



Istruzioni per l'uso Istruzioni per l'uso HBK

205 South 600 West Logan, Utah 84323, U.S.A. – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755

Kit per macchie Orcein (per l'epatite B e le fibre elastiche)

Descrizione e principio

La colorazione Orceina è destinata all'uso nella dimostrazione istologica dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), delle fibre elastiche e dei depositi di rame. L'HBsAg appare come aggregati di forma irregolare nella regione citoplasmatica delle cellule. Questo reagente può essere utilizzato su sezioni fissate in formalina e incluse in paraffina.

La colorazione con Orcein si basa sull'ossidazione di proteine contenenti zolfo da parte del permanganato di potassio per formare residui di solfonato con cui l'orceina può reagire.

Risultati attesi

HBsAg:	Rosso scuro/Marrone
Fibre elastiche:	Rosso scuro/Marrone
Proteine associate al rame:	Rosso scuro/Marrone
Sfondo:	Rossastro/Viola chiaro

Contenuto del kit

1. Permanganato di potassio sol. (5%)
2. Soluzione di acido solforico (3%)
3. Soluzione di acido ossalico (2%)
4. Soluzione di orceina
5. Soluzione differenziate

Immagazzinamento

18-25°C
18-25°C
18-25°C
18-25°C
18-25°C

Controlli suggeriti (*non forniti*)

Fegato positivo all'epatite nota, polmone per fibra elastica.

Usi/Limitazioni

Solo per uso diagnostico in vitro.

Non utilizzare se i reagenti diventano torbidi o precipitano

Non utilizzare la data di scadenza precedente.

Prestare attenzione quando si maneggiano i reagenti.

Non sterile

Destinato a sezioni FFPE tagliate a 5-10µm.

Questa procedura non è stata ottimizzata per le sezioni congelate.

Le sezioni bloccate potrebbero richiedere una modifica del protocollo.

Immagazzinamento

Conservare il kit e tutti i componenti a temperatura ambiente (18-25°C).

Sicurezza e precauzioni

Si prega di consultare le schede di sicurezza (SDS) aggiornate per questo prodotto e componenti Classificazione GHS, pittogrammi e dichiarazioni complete di pericolo/precauzione.

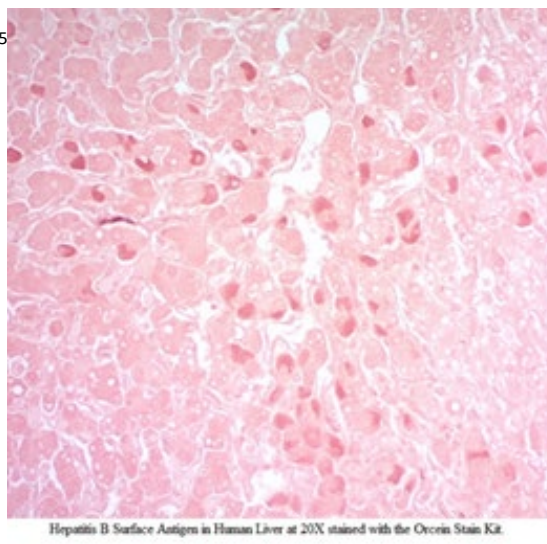
Procedimento:

Preparare l'ossidazione immediatamente prima di iniziare la procedura:

Combinare: Confezione da 50 ml Acqua distillata
 Flacone da 5 ml Soluzione di permanganato di
 potassio (5%)
 3 ml Soluzione di acido solforico (3%)

Mescolare accuratamente.

1. Deparaffinare le sezioni se necessario e idratarle in acqua distillata.



2. Incubare il vetrino nella soluzione ossidante appena preparata per 10 minuti.

3. Sciacquare brevemente il vetrino in acqua corrente del rubinetto, seguito da 1 immersione in acqua distillata.

4. Incubare il vetrino in soluzione di acido ossalico (2%) per 10 minuti o fino a quando non è limpido.

Nota: la sezione dovrebbe essere incolore dopo questo passaggio.

5. Sciacquare il vetrino per 1 minuto in acqua corrente del rubinetto, seguito da 2 tuffi in acqua distillata.

6. Incubare il vetrino in un barattolo di coplin contenente la soluzione di orceina per 4-8 ore (2 ore sono sufficienti per l'elastina). **NOTA:** Assicurarsi che il tessuto sia completamente immerso nel barattolo di colorazione. Chiudere il coperchio per evitare l'evaporazione.

7. Sciacquare il vetrino in alcool, reagente (70%).

8. Differenziare nella soluzione differenziante per 10-60 secondi.

9. Immergere il vetrino in alcol, reagente (70%) e controllare al microscopio il vetrino per verificarne la corretta differenziazione.

NOTA: Ripetere il passaggio 8 se necessario.

10. Disidratarne rapidamente in 3 cambi di alcol assoluto.

11. Trasparente e montato in resina sintetica.

Nota: se si preferisce una colorazione più scura:

1) Il tempo di incubazione in soluzione di Orceina può essere aumentato.

2) La differenziazione può essere omessa sostituendo i passaggi 7-9 con un semplice risciacquo con acqua deionizzata.

Referenze

1. Deodhar K.P., Tapp E., Scheuer P.J. Colorazione con orceina dell'antigene dell'epatite B nelle sezioni di paraffina delle biopsie epatiche. Giornale di patologia clinica; Vol. 28: pagine 66-70, 1975.

2. Salaspuro, M., Sipponen, P. Dimostrazione di una proteina legante il rame intracellulare mediante colorazione con orceina in malattie epatiche colestatiche di lunga data. Gut, 1976, volume 17: pagine 787-790.



ScyTek Laboratories, Inc.
205 South 600 West
Logan, UT 84321
435-755-9848
U.S.A.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands