

**Shandon RAPID-CHROME™ Iron Stain
and
RAPID-CHROME™ Nuclear Fast Red Counterstain**



Thermo
ELECTRON CORPORATION

Anatomical Pathology USA
Clinical Diagnostics
171 Industry Drive
Pittsburgh, PA 15275, USA
Tel: 1-800-547-7429
+1 412 788 1133
Fax: +1 412 788 1138
www.thermo.com/shandon

Anatomical Pathology International
Clinical Diagnostics
93-96 Chadwick Road
Astmoor, Runcorn
Cheshire, WA7 1PR, UK
Tel: +44 (0) 1928 566611
Fax: +44 (0) 1928 565845
www.thermo.com/shandon

RAPID-CHROME™ Iron stain and RAPID-CHROME™ Nuclear Fast Red Counterstain

PLEASE READ THIS PACKAGE INSERT IN ITS ENTIRETY BEFORE USING THE PRODUCT.

INTENDED USE:

For demonstration of hemosiderin or non-hemoglobin iron in cells and tissue by the Prussian blue staining method.

WARNINGS AND PRECAUTIONS**FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE****STORAGE**

Store at room temperature.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

See Material Safety Data Sheets for warnings and precautions, as well as R & S code definitions. The following symbols are used on the product labels and packaging:



Definitions are at the rear of this booklet

CONTENTS:

Each iron stain dropper contains one crushable glass ampoule (0.6 ml) of each:

- 2% Hydrochloric Acid
- 2% Potassium Ferrocyanide

Each dropper of fast red counterstain contains one crushable glass ampoule (1.2 ml) of

0.1% Nuclear Fast Red in aqueous %5 aluminum sulfate, with 0.01% Thymol as a preservative.

Each dropper is sufficient to stain approximately 4 slides, depending on size of sample, and comes fitted with a filtering dropper tip.

INTRODUCTION:

The Prussian Blue staining reaction allows for visualization of free or loosely-bound iron in cells and tissue. Examples include siderocytes (red blood cells containing non-hemoglobin iron-containing granules), hemosiderosis (deposits of crystalline ferritin aggregates), and hemochromatosis (iron deposits in liver and pancreas). Spleen and bone marrow also normally contain small quantities of ferric iron.

Loosely bound iron is easily released by treatment with mild acid (2% hydrochloric acid). Free ferric ions then combine with the ferrocyanide to form the bright blue or blue-green Prussian Blue pigment (ferric ferrocyanide). Visualization is aided by counterstaining cell nuclei with nuclear fast red.

The RAPID-CHROME™ Iron Stain and RAPID-CHROME™ Nuclear Fast Red Counterstain allow this procedure to be performed quickly and easily without premixing or handling any dangerous chemicals. The convenient dropper tips provide freshly mixed and filtered staining solution at a moment's notice.

INSTRUCTIONS FOR USE:**RAPID-CHROME™ Iron Stain:**

1. Prepare the slides:

- a. For paraffin-embedded sections, deparaffinize and hydrate to distilled water. For best results, the pH of your water should not be greater than 7.0.
- b. For blood or bone marrow smears, air-dry, fix in absolute methanol for 15 minutes at room temperature, and air-dry.

NOTE: A positive control slide of the same tissue type should be included in each staining run.

2. Place the slides in a humidity chamber to prevent evaporation of the staining solution.
3. Crush each of the two ampoules in the iron stain dropper by pressing at the dots on the label. **DO NOT BEND** the plastic dropper.
4. Mix the two solutions in the dropper by inverting the dropper several times. **DO NOT SQUEEZE** the dropper until you are ready to dispense the solution.
5. **IMMEDIATELY** dispense the solution onto the slides by squeezing the dropper unit. Be sure to completely cover the specimen with staining solution. Discard the used dropper.

