

TILSIGTET ANVENDELSE

Sigma-Aldrichs trikromfarvestoffer (Gomori) er beregnet til anvendelse ved undersøgelse af bindevæv, muskel- og kollagenfibre. Trikromfarvereagenser er til in vitro diagnostisk brug.

Trikromfarvestoffer anvendes hovedsageligt til at skelne kollagen fra muskelvæv.¹ De består normalt af kerne-, kollagen- og cytoplasmafarvestoffer i bejdsestoffer, såsom phosphorwolframat- eller phosphormolybdensyre. Det første trikromsystem blev i sin tid tilskrevet Mallory.^{2,3} Masson, Foot og Gomori introducerede modificeringer deraf.^{3,4} Proceduren, der beskrives her, er baseret på Gomoris arbejde og er et et-trinssystem, der kombinerer cytoplasma- og bindevævsfibrerfarvestof til en phosphorwolframat- /eddikesyreopløsning.⁴ Vævssnit behandles med Bouins væske til intensivering af den endelige farvning. Kerner farves dernæst med Weigerts jernhematoxylin, efterfulgt af kromotrop 2R (der farver cytoplasma og muskelfibre) og fast green FCF eller anilinblå (der farver kollagenfibre). Ved skylning i eddikesyre efter farvningen bliver farvenuancerne finere og mere gennemsigtige.⁴ Der medfølger en trikrom farvningsteknik opfundet af Gomori til hurtig farvning i mikroov.^{5,6}

REAGENSER

TRIKROMFARVESTOF LG-OPLØSNING, katalognr. HT10-3-16

Kromotrop 2R, 0,6 % (vægt/vol), fast green FCF (certificeret), 0,1 % (vægt/vol), phosphorwolframat, 0,8 % (vægt/vol) og eddikesyre, 1,0 % (v/v). Reagenset farver kollagen grønt.

TRIKROMFARVESTOF AB-OPLØSNING, katalognr. HT10-5-16

Kromotrop 2R, 0,6 % (vægt/vol), anilinblå (certificeret), 0,3 % (vægt/vol), phosphorwolframat, 0,8 % (vægt/vol) og eddikesyre, 1,0 % (v/v). Reagenset farver kollagen blå.

OPBEVARING OG STABILITET:

Trikromfarveopløsninger, Bouins væske, Weigerts jernhematoxylin, trikrom TISSUE-TROL, eddikesyreopløsning og Scotts vandkoncentrat og brugsopløsning skal opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C).

Trikromfarveopløsninger, Bouins væske, Weigerts jernhematoxylin (del A og B), trikrom TISSUE-TROL, eddikesyreopløsning og Scotts vandkoncentrat og brugsopløsning er stabile indtil udløbsdatoen.

Weigerts jernhematoxylinbrugsopløsning bør være frisklavet, hver gang den skal bruges.

KLARGØRING:

Trikromfarvestof LG-opløsning, trikromfarvestof AB-opløsning og Bouins væske er klar til brug.

Weigerts jernhematoxylinopløsning klargøres ved blanding af lige dele opløsning A og B. Scotts vand klargøres ved at blande 1 del Scotts vandkoncentrat med 9 dele deioniseret vand.

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

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

FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatatablader for opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

Trikrome TISSUE-TROL-kontrolobjektglas er paraffinindstøbt humane vævssnit, der indeholder kollagen og muskelvæv. De skal behandles som potentielt infektiøse.

Amerikanske risiko- og sikkerhedserklæringer

Trikromfarvestof LG-opløsning – advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Trikromfarvestof AB-opløsning – advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Reagensalkohol er BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning. Målorganer: nerver og lever.

Xylen er BRÆNDBAR og SUNDHEDSSKADELIG. Risiko for nedsat frugtbarhed. Kan forårsage fosterskader. Farlig ved indånding og ved hudkontakt. Irriterer åndedrætsorganerne og huden. Risiko for alvorlig øjenskade. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Bouins væske er SUNDHEDSSKADELIG. Eksplosiv i tør tilstand. Farlig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Kan give allergi ved hudkontakt. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Må kun bruges på steder med god ventilation. Opbevares under lås og utilgængeligt for børn.

Weigerts jernhematoxylinopløsning, del A, er BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af

vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning. Målorganer: nerver og lever.

Weigerts jernhematoxylinopløsning, del B, er GIFTIG. Giftig ved indånding. Ættningsfare. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Gill hematoxylinopløsninger er SUNDHEDSSKADELIGE. Farlig ved indtagelse. Irriterer åndedrætsorganerne og huden. Risiko for alvorlig øjenskade. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning. Målorganer: lever og nyrer.

Scotts vand. Advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

1N eddikesyreopløsninger er ÆTSENDE. Alvorlig ættningsfare. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Målorganer: nyrer og tænder.

Risiko- og sikkerhedserklæringer i EU

Trikromfarvestof LG-opløsning – advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Trikromfarvestof AB-opløsning – advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Reagensalkohol er MEGET BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Meget brandfarlig. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Xylen er SUNDHEDSSKADELIGT. Brændbart. Farligt ved indånding og ved hudkontakt. Irriterer huden. Undgå kontakt med øjnene.

Bouins væske er SUNDHEDSSKADELIG. Eksplosiv i tør tilstand. Farlig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Kan give allergi ved hudkontakt. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Stoffet og materialet skal bortskaffes på forsvarlig vis. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker.

