

Instructions for Use

Trichrome Stains (Gomori)

Procedure No. HT10



Intended Use

Trichrome Stains (Gomori) are intended for use in the study of connective tissue, muscle and collagen fibers. Trichrome Stain reagents are for "In Vitro Diagnostic Use". For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure demonstrates muscle and collagen fibers in tissue samples of human specimens. This data when reviewed in conjunction with other diagnostic tests and information may be used as an aid to diagnosis of increases in collagenous tissue associated with liver disfunction.

"Trichrome" stains are used primarily for distinguishing collagen from muscle tissue.¹ In general, they consist of nuclear, collagenous and cytoplasmic dyes in mordants such as phosphotungstic or phosphomolybdic acid. Historically, the first trichrome system was attributed to Mallory.^{2,3} Further modifications were introduced by Masson, Foot and Gomori.^{3,4} The procedure described here is based on the work of Gomori and is a one-step system combining the cytoplasmic and connective fiber stain in a phosphotungstic acid/acetic acid solution.⁴ Tissue sections are treated with Bouin's solution to intensify the final coloration. Nuclei are then stained with Weigert's iron hematoxylin, followed by chromotrope 2R (stains cytoplasm and muscle fibers) and fast green FCF or aniline blue (stains collagen fibers). Rinsing in acetic acid after staining makes the shades of color more delicate and transparent.⁴ Included is a Gomori trichrome stain technique for rapid staining in microwave ovens.⁵⁻⁸

Reagents

Trichrome Stain LG Solution (Cat. No. HT10316-500ML)

Chromotrope 2R, 0.6% (w/v), C.I. 16570, fast green FCF, (certified), 0.1% (w/v), C.I. 42053, phosphotungstic acid, 0.8% (w/v) and acetic acid, 1.0% (v/v). Reagent stains collagen green

Trichrome Stain AB Solution (Cat. No. HT10516-500ML)

Chromotrope 2R, 0.6% (w/v), C.I. 16570, aniline blue, (certified), 0.3% (w/v), C.I. 42780, phosphotungstic acid, 0.8% (w/v) and acetic acid, 1.0% (v/v). Reagent stains collagen blue.

Special Materials Required but Not Provided

- Positive control slides, such as Trichrome TISSUE-TROL™, (Cat. No. TTR012) should be included in each run
- 1N Acetic Acid Solution
- Bouin's Solution (Cat. No. HT10132-1L or HT101128-4L) picric acid, 1%, formaldehyde, 9% and acetic acid, 5%

For Standard Procedure Only

- Weigert's Iron Hematoxylin Set (Cat. No. HT1079)
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A (Cat. No. HT107-500ML) 1% certified hematoxylin in ethanol
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part B (Cat. No. HT109-500ML), Ferric chloride 1.2% (w/v) and hydrochloric acid, 1% (v/v)

For Microwave Procedure Only

- Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (Cat. No. GHS3-100ML)
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (Cat. No. S5134-6x100ML)
- Microwave Oven

Storage and Stability

Trichrome Stain solutions, Bouin's solution, Weigert's Iron Hematoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, Acetic Acid solution, Scott's Tap Water Substitute Concentrate, and Scott's Tap Water Substitute Working Solution should be stored at room temperature (18–26°C).

Reagents are stable until expiration date shown on the label.

Weigert's Iron Hematoxylin Working Solution should be prepared fresh for each use.

Preparation

Trichrome Stain LG Solution, Trichrome Stain AB and Bouin's solution are ready to use.

Weigert's Iron Hematoxylin Working Solution is prepared by mixing equal parts of Solution A and Solution B.

Scott's Tap Water Substitute Working Solution is prepared by mixing 1 part of Scott's Tap Water Substitute Concentrate with 9 parts deionized water.

Prepare 0.5% Acetic Acid by diluting 4.4 mL 1N acetic acid with 45.6 mL water.

Prepare 1% Acetic Acid by diluting 8.8 mL 1N acetic acid with 41.2 mL water.

Precautions

These IVDs are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

Trichrome TISSUE-TROL™ control slides are paraffin embedded human tissue containing collagen and muscle tissue and should be considered potentially infectious.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Any well fixed paraffin section cut at 5 micron or less may be used.

Notes

If a microwave oven is used, please see the Owner's Manual for instructions.

Procedure

Standard Procedure

- Prepare Weigert's Iron Hematoxylin Working Solution according to instructions.
- Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
- Place slides in preheated Bouin's Solution at 56°C for **15 minutes** or at **room temperature overnight**.
- Cool slides in tap water (18–26°C) contained in a Coplin jar.
- Wash in running tap water to remove yellow color from sections.
- Stain in Weigert's Iron Hematoxylin Working Solution for **5 minutes**.
- Wash in running tap water for **5 minutes**.
- Stain in Trichrome Stain (LG or AB) Solution for **5 minutes**.
- Place in 0.5% Acetic Acid for **1 minute**.
- Rinse slides, dehydrate through alcohol, clear in xylene and mount.

Microwave Procedure

- Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
- Place slides in **40 mL** of Bouin's Solution in plastic Coplin jar. Loosely cover jar with lid or use lids with vented caps.
- Microwave on **600 watts** for **25 seconds**. Agitate solution with applicator stick or beral pipet then incubate for **5 minutes** in a fume hood or well-ventilated area.
- Rinse in running tap water until yellow color disappears.
- Place slides in **40 mL** of Hematoxylin Solution, Gill No. 3, contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave on **800 watts** for **5 seconds**.
- Rinse well in tap water for **30 seconds** to **1 minute**.
- Blue in Scott's Tap Water Substitute at **room temperature**.
- Rinse well in running tap water.
- Place slides in **40 mL** of Trichrome Stain (LG or AB) Solution contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave on **800 watts** for **15 seconds**. Gently agitate solution using an applicator stick or beral pipet. Let incubate for **1 minute**.
- Rinse quickly in tap water.
- Place slides in 1% Acetic Acid for **30 seconds** to **1 minute** at room temperature.
- Rinse slides, dehydrate through alcohol, clear in xylene and mount.

Performance Characteristics

Target Structure	Staining Result
Nuclei	Blue to Black
Collagen	Green (LG) or Blue (AB)
Cytoplasm, Muscle	Red

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
HT10316	Trichrome Stain LG Solution	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Collagen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Muscle	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT10516	Trichrome Stain AB Solution	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Collagen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Muscle	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

HT10316, HT10516:

Not a hazardous substance or mixture.

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer

References

1. Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
2. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
3. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
4. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
8. Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
9. Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992

Contact Information

To place an order, please visit our web site at SigmaAldrich.com. For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at SigmaAldrich.com/techservice.

Revision History

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Moved aid to diagnosis statement to intended use. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Added a revision history table. Added Warnings and Hazards.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Anweisungen für den Gebrauch

Trichrom-Färbungen (Gomori)

Verfahren Nr. HT10



Verwendungszweck

Trichromfärbungen (Gomori) sind für die Untersuchung von Bindegewebe, Muskeln und Kollagenfasern bestimmt. Die Reagenzien für die Trichromfärbung sind für die „In-vitro-Diagnose“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen, qualitativen Verfahren gewonnenen Daten zeigen Muskel- und Kollagenfasern in Gewebeproben von menschlichen Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose von Kollagenerkrankungen im Zusammenhang mit Leberfunktionsstörungen verwendet werden.

Trichromfärbungen werden hauptsächlich zur Unterscheidung von Kollagen und Muskelgewebe verwendet.¹ Sie bestehen im Allgemeinen aus Kern-, Kollagen- und Zytoplasma-Farbstoffen in Beizmitteln wie Phosphorwolfram- oder Phosphomolybdänsäure. Historisch gesehen wird das erste Trichromsystem Mallory zugeschrieben.^{2,3} Weitere Modifikationen wurden von Masson, Foot und Gomori eingeführt.^{3,4} Das hier beschriebene Verfahren basiert auf der Arbeit von Gomori und ist ein einstufiges System, das die Zytoplasma- und Bindegewebsfärbung in einer Phosphorwolframsäure-Essigsäure-Lösung kombiniert.⁴ Die Gewebeschnitte werden mit Bouin-Lösung behandelt, um die endgültige Färbung zu intensivieren. Die Kerne werden dann mit Weigerts Eisenhämatoxylin gefärbt, gefolgt von Chromotrop 2R (färbt Zytoplasma und Muskelfasern) und Fast Green FCF oder Anilinblau (färbt Kollagenfasern). Das Abspülen in Essigsäure nach dem Färben macht die Farbtöne zarter und transparenter.⁴ Enthalten ist eine Gomori-Trichrom-Färbetechnik für die schnelle Färbung im Mikrowellenofen.⁵⁻⁸

Reagenzien

Trichrom-Färbelösung LG (Kat. Nr. HT10316-500ML)

Chromotrop 2R, 0,6 % (w/v), C.I. 16570, Fast Green FCF, (zertifiziert), 0,1 % (w/v), C.I. 42053, Phosphorwolframsäure, 0,8 % (w/v) und Essigsäure, 1,0 % (v/v). Reagenz färbt Kollagen grün

Trichrom-Färbelösung AB (Kat. Nr. HT10516-500ML)

Chromotrop 2R, 0,6 % (w/v), C.I. 16570, Anilinblau, (zertifiziert), 0,3 % (w/v), C.I. 42780, Phosphorwolframsäure, 0,8 % (w/v) und Essigsäure, 1,0 % (v/v). Reagenz färbt Kollagen blau

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Positive Kontroll-Objektträger, wie z. B. Trichrome TISSUE-TROL™ (Kat. Nr. TTR012), sollten in jedem Durchlauf enthalten sein.
- 1N-Essigsäure-Lösung
- Bouin-Lösung (Kat. Nr. HT10132-1L oder HT101128-4L) Pikrinsäure, 1 %, Formaldehyd, 9 % und Essigsäure, 5 %

Nur für Standardverfahren

- Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Set (Kat. Nr. HT1079)
- Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Lösung, Teil A (Kat. Nr. HT107-500ML) 1 % zertifiziertes Hämatoxylin in Ethanol
- Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Lösung, Teil B (Kat. Nr. HT109-500ML), Eisenchlorid 1,2 % (w/v) und Salzsäure, 1 % (v/v)

Nur für Mikrowellenverfahren

- Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 (Kat. Nr. GHS3-100ML)
- Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat (Kat. Nr. S5134-6x100ML)
- Mikrowellenofen

Lagerung und Stabilität

Trichrom-Färbelösungen, Bouin-Lösung, Weigerts Eisen-Hämatoxylin, Trichrome TISSUE TROL™, Essigsäurelösung, Scotts Leitungswasser-Ersatzkonzentrat und Scotts Leitungswasser-Ersatz-Arbeitslösung sollten bei Raumtemperatur (18-26 °C) gelagert werden.

Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Weigerts Eisenhämatoxylin-Arbeitslösung sollte für jeden Gebrauch frisch zubereitet werden.

Vorbereitung

Trichrom-Färbelösungen LG, Trichrom-Färbelösungen AB und Bouin-Lösung sind gebrauchsfertig.

Weigerts Eisenhämatoxylin-Arbeitslösung wird durch Mischen gleicher Teile von Lösung A und Lösung B hergestellt.

Scott's Leitungswasser-Ersatz wird durch Vermischen von 1 Teil Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat mit 9 Teilen deionisiertem Wasser hergestellt.

0,5%ige Essigsäure durch Verdünnen von 4,4 ml 1N Essigsäure mit 45,6 ml Wasser zubereiten.

1%ige Essigsäure durch Verdünnen von 8,8 ml 1N Essigsäure mit 41,2 ml Wasser zubereiten.

Vorsichtsmaßnahmen

Diese IVDs sind für die In-vitro-Diagnostik in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Laborpersonal bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

Trichrome TISSUE-TROL™-Kontroll-Objektträger sind in Paraffin eingebettetes menschliches Gewebe, das Kollagen- und Muskelgewebe enthält und als potenziell infektiös betrachtet werden sollte.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Es kann jeder gut fixierte Paraffinschnitt mit einem Durchmesser von 5 Mikron oder weniger verwendet werden.

Anmerkungen

Wenn Sie einen Mikrowellenofen verwenden, lesen Sie bitte die Anweisungen in der Bedienungsanleitung.

Verfahren

Standardverfahren

1. Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Arbeitslösung gemäß den Anweisungen zubereiten.
2. Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
3. Legen Sie die Objektträger in vorgewärmte Bouin-Lösung bei 56 °C für **15 Minuten** oder bei **Raumtemperatur über Nacht**.
4. Kühlen Sie die Objektträger in Leitungswasser (18-26 °C) in einem Coplin-Färbetrog.
5. Unter fließendem Leitungswasser waschen, um die gelbe Farbe aus den Abschnitten zu entfernen.
6. Färbung in Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Arbeitslösung für **5 Minuten**.
7. Unter fließendem Leitungswasser 5 Minuten lang waschen.
8. Färben in Trichrom-Färbelösung (LG oder AB) für **5 Minuten**.
9. In 0,5%ige Essigsäure **1 Minute** einlegen.
10. Objektträger abspülen, mit Alkohol dehydrieren, in Xylol klären und einbetten.

Mikrowellenverfahren

1. Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
2. Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Bouin-Lösung in einem Coplin-Färbetrog aus Kunststoff. Den Behälter locker mit einem Deckel verschließen oder Deckel mit Belüftungsöffnungen verwenden.
3. In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **25 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einem Stäbchen oder einer Pipette umrühren und dann in einem Abzug oder gut belüfteten Raum für **5 Minuten** inkubieren.
4. Unter fließendem Leitungswasser abspülen, bis die gelbe Farbe verschwindet.
5. Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Hämatoxylinlösung Gill Nr. 3, die sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
6. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **5 Sekunden** erhitzen.
7. Gut in Leitungswasser für **30 Sekunden** bis **1 Minute** abspülen.
8. In Scott's Leitungswasser-Ersatz bei **Raumtemperatur** bläuen.
9. Unter fließendem Leitungswasser gut abspülen.
10. Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Trichrom-Färbemittel (LG oder AB), die sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
11. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Rühren Sie die Lösung vorsichtig mit einem Applikatorstäbchen oder einer Beralpipette um. **1 Minute** inkubieren lassen.
12. Kurz unter Leitungswasser abspülen.
13. Legen Sie die Objektträger für **30 Sekunden** bis **1 Minute** bei Raumtemperatur in 1%ige Essigsäure.
14. Objektträger abspülen, mit Alkohol dehydrieren, in Xylol klären und einbetten.

