

## FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Sigma-Aldrich Silver Stain, Modified Steiner-Steiner, a paraffinba ágyazott szövetmetszetekben lévő spirochaeta és nem rostos baktériumok kimutatására javallt. A Silver Stain reagensek in vitro diagnosztikai felhasználásra javalltak.

Warthin-Starry, Dieterle és Steiner-Steiner dokumentáltak eljárásokat a spirochaeták és egyéb alkalmazkodó organizmusok kimutatására.<sup>1-3</sup> Ezen eljárásokhoz gyakran szükséges oldat preparátumokat kidolgozni és az eredmények jelentősen eltérhetnek.

A Sigma-Aldrich módszer a Steiner-Steiner módszer módosítása egy mikrohullámú alkalmazás bevonásával, mely a szövetmetszetekben az ezüst festést gyorsítja és kihangsúlyozza. A mikrohullámú sütőben keletkező hő kedvez az ezüst-nitrát beimpregnálásának a szövetmetszetekbe, mely gyakran sokkal tisztább hátteret eredményez, mint a hagyományos módszer. Öblítsék csapvízben és hagyják levegőn megszáradni vagy itassák fel teljesen szárazra. A Sigma-Aldrich módosított Steiner-Steiner eljárás állandó, reprodukálható festési eredményeket eredményez.

## REAGENSEK

**URANYL NITRATE SOLUTION**, Katalógus szám: HT101-1  
Uranyl-nitrát, 1 % vízben.

**SILVER NITRITE SOLUTION**, Katalógus szám: HT101-2  
Ezüst-nitrát, 1 % vízben.

**GUM MASTIC SOLUTION, ALCOHOLIC**, Katalógus szám: HT101-3  
masztixgyanta abszolút alkoholban.

**HYDROQUINONE TABLETS**, Katalógus szám: HT101-4  
Hidrokinon, 0,5 g, vehiculummal.

### TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:

A Silver Stain reagensek hűtve tárolandók (2-8 °C). Semmisítsék el, ha zavaros lesz. A reagens címkéjén feltüntették a lejárat dátumot.

### TÖNKREMENTEL:

Uranyl Nitrate Solution, Silver Nitrate Solution és Gum Mastic, Alcoholic, megsemmisítendő, ha zavarosság lép fel.

### ELŐKÉSZÍTÉS:

A Working Hydroquinone Solution-t egy hidrokinon tablettát 25 ml ioncserélt vízben oldva készítik. Keverjék jól össze.

Az Uranyl Nitrate Solution, a Silver Nitrate Solution és a Gum Mastic használatra kész.

### ÖVINTÉZKEDÉSEK:

A laboratóriumi reagensekkel történő munka során a szokásos övintézkedéseket be kell tartani. Hulladék-megsemmisítés az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével. A legfrissebb kockázati, veszély vagy biztonsági információkat lásd az Anyagbiztonsági adatlapban.

A Spirochete TISSUE-TROL/Helicobacter TISSUE-TROL kontroll lemezek paraffinba ágyazott, spirochaetákat/helicobactert tartalmazó nyúl vagy emberi szövetek, melyek esetlegesen fertőzőnek tekintendők.

### US Kockázati és biztonsági mondatok

Az Uranyl Nitrate Solution **MÉRGEZŐ**. Belélegezve és lenyelve mérgező. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Célszervek: Vesék és máj.

Silver Nitrite Solution. Ártalmas a vízi szervezetekre, a vízi környezetben hosszantartó károsodást okozhat. Figyelem: Kerüljék az anyag érintését és belélegzését. Célszervek: Vér és idegek.

A Gum Mastic Solution **GYŰLÉKONY** és **IRRITATÍV**. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni. Célszervek: Máj és idegek.

A Hydroquinone Tablets **MÉRGEZŐK** és a környezetre veszélyesek. Lenyelve ártalmas. Bőrizgató hatású. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Súlyos szemkárosodást okozhat. Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Nagyon mérgező a vízi szervezetekre. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. A környezetbe juttatni nem szabad. Lásd a speciális útmutatásokat/biztonsági adatlapokat.

A reagens alkohol **GYŰLÉKONY** és **IRRITATÍV**. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni. Célszervek: Idegek és máj.

A xilol **GYŰLÉKONY** és **ÁRTALMAS**. A fertilitást (fogamzóképeséget vagy nemzőképeséget) károsíthatja. A születendő gyermekre ártalmas lehet. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. Bőrizgató hatású, izgatja a légutakat. Súlyos szemkárosodást okozhat. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

### EU Kockázati és biztonsági mondatok

Az Uranyl Nitrate Solution **MÉRGEZŐ**. Belélegezve és lenyelve mérgező. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Silver Nitrite Solution. Ártalmas a vízi szervezetekre, a vízi környezetben hosszantartó károsodást okozhat. A keletkező gőzt nem szabad belélegezni. Kerülni kell a bőrrel való érintkezést és a szembejutást.