Weigerts jernhematoxylinopløsning, del A, er MEGET BRÆNDBAR og LOKALIRRITERENDE. Meget brandfarlig. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Gill hematoxylinopløsninger er SUNDHEDSSKADELIGE. Farlig ved indtagelse. Irriterer øjnene. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges.

Scotts vand. Advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

1N eddikesyreopløsninger. Undgå kontakt med huden og øjnene. Vid kontakt med huden, ta genast av alla nedstänkta kläder, tvätta med mycket vatten och kontakta läkare. Undgå indånding af dampe.

PROCEDURE

PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29-A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøver eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver behandles som potentielt infektiøse.

Alle velfikserede paraffinvævssnit skåret ved 5 mikron eller derunder kan bruges.

SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER:

Positive kontrolobjektglas, såsom Sigma trikrom TISSUE-TROL, katalognr. T 8800, skal medtages i hver kørsel

1N eddikesyreopløsning

Bouins væske, katalognr. HT10-1-32 eller HT10-1-128, mættet vandig pikrinsyre, 71 %, formaldehyd, 24 %, og eddikesyre, 5 %

KUN TIL NORMAL PROCEDURE:

Weigerts jernhematoxylinopløsning, katalognr. HT10-79

Weigerts jernhematoxylinopløsning, del A, katalognr. HT10-7, 1 % certificeret hematoxylin i ethanol

Weigerts jernhematoxylinopløsning, del B, katalognr. HT10-9, ferriklorid 1,2 % (vægt/vol) og saltsyre, 1 % (v/v)

KUN TIL PROCEDURE MED MIKROOVN:

Hematoxylinopløsning, Gill nr. 3, katalognr. GHS-3

Scotts vandkoncentrat, katalognr. S 5134

ACCUMATE™ H2100 mikroovn, katalognr. A 9084 (110 V) eller A 9209 (220 V)

BEMÆRKNINGER:

Se brugervejledningen for anvisninger vedrørende brug af Sigma-Aldrich H2100 mikroovn.

De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

PROCEDURE:

NORMAL PROCEDURE

1. Klargør brugsopløsning af Weigerts jernhematoxylin efter anvisningen på etiketten.
2. Afparaffiner objektglas, og hydrer til deioniseret vand.
3. Anbring objektglas i forvarmet Bouins væske ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **stuetemperatur natten over**.
4. Afkøl objektglassene i vandhanevand (**18–26 °C**) i en Coplin-skål.
5. Fjern gult farvestof fra vævssnittene ved at vaske dem under rindende vandhanevand.
6. Farv i Weigerts jernhematoxylin-brugsopløsning i **5 minutter**.

7. Vask under rindende vandhanevand i **5 minutter**.
8. Farv i trikromfarvestofopløsning (LG eller AB) i **5 minutter**.
9. Anbring i 0,5 % eddikesyre i **1 minut**.
10. Skyl objektglassene, dehydrer med alkohol, klar i xylene, og monter.

PROCEDURE MED ACCUMATE™ H2100 MIKROOVN

1. Aparaaffiner objektglas, og hydrer til deioniseret vand.
2. Anbring objektglassene i **40 ml** Bouins væske i en Coplin-skål af plast. Skålen dækkes delvist med låget, eller der anvendes perforerede låg.
3. Opvarm i mikroovn på **600 watt** i **25 sekunder**. Bland opløsningen med en applikatorpind eller pipette, og inkuber dernæst i **5 minutter** i et stinkskab eller et velventileret sted.
4. Skyl under rindende vandhanevand, til den gule farve forsvinder.
5. Anbring objektglassene i **40 ml** hematoxylinopløsning, Gill nr. 3, i en Coplin-skål af plast.
6. Opvarm i mikroovn på **800 watt** i **5 sekunder**.
7. Skyl grundigt med vandhanevand i **30 sekunder** til **1 minut**.
8. Blån i arbejdsopløsning af Scotts vand ved **stuetemperatur**.
9. Skyl godt under rindende vandhanevand.
10. Anbring objektglassene i **40 ml** trikromfarveopløsning (LG eller AB) i en Coplin-skål af plast.
11. Varmes i mikroovn på **800 watt** i **15 sekunder**. Bland forsigtigt opløsningen med en applikatorpind eller pipette. Inkuber i **1 minut**.
12. Skyl hurtigt med vandhanevand.
13. Anbring objektglassene i 1 % eddikesyre i **30 sekunder** til **1 minut** ved **stuetemperatur**.
14. Skyl objektglassene, dehydrer med alkohol, klar i xylene, og monter.

RESULTATKARAKTERISTIKA

Kerner	– Blå til sort
Kollagen	– Grønt (LG) eller blå (AB)
Cytoplasma, muskelvæv	– Rødt



Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes for yderligere hjælp.

HENVISNINGER

1. HJ Conn's Biological Stains, Edited by RD Lillie, 9th ed, Williams and Wilkins, Baltimore (MD), 1977
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
10. Davis Mary: The Joy of Microwaving, NSH 1995 Symposium, Buffalo, NY

Sigma-Aldrich, Inc. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel for yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedure nr. HT10
Tidligere revision: 2003-03
Revideret: 2003-09

  AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham, TW20 9BD Storbritannien

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Teknisk service: +1 314 771 3122
eller e-mail clintech@sial.com
Bestilling: +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland 49-7329-970