Leistungsmerkmale

Zielstruktur	Ergebnis der Färbung
Kerne	Blau bis Schwarz
Kollagen	Grün (LG) oder Blau (AB)
Zytoplasma, Muskeln	Rot

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Kat. Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT10316	Trichrom Stain LG-Lösung	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskeln	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT10516	Trichrom Stain AB-Lösung	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskeln	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

HT10316, HT10516:

Kein gefährlicher Stoff oder Gemisch.

Wenn während der Verwendung dieses Geräts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur

Referenzen

- 1. Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 2. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- 3. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- 4. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- 5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986
- 8. Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- 9. Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloumb Press, Leyden. Leyden 1992

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorie

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Die Aussage über die Hilfe bei der Diagnose wurde in den Verwendungszweck verschoben. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Eine Tabelle zur Revisionshistorie wurde hinzugefügt. Zusätzliche Warnungen und Gefahren.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Mode d'emploi

Colorations au trichrome (Gomori)

Procédure n° HT10



Utilisation prévue

Les colorations au trichrome (Gomori) sont destinées à être utilisées pour l'étude des fibres du tissu conjonctif, des fibres musculaires et des fibres de collagène. Les réactifs utilisés dans les colorations au trichrome sont destinés à un « usage en diagnostic *in vitro* ». À usage professionnel uniquement. Les données obtenues avec cette procédure qualitative manuelle permettent de mettre en évidence les fibres musculaires ainsi que les fibres de collagène dans les échantillons de tissus humains. Lorsqu'elles sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques et d'autres informations, ces données peuvent être utilisées comme aide au diagnostic de l'augmentation du collagène dans le tissu conjonctif associée à un dysfonctionnement hépatique.

Les colorations « au trichrome » sont utilisées principalement pour différencier le collagène du tissu musculaire.¹ En général, elles combinent un colorant nucléaire, un colorant des fibres de collagène et un colorant cytoplasmique dans un mordant, comme l'acide phosphotungstique ou l'acide phosphomolybdique. Historiquement, le premier système au trichrome a été attribué à Mallory.^{2,3} Des modifications ont été apportées par Masson, Foot et Gomori.^{3,4} La procédure décrite ici est basée sur le travail de Gomori et est un système en une seule étape combinant la coloration du cytoplasme et des fibres conjonctives dans une solution d'acide phosphotungstique/d'acide acétique.⁴ Les coupes de tissus sont traitées avec du Bouin pour intensifier la coloration finale. Les noyaux sont ensuite colorés avec de l'hématoxyline ferrique de Weigert, suivie du chromotrope 2R (colore le cytoplasme et les fibres musculaires) et du Fast Green FCF ou du bleu d'aniline (colore les fibres de collagène). Le rinçage à l'acide acétique après la coloration rend les nuances de couleur plus délicates et transparentes.⁴ Une technique de coloration au trichrome de Gomori pour une coloration rapide au micro-ondes est également incluse.⁵⁻⁸

Réactifs

Solution de coloration au trichrome LG (réf. HT10316-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6 % (p/v), C.I. 16570, Fast Green FCF, (certifié), 0,1 % (p/v), C.I. 42053, acide phosphotungstique, 0,8 % (p/v) et acide acétique, 1,0 % (v/v). Ce réactif colore le collagène en vert.

Solution de coloration au trichrome AB (réf. HT10516-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6 % (p/v), C.I. 16570, bleu d'aniline, (certifié), 0,3 % (p/v), C.I. 42780, acide phosphotungstique, 0,8 % (p/v) et acide acétique, 1,0 % (v/v). Ce réactif colore le collagène en bleu.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Lames de contrôle positives, comme les lames Trichrome TISSUE-TROL™ (réf. TTR012), qui doivent être incluses dans chaque série
- Solution d'acide acétique 1N
- Liquide de Bouin (réf. HT10132-1L ou HT101128-4L), acide picrique, 1 %, formaldéhyde, 9 % et acide acétique, 5 %

Pour la procédure standard uniquement

- Kit d'hématoxyline ferrique de Weigert (réf. HT1079)
- Solution d'hématoxyline ferrique de Weigert A (réf. HT107-500ML), 1 % d'hématoxyline certifiée dans de l'éthanol
- Solution d'hématoxyline ferrique de Weigert B (réf. HT109-500ML), chlorure ferrique, 1,2 % (p/v) et acide chlorhydrique, 1 % (v/v)

Pour la procédure au micro-ondes uniquement

- Solution d'hématoxyline de Gill n° 3 (réf. GHS3-100ML)
- Concentré de substitut à l'eau courante de Scott (réf. S5134-6x100ML)
- Four à micro-ondes

Conservation et stabilité

Les solutions de coloration au trichrome, le liquide de Bouin, l'hématoxyline ferrique de Weigert, les lames Trichrome TISSUE-TROL™, la solution d'acide acétique, ainsi que le concentré et la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott doivent être conservés à température ambiante (entre 18 et 26 °C).

Les réactifs sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'étiquette.

Une nouvelle solution de travail d'hématoxyline ferrique de Weigert doit être préparée avant chaque utilisation.

Préparation

La solution de coloration au trichrome LG, la solution de coloration au trichrome AB et le liquide de Bouin sont prêts à l'emploi.

La solution de travail d'hématoxyline ferrique de Weigert est préparée en mélangeant à parts égales la solution A et la solution B.

La solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott est préparée en mélangeant 1 volume de concentré de substitut à l'eau courante de Scott avec 9 volumes d'eau déionisée.

Préparer de l'acide acétique à 0,5 % en diluant 4,4 ml d'acide acétique 1N avec 45,6 ml d'eau.

Préparer de l'acide acétique à 1 % en diluant 8,8 ml d'acide acétique 1N avec 41,2 ml d'eau.

Précautions

Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Les lames de contrôle Trichrome TISSUE-TROL™ sont constituées de coupes de tissus humains inclus en paraffine contenant du collagène et du tissu musculaire et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Toutes les coupes incluses en paraffine correctement fixées d'une épaisseur de 5 microns maximum peuvent être utilisées.

Remarques

Si un four à micro-ondes est utilisé, consulter le manuel du fabricant pour obtenir des instructions.

Procédure

Procédure standard

1. Préparer la solution de travail d'hématoxyline ferrique de Weigert selon les instructions.
2. Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
3. Placer les lames dans le liquide de Bouin préchauffé à 56 °C pendant **15 minutes** ou à **température ambiante pendant toute une nuit**.
4. Refroidir les lames dans une cuve à coloration de Coplin contenant de l'eau du robinet (entre 18 et 26 °C).
5. Laver sous l'eau du robinet pour retirer la couleur jaune des coupes.
6. Colorer dans la solution de travail d'hématoxyline ferrique de Weigert pendant **5 minutes**.
7. Laver sous l'eau du robinet pendant **5 minutes**.
8. Colorer dans la solution de coloration au trichrome (LG ou AB) pendant **5 minutes**.
9. Placer dans l'acide acétique à 0,5 % pendant **1 minute**.
10. Rincer les lames, les déshydrater dans une série de bains d'alcool, les éclaircir au xylène et procéder au montage.

Procédure au micro-ondes

1. Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
2. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de liquide de Bouin. Couvrir la cuve avec un couvercle sans le fermer hermétiquement ou bien utiliser un couvercle pourvu d'orifices.
3. Mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **25 secondes**. Mélanger la solution à l'aide d'un bâtonnet ou d'une pipette de transfert, puis laisser incuber pendant **5 minutes** sous une hotte ou dans un endroit bien ventilé.
4. Rincer sous l'eau du robinet jusqu'à ce que la couleur jaune disparaisse.
5. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'hématoxyline de Gill n° 3.
6. Mettre au micro-ondes sur **800 watts** pendant **5 secondes**.
7. Bien rincer à l'eau du robinet pendant **30 secondes à 1 minute**.
8. Réaliser le bluissement dans le substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**.
9. Bien rincer sous l'eau du robinet.
10. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution de coloration au trichrome (LG ou AB).
11. Mettre au micro-ondes sur **800 watts** pendant **15 secondes**. Mélanger délicatement la solution à l'aide d'un bâtonnet ou d'une pipette de transfert. Laisser incuber pendant **1 minute**.
12. Rincer rapidement à l'eau du robinet.
13. Placer les lames dans de l'acide acétique à 1 % à température ambiante pendant **30 secondes à 1 minute**.
14. Rincer les lames, les déshydrater dans une série de bains d'alcool, les éclaircir au xylène et procéder au montage.

Caractéristiques de performance

Structure cible	Résultat de la coloration
Noyaux	Bleu à noir
Collagène	Vert (LG) ou bleu (AB)
Cytoplasme, muscle	Rouge

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
HT10316	Solution de coloration au trichrome LG	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Collagène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Muscle	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT10516	Solution de coloration au trichrome AB	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Collagène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Muscle	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l’étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

HT10316, HT10516 :

Ne constitue pas une substance ou un mélange dangereux.

Si, au cours de l’utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu’aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d’emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l’Union européenne		Déclaration de conformité de l’Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i>)
	Date limite d’utilisation		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur

Références

- Conn’s Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory’s connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok et Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l’adresse [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l’adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 5.0	2016
Rév. 6.0	2022
Rév. 7.0	2022
	Transfert vers un nouveau modèle avec l’image de marque actuelle. Précision de l’usage professionnel dans l’utilisation prévue et les précautions. Déplacement de la déclaration relative à l’aide au diagnostic vers l’utilisation prévue. Révision de l’utilisation prévue afin de l’aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l’instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d’événements indésirables. Ajout d’un tableau d’historique des révisions. Ajout de la section relative aux avertissements et risques.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Istruzioni per l'uso

Colorazioni tricromatiche (Gomori)

Procedura n. HT10



Uso previsto

Le colorazioni tricromatiche (Gomori) sono destinate all'uso nello studio del tessuto connettivo e delle fibre muscolari e di collagene. I reagenti per colorazione tricromica sono destinati a "uso diagnostico in vitro". Solo per uso professionale. I dati ottenuti da questa procedura qualitativa manuale dimostrano la presenza di fibre muscolari e di collagene in campioni di tessuto di campioni umani. Questi dati, se esaminati insieme ad altri esami e informazioni diagnostiche possono essere utilizzati come aiuto per la diagnosi dell'aumento di tessuti collagenosi associato a disfunzioni epatiche.

Le colorazioni "tricromatiche" vengono utilizzate principalmente per distinguere il collagene dal tessuto muscolare.¹ In generale, sono costituite da coloranti nucleari, collagenici e citoplasmatici in mordenti come l'acido fosfortungstico o fosfomolibdico. Storicamente, il primo sistema tricromico è stato attribuito a Mallory.^{2,3} Ulteriori modifiche furono introdotte da Masson, Foot e Gomori.^{3,4} La procedura qui descritta si basa sul lavoro di Gomori ed è un sistema a singola fase che combina la colorazione citoplasmatica e della fibra connettiva in una soluzione di acido fosfortungstico/ acido acetico.⁴ Le sezioni di tessuto vengono trattate con la soluzione di Bouin per intensificare la colorazione finale. I nuclei vengono quindi colorati con ematosillina ferrica di Weigert, seguita da cromotropo 2R (colorazione del citoplasma e delle fibre muscolari) e verde fast FCF o blu anilina (colorazione delle fibre di collagene). Il risciacquo in acido acetico dopo la colorazione rende le sfumature di colore più delicate e trasparenti.⁴ È inclusa una tecnica di colorazione tricromica di Gomori per la colorazione rapida nei forni a microonde.⁵⁻⁸

Reagenti

Soluzione LG per colorazione tricromica (N. di cat. HT10316-500ML)
Cromotropo 2R, 0,6% (p/v), CI 16570, verde fast FCF, (certificato), 0,1% (p/v), CI 42053, acido fosfortungstico, 0,8% (p/v) e acido acetico, 1,0% (v/v). Reagente di colorazione verde del collagene.

Soluzione AB per colorazione tricromica (N. di cat. HT10516-500ML)
Cromotropo 2R, 0,6% (p/v), CI 16570, blu di anilina, (certificato), 0,3% (p/v), CI 42053, acido fosfortungstico, 0,8% (p/v) e acido acetico, 1,0% (v/v). Reagente di colorazione blu del collagene.

Materiali speciali richiesti ma non forniti

- I vetrini di controllo positivi, come Trichrome TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR012) devono essere inclusi in ogni esecuzione
- Soluzione di acido acetico 1N
- Soluzione di Bouin (N. di cat. HT10132-1L o HT101128-4L) acido picrico, 1%, formaldeide, 9% e acido acetico, 5%

Solo per procedura standard

- Set di ematosillina ferrica di Weigert (N. di cat. HT1079)
- Soluzione di ematosillina ferrica di Weigert, Parte A (N. di cat. HT107-500ML) 1% di ematosillina certificata in etanolo
- Soluzione di ematosillina ferrica di Weigert, Parte B (N. di cat. HT109-500ML), cloruro ferrico 1,2% (p/v) e acido cloridrico, 1% (v/v)

Solo per procedura con forno a microonde

- Soluzione di ematosillina di Gill n. 3 (N. di cat. GHS3-100ML)
- Soluzione di Scott concentrata sostitutiva all'acqua di rubinetto (N. di cat. S5134-6x100ML)
- Forno a microonde

Conservazione e stabilità

Le soluzioni di colorazione tricromica, la soluzione di Bouin, l'ematossillina ferrica di Weigert, Trichrome TISSUE TROL™, la soluzione di acido acetico, il concentrato di Scott sostitutivo all'acqua di rubinetto e la soluzione di lavoro di Scott sostitutiva all'acqua di rubinetto devono essere conservati a temperatura ambiente (18-26 °C).

