obtener 50 ml. Filtrar en un vaso de Coplin limpiado químicamente. Utilizar una sola vez y desecharlo.

La solución de formol al 10 % se prepara diluyendo 5 ml de formaldehído, 37–40 %, con 45 ml de agua destilada o desionizada. Las preparaciones deben ser del día.

Las soluciones de permanganato potásico y ácido oxálico deben dividirse en dos alícuotas de 50 ml. Cada alícuota puede utilizarse 5 veces y luego desecharse. No mezclar el reactivo utilizado con la solución no utilizada en el frasco original.

Los otros reactivos se suministran listos para su uso.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshacerse de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consultar la Hoja de datos de seguridad del material para obtener cualquier información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Los portaobjetos de control TISSUE-TROL de retículo son de tejido humano embebido en parafina con retículo, y deben ser considerados como potencialmente infecciosos.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU.)

La solución de hidróxido sódico es CORROSIVA. Provoca quemaduras. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Desprenderse inmediatamente de todas las ropas contaminadas. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Solución de permanganato potásico. Perjudicial para los organismos acuáticos, puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático. Precaución: Evitar el contacto y la inhalación.

La solución de ácido oxálico es CORROSIVA. Provoca quemaduras. Dañina en contacto con la piel y en caso de ingestión. Posible riesgo de daños al feto. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Desprenderse inmediatamente de todas las ropas contaminadas. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. Órganos a los que afecta: riñones y nervios.

La solución de sulfato de amoníaco férrico es IRRITANTE. Irritante para los ojos y la piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

Solución de nitrato de plata. Perjudicial para los organismos acuáticos, puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático. Precaución: Evitar el contacto y la inhalación. Órganos a los que afecta: sangre y nervios.

Solución de cloruro de oro. Precaución: Evitar el contacto y la inhalación.

La solución de tiosulfato sódico es IRRITANTE. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

La solución de formol al 10 % es PERJUDICIAL. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Perjudicial: posible riesgo de efectos irreversibles por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Puede causar sensibilización por inhalación y contacto con la piel. No inhalar los vapores. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Puede provocar cáncer. Contiene formaldehído. Se absorbe fácilmente a través de la piel. Órganos a los que afecta: ojos y riñones. Calificado como PROP 65 (carcinógeno).

La solución de hidróxido de amoníaco es CORROSIVA y peligrosa para el medio ambiente. Perjudicial en caso de ingestión. Provoca quemaduras. Muy tóxica para los organismos acuáticos. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Evitar su liberación en el medio ambiente. Consultar las hojas de instrucciones y de datos de seguridad.

El alcohol reactivo es INFLAMABLE e IRRITANTE. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada. Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

El xileno es INFLAMABLE y PERJUDICIAL. Posible riesgo de infertilidad. Puede causar daños al feto. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para el sistema respiratorio y la piel. Riesgo de daño grave para los ojos. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.) (Precaución: sustancias en proceso de prueba)

La solución de hidróxido sódico es CORROSIVA. Provoca quemaduras. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar guantes adecuados y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Solución de permanganato potásico. Perjudicial para los organismos acuáticos, puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático. Evitar su liberación en el medio ambiente. Consultar las hojas de instrucciones y de datos de seguridad. Evitar el contacto con la piel y los ojos. No inhalar los vapores.

Solución de sulfato de amoníaco férrico. Evitar el contacto con la piel y los ojos. No respirar la neblina.

Solución de nitrato de plata. Perjudicial para los organismos acuáticos, puede causar efectos adversos a largo plazo en el medio acuático. Evitar el contacto con la piel y los ojos. No inhalar los vapores.

Solución de cloruro de oro. Evitar el contacto con la piel y los ojos. No respirar la neblina.

Solución de tiosulfato sódico. Evitar el contacto con la piel y los ojos. No respirar la neblina.

La solución de formol al 10 % es PERJUDICIAL. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Evidencia escasa de efectos carcinógenos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

La solución de hidróxido de amoníaco es CORROSIVA y peligrosa para el medio ambiente. Provoca quemaduras. Muy tóxica para los organismos acuáticos. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Evitar su liberación en el medio ambiente. Consultar las hojas de instrucciones y de datos de seguridad.