6. Incubate the slides in the humidity chamber at room temperature for 30 minutes or until sufficient stain intensity is achieved. The solution can be left on the sample of up to an hour. Incubating at a higher temperature, up to 60°C., will speed up the reaction. At elevated temperatures, limit the reaction time to 30 minutes.
7. Rinse the slide thoroughly with distilled water.

RAPID-CHROME™ Nuclear Fast Red Counterstain:

8. If desired, counterstain the slides with Nuclear Fast Red by crushing the single glass ampoule in the counterstain dropper and squeezing the stain onto the slide.
9. Incubate at room temperature for at least 1 minute or until desired color intensity is achieved.
10. Rinse thoroughly with distilled water.
11. Dehydrate, clear and coverslip using a synthetic mounting medium, such as Shandon-Mount™, EZ-Mount™, or Consul-Mount™.

RESULTS:

Iron deposits or hemosiderin will appear bright blue to bright blue-green. When counterstained with Nuclear Fast Red, nuclei will appear red and cytoplasm will appear light pink.

PRECAUTIONS:

Treatment of cells with hydrogen peroxide prior to performing the staining reaction may cause false positive results due to release of hemoglobin iron from red blood cells.

Use only distilled water in all solutions to which the specimen is exposed. Ions in tap water may cause some false positive or background staining.

Do not break the ampoules in the iron stain dropper until you are ready to dispense the reagents onto the slides, as the solution must be used fresh. Mix the solution thoroughly by inverting the dropper several times before dispensing.

REFERENCES:

Clark, G., ed. Staining Procedures, 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1981;
Sheehan, D. C. and Hrapchak, B. B., ed. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Battelle Press, Columbus. 1980

RAPID-CHROME™ Eisenfärbung und RAPID-CHROME™ Gegenfärbung für Zellkerne mit Fast Red

DIE PACKUNGSBEILAGE BITTE VOR DEM GEBRAUCH DES PRODUKTS VOLLSTÄNDIG DURCHLESEN.

VERWENDUNGSZWECK:

Zum Nachweis von Hämoxidin oder Nicht-Hämoglobin-Eisen in Zellen und Gewebe durch das Färbeverfahren mit Preußisch-Blau.

WARNHINWEISE UND SICHERHEITSMASSNAHMEN

ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

LAGERUNG

Bei Raumtemperatur lagern.

WARNHINWEISE UND SICHERHEITSMASSNAHMEN

Die Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen sind im Sicherheitsdatenblatt sowie in den R- und S-Sätzen enthalten. Folgende Symbole finden auf den Produktetiketten und der Verpackung Verwendung:



Die Definitionen befinden sich auf der Rückseite der Gebrauchsanweisung.

BESTANDTEILE:

Jeder Tropfer mit Eisenfärbung enthält eine zerdrückbare Glasampulle (0,6 ml) mit jeweils
2%iger Salzsäure und
2%igem Kaliumeisencyanid.

Jeder Tropfer mit Fast Red-Gegenfärbung enthält eine zerdrückbare Glasampulle (1,2 ml) mit
0,1%iger Fast Red-Färbung für Zellkerne in 5%igem wässrigen Aluminiumsulfat, mit 0,01%igem Thymol als Konservierungsmittel.

Jeder Tropfer ist ausreichend, um, je nach Probengröße, ca. 4 Objektträger zu färben, und wird mit einer passenden Filterspitze für den Tropfer geliefert.

EINFÜHRUNG:

Die Färbereaktion mit Preußisch-Blau ermöglicht die Darstellung von freiem oder schwach gebundenem Eisen in Zellen und Gewebe. Die Beispiele umfassen Siderozyten (rote Blutkörperchen, die Nicht-Hämoglobin-Eisen enthaltende Speicherkörnchen enthalten), Hämosiderose (Ablagerungen von kristallartigen Ferritinansammlungen) und Hämochromatose (Eisenablagerungen in Leber und Pankreas). Milz und Knochenmark enthalten in der Regel ebenfalls kleine Mengen an dreiwertigem Eisen.

Schwach gebundenes Eisen wird leicht durch Behandlung mit einer schwachen Säure (2%ige Salzsäure) abgegeben. Die freien Eisen(III)ionen binden sich sodann an Eisencyanid, wobei das hellblaue oder blaugrüne Preußisch-Blau-Pigment gebildet wird (Eisen(III)Eisencyanid). Die Darstellung wird durch die Gegenfärbung der Zellkerne mit der Fast Red-Färbung für Zellkerne unterstützt.

Die Shandon RAPID-CHROME™ Eisenfärbung und RAPID-CHROME™ Gegenfärbung für Zellkerne mit Fast Red machen eine schnelle und leichte Durchführung dieses Verfahrens möglich, ohne chemische Gefahrenstoffe vormischen oder handhaben zu müssen. Die praktischen Tropferspitzen liefern in jedem Moment frisch gemischte und gefilterte Färbelösung.

HINWEISE ZUM GEBRAUCH:

RAPID-CHROME™ Eisenfärbung:

1. Vorbereiten der Objektträger
 - a. Für Paraffin-eingebettete Schnitte, entparaffinieren und in destilliertem Wasser hydrieren. Für optimale Ergebnisse sollte der pH-Wert des Wassers nicht über 7,0 liegen.
 - b. Für Blut- und Knochenmarkausstriche lufttrocknen, in absolutem Methanol 15 Minuten lang bei Raumtemperatur fixieren und anschließend lufttrocknen.

HINWEIS: In jedem Färbedurchgang sollte ein positiver Kontrollobjektträger mit dem gleichen Gewebetyp enthalten sein.

2. Die Objektträger in eine feuchte Kammer legen, um eine Verdunstung der Färbelösung zu verhindern.
3. Beide Ampullen in der Eisenfärbung durch Pressen auf die Punkte auf dem Etikett zerdrücken. Den Plastikropfer **NICHT BIEGEN**.
4. Die beiden Lösungen im Tropfer durch mehrfaches Umdrehen des Tropfers mischen. Den Tropfer solange **NICHT ZERDRÜCKEN**, bis mit der Dispensierung der Lösung begonnen werden kann.
5. **SOFORT** die Lösung durch Zerdrücken der Tropfereinheit auf die Objektträger dispensieren. Sicherstellen, dass die Probe vollständig mit Färbelösung abgedeckt ist. Den verwendeten Tropfer entsorgen.

- Die Objektträger in der feuchten Kammer 30 Minuten lang bei Raumtemperatur oder bis eine ausreichende Färbungsintensität erzielt wurde inkubieren. Die Lösung kann bis zu einer Stunde lang auf der Probe belassen werden. Durch Inkubation bei einer höheren Temperatur von bis zu 60 °C wird die Reaktion beschleunigt. Bei erhöhten Temperaturen die Reaktionszeit auf 30 Minuten beschränken.
- Den Objektträger gründlich mit destilliertem Wasser spülen.

RAPID-CHROME™ Gegenfärbung für Zellkerne mit Fast Red:

- Auf Wunsch die Objektträger mit Fast Red für Zellkerne gegenfärben, indem die einzelne Glasampulle in dem Tropfer für die Gegenfärbung zerdrückt und die Färbung auf den Objektträger gequetscht wird.
- Mindestens 1 Minute lang bei Raumtemperatur oder bis eine ausreichende Färbungsintensität erzielt wurde inkubieren.
- Gründlich mit destilliertem Wasser spülen.
- Dehydrieren, aufhellen und mit einem synthetischen Eindeckmittel, wie beispielsweise Shandon-Mount™, EZ-Mount™ oder Consul-Mount™ eindecken.

ERGEBNISSE:

Die Eisenablagerungen oder das Hämosiderin werden in Hellblau bis Hellblaugrün erscheinen. Bei der Gegenfärbung mit Fast Red für Zellkerne erscheinen die Zellkerne in Rot und das Zytoplasma in Hellpink.