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle etichette.

La soluzione di lavoro di ematosillina ferrica di Weigert deve essere preparata fresca per ogni utilizzo.

Preparazione

La soluzione LG per colorazione tricromica, la soluzione A e B di colorazione tricromica e la soluzione di Bouin sono pronte per l'uso.

La soluzione di lavoro di ematosillina ferrica di Weigert viene preparata mescolando parti uguali di soluzione A e soluzione B.

La soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto viene preparata mescolando 1 parte di concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto con 9 parti di acqua deionizzata.

Preparare una soluzione di acido acetico allo 0,5% diluendo 4,4 mL di acido acetico 1N con 45,6 mL di acqua.

Preparare una soluzione di acido acetico all'1% diluendo 8,8 mL di acido acetico 1N con 41,2 mL di acqua.

Precauzioni

Questi IVD sono destinati all'uso diagnostico in vitro in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich possono essere utilizzati da personale di laboratorio formato nella gestione di campioni umani che possono essere infettivi, nell'utilizzo di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio e che hanno la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

È necessario seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative locali, provinciali, regionali o nazionali.

I vetrini di controllo Trichrome TISSUE-TROL™ sono tessuti umani inclusi in paraffina contenenti collagene e tessuto muscolare e devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuti non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati ematici e i campioni di tessuti devono essere considerati potenzialmente infettivi.

È possibile utilizzare qualsiasi sezione ben fissata in paraffina e tagliata a 5 micron o meno.

Note

Se si utilizza un forno a microonde, consultare il relativo Manuale utente per le istruzioni.

Procedura

Procedura standard

- Preparare la soluzione di lavoro di ematosillina ferrica di Weigert secondo le istruzioni.
- Deparaffinare i vetrini e idratarli in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini nella soluzione di Bouin preriscaldata a 56 °C per **15 minuti** o a **temperatura ambiente durante la notte**.
- Raffreddare i vetrini in acqua di rubinetto (18-26 °C) contenuta in una vaschetta Coplin.
- Lavare in acqua corrente di rubinetto per rimuovere il colore giallo dalle sezioni.
- Colorare con soluzione di lavoro di ematosillina ferrica di Weigert per **5 minuti**.
- Lavare in acqua corrente di rubinetto per **5 minuti**.
- Colorare con soluzione di colorazione tricromica (LG o AB) per **5 minuti**.
- Mettere in acido acetico allo 0,5% per **1 minuto**.
- Sciacquare i vetrini, disidratare con alcol, chiarificare in xilene e montare.

Procedura con forno a microonde

- Deparaffinare i vetrini e idratarli in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di Bouin in una vaschetta Coplin di plastica. Appoggiare il coperchio sulla vaschetta o utilizzare coperchi con tappi ventilati.
- Scaldare in forno a microonde a **600 watt** per **25 secondi**. Agitare la soluzione con uno stick applicatore o una pipetta beral, quindi incubare per **5 minuti** in una cappa aspirante o in un'area ben ventilata.
- Sciacquare in acqua corrente di rubinetto fino a quando il colore giallo non scompare.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di ematosillina di Gill n. 3 contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **5 secondi**.
- Sciacquare bene in acqua di rubinetto da **30 secondi** a **1 minuto**.
- Immergere in soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto a **temperatura ambiente**.
- Sciacquare bene in acqua corrente di rubinetto.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di colorazione tricromica (LG o AB) contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **15 secondi**. Agitare delicatamente la soluzione utilizzando uno stick applicatore o una pipetta beral. Lasciare incubare per **1 minuto**.
- Sciacquare rapidamente con acqua di rubinetto.
- Mettere i vetrini in acido acetico all'1% da **30 secondi** a **1 minuto** a temperatura ambiente.
- Sciacquare i vetrini, disidratare con alcol, chiarificare in xilene e montare.

Caratteristiche prestazionali

Struttura target	Risultato colorazione
Nuclei	Da blu a nero
Collagene	Verde (LG) o blu (AB)
Citoplasma, muscolo	Rosso

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per richiedere assistenza.

Caratteristiche prestazionali analitiche

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target, confermano il 100% di sensibilità, specificità e ripetibilità.

N. cat.	Descrizione prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
HT10316	Soluzione LG per colorazione tricromica	Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Collagene	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Citoplasma	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Muscolo	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT10516	Soluzione AB per colorazione tricromica	Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Collagene	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Citoplasma	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Muscolo	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, fare riferimento alla Scheda dati di sicurezza e all'etichetta del prodotto.

HT10316, HT10516:

Non è una sostanza o miscela pericolosa.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo o a seguito del suo utilizzo si è verificato un incidente grave, si prega di segnalare al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli come definiti in EN ISO 15223-1:2021

	Produttore		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione Europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico per la diagnostica in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di produzione		Importatore

Riferimenti

- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61.
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980.
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940.
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950.
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986.
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983.
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986.
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990.
- Kok e Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Coulomb Press, Leyden. Leyden 1992.

Informazioni di contatto

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaldrich.com). Per assistenza tecnica, visitare la pagina dedicata all'assistenza tecnica sul nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaldrich.com/techservice).

Cronologia delle revisioni

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato per uso professionale nell'uso previsto e nelle precauzioni. Spostata la dichiarazione relativa all'aiuto alla diagnosi nella sezione uso previsto. Aggiornata la sezione uso previsto per allinearla alle linee guida IVDR. Aggiornata Scheda dati sicurezza dei materiali in Scheda dati di sicurezza. Aggiornate le informazioni di contatto. Istruzioni rimosse per seguire il CLSI per la raccolta dei campioni. Rimossa EN 980 e modificata in EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunte informazioni di contatto per eventi avversi. Aggiunta una tabella della cronologia delle revisioni. Aggiunta di avvertenze e pericoli.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrucciones de uso

Tinciones tricrómicas (Gomori)

N.º de procedimiento HT10



Uso previsto

Las tinciones tricrómicas (Gomori) se utilizan para el estudio del tejido conectivo, músculo y fibras colágenas. Los reactivos de tinción tricrómica son para "uso diagnóstico in vitro". Solo para uso profesional. Los datos obtenidos con este procedimiento manual y cualitativo demuestran la presencia de músculo y fibras colágenas en muestras de tejido de humanos. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, se pueden utilizar como ayuda para el diagnóstico del aumento del tejido colagenoso asociado a la disfunción hepática.

Las tinciones "tricrómicas" se utilizan principalmente para diferenciar las fibras colágenas del tejido muscular.¹ Generalmente, son tintes nucleares, colágenos y citoplásmicos en mordientes, tales como el ácido fosfotúngstico o el ácido fosfomolibdico. Históricamente, el primer sistema tricrómico se atribuye a Mallory.^{2,3} Otras modificaciones fueron introducidas por Masson, Foot y Gomori.^{3,4} El procedimiento descrito en este proceso se basa en el trabajo de Gomori: se trata de un sistema de un solo paso que combina la tinción de los tejidos citoplásmicos y conectivos con una solución de ácido fosfotúngstico/ácido acético.⁴ Los cortes de tejido se tratan con solución de Bouin para intensificar la coloración final. A continuación, los núcleos se tiñen con hematoxilina férrica de Weigert, seguida de tinción con cromotropo 2R (se tiñen las fibras citoplásmicas y musculares) y Fast Green FCF o azul anilina (se tiñen las fibras de colágeno). El enjuague en ácido acético después de la tinción hace que los tonos de color sean más delicados y transparentes.⁴ Se incluye una técnica de tinción tricrómica de Gomori para la tinción rápida en hornos microondas.⁵⁻⁸

Reactivos

- Solución de tinción tricrómica LG** (n.º de cat. HT10316-500ML)
Cromotropo 2R, 0,6 % (p/v), C.I. 16570, Fast Green FCF (certificado), 0,1 % (p/v), C.I. 42053, ácido fosfotúngstico, 0,8 % (p/v) y ácido acético, 1,0 % (v/v). El reactivo tiñe el colágeno en verde.
- Solución de tinción tricrómica AB** (n.º de cat. HT10516-500ML)
Cromotropo 2R, 0,6 % (p/v), C.I. 16570, azul anilina (certificado), 0,3 % (p/v), C.I. 42780, ácido fosfotúngstico, 0,8 % (p/v) y ácido acético, 1,0 % (v/v). El reactivo tiñe el colágeno en azul.

Material especial necesario pero no suministrado

- Los portaobjetos de control positivo, tales como TISSUE-TROL™ tricrómico (n.º de cat. TTR012), deben utilizarse en cada proceso
- Solución de ácido acético 1N
- Solución de Bouin: (n.º de cat. HT10132-1L o HT101128-4L) ácido pícrico al 1 %, formaldehído al 9 % y ácido acético al 5 %

Solo para procedimientos estándar

- Solución de hematoxilina férrica de Weigert (n.º de cat. HT1079)
- Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A (n.º de cat. HT107-500ML), hematoxilina, 1 %, certificada en etanol
- Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B (n.º de cat. HT109-500ML), cloruro férrico 1,2 % (p/v) y ácido clorhídrico, 1 % (v/v)

Solo para procedimientos con microondas

- Solución de hematoxilina, Gill N.º 3 (n.º de cat. GHS3-100ML)
- Concentrado sustituto del agua corriente de Scott (n.º de cat. S5134-6x100ML)
- Horno microondas

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar las soluciones de tinción tricrómica, solución de Bouin, hematoxilina férrica de Weigert, TISSUE TROL™ tricrómico, solución de ácido acético, concentrado sustituto del agua corriente de Scott y la solución de trabajo del sustituto del agua corriente de Scott a temperatura ambiente (18-26 °C).

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Debe prepararse una nueva solución de hematoxilina férrica de Weigert para cada uso.

Preparación

Las soluciones de tinción tricrómica LG y AB, y la solución de Bouin están listas para su uso. La solución de hematoxilina férrica de Weigert se prepara mezclando las soluciones A y B a partes iguales.

El sustituto del agua corriente de Scott se prepara mezclando 1 parte del concentrado sustituto del agua corriente de Scott con 9 partes de agua desionizada.

Preparar ácido acético al 0,5 % diluyendo 4,4 ml de ácido acético 1N con 45,6 ml de agua.

Preparar ácido acético al 1 % diluyendo 8,8 ml de ácido acético 1N con 41,2 ml de agua.

Precauciones

Estos dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (DMDIV) están destinados a un uso de diagnóstico in vitro en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado de Sigma-Aldrich puede utilizar los DMDIV para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Los portaobjetos de control TISSUE-TROL™ tricrómico son de tejido humano embebido en parafina con tejido de colágeno y muscular, y deben considerarse potencialmente infecciosos.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Puede utilizarse cualquier sección cortada con un grosor de 5 micras o menos, bien fijada con parafina.

Notas

Si se utiliza el horno microondas, deben consultarse las instrucciones en el Manual del propietario.

Procedimiento

Procedimiento estándar

- Preparar la solución de hematoxilina férrica de Weigert según las instrucciones.
- Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en solución de Bouin precalentada a 56 °C durante **15 minutos** o a **temperatura ambiente durante la noche**.
- Enfriar los portaobjetos en agua del grifo (18-26 °C) dentro de un vaso de Coplin.
- Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo para eliminar el amarillo de los cortes.
- Teñir en solución de hematoxilina férrica de Weigert durante **5 minutos**.
- Lavar durante **5 minutos** con agua corriente del grifo.
- Teñir con solución de tinción tricrómica (LG o AB) durante **5 minutos**.
- Colocar en ácido acético al 0,5 % durante **1 minuto**.
- Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar en xileno y montar.

Procedimiento con microondas

- Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de Bouin dentro de un vaso de Coplin de plástico. Tapar el vaso sin apretar la tapa o utilizar tapas con respiraderos.
- Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **25 segundos**. Agitar la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora, y dejarla incubar durante **5 minutos** debajo de una campana extractora o en una zona con buena ventilación.
- Aclarar con agua corriente del grifo hasta que desaparezca el color amarillo.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina Gill N.º 3 dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **5 segundos**.
- Aclarar bien con agua del grifo de **30 segundos** a **1 minuto**.
- Azular en sustituto del agua corriente de Scott a **temperatura ambiente**.
- Aclarar bien con agua corriente del grifo.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de tinción tricrómica (LG o AB) dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **15 segundos**. Agitar cuidadosamente la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora. Dejar incubar durante **1 minuto**.
- Aclarar rápidamente con agua del grifo.
- Sumergir los portaobjetos en ácido acético al 1 % de **30 segundos** a **1 minuto** a temperatura ambiente.
- Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar en xileno y montar.

Características de funcionamiento

Estructura objetivo	Resultado de la tinción
Núcleos	De azules a negros
Colágeno	Verde (LG) o Azul (AB)
Citoplasma, músculo	Rojo

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especificidad intraensayo	Sensibilidad intraensayo	Especificidad interensayo	Sensibilidad interensayo
HT10316	Solución de tinción tricrómica LG	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT10516	Solución de tinción tricrómica AB	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

HT10316, HT10516:

No es una sustancia o mezcla peligrosa.

Si durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, infórmelo al fabricante y/o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador

Referencias

1. Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
2. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
3. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
4. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
8. Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
9. Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloumb Press, Leyden. Leyden 1992

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en SigmaAldrich.com. Para solicitar el Servicio Técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en SigmaAldrich.com/techservice.

