

Solution de rhodanine (stock)

Description et principe

La solution de rhodanine (stock) est utilisée dans le kit de coloration au cuivre pour mettre en évidence les dépôts de cuivre dans les coupes de tissus.

Résultats attendus

Gisements de cuivre : Brun clair à rouge
Noyaux: Bleu

Contenu du kit (Cat# CSK-1) Stockage

Kit supplémentaire : réactifs vendus séparément

1. Solution de rhodanine (stock)	2 à 8 °C
2. Solution tampon d'acétate, pH 8,0	18 à 25 °C
3. Hématoxyline, Mayer's (Lillie's Mod.)	18 à 25 °C

Commandes suggérées (non fournies)

Foie fœtal ou un positif connu.

Utilisations/limites

Pour un usage de diagnostic in vitro uniquement.
N'utilisez pas de date d'expiration dépassée.
Soyez prudent lorsque vous manipulez des réactifs.
Non stérile
Destiné aux sections FFPE coupées à 5-10µm.
Cette procédure n'a pas été optimisée pour les sections congelées.
Les sections gelées peuvent nécessiter une modification du protocole.

Stockage

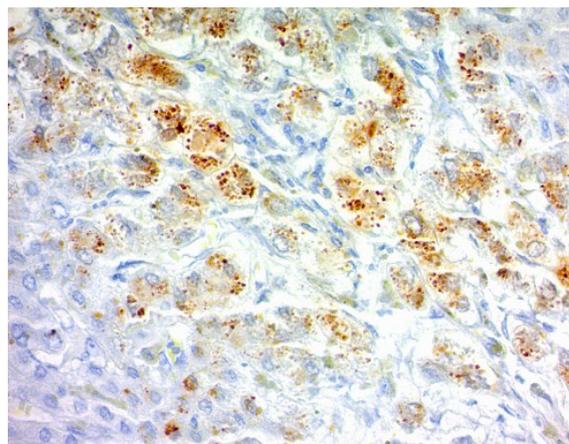
Conditions de stockage mixtes. Conserver conformément aux instructions de chaque étiquette.

Sécurité et précautions

Veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) actuelles de ce produit et de la classification GHS de ses composants, les pictogrammes et les mentions complètes de danger/précautions.

Notes de procédure importantes :

- 1) La rhodanine doit précipiter immédiatement une fois mélangée à la solution tampon d'acétate. Ces précipitations peuvent réduire le niveau global de taches. Il est important de mélanger les solutions juste avant la coloration et de les utiliser immédiatement. Les mélanges jaune pâle avec des précipitations ou une floculation élevées peuvent ne pas donner des résultats satisfaisants.
- 2) Si la coloration au cuivre est légère ou absente, augmentez la concentration de la solution mère de rhodanine dans le tampon d'acétate et relancez la coloration.
- 3) D'autres méthodes de chauffage de la « solution de rhodanine de travail » peuvent être utilisées mais doivent être validées par l'utilisateur.
- 4) Laissez la solution mère de rhodanine revenir à température ambiante et bien agiter avant utilisation.



Copper deposits in Human Liver stained with Copper Stain Kit.
Viewed at 400X magnification.

Procédure (standard)

1. Déparaffiniser les sections si nécessaire et hydrater à l'eau distillée.

Préparez une **solution de rhodanine de travail** dans un bocal de coloration propre en mélangeant de la rhodanine mère **1:10** avec une solution tampon d'acétate. Par exemple, mélangez 5 ml de rhodanine stock avec 45 ml de tampon en acétate. Bien mélanger et utiliser immédiatement, ne pas conserver pour une utilisation ultérieure.

2. Placez la ou les lames dans la solution de rhodanine et passez au micro-ondes à pleine puissance jusqu'à ce que la solution soit chaude. Ne laissez pas la solution bouillir.
3. Fermez le récipient, agitez doucement pour mélanger uniformément et laissez la solution refroidir sur le comptoir à température ambiante avec une agitation occasionnelle.
4. Examinez la lame au microscope et répétez le cycle de chauffage/refroidissement (étapes 3 et 4) jusqu'à ce que l'intensité de coloration souhaitée soit atteinte.
5. Rincez la lame en 2 changements de solution tampon d'acétate, pH 8,0 pendant 1 minute chacun.
6. Rincez brièvement à l'eau déminéralisée.
7. Teignez une section de tissu avec de l'hématoxyline, la maladie de Mayer (modification de Lillie) pendant 5 à 10 secondes. Augmentez le temps d'incubation pour une coloration nucléaire plus forte.
8. Rincez brièvement à l'eau déminéralisée
9. Rincer la lame dans une solution tampon d'acétate, pH 8,0 pendant 1 minute.

10. Déshydratez la lame en 3 changements d'alcool absolu.
11. Effacer en 2 changements de xylène ou de substitut de xylène, et monter dans de la résine synthétique.

Procédure (compte-gouttes) – Glissière unique

1. Déparaffiniser les sections si nécessaire et hydrater à l'eau distillée.

Préparez la **solution de rhodanine fonctionnelle** dans le flacon compte-gouttes de 8 ml fourni en mélangeant :

- 1 goutte de solution de rhodanine (stock).
- 9 gouttes de solution tampon d'acétate, pH 8,0.

2. Placez un bécher de 125 ml contenant 100 ml d'eau au micro-ondes et chauffez à ébullition.

3. Après avoir chauffé l'eau, posez soigneusement la glissière sur le haut du bécher contenant l'eau chaude et appliquez 5 à 10 gouttes de solution de rhodanine de travail. La chaleur montante et la vapeur de l'eau réchaufferont la diapositive et amélioreront les taches.

4. Laissez la solution de rhodanine de travail incuber sur la section de tissu jusqu'à ce que l'eau ait refroidi à température ambiante. Vérifiez de temps en temps que la section de tissu ne sèche pas.

5. Examinez la lame au microscope et répétez le cycle de chauffage/refroidissement (étapes 2 à 4) jusqu'à ce que l'intensité de coloration souhaitée soit atteinte.

6. Rincez la lame dans 5 à 10 gouttes de solution tampon d'acétate, pH 8,0 pendant 1 minute, secouez l'excédent et répétez.

7. Rincez brièvement à l'eau déminéralisée.

8. Tachez une section de tissu avec 5 à 10 gouttes d'hématoxyline, de Mayer (modification de Lillie) pendant 5 à 10 secondes. Augmentez le temps d'incubation pour une coloration nucléaire plus forte.

9. Rincez brièvement à l'eau déminéralisée

10. Rincez la lame dans 5 à 10 gouttes de solution tampon d'acétate, pH 8,0 pendant 1 minute.

11. Déshydratez la lame en 3 changements d'alcool absolu.

12. Effacer en 2 changements de xylène ou de substitut de xylène, et monter dans de la résine synthétique.

Références

1. Sheehan, D.C., Hrapchak, BB. Théorie et pratique de l'histotechnologie ; 1980, page 230.
2. Lindquist, RR. Etudes sur la pathogenèse de l'hépatolenticule II : méthodes cytochimiques pour la localisation du cuivre. Arc pathol ; 1969, volume 87 : page 370.

 ScyTek Laboratories, Inc.
205 South 600 West
Logan, UT 84321
U.S.A.

Emergo Europe
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem, The Netherlands