SICHERHEITSMASSNAHMEN:

Eine Behandlung der Zellen mit Wasserstoffperoxid vor der Färbereaktion kann zu falsch positiven Ergebnissen infolge der Abgabe von Hämoglobin-Eisen durch die roten Blutkörperchen führen.

Für alle Lösungen, denen die Proben ausgesetzt werden, ausschließlich destilliertes Wasser verwenden. Die Ionen im Leitungswasser können zu einigen falsch positiven Ergebnissen oder zur Hintergrundfärbung führen.

Die Ampullen im Tropfer mit der Eisenfärbung solange **nicht zerbrechen**, bis die Reagenzien auf die Objektträger dispensiert werden können, weil die Lösung frisch sein muss. Die Lösung gründlich durch mehrfaches Umdrehen des Tropfers vor der Dispensierung mischen.

LITERATURHINWEISE:

Clark, G., ed. Staining Procedures, 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1981; Sheehan, D. C. and Hrapchak, B. B., ed. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Battelle Press, Columbus. 1980

Tinte de hierro RAPID-CHROME™ y contratinción roja nuclear rápida RAPID-CHROME™

LEA TODO ESTE FOLLETO ANTES DE UTILIZAR EL PRODUCTO.

INDICACIONES:

Para la demostración de hemosiderina o hierro no hemoglobínico en células y tejido mediante el método de tinción con azul de Prusia.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

PARA USO EN DIAGNÓSTICOS IN VITRO

ALMACENAMIENTO

Almacenar a temperatura ambiente.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Consulte las hojas de datos de seguridad de materiales para saber las advertencias y precauciones, así como la definición de los códigos de riesgos y seguridad. En las etiquetas y envases de los productos se utilizan los siguientes símbolos:



Su definición se detalla al final de este folleto.

CONTENIDO:

Cada cuentagotas de tinción de hierro contiene una ampolla de vidrio aplastable (0,6 ml) de cada uno de los siguientes compuestos:

Ácido clorhídrico al 2% y
ferrocianuro de potasio al 2%

Cada cuentagotas de contratinción roja rápida contiene una ampolla de vidrio aplastable (1,2 ml) de rojo rápido nuclear al 0,1% en sulfato de aluminio al 5%, con timol al 0,01% como conservante.

Cada cuentagotas es suficiente para teñir aproximadamente 4 portaobjetos, dependiendo del tamaño de la muestra, y se suministra con una punta cuentagotas de filtración.

INTRODUCCIÓN:

La reacción de la tinción con azul de Prusia permite la visualización de hierro libre o poco adherido en células y tejido, tales como siderocitos (glóbulos rojos que contienen gránulos que a su vez contienen hierro no hemoglobínico), hemosiderosis (depósitos de agregados de ferritina cristalina) y hemocromatosis (depósitos de hierro en el hígado y el páncreas). El bazo y la médula ósea también contienen normalmente pequeñas cantidades de hierro férrico.

El hierro poco adherido se libera fácilmente tratándolo con un ácido suave (ácido clorhídrico al 2%). Entonces, los iones férricos libres se combinan con el ferrocianuro para formar el pigmento de azul de Prusia azul brillante o azul verdoso (ferrocianuro férrico). Para facilitar la visualización puede utilizarse la contratinción de los núcleos celulares con rojo nuclear rápido.

La tinción de hierro RAPID-CHROME™ y la contratinción de rojo nuclear rápido RAPID-CHROME™ permite realizar este procedimiento de manera rápida y fácil sin necesidad de mezcla previa ni de manipulación de productos químicos peligrosos. Las prácticas puntas de cuentagotas ofrecen solución de tinción recién mezclada y filtrada en un momento.

INSTRUCCIONES DE USO:

Tinción de hierro RAPID-CHROME™:

1. Prepare los portaobjetos:

- a. En el caso de secciones incrustadas en parafina, desparafinícelas e hidrátelas con agua destilada. Para obtener resultados óptimos, el pH del agua no debe ser superior a 7,0.
- b. En el caso de frotos de sangre o médula ósea, séquelos al aire, fijelos en metanol absoluto durante 15 minutos a temperatura ambiente y vuelva a secarlos al aire.