Historial de revisiones

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022

Se ha transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Se ha especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha movido la declaración de ayuda al diagnóstico al uso previsto. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices del IVDR. Se ha actualizado la hoja de datos de seguridad del material a la hoja de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se ha añadido una tabla del historial de revisiones. Se han añadido advertencias y peligros.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Brugsanvisning

Trikromfarvestoffer (Gomori)

Procedure nr. HT10



Tilsigtet brug

Trikromfarvestoffer (Gomori) er beregnet til brug ved studier af bindevævs-, muskel- og kollagenfibre. Trikromfarvestofreagenser er beregnet til "in vitro-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle kvalitative procedure, påviser muskel- og kollagenfibre i vævsprøver fra mennesker. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, bruges som en hjælp ved diagnosticering af stigninger i kollagent væv forbundet med nedsat leverfunktion.

"Trikrom"-farvestoffer bruges primært til at skelne kollagen fra muskelvæv.¹ Generelt består de af nukleære, kollagene og cytoplasmiske farvestoffer i bejdsemidler såsom fosforwolframsyre eller molybdænfosphorsyre. Historisk set blev det første trikromsystem tilskrevet Mallory.^{2,3} Yderligere ændringer blev introduceret af Masson, Foot og Gomori.^{3,4} Proceduren, som er beskrevet her, er baseret på Gomoris arbejde og er et et-trinssystem, der kombinerer den cytoplasmiske farvning og bindevævsfiberfarvningen i en fosforwolframsyre-/eddikesyreopløsning.⁴ Vævssnittene behandles med Bouins opløsning for at intensivere den endelige farvning. Kerner farves derefter med Weigerts jernhæmatoxylin, efterfulgt af chromotrope 2R (farver cytoplasma og muskelfibre) og Fast Green FCF eller anilinblåt (farver kollagenfibre). Skylning i eddikesyre efter farvning gør farvenuancerne mere sarte og gennemsigtige.⁴ Der medfølger en Gomori trikrom-farvningsteknik til hurtig farvning i mikrobølgeovne.⁵⁻⁸

Reagenser

Trichrome Stain LG Solution (kat.nr. HT10316-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6 % (vægt/vol.), CI 16570, Fast Green FCF, (certificeret), 0,1 % (vægt/vol.), CI 42053, fosforwolframsyre, 0,8 % (vægt/vol.) og eddikesyre, 1,0 % (vol./vol.). Reagenset farver kollagen grønt.

Trichrome Stain AB Solution (kat.nr. HT10516-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6 % (vægt/vol.), CI 16570, anilinblåt, (certificeret), 0,3 % (vægt/vol.), CI 42780, fosforwolframsyre, 0,8 % (vægt/vol.) og eddikesyre, 1,0 % (vol./vol.). Reagenset farver kollagen blåt.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Positive kontrolobjektglas, såsom Trichrome TISSUE-TROL™, (kat.nr. TTR012) skal inkluderes i hver kørsel
- 1N-eddikesyreopløsning
- Bouin's Solution (kat.nr. HT10132-1L eller HT101128-4L) picrinsyre, 1 %, formaldehyd, 9 % og eddikesyre, 5 %

Kun til standardprocedure

- Weigert's Iron Hematoxylin Set (kat.nr. HT1079)
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A (kat.nr. HT107-500ML) 1 % certificeret hæmatoxylin i ethanol
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part B (kat.nr. HT109-500ML), jernklorid 1,2 % (vægt/vol.) og saltsyre, 1 % (vol./vol.)

Kun til mikrobølgeprocedure

- Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (kat.nr. GHS3-100ML)
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (kat.nr. S5134-6x100ML)
- Mikrobølgeovn

Opbevaring og stabilitet

Trikromfarvestofopløsninger, Bouins opløsning, Weigerts jernhæmatoxylin, Trichrome TISSUE TROL™, eddikesyreopløsning, Scotts postevandserstatningskoncentrat og Scotts arbejdsopløsning med postevandserstatning skal opbevares ved stuetemperatur (18-26 °C).

Reagenserne er stabile indtil udløbsdatoen på etiketten.

Arbejdsopløsningen af Weigerts jernhæmatoxylin skal tilberedes frisk til hver brug.

Forberedelse

Trichrome Stain LG-opløsning, Trichrome Stain AB og Bouins opløsning er klar til brug.

Arbejdsopløsningen af Weigerts jernhæmatoxylin fremstilles ved at blande lige dele af opløsning A og opløsning B.

Scotts postevandserstatning fremstilles ved at blande 1 del Scotts postevandserstatningskoncentrat med 9 dele demineraliseret vand.

Forbered 0,5 % eddikesyre ved at fortynde 4,4 ml 1N-eddikesyre med 45,6 ml vand.

Forbered 1 % eddikesyre ved at fortynde 8,8 ml 1N-eddikesyre med 41,2 ml vand.

Forsigtighedsregler

Disse IVD'er er beregnet til in vitro-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er kun til professionel brug udført af kvalificeret personale. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr, og har en farveopfattelse og synsstyrke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontrolobjektglas er fremstillet med paraffinindstøbt humant væv, der indeholder kollagen og muskelvæv, og skal betragtes som potentielt smittefarlige.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Ethvert velfikseret paraffinsnit, som er udkåret i en tykkelse på 5 mikron eller mindre, kan anvendes.

Bemærkninger

Hvis der bruges en mikrobølgeovn, henvises der til brugervejledningen vedrørende anvisninger.

Procedure

Standardprocedure

1. Forbered arbejdsopløsningen af Weigerts jernhæmatoxylin i henhold til anvisningerne.
2. Afparaffiner objektglassene, og hydrer i demineraliseret vand.
3. Placer objektglassene i forvarmet Bouins opløsning ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **stuetemperatur natten over**.
4. Afkøl objektglassene i postevand (18-26 °C), som er indeholdt i en Coplin-skål.
5. Vask i rindende postevand for at fjerne gul farve fra snittene.
6. Farv i arbejdsopløsningen af Weigerts jernhæmatoxylin i **5 minutter**.
7. Vask under rindende postevand i **5 minutter**.
8. Farv i trikromfarvestof (LG eller AB)-opløsning i **5 minutter**.
9. Anbring i 0,5 % eddikesyre i **1 minut**.
10. Skyl objektglassene, dehydrer i alkohol, klarér i xylene, og monter.

Mikrobølgeprocedure

1. Afparaffiner objektglassene, og hydrer i demineraliseret vand.
2. Placer objektglassene i **40 ml** Bouins opløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast. Dæk skålen løst med et låg, eller brug låg med ventilerede hætter.
3. Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**. Hvirvl opløsningen rundt med en applikatorpind eller en engangspipette, og inkuber derefter i **5 minutter** i et stinkskab eller et godt ventileret område.
4. Skyl under rindende postevand, indtil den gule farve forsvinder.
5. Placer objektglassene i **40 ml** hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
6. Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 5 sekunder**.
7. Skyl grundigt i postevand i **30 sekunder til 1 minut**.
8. Blå i Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**.
9. Skyl grundigt under rindende postevand.
10. Placer objektglassene i **40 ml** trikromfarvestof (LG eller AB)-opløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
11. Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 15 sekunder**. Hvirvl forsigtigt opløsningen rundt med en applikatorpind eller en engangspipette. Lad inkubere i **1 minut**.
12. Skyl hurtigt i postevand.
13. Placer objektglassene i 1 % eddikesyre i **30 sekunder til 1 minut** ved stuetemperatur.
14. Skyl objektglassene, dehydrer i alkohol, klarér i xylene, og monter.

Præstationskarakteristika

Målstruktur	Farvningsresultat
Kerner	Blå til sort
Kollagen	Grøn (LG) eller blå (AB)
Cytoplasma, muskel	Rød

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne af analyseydelsen for de givne tests, der er udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % følsomhed, specificitet og repeterbarhed.

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Specificitet i analyse	Følsomhed i analyse	Specificitet mellem analyser	Følsomhed mellem analyser
HT10316	Trichrome Stain LG-opløsning	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Kollagen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Muskel	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT10516	Trichrome Stain AB-opløsning	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Kollagen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Muskel	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatablad og produktmærkning vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

HT10316, HT10516:

Ikke et farligt stof eller blanding.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/ Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret in IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør

Referencer

- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloumb Press, Leyden. Leyden 1992

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Flyttet udtalelse om hjælp ved diagnosticering til tilsigtet brug. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Tilføjet en revisionshistoriktabel. Advarsler og farer tilføjet.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Trikrömfärger (Gomori)

Procedurbeteckning: HT10



Användningsområde

Trikrömfärgerna (Gomori) är avsedda att användas vid studier av bindväv, muskelfibrer och kollagena fibrer. Reagenserna för trikrömfärger är avsedda för in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Med de data som erhålls genom detta manuella, kvalitativa förfarande påvisas muskelfibrer och kollagena fibrer i vävnadsprover från människa. Dessa data kan användas till hjälp vid diagnostiseringen av ökad mängd kollagen vävnad i samband med nedsatt leverfunktion om de bedöms ihop med övriga diagnostiska undersökningar och uppgifter.

De så kallade "trikrömfärgerna" används främst för att urskilja kollagen från muskelvävnad.¹ I allmänhet består de av nukleära, kollagena och cytoplasmatiska färgämnen i betningsmedel som fosfovolframsyra eller fosfomolybdensyra. Historiskt sett har det första trikrömsystemet tillskrivits Mallory.^{2,3} Ytterligare modifieringar infördes av Masson, Foot och Gomori.^{3,4} Proceduren som beskrivs här är baserad på arbetet av Gomori och är ett enstegssystem där den cytoplasmatiska färgen och bindvävsfärgen kombineras i en fosfovolframsyra-/ättiksyralösning.⁴ Vävnadssnittet behandlas med Bouins lösning för att intensifiera den slutliga färgen. Kärnorna färgas sedan med Weigerts järnhematoxylin, följt av kromotrop 2R (färgar cytoplasma och muskelfibrer) och snabbgrönt FCF eller anilinblått (färgar kollagenfibrer). Sköljning i ättiksyra efter färgning gör färgnyanserna mer ömtåliga och transparenta.⁴ Gomori trikrömfärgningsteknik för snabbfärgning i mikrovågsugn är inkluderad.⁵⁻⁸

Reagenser

Trichrome Stain LG Solution (kat.nr HT10316-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6 % (vikt/volym), indexnr. 16570, snabbgrönt FCF, (certifierat), 0,1 % (vikt/volym), indexnr. 42053, fosfovolframsyra, 0,8 % (vikt/volym) och ättiksyra, 1,0 % (volym/volym). Reagenset färgar kollagen grönt.

Trichrome Stain AB Solution (kat.nr HT10516-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6 % (vikt/volym), indexnr. 16570, anilinblått FCF, (certifierat), 0,3 % (vikt/volym), indexnr. 42780, fosfovolframsyra, 0,8 % (vikt/volym) och ättiksyra, 1,0 % (volym/volym). Reagenset färgar kollagen blått.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Positiva kontrollglas, såsom Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR012) ska inkluderas i varje körning
- Ättiksyralösning 1N
- Bouins lösning (kat.nr HT10132-1L eller HT101128-4L) pikrinsyra 1 %, formaldehyd 9 % och ättiksyra 5 %

Endast för standardförfaranden

- Weigerts järnhematoxylinset (kat.nr HT1079)
- Weigerts järnhematoxylinlösning, del A (kat.nr HT107-500ML) – 1 % certifierat hematoxylin i etanol
- Weigerts järnhematoxylinlösning, del B (kat.nr HT109-500ML), järnklorid 1,2 % (vikt/volym) och saltsyra 1 % (volym/volym)

Endast för mikrovågsförfaranden

- Hematoxylinlösning Gill nr 3 (kat.nr GHS3-100ML)
- Scotts kranvattensättning, koncentrat (kat.nr S5134-6x100ML)
- Mikrovågsugn

Förvaring och hållbarhet

Trikrömfärglösningar, Bouins lösning, Weigerts järnhematoxylin, Trichrome TISSUE TROL™, ättiksyralösningen, Scotts kranvattensättningskoncentrat och arbetslösning av Scotts kranvattensättning ska förvaras i rumstemperatur (18–26 °C).

Reagenserna är hållbara fram till utgångsdatumet som anges på etiketterna.

Bered en ny Weigerts järnhematoxylin – arbetslösning inför varje användningstillfälle.

Beredning

Trichrome Stain LG Solution, Trichrome Stain AB och Bouins lösning är användnngsklara.

Weigerts järnhematoxylin – arbetslösning bereds genom att blanda lika delar av lösning A och lösning B.

Scotts kranvattensättning bereds genom att blanda 1 del Scotts kranvattensättning i koncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

Bered ättiksyra 0,5 % genom att späda 4,4 ml ättiksyra 1N med 45,6 ml vatten.

Bered ättiksyra 1 % genom att späda 8,8 ml ättiksyra 1N med 41,2 ml vatten.

Försiktighetsåtgärder

Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra färgseende och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagens. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontrollglas är paraffininbäddad humanvävnad som innehåller kollagen vävnad och muskelvävnad och ska anses vara potentiellt smittsamma.

Förfarande

Provtagning

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Vilket väl fixerat paraffinsnitt som helst som är skuret i en tjocklek av 5 mikrometer eller mindre kan användas.

Anmärkningar

Se bruksanvisningen för anvisningar om mikrovågsugn används.

Förfarande

Standardförfarande

1. Bered Weigerts järnhematoxylinlösning enligt anvisningarna.
2. Avparaffinera objektglaset och hydrera till avjoniserat vatten.
3. Placera objektglaset i en förvärmad Bouins-lösning vid 56 °C och låt ligga i **15 minuter** eller i **rumstemperatur över natten**.
4. Kyl objektglaset i en Coplin-burk med kranvatten (18–26 °C).
5. Tvätta under rinnande kranvatten för att avlägsna den gula färgen från snitten.
6. Färga i Weigerts järnhematoxylinlösning under **5 minuter**.
7. Tvätta under rinnande kranvatten i **5 minuter**.
8. Färga i trikrömfärglösning (LG eller AB) under **5 minuter**.
9. Placera i ättiksyra 0,5 % och låt ligga under **1 minut**.
10. Skölj objektglaset, dehydrera med alkohol, rengör i xylén och montera.