A Gum Mastic Solution **RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY** és **IRRITATÍV**. Rendkívül gyűlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A Hydroquinone Tablets **ÁRTALMAS** és a környezetre veszélyes. Lenyelve ártalmas. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Súlyos szemkárosodást okozhat. Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Nagyon mérgező a vízi szervezetekre. Maradandó egészségkárosodást okozhat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. A környezetbe juttatni nem szabad. Lásd a speciális útmutatásokat/biztonsági adatlapokat.

A reagens alkohol **RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY** és **IRRITATÍV**. Rendkívül gyűlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A xilol **ÁRTALMAS**. Gyűlékony. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. Bőrizgató hatású. Kerülni kell a szembejutást.

## ELJÁRÁS

### MINTÁK BEGYŰJTÉSE ÉS TÁROLÁSA

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2 NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmiféle vizsgálati módszer nem ismert, mely teljes bizonyossággal kimutathatja, hogy a vérminták vagy a szövet nem terjeszt fertőzést. Ezért, minden vér származék vagy szövetminta esetlegesen fertőzőnek tekintendő.

Fixálják a mintákat 10 % semleges puffereelt formalin oldatban, ágyazzák paraffinba és vágjanak 5 mikronos metszeteket.

### SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK:

Positív kontroll lemezek, pl. Sigma Spirochete TISSUE-TROL, Katalógus szám: S 2645 vagy Helicobacter TISSUE-TROL tárgylemezek, Katalógus szám: H 1898, futtatandó minden menetben.

Abszolút alkohol

Alkohol, 95 %

Xilol

### CSAK A SZABVÁNYOS ELJÁRÁSHOZ:

Vízfürdő, 45 °C és 60 °C

Festőtégelyek (Coplin, műanyag) fedelekkel, Katalógus szám: S 5641

### CSAK A MIKROHULLAMÚ ELJÁRÁSHOZ:

ACCUMATE™ H2100 Microwave Oven, katalógus számok: A9084 (110v) vagy A9209 (220v) Coplin edények (műanyag) szellőző kupakkal, katalógus szám: C 3883

### MEGJEGYZÉSEK:

A xilol nem helyettesíthető, mivel halványítja a spirochaetákat.<sup>4</sup> Ha Sigma-Aldrich H2100 Microwave Oven-t használnak, lásd a Tulajdonosi kézikönyvet.

Jelen eljárás során kapott adatok csak segítségként szolgálnak és azokat egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell nézni.

### ELJÁRÁS:

#### SZABVÁNYOS:

- Használjanak kémiailag tisztított műanyag Coplin edényeket.
- Melegítsenek elő **40 ml** Uranyl Nitrate-t, Katalógus szám: HT101-1, és **40 ml** Silver Nitrate Solution-t, Katalógus szám: HT101-2, **60 °C**-ra.
- Melegítsék a Gum Mastic Solution-t, Katalógus szám: HT101-3, **szobahőmérsékletűre**.
- Paraffinmentésük a metszeteket és hidratálják ioncserélt vízzel.
- Tegyék a metszeteket előmelegített Uranyl Nitrate Solution-ba **15 perc**re **60 °C**-os vízfürdőbe.
- Öblítsék háromszor ioncserélt vízben.
- Tegyék a metszeteket előmelegített Silver Nitrate Solution-ba **60 °C**-os vízfürdőben **1,5 óra**ra.
- Öblítsék háromszor ioncserélt vízben.
- Öblítsék kétszer-kétszer 95 % alkoholban és abszolút etanolban.
- Tegyék a metszeteket Gum Mastic Solution-ba **5 perc**re.
- Vegyék ki a tárgylemezeket a Gum Mastic Solution-ból és hagyják a metszeteket levegőn száradni.
- Készítsék el a Reducing Solution-t **10 ml** Gum Mastic Solution, Katalógus szám: HT101-3, és **25 ml** Working Hydroquinone Solution és **5 ml** abszolút alkohol összekeverésével. Szűrjék át Whatman No. 54 vagy ekvivalens szűrőpapíron és adjanak hozzá **200 µl** Silver Nitrate Solution-t. **MEGJEGYZÉS:** A Reducing Solution tejszerű lehet.
- Melegítsék a Reducing Solution-t műanyag Coplin edényben, **tárgylemezek nélkül, 45 °C**-os vízfürdőn. Adják a metszeteket a meleg Reducing Solution-hoz és inkubálják maximum **25 perc**ig.
- Hagyják a tárgylemezeket állni a Reducing Solution-ban **szobahőmérsékleten** amíg a kívánt fokú fekete festést el nem érik, **1–2 perc** az optimális. Hosszabb festés lehetséges, ha szükséges. Egyszeri használat után az oldatot semmisítsék meg.
- Dehidratálják a metszeteket alkoholban.
- Derítsék xilolban és fedjék le.