NOTA: En cada procesamiento de tinción debe incluirse un portaobjetos de control positivo del mismo tipo de tejido.

2. Coloque los portaobjetos en una cámara húmeda para evitar la evaporación de la solución de tinción.
3. Aplaste las dos ampollas en el cuentagotas de tinción de hierro presionando en los puntos de la etiqueta. **NO DOBLE** el cuentagotas plástico.
4. Mezcle las dos soluciones en el cuentagotas invirtiendo éste varias veces. **NO APRIETE** el cuentagotas hasta que esté todo preparado para dispensar la solución.
5. **INMEDIATAMENTE**, dispense la solución sobre los portaobjetos apretando la unidad del cuentagotas. Asegúrese de cubrir por completo la muestra con solución de tinción. Deseche el cuentagotas usado.

6. Incube los portaobjetos en la cámara de humedad a temperatura ambiente durante 30 minutos o hasta que se haya conseguido una tinción de intensidad suficiente. La solución puede dejarse sobre la muestra durante un máximo de una hora. La incubación a temperaturas superiores, a un máximo de 60 °C, acelerará la reacción. A temperaturas elevadas, limite el tiempo de reacción a 30 minutos.
7. Enjuague bien el portaobjetos con agua destilada.

Contratinción de rojo nuclear rápido RAPID-CHROME™:

8. Si lo desea, aplique contratinción a los portaobjetos con rojo nuclear rápido aplastando la ampolla de vidrio en el cuentagotas de contratinción y apretando para verter la tinción sobre el portaobjetos.
9. Incube a temperatura ambiente durante un mínimo de 1 minuto o hasta que se haya conseguido una tinción de intensidad suficiente.
10. Enjuague bien con agua destilada.
11. Deshidrate, aclare y cubra utilizando un medio de montaje sintético, como Shandon-Mount™, EZ-Mount™ o Consul-Mount™.

RESULTADOS:

Los depósitos de hierro o la hemosiderina quedarán de color azul brillante o azul verdoso brillante. Al aplicar contratinción de rojo nuclear rápido, los núcleos quedarán de color rojo y el citoplasma quedará de color rosado claro.

PRECAUCIONES:

El tratamiento de las células con agua oxigenada antes de realizar la reacción de tinción puede producir resultados positivos falsos debido a la liberación de hierro hemoglobínico de los glóbulos rojos.

Utilice sólo agua destilada en todas las soluciones a las que se exponga la muestra. Los iones del agua del grifo pueden producir positivos falsos o tinción del trasfondo.

No rompa las ampollas en el cuentagotas de tinción de hierro hasta que esté todo preparado para dispensar el reactivo sobre los portaobjetos, ya que la solución debe utilizarse fresca. Mezcle bien la solución invirtiendo el cuentagotas varias veces antes de la dispensación.

REFERENCIAS:

Clark, G., ed. Staining Procedures, 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1981; Sheehan, D. C. and Hrapchak, B. B., ed. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Battelle Press, Columbus. 1980

Colorant du fer RAPID-CHROME™ et colorant de contraste rouge solide nucléaire RAPID-CHROME™

VEUILLEZ LIRE CETTE NOTICE D'UTILISATION DANS SON ENSEMBLE AVANT D'UTILISER CE PRODUIT.

APPLICATION :

Pour la mise en évidence de l'hémosidérine ou fer non héminique dans les cellules et les tissus par la méthode de coloration du bleu de Prusse.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

POUR UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

CONSERVATION

Conserver à température ambiante.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

Se reporter aux avertissements et précautions des fiches toxicologiques, ainsi qu'aux définitions de codes R et S qu'elles contiennent. Les symboles utilisés sur les étiquettes et les emballages des produits sont les suivants :



Leurs définitions figurent au dos de cette brochure.

CONTENU :

Chaque pipette de colorant du fer contient une ampoule cassable en verre (0,6 ml) de chacun des produits suivants :

Acide chlorhydrique à 2 %

Ferrocyanure de potassium à 2 %

Chaque pipette de colorant de contraste rouge solide contient une ampoule cassable en verre (1,2 ml) de rouge solide nucléaire à 0,1 % dans du sulfate d'aluminium aqueux à 5 %, avec 0,01 % de thymol comme conservateur.

Chaque pipette suffit à colorer environ 4 lamelles, en fonction de la taille de l'échantillon, et elle est équipée d'un embout filtrant.

INTRODUCTION :

La réaction de coloration au bleu de Prusse permet de visualiser le fer libre ou faiblement lié présent dans les cellules et les tissus. On peut citer comme exemple les sidérocytes (globules rouges contenant des granulations ferrugineuses non hémiques), l'hémossidérose (dépôts d'agrégats de ferritine cristalline) et l'hémochromatose (dépôts ferreux dans le foie et le pancréas). La rate et la moelle osseuse contiennent aussi normalement de petites quantités de fer ferrique.

Un traitement avec un acide doux (acide chlorhydrique à 2 %) permet de libérer facilement le fer faiblement lié. Les ions ferriques libres se combinent alors au ferrocyanure pour former le pigment bleu clair ou bleu-vert clair du bleu de Prusse (ferrocyanure ferrique). Pour faciliter la visualisation, les noyaux des cellules sont colorés par contraste avec du rouge solide nucléaire.

Le colorant du fer RAPID-CHROME™ et le colorant de contraste rouge solide nucléaire RAPID-CHROME™ permettent de réaliser cette procédure rapidement et simplement sans mélange préalable ou manipulation de produits chimiques dangereux. Les embouts de pipettes très pratiques fournissent une solution de coloration fraîchement mélangée et filtrée en un clin d'œil.

NOTICE D'UTILISATION : du fer RAPID-CHROME™ :

1. Préparer les lamelles :

- a. Pour les coupes incluses en paraffine, déparaffiner et hydrater dans de l'eau distillée. Pour obtenir des résultats optimaux, le pH de l'eau ne doit pas dépasser 7,0.
- b. Pour les frottis de sang ou de moelle osseuse, sécher à l'air, fixer dans du méthanol absolu pendant 15 minutes à température ambiante avant de sécher à nouveau à l'air.

REMARQUE : Une lamelle de contrôle positive du même type de tissus doit être incluse dans chaque série de coloration.

2. Placer les lamelles dans une chambre en atmosphère humide afin d'éviter l'évaporation de la solution de coloration.
3. Casser chacune des deux ampoules dans la pipette de colorant du fer en appuyant sur les points situés sur l'étiquette. **NE PAS Plier** la pipette en plastique.
4. Mélanger les deux solutions dans la pipette en renversant celle-ci plusieurs fois. **NE PAS PRESSER** la pipette tant qu'on n'est pas prêt à distribuer la solution.
5. Distribuer **IMMEDIATEMENT** la solution sur les lamelles en pressant la pipette. Veiller à complètement recouvrir l'échantillon de solution de coloration. Jeter la pipette usagée.

6. Mettre les lamelles en incubation dans la chambre en atmosphère humide, à température ambiante, pendant 30 minutes ou jusqu'à obtenir l'intensité de coloration suffisante. La solution peut être laissée sur l'échantillon pendant une heure au maximum. Une incubation à une température plus élevée, jusqu'à 60° C, accélérera la réaction. A des températures élevées, limiter le temps de réaction à 30 minutes.
7. Rincer la lamelle soigneusement avec de l'eau distillée.