Mikrovågsförfarande

1. Avparaffinera objektglaset och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Placera objektglaset i **40 ml** Bouins lösning i en Coplin-burk av plast. Täck burken löst med lock eller använd ventilerande lock.
3. Värm i mikrovågsugn på **600 watt** under **25 sekunder**. Rör om i lösningen med en appliceringssticka eller beralpipett och inkubera sedan under **5 minuter** under en draghuv eller i ett välventilerat utrymme.
4. Skölj under rinnande kranvatten tills den gula färgen försvinner.
5. Placera objektglaset i **40 ml** hematoxylinlösning, Gill nr 3 i en Coplin-burk av plast.
6. Värm i mikrovågsugn på **800 watt** under **5 sekunder**.
7. Skölj väl i kranvatten i **30 sekunder** till **1 minut**.
8. Blåfärga i Scotts kranvattensättning med **rumstemperatur**.
9. Skölj väl under rinnande kranvatten.
10. Placera objektglaset i **40 ml** trikrömfärglösning (LG eller AB) i en Coplin-burk av plast.
11. Värm i mikrovågsugn på **800 watt** under **15 sekunder**. Rör försiktigt om i lösningen med en appliceringssticka eller beralpipett. Inkubera i **1 minut**.
12. Skölj kort i kranvatten.
13. Placera objektglaset i ättiksyra 1 % och låt ligga under **30 sekunder** till **1 minut** i rumstemperatur.
14. Skölj objektglaset, dehydrera med alkohol, rengör i xylén och montera.

Prestandaegenskaper

Målstruktur	Färgningsresultat
Kärnor	Blått till svart
Kollagen	Grönt (LG) eller blått (AB)
Cytoplasma, muskler	Rött

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrichs för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.nr	Produktbe- skrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT10316	Trichrome Stain AB Solution	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT10516	Trichrome Stain AB Solution	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

HT10316, HT10516:

Inte ett farligt ämne eller en farlig blandning.

Om det har inträffat en allvarlig incident medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts, ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Temperaturgräns		Iakttag försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör

Referenser

- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Coulomb Press, Leyden. Leyden 1992

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorik

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specifierat "För yrkesmässig bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat påståendet "Hjälpm edel för diagnostisering" till "Användningsområde". Reviderat "Användningsområde" så att det motsvara riktlinjerna IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontaktuppgifter för biverkningar. Lagt till en tabell över revisionshistoriken. Lade till varningar och faror.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instruções de utilização

Colorações tricrómicas (Gomori)

Procedimento n.º HT10



Utilização prevista

As colorações tricrómicas (Gomori) destinam-se a ser utilizadas no estudo do tecido conjuntivo, músculo e fibras de colagénio. Os reagentes de coloração tricrómica destinam-se a “Utilização para diagnóstico in vitro”. Apenas para utilização profissional. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo manual demonstram fibras musculares e de colagénio em amostras de tecidos de espécimes humanos. Quando revistos em conjunto com outras informações e testes de diagnóstico, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de aumento do tecido de colagénio associado a disfunção hepática.

As colorações “tricrómicas” são utilizadas principalmente para distinguir o colagénio do tecido muscular.¹ Em geral, consistem em corantes nucleares, colagenosos e citoplasmáticos em mordentes como o ácido fosfotúngstico ou fosfomolibdico. Historicamente, o primeiro sistema tricrómico foi atribuído a Mallory.^{2,3} Outras modificações foram introduzidas por Masson, Foot e Gomori.^{3,4} O procedimento aqui descrito baseia-se no trabalho de Gomori e é um sistema de um passo que combina a coloração citoplasmática e de fibra conjuntiva numa solução de ácido fosfotúngstico/ácido acético.⁴ As secções de tecido são tratadas com solução de Bouin para intensificar a coloração final. Os núcleos são então corados com hematoxilina de ferro de Weigert, seguida de cromotropia 2R (corantes citoplasma e fibras musculares) e FCF verde rápido ou azul anilina (efetua a coloração de fibras de colagénio). O enxaguamento em ácido acético após a coloração torna as tonalidades de cor mais delicadas e transparentes.⁴ Está incluída uma técnica de coloração tricrómica de Gomori para coloração rápida em fornos de micro-ondas.⁵⁻⁸

Reagentes

Solução de coloração tricromática LG (N.º de cat. HT10316-500ML)
Corante cromotrópico 2R, 0,6% (p/v), C.I. 16570, FCF verde rápido (certificado), 0,1% (p/v), C.I. 42053, ácido fosfotúngstico, 0,8% (p/v) e ácido acético, 1,0% (v/v). O reagente cora o colagénio de verde.

Solução de coloração tricromática AB (N.º de cat. HT10516-500ML)
Corante cromotrópico 2R, 0,6% (p/v), C.I. 16570, azul anilina, (certificado), 0,3% (p/v), C.I. 42780, ácido fosfotúngstico, 0,8% (p/v) e ácido acético, 1,0% (v/v). O reagente cora o colagénio de azul.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Devem ser incluídas em cada série lâminas de controlo positivo, como o Trichrome TISSUE-TROL™, (N.º de cat. TTR012)
- Solução de ácido acético 1N
- Solução de Bouin (N.º de cat. HT10132-1L ou HT101128-4L) ácido pícrico,1%, formaldeído, 9% e ácido acético, 5%

Apenas para o procedimento padrão

- Conjunto de hematoxilina de ferro de Weigert (N.º de cat. HT1079)
- Solução de hematoxilina de ferro de Weigert, Parte A (N.º de cat. HT107-500ML) 1% de hematoxilina certificada em etanol
- Solução de hematoxilina de ferro de Weigert, Parte B (N.º de cat. HT109-500ML), cloreto férrico 1,2% (p/v) e ácido clorídrico, 1% (v/v)

Apenas para procedimentos em micro-ondas

- Solução de hematoxilina, Gill n.º 3 (N.º de cat. GHS3-100ML)
- Concentrado de substituto de água da torneira de Scott (N.º de cat. S5134-6x100ML)
- Forno micro-ondas

Conservação e estabilidade

As soluções de mancha tricrómica, a solução de Bouin, hematoxilina de ferro de Weigert, corante tricrómico TISSUE TROL™, solução de ácido acético, concentrado de substituto de água da torneira de Scott e solução de trabalho substituta de água da torneira de Scott devem ser armazenados à temperatura ambiente (18–26 °C).

Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada no rótulo.

A solução de trabalho de hematoxilina de ferro de Weigert deve ser preparada fresca para cada utilização.

Preparação

A solução de coloração tricromática LG, a solução de coloração tricromática AB e a solução de Bouin estão prontas a utilizar.

A solução de trabalho de hematoxilina de ferro de Weigert é preparada misturando partes iguais da Solução A e da Solução B.

O substituto de água da torneira de Scott é preparado misturando 1 parte de concentrado de substituto de água da torneira de Scott em 9 partes de água desionizada.

Prepare ácido acético a 0,5% diluindo 4,4 mL de ácido acético 1N em 45,6 mL de água.

Prepare ácido acético a 1% diluindo 8,8 mL de ácido acético 1N em 41,2 mL de água.

Precauções

Estes DIV destinam-se a utilização para diagnóstico in vitro num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo Trichrome TISSUE-TROL™ consistem em tecidos humanos incluídos em parafina com colagénio e tecido muscular e devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

Pode ser utilizada qualquer secção de parafina bem fixada cortada a 5 micrones ou menos.

Notas

Se for utilizado um forno micro-ondas, consulte as instruções no Manual do utilizador.

Procedimento

Procedimento padrão

1. Prepare a solução de trabalho de hematoxilina de ferro de Weigert de acordo com as instruções.
2. Desparafinize e hidrate as lâminas com água desionizada.
3. Coloque as lâminas em solução pré-aquecida de Bouin a 56 °C durante **15 minutos** ou à **temperatura ambiente durante a noite**.
4. Arrefeça as lâminas em água da torneira (18–26 °C) contidas num frasco de Coplin.
5. Lave em água corrente da torneira para remover a cor amarela das secções.
6. Proceda à coloração na solução de trabalho de hematoxilina de ferro de Weigert durante **5 minutos**.
7. Lave em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
8. Proceda à coloração na solução de coloração tricrómica (LG ou AB) durante **5 minutos**.
9. Coloque em ácido acético a 0,5% durante **1 minuto**.
10. Lave as lâminas, desidrate com álcool, limpe em xileno e proceda à montagem.

Procedimento em micro-ondas

1. Desparafinize e hidrate as lâminas com água desionizada.
2. Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de Bouin contida numa jarra de Coplin de plástico. Cubra a jarra com a tampa sem apertar ou utilize tampas ventiladas.
3. Leve ao micro-ondas a **600 watts** durante **25 segundos**. Agite a solução com uma vareta aplicadora ou com uma pipeta de Beral e, em seguida, incube durante **5 minutos** numa hotte de aspiração ou numa área bem ventilada.
4. Lave em água corrente da torneira até desaparecer a cor amarela.
5. Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de hematoxilina, Gill n.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
6. Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **5 segundos**.
7. Lave bem em água da torneira durante **30 segundos a 1 minuto**.
8. Realize a coloração azul em substituto de água da torneira de Scott à **temperatura ambiente**.
9. Lave bem em água da torneira corrente.
10. Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de coloração tricrómica (LG ou AB) contida numa jarra de Coplin de plástico.
11. Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **15 segundos**. Agite suavemente a solução utilizando uma vareta aplicadora ou uma pipeta de Beral. Deixe incubar durante **1 minuto**.
12. Lave rapidamente em água da torneira.
13. Coloque as lâminas em ácido acético a 1% durante **30 segundos a 1 minuto** à temperatura ambiente.
14. Lave as lâminas, desidrate com álcool, limpe em xileno e proceda à montagem.

Características de desempenho

Estrutura alvo	Resultado de coloração
Núcleos	Azul para preto
Colagénio	Verde (LG) ou Azul (AB)
Citoplasma, Músculo	Vermelho

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características de desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especi-ficidade intraensaio	Sensibili-dade intraensaio	Especi-ficidade interensaio	Sensibili-dade interensaio
HT10316	Solução de coloração tricromática LG	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Colagénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT10516	Solução de coloração tricromática AB	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Colagénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

HT10316, HT10516:

Não é uma substância ou mistura perigosa.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva IVDR 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador

Referências

- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok, Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Coulomb Press, Leyden. Leyden 1992

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Histórico de revisões

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Declaração de auxiliar de diagnóstico movida para a utilização prevista. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do RDIV. Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Adição de uma tabela de histórico de revisões. Avisos e perigos adicionados.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Οδηγίες χρήσης

Χρώσεις Trichrome (Gomori)

Διαδικασία αρ. HT10



Προοριζόμενη χρήση

Οι χρώσεις Trichrome (Gomori) προορίζονται για χρήση στη μελέτη ινών συνδετικού ιστού, μυϊκών ινών και ινών κολλαγόνου. Τα αντιδραστήρια χρώσης Trichrome προορίζονται για «in vitro διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτή τη μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζουν μυϊκές ίνες και ίνες κολλαγόνου σε δείγματα ανθρώπινων ιστών. Αυτά τα δεδομένα, όταν εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις και πληροφορίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα για τη διάγνωση αυξήσεων του κολλαγόνου ιστού που σχετίζονται με ηπατική δυσλειτουργία.

Οι χρώσεις «Trichrome» χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διάκριση του κολλαγόνου από τον μυϊκό ιστό.¹ Γενικά, αποτελούνται από πυρηνικές, κολλαγονικές και κυτταροπλασματικές χρωστικές σε προστώματα όπως το φωσφοβολφραμικό ή το φωσφομολυβδικό οξύ. Ιστορικά, το πρώτο σύστημα trichrome αποδόθηκε στον Mallory.^{2,3} Περαιτέρω τροποποιήσεις εισήχθησαν από τους Masson, Foot και Gomori.^{3,4} Η διαδικασία που περιγράφεται εδώ βασίζεται στο έργο του Gomori και είναι ένα σύστημα ενός σταδίου που συνδυάζει την κυτταροπλασματική χρώση και τη χρώση συνδετικών ινών σε διάλυμα φωσφοβολφραμικού οξέος/οξικού οξέος.⁴ Οι τομές ιστών υφίστανται επεξεργασία με διάλυμα Bouin για να ενισχυθεί ο τελικός χρωματισμός. Στη συνέχεια, οι πυρήνες χρωματίζονται με αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert, ακολουθούμενη από chromotrope 2R (χρωματίζει το κυτταρόπλασμα και τις μυϊκές ίνες) και fast green FCF ή κυανό της ανιλίνης (χρωματίζει τις ίνες κολλαγόνου). Η έκπλυση με οξικό οξύ μετά τη χρώση καθιστά τις αποχρώσεις του χρώματος πιο λεπτές και διαφανείς.⁴ Περιλαμβάνεται μια τεχνική χρώσης Gomori trichrome για ταχεία χρώση σε φούρνους μικροκυμάτων.⁵⁻⁸

Αντιδραστήρια

Διάλυμα χρώσης Trichrome LG (αρ. καταλόγου HT10316-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6% (w/v), C.I. 16570, fast green FCF, (πιστοποιημένο), 0,1% (w/v), C.I. 42053, φωσφοβολφραμικό οξύ, 0,8% (w/v) και οξικό οξύ, 1,0% (v/v). Το αντιδραστήριο χρωματίζει το κολλαγόνο πράσινο.

Διάλυμα χρώσης Trichrome AB (αρ. καταλόγου HT10516-500ML)
Chromotrope 2R, 0,6% (w/v), C.I. 16570, κυανό της ανιλίνης, (πιστοποιημένο), 0,3% (w/v), C.I. 42780, φωσφοβολφραμικό οξύ, 0,8% (w/v) και οξικό οξύ, 1,0% (v/v). Το αντιδραστήριο χρωματίζει το κολλαγόνο μπλε.