## ACCUMATE™ H2100 MICROWAVE ELJÁRÁS:

1. Paraffinmentesítsék és hidratálják ioncserélt vízzel.
2. Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Uranyl Nitrate Solution-ba, Katalógus szám: HT101-1. Lazán fedjék le az edényt fedéllel, vagy használjanak lyukas fedelet.
3. Mikrohullámozzák **600 watton 30 másodpercig**.
4. Jól öblítsék le többször ioncserélt vízben.
5. Tegyék a tárgylemezeket **40 ml** Silver Nitrate Solution-ba, Katalógus szám: HT101-2.
6. Mikrohullámozzák **600 watton 30 másodpercig**. Keverjék össze az oldatot beral pipettával vagy applikátor bottal és inkubálják **10 percig**.
7. Öblítsék többször ioncserélt vízben.
8. Öblítsék a tárgylemezeket kétszer 95 % alkoholban és kétszer abszolút alkoholban.
9. Tegyék a tárgylemezeket Gum Mastic Solution-ba, Katalógus szám: HT101-3, inkubálják **5 percig szobahőmérsékleten**.
10. Vegyék ki a tárgylemezeket a Gum Mastic Solution-ból és hagyják a metszeteket levegőn száradni.
11. Készítsék el a Reducing Solution-t **10 ml** Gum Mastic Solution, Katalógus szám: HT101-3, és **25 ml** Working Hydroquinone Solution és **5 ml** abszolút etanol összekeverésével. Szűrjék le az oldatot, majd adjanak hozzá **200 µl (0,2 ml)** Silver Nitrate Solution-t. Összekeverni.
12. Mikrohullámozzák a Reducing Solution-t egy műanyag Coplin edényben, **tárgylemezek nélkül 600 watton 15 másodpercig**. Keverjék össze beral pipettával vagy applikátor bottal.
13. Azonnal adják hozzá a tárgylemezeket a meleg Reducing Solution-hoz és mikrohullámozzák **400 watton 20 másodpercig**.
14. Keverjék össze az oldatot beral pipettával vagy applikátor bottal és inkubálják azokat Reducing Solution-ban a kívánt fokú fekete festés eléréséig. Körülbelül **45 másodperc-1 perc** az optimális. Hosszabb festés lehetséges, ha szükséges. Egyszeri használat után az oldatot semmisítsék meg.
15. Öblítsék le a tárgylemezeket ioncserélt vízben.
16. Dehidratálják alkoholban, derítsék xilolban és fedjék le.

## TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A spirochaeták és egyéb nem rostos baktériumok sötétbarna-feketére festenek. A háttér élénk sárga-világos barna.

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várttól, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma Aldrich műszaki szolgálatával.

## IRODALOMJEGYZÉK

1. Van Orden AE, Greer PW: Modification of the Dieterle spirochete stain. J Histotechnol 1 (2):51-53, 1977
2. Churukian CJ, Schenk EA: A Warthin-Starry method for spirochetes and bacteria using a microwave oven. J Histotechnol 11 (3): 149-151, 1988
3. Swisher BL: Modified Steiner procedure microwave staining for spirochetes and nonfilamentous bacteria. J Histotechnol 10 (4): 241-243, 1987
4. Davis, Mary M., HT (ASCP): Joy of Microwaving, NSH Symposium, Buffalo, NY, Oct. 1995

Sigma-Aldrich, Inc. garantálja, hogy termékei megfelelnek a jelen és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban közölt információkkal. A vevő köteles a termék(ek) megfelelőségét az adott felhasználáshoz meghatározni. További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Lásd a számla vagy csomagolás hátsó oldalát a további eladási kikötések és feltételek tekintetében.

Eljárás száma: HT101  
Korábbi felülvizsgálás: 2003-03  
Felülvizsgálva: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Műszaki szolgálat: 800-325-0250 vagy hívják 314-771-3122

vagy e-mail: [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Megrendelés: 800-325-3010 vagy hívják: 314-771-5750

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

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

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