Colorant de contraste rouge solide nucléaire RAPID-CHROME™ :

8. Si on le souhaite, colorer les lamelles par contraste avec du rouge solide nucléaire en cassant l'unique ampoule en verre dans la pipette du colorant de contraste et en pressant pour déposer le colorant sur la lamelle.
9. Mettre en incubation à température ambiante pendant au moins 1 minute ou jusqu'à obtenir l'intensité de coloration souhaitée.
10. Rincer soigneusement avec de l'eau distillée.
11. Déshydrater, clarifier et couvrir à l'aide d'un milieu de montage synthétique tel que le Shandon-Mount™, l'EZ-Mount™ ou le Consul-Mount™.

RESULTATS :

Les dépôts de fer ou l'hémosidérine apparaissent bleus clairs à bleus-verts clairs. Après l'ajout du colorant de contraste rouge solide nucléaire, les noyaux apparaissent en rouge et le cytoplasme en rose clair.

PRECAUTIONS :

Le traitement des cellules avec du peroxyde d'hydrogène avant la réaction de coloration peut donner des résultats faussement positifs dus à la libération de fer hémique provenant des globules rouges.

Utiliser uniquement de l'eau distillée dans toutes les solutions auxquelles l'échantillon est exposé. Les ions de l'eau du robinet peuvent donner une coloration de fond ou faussement positive.

Ne pas casser les ampoules dans la pipette de colorant du fer tant qu'on n'est pas prêt à distribuer les réactifs sur les lamelles, étant donné que la solution doit être utilisée fraîche. Mélanger la solution soigneusement en renversant la pipette plusieurs fois avant de procéder à la distribution.

REFERENCES :

Clark, G., ed. Staining Procedures, 4e éd., Williams & Wilkins, Baltimore. 1981; Sheehan, D. C. and Hrapchak, B. B., ed. Theory and Practice of Histotechnology, 2e éd., Battelle Press, Columbus. 1980

Colorante ferro Shandon RAPID-CHROME™ e controcolorante rosso nucleare RAPID-CHROME™

LEGGERE ATTENTAMENTE IL FOGLIO INFORMATIVO PRESENTE NELLA CONFEZIONE PRIMA DI USARE IL PRODOTTO.

USO PREVISTO:

Dimostrazione di depositi di ferro sotto forma di emosiderina o non-emoglobina in cellule e tessuti con il metodo di colorazione blu di Prussia.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura ambiente.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per Avvertenze e Precauzioni, consultare le Schede di sicurezza e le definizioni di codice R & S. Su etichette e confezione del prodotto sono utilizzati i simboli seguenti:



Le definizioni sono riportate sul retro del presente opuscolo

CONTENUTO:

Ogni flacone contagocce di colorante ferro contiene una fiala di vetro (0,6 ml) con:

2% acido idroclorico

2% ferrocianuro di potassio

Ogni flacone contagocce di controcolorante rosso nucleare contiene una fiala di vetro (1,2 ml) con

rosso nucleare (0,1%) in soluzione acquosa a base di solfato di alluminio (5%) e timolo (0,01%) come conservante.

Ogni contagocce è sufficiente a colorare circa 4 vetrini, a seconda delle dimensioni del campione, ed è dotato di un beccuccio filtrante.

INTRODUZIONE:

La reazione di colorazione con blu di Prussia consente di visualizzare ferro libero o legato da un legame debole in cellule e tessuti. Alcuni esempi includono siderociti (cellule eritrocitarie contenenti ferro da non-emoglobina), emosiderosi (depositi di aggregati cristallini di ferritina) ed emocromatosi (depositi di ferro nel fegato e nel pancreas). Anche la milza e il midollo osseo contengono normalmente piccole quantità di ferro ferrico.

Il ferro a legame debole viene facilmente rilasciato mediante trattamento con un acido leggero (acido idroclorico al 2%). Gli ioni ferrici liberi si combinano con il ferrocianuro formando il pigmento di colore blu intenso o blu di Prussia blu-verde (ferrocianuro ferrico). La visualizzazione è agevolata dalla controcolorazione dei nuclei cellulari con rosso nucleare.