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Θετικές αντικειμενοφόροι ελέγχου, όπως Trichrome TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR012) πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση
- Διάλυμα οξικού οξέος 1N
- Διάλυμα Bouin (αρ. καταλόγου HT10132-1L ή HT101128-4L) πικρικό οξύ, 1%, φορμαλδεΰδη, 9% και οξικό οξύ, 5%

Για τυπική διαδικασία μόνο

- Σετ αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert (αρ. καταλόγου HT1079)
- Διάλυμα αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert, Μέρος Α (αρ. καταλόγου HT107-500ML) 1% πιστοποιημένη αιματοξυλίνη σε αιθανόλη
- Διάλυμα αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert, Μέρος Β (αρ. καταλόγου HT109-500ML), Τριχλωριούχος σίδηρος 1,2% (w/v) και υδροχλωρικό οξύ, 1% (v/v)

Για διαδικασία μικροκυμάτων μόνο

- Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 (αρ. καταλόγου GHS3-100ML)
- Συμπύκνωμα υποκατάστατου νερού βρύσης Scott (αρ. καταλόγου S5134-6x100ML)
- Φούρνος μικροκυμάτων

Φύλαξη και σταθερότητα

Τα διαλύματα χρώσης Trichrome, το διάλυμα Bouin, η αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert, το Trichrome TISSUE TROL™, το διάλυμα οξικού οξέος, το συμπύκνωμα υποκατάστατου νερού βρύσης Scott και το διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C).

Τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα. Το διάλυμα εργασίας αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert θα πρέπει να παρασκευάζεται πρόσφατο για κάθε χρήση.

Παρασκευή

Το διάλυμα εργασίας υποκατάστατου Trichrome LG, Trichrome AB και το διάλυμα Bouin είναι έτοιμα για χρήση.

Το διάλυμα εργασίας αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert παρασκευάζεται με την ανάμειξη ισών μερών του διαλύματος Α και του διαλύματος Β.

Το υποκατάστατο νερού βρύσης Scott παρασκευάζεται αναμειγνύοντας 1 μέρος συμπυκνώματος υποκατάστατου νερού βρύσης Scott με 9 μέρη αποιονισμένου νερού.

Παρασκευάστε οξικό οξύ 0,5% αραιώνοντας 4,4 mL οξικού οξέος 1N με 45,6 mL νερού.

Παρασκευάστε οξικό οξύ 1% αραιώνοντας 8,8 mL οξικού οξέος 1N με 41,2 mL νερού.

Προφυλάξεις

Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για in vitro διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκόπια και άλλον εργαστηριακό εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από το μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνθήκες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Οι αντικειμενοφόροι ελέγχου Trichrome TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ανθρώπινος ιστός που περιέχει κολλαγόνο και μυϊκό ιστό και θα πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικός.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμασίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοίμωξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικά.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε καλώς μονιμοποιημένη τομή παραφίνης κομμένη στα 5 micron ή λιγότερο.

Σημειώσεις

Εάν χρησιμοποιείται φούρνος μικροκυμάτων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης για οδηγίες.

Διαδικασία

Τυπική διαδικασία

1. Παρασκευάστε το διάλυμα εργασίας αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert σύμφωνα με τις οδηγίες.
2. Αποαραφινώστε τις αντικειμενοφόρους και ενυδατώστε σε αποιονισμένο νερό.
3. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε προθερμασμένο διάλυμα Bouin στους 56 °C για **15 λεπτά** ή σε **θερμοκρασία δωματίου ολονύκτια**.
4. Ψύξτε τις αντικειμενοφόρους σε νερό βρύσης (18–26 °C) που περιέχεται σε δοχείο Coplin.
5. Πλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης για να αφαιρέσετε το κίτρινο χρώμα από τις τομές.
6. Χρωματίστε σε διάλυμα εργασίας αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert για **5 λεπτά**.
7. Πλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
8. Χρωματίστε σε διάλυμα χρώσης Trichrome (LG ή AB) για **5 λεπτά**.
9. Τοποθετήστε σε οξικό οξύ 0,5% για **1 λεπτό**.
10. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους, αφυδατώστε μέσω αλκοόλης, διαυγάστε σε ξυλάνιο και καλύψτε.

Διαδικασία μικροκυμάτων

1. Αποαραφινώστε τις αντικειμενοφόρους και ενυδατώστε σε αποιονισμένο νερό.
2. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος Bouin σε πλαστικό δοχείο Coplin. Καλύψτε χαλαρά το δοχείο με καπάκι ή χρησιμοποιήστε εξαιρεζόμενο καπάκι.
3. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **25 δευτερόλεπτα**. Αναδεύστε το διάλυμα με στείλεο εφαρμογή ή πιπέτα Beral και, στη συνέχεια, επωάστε για **5 λεπτά** σε απορροφητήρα ή καλά αεριζόμενο χώρο.
4. Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης μέχρι να εξαφανιστεί το κίτρινο χρώμα.
5. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος αιματοξυλίνης Gill αρ. 3 που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Coplin.
6. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **5 δευτερόλεπτα**.
7. Ξεπλύνετε καλά σε νερό βρύσης για **30 δευτερόλεπτα** έως **1 λεπτό**.
8. Προκαλέστε μπλε χρώση σε υποκατάστατο νερού βρύσης Scott σε **θερμοκρασία δωματίου**.
9. Ξεπλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
10. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος χρώσης Trichrome (LG ή AB) που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Coplin.
11. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **15 δευτερόλεπτα**. Αναδεύστε ήπια το διάλυμα χρησιμοποιώντας στείλεο εφαρμογή ή πιπέτα Beral. Αφήστε να επωαστεί για **1 λεπτό**.
12. Ξεπλύνετε γρήγορα σε νερό βρύσης.
13. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε οξικό οξύ 1% για **30 δευτερόλεπτα** έως **1 λεπτό** σε θερμοκρασία δωματίου.
14. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους, αφυδατώστε μέσω αλκοόλης, διαυγάστε σε ξυλάνιο και καλύψτε.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Στοχευόμενη δομή	Αποτέλεσμα χρώσης
Πυρήνες	Μπλε έως μαύρο
Κολλαγόνο	Πράσινο (LG) ή μπλε (AB)
Κυτταρόπλασμα, Μυς	Κόκκινο

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες δομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ. κα- ταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
HT10316	Διάλυμα χρώσης Trichrome LG	Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κολλαγόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κυτταρόπλασμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT10516	Διάλυμα χρώσης Trichrome AB	Μυς	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κολλαγόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κυτταρόπλασμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Μυς	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιεσδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

HT10316, HT10516:

Δεν είναι επικίνδυνη ουσία ή μείγμα.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Conn’s Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory’s connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloumb Press, Leyden. Leyden 1992

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 5.0	2016
Αναθ. 6.0	2022
Αναθ. 7.0	2022
Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η δήλωση βοηθήματος για διάγνωση μεταφέρθηκε στην προοριζόμενη χρήση. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Προστέθηκε πίνακας ιστορικού αναθεωρήσεων. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Használati utasítás

Trikróm festékek (Gomori)

HT10 sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A trikróm festékek (Gomori) a kötőszövetek, izom- és kollagénszövetek vizsgálatára szolgálnak. A trikróm festőreagens „in vitro diagnosztikai felhasználásra” szolgálnak. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok segítségével kimutathatók az emberi szövetmintákban található izom- és kollagénszövetek. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók a májműködési zavarokkal összefüggésben megnövekedett mennyiségű kollagénszövet diagnosztizálásának elősegítésére.

A „trikróm” festékeket elsősorban a kollagén és az izomszövet megkülönböztetésére használják.¹ Általában nukleáris, kollagén- és citoplazmatikus színezőanyagokból áll, melyek páncányagban vannak, pl. foszforvolfrámsavban vagy a foszformolibdénsavban. Történelmileg az első trikróm rendszert Mallorynak tulajdonították.^{2,3} További módosításokat vezetett be Masson, Foot és Gomori.^{3,4} Az itt leírt eljárás Gomori munkáján alapul, és egy egy lépéses rendszer, amely foszforvolfrámsav/ ecetsav oldattal egyszerre festi a citoplazmát és a kötőszöveti rostokat.⁴ A szöveti metszeteket Bouin-oldattal kezelik a végső festődés fokozása érdekében. A sejtmagokat ezután Weigert-féle vas-hematoxilinnel festik, ezt követi a chromotrope 2R (a citoplazma és az izomrostok festésére) és fast green FCF vagy anilinkék (a kollagénszövet festésére). A festés utáni ecetsavas öblítés finomabbá és áttetszőbbé teszi a színezőanyagokat.⁴ A csomag egy Gomori-féle trikróm festési technikát tartalmaz a mikrohullámú sütőkben történő gyors festéshez.⁵⁻⁸

Reagens

Trikróm festék LG oldat (kat. sz. HT10316-500ML)

Chromotrope 2R, 0,6% (w/v), C.I. 16570, fast green FCF, (tanúsított), 0,1% (w/v), C.I. 42053, foszforvolfrámsav, 0,8% (w/v) és ecetsav, 1,0% (v/v). A reagens zöldre festi a kollagént.

Trikróm festék AB oldat (kat. sz. HT10516-500ML)

Chromotrope 2R, 0,6% (w/v), anilinkék, (tanúsított), 0,3% (w/v), C.I. 42780, foszforvolfrámsav, 0,8% (w/v) és ecetsav, 1,0% (v/v). A reagens kékre festi a kollagént.

Szükséges, de nem biztosított különleges anyagok

- Pozitív kontroll tárgylemezeket, mint például a Trikróm TISSUE-TROL™ (kat. sz. TTR012), minden kísérletben használni kell.
- 1N ecetsavoldat
- Bouin-oldat (kat. sz. HT10132-1L vagy HT101128-4L) pikrinsav, 1%, formaldehid, 9% és ecetsav, 5%

Csak a standard eljáráshoz

- Weigert-féle vas-hematoxilinn készlet (kat. sz. HT1079)
- Weigert-féle vas-hematoxilinn oldat, A rész (kat. sz. HT107-500ML) 1% tanúsítvánnyal rendelkező hematoxilinn etanolban
- Weigert-féle vas-hematoxilinn oldat, B rész (kat. sz. HT109-500ML), vas-klorid 1,2% (w/v) és sósav, 1% (v/v)

Csak mikrohullámos eljáráshoz

- Hematoxilinnoldat, Gill III (kat. sz. GHS3-100ML)
- Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum (kat. sz. S5134-6x100ML)
- Mikrohullámú sütő

Tárolás és stabilitás

A trikróm festékkoldatok, a Bouin-oldat, a Weigert-féle vas-hematoxilinn, a trikróm TISSUE TROL™, az ecetsavoldat, a Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum és a Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkoldat szobahőmérsékleten (18–26 °C) tárolandó.

A reagens a címkén feltüntetett lejárati dátumig stabilak.

A Weigert-féle vas-hematoxilinn munkoldatot minden használat előtt frissen kell elkészíteni.

Előkészítés

A trikróm festék LG oldat, a trikróm festék AB és a Bouin-oldat használatra kész.

A Weigert-féle vas-hematoxilinn munkoldatot az A és a B oldat egyenlő térfogatának összekeverésével készítik el.

A Scott-féle csapvíz-helyettesítő reagens elkészítéséhez keverjen össze 1 rész Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot 9 rész ioncserélt vízzel.

Készítsen 0,5%-os ecetsavat 4,4 ml 1N ecetsav 45,6 ml vízben történő hígításával.

Készítsen 1%-os ecetsavat 8,8 ml 1N ecetsav 41,2 ml vízben történő hígításával.

Óvintézkedések

Ezeket az in vitro diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő in vitro diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az in vitro diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich in vitro diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő szűrőszelvényekkel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagens kezelés során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékokat a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A trikróm TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, kollagént és izomszövetet tartalmazó humán szövetek találhatók, amelyeket potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérvizsgálatot vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Bármely helyesen rögzített, 5 mikron vagy annál vékonyabbra vágott paraffinba ágyazott metszet használható.

Megjegyzések

Ha mikrohullámú sütőt használ, kérjük, olvassa el a Felhasználói kézikönyvet.

Eljárás

Standard eljárás

1. Készítsen Weigert-féle vas-hematoxilinn munkoldatot az utasításoknak megfelelően.
2. Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt vízig a metszeteket.
3. Helyezze a tárgylemezeket előmelegített Bouin-oldatba 56 °C-on **15 percig** vagy **szobahőmérsékleten egy éjszakán át**.
4. Hűtse le a tárgylemezeket csapvízzel (18–26 °C) töltött küvetában.
5. Mossa folyó csapvízben, hogy eltávolítsa a sárga színt a metszetekről.
6. Fesse Weigert-féle vas-hematoxilinn munkoldatban **5 percig**.
7. Mossa folyó csapvízben **5 percig**.
8. Fesse trikróm festékkoldatban (LG vagy AB) **5 percig**.
9. Helyezze 0,5%-os ecetsavba **1 perc**re.
10. Öblítse le a tárgylemezeket, dehidratálja alkohollal, derítse xilolban és fedje le.

Mikrohullámos eljárás

1. Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt vízig a metszeteket.
2. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** Bouin-oldatba. Lazán fedje le a téglét a fedéllel, vagy használjon szellőzős kupakkal ellátott fedeleket.
3. Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 25 másodpercig**. Keverje össze az oldatot applikátorpálcával vagy transzferpipettával, majd inkubálja **5 percig** elszívófűlke alatt vagy jól szellőző helyen.
4. Öblítse le a folyó csapvízben, amíg a sárga szín el nem tűnik.
5. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** Gill III-as hematoxilinnoldatba.
6. Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 5 másodpercig**.
7. Alaposan öblítse le csapvízben **30 másodperc** és **1 perc** közötti ideig.
8. Kéktse Scott-féle csapvíz-helyettesítő reagensben **szobahőmérsékleten**.
9. Alaposan öblítse le a folyó csapvízzel.
10. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** trikróm festőoldatba (LG vagy AB).
11. Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 15 másodpercig**. Óvatosan keverje fel az oldatot egy applikátorpálca vagy transzferpipetta segítségével. Inkubálja **1 percig**.
12. Gyorsan öblítse le csapvízzel.
13. Helyezze a tárgylemezeket 1%-os ecetsavba **30 másodperc** és **1 perc** közötti időtartamra szobahőmérsékleten.
14. Öblítse le a tárgylemezeket, dehidratálja alkohollal, derítse xilolban és fedje le.

