

---

## USO PREVISTO

Il sistema di colorazione Nero Sudan B di Sigma-Aldrich è idoneo all'uso per la rivelazione istochimica di granulociti neutrofili in pellicole di sangue o midollo osseo. Il sistema di colorazione Nero Sudan B è riservato al solo "uso diagnostico in-vitro".

Numerosi lipidi, compresi i fosfolipidi, i grassi neutri e gli steroli, sono colorati in modo intenso dal Nero Sudan B. La reazione dei granulociti neutrofili a contatto con il colorante è stata descritta da Sheehan e Storey nel 1947.<sup>1</sup> Lo schema di colorazione dei leucociti con il Nero Sudan B in genere è parallelo allo schema della mieloperossidasi.<sup>2</sup> Le cellule vincolate lungo i canali linfoidi mostrano una colorazione negativa, mentre le forme mieloidi e monocitoidi mostrano reazioni positive caratteristiche. Dunque il Nero Sudan B è da considerarsi un valido aiuto per l'identificazione delle leucemie granulocitiche e mielomonocitiche.<sup>2</sup>

Le metodiche del passato utilizzavano pellicole di sangue fissate a vapore in formaldeide.<sup>2</sup> Questa tecnica può produrre una perdita di cellule e una colorazione artefatta. La procedura Sigma-Aldrich utilizza un fissatore di glutaraldeide tamponato e un tempo di incubazione ridotto, i quali assicurano un'ottima colorazione senza perdite cellulari e distorsioni.<sup>3</sup>

---

## REAGENTI

**REAGENTE PER COLORAZIONE NERO SUDAN B**, n. di catalogo 380-1  
Nero Sudan B, 0,18% (p/v) in etanolo al 69%, con fenolo tamponato al fosfato.

**SOLUZIONE EMATOSSILINA DI GILL n. 3**, n. di catalogo GHS-3  
Ematossilina certificata 6 g/l, iodato di sodio 0,6 g/l, solfato di alluminio 52,8 g/l e stabilizzatore.

**SOLUZIONE GLUTARALDEIDE**, n. di catalogo 380-2  
Glutaraldeide 4% in tampone borato, pH 7,6.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il reagente per colorazione Nero Sudan B a temperatura ambiente (18–26°C). La data di scadenza è indicata sull'etichetta dei reagenti.

Conservare la soluzione ematossilina di Gill 3 a temperatura ambiente (18–26°C) e al riparo dalla luce. La data di scadenza è indicata sull'etichetta dei reagenti. Filtrare prima dell'uso. Si raccomanda di riporre il materiale nel contenitore originale dopo l'uso. Scartare se la soluzione assume una colorazione marrone (sovrassossidazione per mezzo dell'aria) o viola (perdita di acidità).

Conservare la soluzione di glutaraldeide in frigorifero (2–8°C). La data di scadenza è indicata sull'etichetta dei reagenti. Scartare la soluzione se intorbidisce.

La soluzione fissante di glutaraldeide è stabile per svariati mesi se conservata in flaconi ben sigillati nel frigorifero (2–8°C).

### PREPARAZIONE

Preparare la soluzione fissante di glutaraldeide aggiungendo 25 ml di ACS o acetone grado reagente a 75 ml di soluzione di glutaraldeide, n. di catalogo 380-2.

### PRECAUZIONI

Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Fare riferimento al foglio dati relativo alla sicurezza dei materiali per informazioni aggiornate riguardanti i rischi, i pericoli e la sicurezza associati all'uso di questi prodotti.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.S.A.)

Il reagente per la colorazione Nero Sudan B è INFIAMMABILE e NOCIVO. Facilmente infiammabile. Nocivo per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nocivo: possibile rischio di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei, guanti e protezione per occhi/viso.

La soluzione di glutaraldeide è TOSSICA. Nociva per ingestione. Tossica per inalazione. Irritante per il sistema respiratorio e la cute. Rischio di gravi lesioni oculari. Può causare sensibilizzazione in caso di inalazione e contatto con la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei, guanti e protezione per occhi/viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

La soluzione ematossilina di Gill 3 è NOCIVA. Nociva per ingestione. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi. Organi colpiti: fegato e reni.

L'acetone è INFIAMMABILE e IRRITANTE. Irritante per gli occhi. L'esposizione ripetuta può provocare cute secca e screpolata. L'inalazione dei vapori può indurre sonnolenza e vertigini. Conservare il contenitore in un ambiente adeguatamente ventilato. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.E.)

Il Reagente per la colorazione Nero Sudan B è FACILMENTE INFIAMMABILE e NOCIVO. Facilmente infiammabile. Nocivo per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Nocivo: possibile rischio di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei, guanti e protezione per occhi/viso.