RAPID-CHROME™ Iron Stain e RAPID-CHROME™ Nuclear Fast Red Counterstain consentono di eseguire questa procedura con estrema facilità e rapidità senza premiscelazione o manipolazione di sostanze chimiche pericolose. Il pratico beccuccio del flacone contagocce eroga in pochi secondi una soluzione istantanea già miscelata e filtrata.

ISTRUZIONI PER L'USO:

RAPID-CHROME™ Iron Stain:

1. Allestire i vetrini:

- a. Per inclusioni in paraffina, deparaffinare e idratare in acqua distillata. Per ottenere i risultati migliori, il pH dell'acqua non deve essere superiore a 7,0.
- b. Per strisci di sangue o midollo osseo, essiccare all'aria, fissare in metanolo per 15 minuti a temperatura ambiente ed essiccare nuovamente all'aria.

NOTA: Includere in ogni ciclo di colorazione un vetrino di controllo positivo dello stesso tipo di tessuto.

2. Collocare i vetrini in una camera di umidificazione per prevenire l'evaporazione della soluzione colorante.
3. Rompere ciascuna delle due fiale nel contagocce del colorante ferro esercitando una lieve pressione sui punti di riferimento presenti sull'etichetta. **NON PIEGARE** il contagocce di plastica.
4. Miscelare le due soluzioni capovolgendo più volte il contagocce. **NON PREMERE** il contagocce finché non si è pronti a erogare la soluzione.
5. Applicare **IMMEDIATAMENTE** la soluzione sui vetrini esercitando una lieve pressione sul contagocce. Verificare che il campione sia interamente coperto dalla soluzione colorante. Eliminare il contagocce usato.

6. Lasciare in incubazione i vetrini nella camera di umidificazione a temperatura ambiente per 30 minuti o fino al raggiungimento di una sufficiente intensità di colorazione. La soluzione può essere lasciata sul campione per un tempo massimo di 1 ora. L'incubazione a temperature più elevate, oltre i 60° C., accelera la reazione. In presenza di temperature elevate, limitare il tempo di reazione a 30 minuti.
7. Lavare accuratamente il vetrino con acqua distillata.

RAPID-CHROME™ Nuclear Fast Red Counterstain:

8. Se lo si desidera, controcolorare i vetrini con rosso nucleare rompendo la fiala singola nel contagocce del controcolorante, quindi applicare il colorante sul vetrino esercitando una lieve pressione sul contagocce.
9. Lasciare in incubazione a temperatura ambiente per almeno 1 minuto o fino al raggiungimento dell'intensità di colore desiderata.
10. Lavare accuratamente il vetrino con acqua distillata.
11. Disidratare e coprire con un mezzo di montaggio sintetico, quali Shandon-Mount™, EZ-Mount™, oppure Consul-Mount™.

RISULTATI

I depositi di ferro o emosiderina appaiono di colore blu intenso o blu-verde intenso. Se sottoposti a controcolorazione con rosso nucleare, i nuclei appaiono di colore rosso, mentre il citoplasma appare di colore rosa pallido.

PRECAUZIONI:

Il trattamento di cellule con perossido di idrogeno prima della reazione di colorazione può causare risultati falsamente positivi dovuti al rilascio di ferro di emoglobina da parte delle cellule eritrocitarie.

Utilizzare solo acqua distillata in tutte le soluzioni alle quali il campione viene esposto. Gli ioni presenti nell'acqua di rubinetto possono causare risultati falsamente positivi o una colorazione di fondo.

Non rompere le fiale nel contagocce del colorante ferro finché non si è pronti ad applicare i reagenti sui vetrini, in quanto la soluzione deve essere di utilizzo istantaneo. Miscelare accuratamente la soluzione capovolgendo più volte il contagocce prima dell'applicazione.

BIBLIOGRAFIA:

Clark, G., ed. Staining Procedures, 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1981; Sheehan, D. C. and Hrapchak, B. B., ed. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Battelle Press, Columbus. 1980