Teljesítményjellemzők

Célstruktúra	Festési eredmény
Sejtmagok	Kék-fekete
Kollagén	Zöld (LG) vagy kék (AB)
Citoplazma, izom	Piros

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenységet, specifikitást és ismételhetséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifikitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifikitás	Tesztek közötti érzékenység
HT10316	Trikróm festék LG oldat	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3
		Kollagén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Izom	3/3	3/3	3/3	3/3
HT10516	Trikróm festék AB oldat	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3
		Kollagén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Izom	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

HT10316, HT10516:

Nem veszélyes anyag vagy keverék.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos baleset történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságoknak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a Használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Felhasználható		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr

Hivatkozások

- Conn’s Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory’s connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok és Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Átdolgozási előzmények

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnózishoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használatához. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Átdolgozási előzménytáblázat hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Návod k použití

Trichromová barviva (Gomori)

Postup č. HT10



Určené použití

Trichromová barviva (Gomori) jsou určena pro studium pojivové tkáně, svalů a kolagenových vláken. Trichromová barvicí činidla jsou určena pro diagnostické použití „in vitro“. Pouze pro profesionální použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu prokazují svalová a kolagenová vlákna ve vzorcích tkání z lidských vzorků. Tyto údaje mohou být při přezkoumání ve spojení s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice zesílení kolagenní tkáně spojené s poruchou funkce jater.

„Trichromové“ směsi barviv se používají především pro rozlišení kolagenu od svalové tkáně.¹ Obecně se skládají z jádrových, kolagenních a cytoplazmatických barviv v mořidlech, jako jsou kyseliny fosfowolframové nebo fosfomolybdenové. Historicky první trichromový systém byl připsán Mallorymu.^{2,3} Další úpravy byly představeny Massonem, Footem a Gomorim.^{3,4} Zde popsán postup je založen na práci Gomoriho a jedná se o jednokrokový systém kombinující směs cytoplazmatických barviv a barviv pojivových vláken v roztoku kyseliny fosfowolframové/kyseliny octové.⁴ Tkáňové řezy jsou ošetřeny Bouinovým roztokem pro zintenzivnění konečného zabarvení. Jádra jsou pak obarvena Weigertovým železitým hematoxylinem, následuje chromotrop 2R (směs barviv cytoplazmy a svalových vláken) a mořská zeleň (fast green) FCF nebo anilínová modř (směsi barviv kolagenových vláken). Opláchnutí v kyselině octové po barvení dělá odstíny barvy jemnější a průhlednější.⁴ Je zařazena Gomoriho trichromová barvicí technika pro rychlé barvení v mikrovlnných troubách.⁵⁻⁸

Činidla

Roztok trichromové směsi barviv LG (kat. č. HT10316-500ML)
Chromotrop 2R, 0,6% (m/V), C.I. 16570, mořská zeleň (fast green) FCF, (certifikovaná), 0,1% (m/V), C. I. 42053, kyselina fosfowolframová, 0,8% (m/V) a kyselina octová, 1,0% (V/V). Činidlo barví kolagen zeleně

Roztok trichromové směsi barviv AB (kat. č. HT10516-500ML)
Chromotrop 2R, 0,6% (m/V), C.I. 16570, anilínová modř (certifikovaná), 0,3% (m/V), C. I. 42780, kyselina fosfowolframová, 0,8% (m/V) a kyselina octová, 1,0% (V/V). Činidlo barví kolagen modře.

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- V každé zkoušce by měly být zařazeny pozitivní kontrolní preparáty, jako je Trichrome TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR012)
- 1N roztok kyseliny octové
- Bouinův roztok (kat. č. HT10132-1L nebo HT101128-4L) kyselina pikrová, 1%, formaldehyd, 9% a kyselina octová, 5%

Pouze pro standardní postup

- Sada Weigertova železitého hematoxylinu (kat. č. HT1079)
- Weigertův roztok železitého hematoxylinu, část A (kat. č. HT107-500ML) 1% certifikovaný hematoxylin v ethanolu
- Weigertův roztok železitého hematoxylinu, část B (kat. č. HT109-500ML), chlorid železitý 1,2% (m/V) a kyselina chlorovodíková, 1% (V/V)

Pouze pro mikrovlnný postup

- Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 (kat. č. GHS3-100ML)
- Scottův koncentrát náhražky vodovodní vody (kat. č. S5134-6x100ML)
- Mikrovlnná trouba

Skládování a stabilita

Roztoky trichromové směsi barviv, Bouinův roztok, Weigertův železitý hematoxylin, Trichrome TISSUE TROL™, roztok kyseliny octové a Scottův koncentrát a pracovní roztok náhražky vodovodní vody by měly být skladovány při pokojové teplotě (18–26 °C).

Činidla jsou stabilní do data spotřeby uvedeného na štítcích.

Pracovní roztok Weigertova železitého hematoxylinu by měl být připraven čerstvý pro každé použití.

Příprava

Roztoky trichromových barviv LG, AB a Bouinův roztok jsou připraveny k použití.

Weigertův pracovní roztok železitého hematoxylinu se připravuje smícháním stejných částí roztoku A a roztoku B.

Scottova náhražka vodovodní vody se připravuje zředěním 1 dílu Scottova koncentrátu náhražky vodovodní vody 9 díly deionizované vody.

Přípravte 0,5% kyselinu octovou zředěním 4,4 ml 1N kyseliny octové 45,6 ml vody.

Přípravte 1% kyselinu octovou zředěním 8,8 ml 1N kyseliny octové 41,2 ml vody.

Bezpečnostní opatření

Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pro diagnostické použití in vitro v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Kontrolní preparáty Trichrome TISSUE-TROL™ jsou vzorky lidské tkáně s obsahem kolagenu a svalové tkáně zalité v parafínu, které by měly být považovány za potenciálně infekční.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Lze použít jakýkoli dobře fixovaný parafinový řez o tloušťce 5 mikronů nebo méně.

Poznámky

Pokud používáte mikrovlnnou troubu, přečtěte si pokyny v Uživatelské příručce.

Postup

Standardní postup

1. Přípravte pracovní roztok Weigertova železitého hematoxylinu podle pokynů.
2. Odparafinujte skříčka a hydratujte je pomocí deionizované vody.
3. Umístěte skříčka s barvenými vzorky do přehřátého Bouinova roztoku při 56 °C na **15 minut** nebo při **pokojevé teplotě přes noc**.
4. Ochladte skříčka ve vodovodní vodě (18–26 °C) obsažené v Coplinově nádobě.
5. Promyjte v tekoucí vodovodní vodě a odstraňte tak žlutou barvu z řezů.
6. Proveďte barvení v pracovním roztoku Weigertova železitého hematoxylinu po dobu **5 minut**.
7. Vymývejte v tekoucí vodovodní vodě po dobu **5 minut**.
8. Proveďte barvení v roztoku trichromového barviva (LG nebo AB) po dobu **5 minut**.
9. Vložte do 0,5% kyseliny octové na **1 minutu**.
10. Opláchněte skříčka, dehydratujte přes alkohol, projasněte v xylenu a zamontujte.

Mikrovlnný postup

1. Odparafinujte skříčka a hydratujte je pomocí deionizované vody.
2. Vložte skříčka do **40 ml** Bouinova roztoku obsaženého v plastové Coplinově nádobě. Nádobu volně zakryjte víčkem nebo použijte víčka s odvětrávacím uzávěrem.
3. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **25 sekund**. Promíchejte roztok aplikační tyčinkou nebo pipetou Beral, poté **5 minut** inkubujte v digestoři nebo v dobře větraném prostoru.
4. Proplačujte tekoucí vodou z vodovodu, dokud nezmizí žlutá barva.
5. Vložte skříčka do **40 ml** roztoku hematoxylinu Gill č. 3 umístěného v plastové Coplinově nádobě.
6. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **5 sekund**.
7. Dobře proplačujte ve vodě z vodovodu po dobu **30 sekund až 1 minutu**.
8. Modřete ve Scottově náhražce vodovodní vody při **pokojevé teplotě**.
9. Dobře proplačněte tekoucí vodou z vodovodu.
10. Vložte skříčka do **40 ml** roztoku směsi trichromových barviv (LG nebo AB) umístěné v plastové Coplinově nádobě.
11. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **15 sekund**. Jemně promíchejte roztok pomocí aplikátoru nebo Beral pipety. Nechte inkubovat **1 minutu**.
12. Rychle proplačněte tekoucí vodou z vodovodu.
13. Vložte skříčka do 1% kyseliny octové na **30 sekund až 1 minutu** při pokojové teplotě.
14. Opláchněte skříčka, dehydratujte přes alkohol, projasněte v xylenu a zamontujte.

Pracovní charakteristiky

Cílová struktura	Výsledek barvení
Jádra	Modrá až černá
Kolagen	Zelená (LG) nebo modrá (AB)
Cytoplazma, sval	Červená

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
HT10316	Roztok trichromových barviv LG	Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT10516	Roztok trichromových barviv AB	Svalovina	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Svalovina	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

HT10316, HT10516:

Nejedná se o nebezpečnou látku nebo směs.

Pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahláste to výrobci a/nebo jeho autorizovanému zástupci a vašemu národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symboly definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si Návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVDR 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce

Reference

- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok a Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Historie revizí

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022

Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Přesunutí nápovědy k určení diagnózy do Určeného použití. Revidované Určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidána tabulka historie revizí. Přidána varování a rizika.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Trichrome-fargemidler (Gomori)

Prosedyrenr. HT10



Tiltenkt bruk

Trichrome-fargemidler (Gomori) er beregnet for bruk i studiet av bindevev, muskel- og kollagenfibre. Trichrome-fargemiddelreagenser er for "In-vitro-diagnostisk bruk". Kun for profesjonell bruk. Dataene hentet fra denne håndboken, kvalitativ prosedyre påviser muskel- og kollagenfibre i vevsprøver fra humane prøver. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og informasjon, kan de brukes som en hjelp til diagnostisering av økning i kollagenvev forbundet med leverdysfunksjon.

"Trikrom"-farger brukes først og fremst for å skille kollagen fra muskelvev.¹ Generelt består de av kjerne-, kollagen- og cytoplasmafargestoffer i beisemidler som fosforwolframsyre eller fosformolybdinsyre. Historisk sett ble det første trikromsystemet tilskrevet Mallory.^{2,3} Ytterligere modifikasjoner ble introdusert av Masson, Foot og Gomori.^{3,4} Prosedyren som er beskrevet her, er basert på arbeidet til Gomori og er et ett-trinnssystem som kombinerer cytoplasma- og bindefiberfarge i en fosforwolframsyre/eddiksyreløsning.⁴ Vevssnitt behandles med Bouins løsning for å intensivere den endelige fargen. Kjerner farges deretter med Weigerts jernhematoksylin, etterfulgt av kromotrop 2R (farger cytoplasma og muskelfibre) og hurtiggrønn FCF eller anilinblått (farger kollagenfibre). Skylling i eddiksyre etter farging gjør fargenyansene mer delikate og gjenomsiktige.⁴ Inkludert er en Gomori trikrom-fargingsteknikk for rask farging i mikrobølgeovner.⁵⁻⁸

Reagenser

Trichrome Stain LG-løsning (kat.nr. HT10316-500ML)
Kromotrop 2R, 0,6 % (vekt/volum), C.I. 16570, hurtiggrønn FCF, (sertifisert), 0,1 % (vekt/volum), C.I. 42053, fosforwolframsyre, 0,8 % (vekt/volum) og eddiksyre, 1,0 % (volum/volum). Reagensen farger kollagen grønt.

Trichrome Stain AB-løsning (kat.nr. HT10516-500ML)
Kromotrop 2R, 0,6 % (vekt/volum), C.I. 16570, anilinblå, (sertifisert), 0,3 % (vekt/volum), C.I. 42780, fosforwolframsyre, 0,8 % (vekt/volum) og eddiksyre, 1,0 % (volum/volum.) Reagensen farger kollagen blått.

Spesielle materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

- Positive kontrollglass, som Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR012), skal inkluderes i hver kjøring
- 1N eddiksyreløsning
- Bouins løsning (kat. nr. HT10132-1L eller HT101128-4L) pikrinsyre, 1 %, formaldehyd, 9 % og eddiksyre, 5 %

Kun for standardprosedyre

- Weigerts jernhematoksylinsett (kat.nr. HT1079)
- Weigerts jernhematoksylinløsning, del A (kat.nr. HT107-500ML) 1 % sertifisert hematoksylin i etanol
- Weigerts jernhematoksylinløsning, del B (kat.nr. HT109-500ML), jernklorid 1,2 % (vekt/volum) og saltsyre, 1 % (volum/volum)

Kun for mikrobølgeprosedyrer

- Hematoksylinløsning, Gill nr. 3 (Kat. Nr. GHS3-100ML)
- Scotts springvannsubstitutt-konsentrat (kat.nr. S5134-6x100ML)
- Mikrobølgeovn

Oppbevaring og stabilitet

Trichrome Stain-løsninger, Bouins løsning, Weigerts Iron Hematoxylin, Trichrome TISSUE TROL™, eddiksyreløsning, Scotts tappevannserstatningskonsentrat og Scotts tappevannserstatningsløsning bør oppbevares ved romtemperatur (18 – 26 °C).

Reagenser er stabile frem til utløpsdatoen som vises på etiketten.