La soluzione di glutaraldeide è NOCIVA. Nociva per inalazione e ingestione. Irritante per il sistema respiratorio e la cute. Rischio di gravi lesioni oculari. Può causare sensibilizzazione in caso di inalazione e contatto con la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti protettivi idonei, guanti e protezione per occhi/viso. In caso di incidente o di malessere, ricorrere a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

La soluzione ematossilina di Gill 3 è NOCIVA. Nociva per ingestione. Irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la cute. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi.

L'acetone è FACILMENTE INFIAMMABILE e IRRITANTE. Facilmente infiammabile. Irritante per gli occhi. L'esposizione ripetuta può provocare cute secca e screpolata. L'inalazione dei vapori può indurre sonnolenza e vertigini. Conservare il contenitore in un ambiente adeguatamente ventilato. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua e ricorrere all'assistenza di un medico.

---

## PROCEDURA

### RACCOLTA DEI CAMPIONI

Per la raccolta dei campioni, attenersi alla procedura descritta nel documento NCCLS numero M29-A2. Nessun metodo di analisi noto garantisce con assoluta certezza che i campioni di sangue o il tessuto non trasmettano infezioni. Di conseguenza tutti i derivati del sangue e i campioni di tessuto devono essere considerati potenziali veicoli di infezioni.

È possibile utilizzare pellicole con sangue intero o anticoagulato o con midollo osseo preparate sul momento. Fissare appena possibile.

### MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Acetone, Reagente ACS

### NOTE

A scopo di verifica delle prestazioni del sistema, si consiglia di analizzare pellicole di sangue provenienti da donatori sani insieme ai campioni dei pazienti.

I dati generati da questa procedura sono da utilizzarsi soltanto a sostegno della diagnosi e devono essere valutati congiuntamente ad altri esami e dati diagnostici.

### PROCEDURA

1. Raffreddare la soluzione di glutaraldeide in frigorifero (2–8°C).
2. Fissare gli strisci o le pellicole di sangue o i preparati di midollo osseo per 1 minuto a 2–8°C, agitando delicatamente e quindi sciacquando accuratamente in acqua deionizzata.
3. Immergere nel reagente per colorazione Nero Sudan B (n. di catalogo 380-1) per 5 minuti, agitando di tanto in tanto.
4. Sciacquare 3 o più volte in etanolo al 70%, fino alla completa scomparsa del colorante. Far seguire un risciacquo accurato in acqua distillata.
5. Procedere alla colorazione di contrasto in soluzione ematossilina di Gill 3 (n. di catalogo GHS-3) per 5 minuti, quindi sciacquare accuratamente con acqua corrente.
6. Dopo l'asciugatura all'aria, i vetrini possono essere montati su un mezzo di montaggio per istologia DPX o un altro prodotto equivalente.

---

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I neutrofili e i relativi precursori sono caratterizzati da una granulazione intracellulare di colore blu-nero.<sup>2</sup> I monociti assumono una colorazione meno intensa e i linfociti non si colorano affatto con il Nero Sudan B.<sup>2</sup>

Le pellicole di sangue preparate da normali donatori sono state colorate con il Nero Sudan B secondo la procedura descritta e mediante la metodologia classica Sheehan-Storey.<sup>1</sup> I neutrofili hanno riportato una granulazione di colore blu-nero con la procedura Sigma-Aldrich n. 380 e una granulazione di colore blu-nero con la procedura Sheehan-Storey. In entrambi i casi i monociti hanno assunto una colorazione meno intensa e i linfociti non hanno mostrato nessuna attività mieloperossidasi.

Se i risultati osservati si discostano dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per informazioni di supporto.

---

## BIBLIOGRAFIA

1. Sheehan HL, Storey GW: An improved method of staining leukocyte granules with Sudan Black B. J Pathol Bacteriol 59:336, 1947
2. Davey FR, Nelson DA: Sudan Black B Staining. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Beutler, AJ Erslev, RW Rundles, Editors, McGraw-Hill, New York, 1977, pp 1629–1630
3. Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978

Sigma-Aldrich, Inc. garantisce che i propri prodotti sono conformi alle informazioni contenute nel presente documento e in altre pubblicazioni Sigma-Aldrich. Spetta all'acquirente stabilire se i prodotti sono idonei all'uso particolare che ne viene fatto. È possibile che sussistano ulteriori termini e condizioni. Vedere il retro della fattura o la distinta di imballaggio per i termini e le condizioni di vendita.

Procedura n. 380  
Revisione precedente: 2003-03  
Revisione: 2003-09



**AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse**  
**Egham TW20 9BD (Regno Unito)**

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 (USA) +1 314 771 5765  
Assistenza tecnica: a carico del destinatario +1 314 771 3122  
o tramite e-mail all'indirizzo [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Per ordinare: a carico del destinatario +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH  
P.O. 1120, 89552 Steinheim (Germania) 49-7329-970