El alcohol reactivo es ALTAMENTE INFLAMABLE e IRRITANTE. Altamente inflamable. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos,

enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada.

El xileno es PERJUDICIAL. Inflamable. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para la piel. Evitar el contacto con los ojos.

PROCEDIMIENTO

RECOGIDA DE LA MUESTRA:

Se recomienda que la recogida de la muestra se lleve a cabo de acuerdo con las directrices del documento M29-A2 de la NCCLS. Ningún método de prueba puede garantizar la completa seguridad de que las muestras de sangre o tejido no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Fijar las muestras en formol tamponado neutro al 10 %, procesarlas y embeberlas en parafina. Realizar cortes en parafina de 4 a 5 micras. Añadir los controles adecuados.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Los portaobjetos de control positivo, tal como TISSUE-TROL de retículo de Sigma, número de catálogo R 4768, deben utilizarse en cada proceso

Contratención (opcional) de solución de eosina Y o Fast Red nuclear, número de catálogo N 3020, Fast Red nuclear al 0,1 % en sulfato de aluminio al 5 %

Solución de hidróxido de amoníaco concentrada

Etanol, absoluto

Solución de formol, 10 %

Alcohol reactivo

Xileno

Fórceps de plástico o recubiertos con parafina

Vasos de Coplin limpiados químicamente

NOTA:

Los datos obtenidos mediante este procedimiento sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben ser revisados junto con otras pruebas clínicas o información de diagnóstico.

PROCEDIMIENTO:

1. Desparafinar los cortes e hidratarlos llevándolos hasta agua desionizada.
2. Oxidar los cortes en solución de permanganato potásico durante **5 minutos**.
3. Lavar los portaobjetos durante **2 minutos** con agua del grifo.
4. Decolorar en solución de ácido oxálico durante **2 minutos** o hasta que los cortes pierdan color.
5. Lavar los portaobjetos durante **2 minutos** con agua del grifo.
6. Sensibilizar los cortes en sulfato de amoníaco férrico durante **15 minutos**.
7. Lavar los portaobjetos varias veces con agua destilada, cambiando el agua cada vez.
8. Impregnar los cortes con solución de nitrato de plata amoniacal durante **2 minutos**.
9. Aclarar bien los portaobjetos con agua destilada.
10. Reducir los cortes durante **2 minutos** en solución de formol al 10 %.
11. Lavar los portaobjetos durante **3 minutos** con agua del grifo.
12. Teñir los cortes con solución de cloruro de oro durante **10 minutos**.
13. Aclarar los portaobjetos con agua destilada.
14. Colocar los portaobjetos en solución de tiosulfato sódico durante **1 minuto**.
15. Lavar los portaobjetos durante **2 minutos** con agua del grifo.
16. Contrateñir, si así se desea, con solución Fast Red nuclear durante **3-5 minutos** o con solución de eosina Y durante **1-2 minutos**. Generalmente, se contratienen todos los cortes excepto los del hígado. Lavar bien con agua.
17. Deshidratar con etanol al 95 % y etanol absoluto, con dos cambios cada uno.
18. Aclarar con xileno y montar con resina sintética.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Retículo	- Negro
Fondo	- Tonos de rosa (si se contratiene con Fast Red nuclear)

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

REFERENCIAS

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.

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

Servicio Técnico: a cobro revertido al +1 314 771 3122

o por correo electrónico a clintech@sial.com

Para realizar pedidos: a cobro revertido al +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

Sigma-Aldrich, Inc. garantiza que sus productos concuerdan con la información contenida en ésta y otras publicaciones de Sigma-Aldrich. El comprador debe determinar la idoneidad de los productos para su uso particular. Es posible que deban aplicarse términos y condiciones adicionales. En el reverso de la factura o del albarán se incluyen los términos adicionales y las condiciones de venta.

Procedimiento número HT102

Revisión anterior: 2003-09

Revisión: 2005-01



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