Weigerts jernhematoksylin-arbeidsløsning skal klargjøres fersk for hvert bruk.

Klargjøring

Trichrome Stain LG-løsning, Trichrome Stain AB- og Bouins løsning er klare til bruk.

Weigerts jernhematoksylin-arbeidsløsning klargjøres ved å blande like deler av løsning A og løsning B.

Scotts springvannsubstitutt klargjøres ved å blande 1 del Scotts springvannsubstitutt med 9 deler avionisert vann.

Klargjør 0,5 % eddiksyre ved å fortynne 4,4 ml 1N eddiksyre med 45,6 ml vann.

Klargjør 1 % eddiksyre ved å fortynne 8,8 ml 1N eddiksyre med 41,2 ml vann.

Forsiktighetsregler

IVD-ene inkludert i dette settet er beregnet for in vitro-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. IVD-er fra Sigma-Aldrich kan betjenes av laboratoriepersonell med opplæring i å håndtere humane prøver som kan være smittefarlige, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr og ha tilstrekkelig fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre gjenstander under et mikroskop.

Vanlige forholdsregler ved håndtering av laboratoriereagenser skal følges. Kast avfall i henhold til lokale, statlige eller nasjonale forskrifter.

Trichrome TISSUE-TROL™-kontrollglass er parafininnstøpt humant vev som inneholder kollagen og muskelvev, og skal betraktes som potensielt smittefarlig.

Prosedyre

Prøveinnhenting

Ingen kjente testmetoder kan fullt ut garantere at blodprøver eller vev ikke vil overføre infeksjon. Derfor skal alle blodderivater eller vevsprøver betraktes som potensielt smittefarlige.

Enhver godt fiksert parafinsnitt kuttet ved 5 mikron eller mindre kan brukes.

Merknader

Hvis det brukes mikrobølgeovn, se brukerhåndboken for instruksjoner.

Prosedyre

Standardprosedyre

1. Klargjør Weigerts jernhematoksylin-arbeidsløsning i henhold til instruksjonene.
2. Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
3. Plasser objektglassene i forvarmet Bouins løsning ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **romtemperatur over natten**.
4. Avkjøl objektglassene i springvann (18–26 °C) i en Coplin-krukke.
5. Vask i rennende springvann for å fjerne gul farge fra snittene.
6. Farg i Weigerts jernhematoksylin-arbeidsløsning i **5 minutter**.
7. Vask i rennende springvann i **5 minutter**.
8. Farg i Trichrome-farge (LG eller AB)-løsning i **5 minutter**.
9. Legg i 0,5 % eddiksyre i **1 minutt**.
10. Skyll objektglassene, dehydrer gjennom alkohol, klarne dem i xylen og monter dem.

Mikrobølgeprosedyre

1. Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
2. Plasser objektglassene i **40 ml** Bouins løsning i en Coplin-krukke av plast. Dekk krukken løst med lokk eller bruk lokk med ventiltet kork.
3. Kjør i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**. Rør opp løsningen med applikatorpinne eller beralpipette og inkuber deretter i **5 minutter** i et avtrekksskap eller godt ventiltet område.
4. Skyll i rennende springvann til den gule fargen forsvinner.
5. Plasser objektglassene i **40 ml** hematoksylinløsning, Gill nr. 3, i en Coplin-krukke av plast.
6. Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt i 5 sekunder**.
7. Skyll godt i springvann i **30 sekunder til 1 minutt**.
8. Farg blått i Scotts springvannsubstitutt ved **romtemperatur**.
9. Skyll godt i rennende springvann.
10. Sett objektglassene i **40 ml** Trichrome Stain (LG eller AB)-løsning i en Coplin-krukke av plast.
11. Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt i 15 sekunder**. Rør forsiktig i løsningen med en applikatorpinne eller beralpipette. La den inkubere i **1 minutt**.
12. Skyll raskt i springvann.
13. Plasser objektglassene i 1 % eddiksyre i **30 sekunder til 1 minutt** ved romtemperatur.
14. Skyll objektglassene, dehydrer gjennom alkohol, klarne dem i xylen og monter dem.

Ytelsesegenskaper

Målstruktur	Fargingsresultat
Kjerner	Blå til svart
Kollagen	Grønn (LG) eller blå (AB)
Cytoplasma, muskel	Rød

Hvis de observerte resultatene avviker fra de forventede resultatene, skal du kontakte Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene utført på alle målstrukturer bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repetérbarhet.

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet
HT10316	Trichrome-fargings-LG-løsning	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT10516	Trichrome-fargings-AB-løsning	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

HT10316, HT10516:

Ikke et farlig stoff eller blanding.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under eller som følge av bruk av denne enheten, skal den rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant og til din nasjonale myndighet.

Symboldefinisjoner

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap/EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Brukes innen-dato		In-vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktig
	Produksjonsdato		Importør

Referanser

1. Conn's Biological Stains, 10. utg., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, s. 61
2. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2. utg., Mosby, St. Louis, (MO), 1980
3. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
4. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
5. Leong AS-Y, Millios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
8. Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
9. Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992

Kontaktinformasjon

Besøk nettstedet vårt på SigmaAldrich.com for å legge inn en bestilling. For teknisk service, besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice.

Revisjonshistorikk

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022
	Overført til ny mal med gjeldende merkevarebygging. Spesifisert for profesjonell bruk, for tiltenkt bruk og forholdsregler. Flyttet hjelp til diagnoseerklæring til tiltenkt bruk. Revidert tiltenkt bruk for å samsvare med IVDR-retningslinjene. Oppdatert materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdatert kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Lagt til kontaktinformasjon for uønskede hendelser. Lagt til en revisjonshistorikktabell. Lagt til advarsler og farer.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Kullanma Talimatı

Trikrom Boyalar (Gomori)

Prosedür No. HT10



Kullanım Amacı

Trikrom Boyaların (Gomori) bağ dokusu, kas ve kolajen liflerinin incelenmesinde kullanımı amaçlanır. Trikrom Boya reaktifleri "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel kalitatif prosedürden elde edilen veriler, insan numunelerinin doku örneklerinde kas ve kolajen liflerini gösterir. Bu veriler, diğer tanı testleri ve bilgilerle birlikte gözden geçirildiğinde karaciğer disfonksiyonuyla ilişkili kolajen doku artışı tanısına yardımcı olarak kullanılabilir.

"Trikrom" boyalar ana olarak kolajeni kas dokusundan ayırt etmek için kullanılır.¹ Genel olarak, fosfotungstik veya fosfomolibdük asit gibi mordanlardaki nükleer, kolajen ve sitoplazmik boyalardan oluşurlar. Tarihsel olarak, ilk trikrom sistemi Mallory'ye atfedilmiştir.^{2,3} Masson, Foot ve Gomori tarafından ek değişiklikler yapılmıştır.^{3,4} Burada açıklanan prosedür, Gomori'nin çalışmalarını temel alır ve bir fosfotungstik asit/asetik asit solüsyonu içinde sitoplazmik ve bağ lifi boyasını birleştiren tek adımlı bir sistemdir.⁴ Doku kesitleri, son renklenmeyi yoğunlaştırmak için Bouin solüsyonu ile işlenir. Çekirdekler daha sonra Weigert'in demir hematoksiliniyle, ardından kromotrop 2R (sitoplazma ve kas liflerini boyar) ve hızlı yeşil FCF veya anilin mavi (kolajen liflerini boyar) ile boyanır. Boyamadan sonra asetik asitle durulama, renk tonlarını daha hassas ve şeffaf hale getirir.⁴ Mikrodalga fırından hızlı boyama için bir Gomori trikrom boyama tekniği eklenmiştir.⁵⁻⁸

Reaktifler

Trikrom Boya LG Solüsyonu (Kat. No. HT10316-500ML)

Kromotrop 2R, %0,6 (a/h), C.I. 16570, hızlı yeşil FCF, (sertifikalı), %0,1 (a/h), C.I. 42053, fosfotungstik asit, %0,8 (a/h) ve asetik asit, %1,0 (h/h). Reaktif kolajeni yeşile boyar.

Trikrom Boya AB Solüsyonu (Kat. No. HT10516-500ML)

Kromotrop 2R, %0,6 (a/h), C.I. 16570, anilin mavi, (sertifikalı), %0,3 (a/h), C.I. 42780, fosfotungstik asit, %0,8 (a/h) ve asetik asit, %1,0 (h/h). Reaktif kolajeni maviye boyar.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Trichrome TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR012) gibi pozitif kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir.
- 1N Asetik Asit Solüsyonu
- Bouin Solüsyonu (Kat. No. HT10132-1L veya HT101128-4L) pikrik asit %1, formaldehit %9 ve asetik asit %5

Yalnızca Standart Prosedür İçin

- Weigert Demir Hematoksilin Seti (Kat. No. HT1079)
- Weigert Demir Hematoksilin Seti, Bölüm A (Kat. No. HT107-500ML) etanol içinde %1 sertifikalı hematoksilin
- Weigert Demir Hematoksilin Seti, Bölüm B (Kat. No. HT109-500ML), Ferrik klorür %1,2 (a/h) ve hidroklorik asit, %1 (h/h)

Yalnızca Mikrodalga Prosedürü İçin

- Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3 (Kat. No. GHS3-100ML)
- Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi (Kat. No. S5134-6x100ML)
- Mikrodalga Fırın

Saklama ve Stabilité

Trikrom Boya çözeltileri, Bouin çözeltisi, Weigert Demir Hematoksilin, Trichrome TISSUE TROL™, Asetik Asit çözeltisi, Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi ile Scott Musluk Suyu İkame Çalışma Çözeltisi oda sıcaklığında (18–26°C) saklanmalıdır.

Reaktifler, etikette gösterilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

Weigert Demir Hematoksilin Çalışma Solüsyonu her kullanımda yeniden hazırlanmalıdır.

Hazırlama

Trikrom Boya LG Solüsyonu, Trikrom Boya AB ve Bouin solüsyonu kullanıma hazırdır.

Weigert Demir Hematoksilin Çalışma Solüsyonu, Solüsyon A ve Solüsyon B'nin eşit ölçüde karıştırılmasıyla hazırlanır.

Scott Musluk Suyu İkamesi, 1 ölçü Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi 9 ölçü deiyonize su ile karıştırılarak hazırlanır.

4,4 mL 1N asetik asidi 45,6 mL su ile seyrelterek %0,5 Asetik Asit hazırlayın.

8,8 mL 1N asetik asidi 41,2 mL su ile seyrelterek %1 Asetik Asit hazırlayın.

Önlemler

Bu IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontrol lamaları, kolajen ve kas dokusu içeren parafine gömülü insan dokusudur ve potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan örneklerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

5 mikron veya daha küçük kesilen herhangi bir iyi fiksasyonlu parafin kesiti kullanılabilir.

Notlar

Mikrodalga fırın kullanılıyorsa talimatlar için lütfen ürünün Kullanım Kılavuzuna bakın.

Prosedür

Standart Prosedür

- Weigert Demir Hematoksilin Çalışma Solüsyonunu talimatlara göre hazırlayın.
- Lamları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamları **15 dakika** boyunca 56°C'de veya **gece boyunca oda sıcaklığında** önceden ısıtılmış Bouin Solüsyonu içine yerleştirin.
- Lamları bir Coplin kavanozunda musluk suyu (18–26°C) soğutun.
- Kesitlerdeki sarı rengi gidermek için akan musluk suyuyla yıkayın.
- Weigert Demir Hematoksilin Çalışma Solüsyonunda **5 dakika** boyunca boyama yapın.
- Akan musluk suyuyla **5 dakika** boyunca yıkayın.
- 5 dakika** boyunca Trikrom Boya (LG veya AB) Solüsyonunda boyama yapın.
- 1 dakika** boyunca %0,5 Asetik Asit içinde tutun.
- Lamları durulayın, alkolle dehidratlayın, ksilende temizleyin ve yerleştirin.

Mikrodalga Prosedürü

- Lamları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Bouin Solüsyonuna yerleştirin. Kavanozun kapağını gevşek bir şekilde kapatın veya havalandırmalı kapaklar kullanın.
- 25 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Solüsyonu aplikatör çubuğu veya beral pipet ile galkalayın ve ardından davlumbaz ya da iyi havalandırılan bir alanda **5 dakika** boyunca inkübe edin.
- Sarı renk kaybolana kadar akan musluk suyuyla durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Hematoksilin Solüsyonu Gill No. 3'e yerleştirin.
- 5 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Musluk suyuyla **30 saniye** ile **1 dakika** boyunca iyice durulayın.
- Oda sıcaklığında** Scott Musluk Suyu İkamesinde mavi renge boyayın.
- Akan musluk suyuyla iyice durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Trikrom Boya (LG veya AB) Solüsyonuna yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Bir aplikatör çubuğu veya beral pipet kullanarak solüsyonu hafifçe çalkalayın. **1 dakika** boyunca inkübe edin.
- Musluk suyuyla hızlıca durulayın.
- Lamları oda sıcaklığında **30 saniye** ile **1 dakika** boyunca %1 Asetik Asit içine yerleştirin.
- Lamları durulayın, alkolle dehidratlayın, ksilende temizleyin ve yerleştirin.

Performans Özellikleri

Hedef Yapı	Boyama Sonucu
Çekirdekler	Mavi - Siyah
Kolajen	Yeşil (LG) veya Mavi (AB)
Sitoplazma, Kas	Kırmızı

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahilliler Arası Özgüllük	Tahilliler Arası Duyarlılık
HT10316	Trikrom Boya LG Çözeltilisi	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kolajen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kas	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT10516	Trikrom Boya AB Çözeltilisi	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kolajen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kas	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

HT10316, HT10516:

Tehlikeli bir madde veya karışım değildir.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı

Referanslar

- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, s. 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
- Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
- Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2022

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Tanıya yardımcı ifadesi, kullanım amacı bölümüne aktarıldı. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Bir revizyon geçmişi tablosu eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.