

VERWENDUNGSZWECK

Die Trichrom-Farbstoffe (Gomori) von Sigma-Aldrich werden bei der Untersuchung von Bindegewebe, Muskeln und Kollagenfasern verwendet. Die Trichromfarbstoff-Reagenzien dienen zur „In-vitro-Diagnostik“.

„Trichrom“-Farbstoffe werden primär zur Unterscheidung von Kollagen und Muskelgewebe verwendet.¹ Im Allgemeinen bestehen sie aus kollagenen und zytoplasmatischen Farbstoffen in Beizen wie Phosphorwolfräm- oder Phosphormolybdän-säure. Das erste Trichrom-System ist auf Mallory zurückzuführen.^{2,3} Weitere Modifikationen wurden von Masson, Foot und Gomori^{3,4} eingeführt. Das hier beschriebene Verfahren beruht auf Gomori und ist ein Einschritt-System, bei dem der Farbstoff des Zytoplasmas und des Bindegewebes in einer Phosphorwolframsäure/Essigsäure-Lösung kombiniert wird.⁴ Die Gewebeschnitte werden mit Bouins-Lösung behandelt, um die endgültige Färbung zu verstärken. Die Zellkerne werden dann mit Weigerts Eisen-Hämatoxylin, gefolgt von Chromotrop 2R (färbt Zytoplasma und Muskelfasern) und Fast Green FCF oder Anilinblau (färbt Kollagenfasern) gefärbt. Ein Spülen in Essigsäure nach der Färbung lässt die Abstufungen der Farben deutlicher und transparenter erscheinen.⁴ Dazu gehört eine Gomori Trichrom-Färbetechnik für ein schnelles Färbeverfahren in Mikrowellenherden.^{5,6}

REAGENZIEN

TRICHROM-FÄRBELOSLUNG LG, Bestell-Nr. HT10-3-16

Chromotrop 2R, 0,6 Gew.%, Fast Green FCF, (zertifiziert), 0,1 Gew.%, Phosphorwolframsäure, 0,8 Gew.%, und Essigsäure, 1,0 Vol.%. Das Reagenz färbt Kollagen grün.

TRICHROM-FÄRBELOSLUNG AB, Bestell-Nr. HT10-5-16

Chromotrop 2R, 0,6 Gew.%, Anilinblau, (zertifiziert), 0,3 Gew.%, Phosphorwolframsäure, 0,8 Gew.%, und Essigsäure, 1,0 Vol.%. Das Reagenz färbt Kollagen blau.

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Die Trichrom-Färbelösung, Bouins-Lösung, Weigerts Eisen-Hämatoxylin, Trichrome TISSUE-TROL, Essigsäure-Lösung und Scotts Leitungswasserersatz-Konzentrat und Arbeitslösung sollten bei Raumtemperatur (18–26 °C) gelagert werden.

Die Trichrom-Färbelösung, Bouins-Lösung, Weigerts Eisen-Hämatoxylin (Teile A und B), Trichrome TISSUE-TROL, Essigsäure-Lösung und Scotts Leitungswasserersatz-Konzentrat und Arbeitslösung sind bis zum Verfalldatum stabil.

Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Arbeitslösung sollte für jede Verwendung frisch zubereitet werden.

VORBEREITUNG:

Trichrom-Färbelösung LG, Trichrom-Färbelösung AB und Bouins-Lösung sind gebrauchsfertig.

Weigerts Eisen-Hämatoxylinlösung wird durch Mischen gleicher Mengen der Lösungen A und B zubereitet.

Der Scott-Leitungswasserersatz wird durch Mischen eines Volumens von Scotts Leitungswasserersatz-Konzentrat mit 9 Volumina entionisiertem Wasser zubereitet.

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

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

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Trichrome TISSUE-TROL Kontrollen sind in Paraffin eingebettetes menschliches Gewebe mit Kollagen und Muskelgewebe und sollten als potenziell infektiös behandelt werden.

US Gefahren- und Sicherheitsangaben

Trichrom-Färbelösung LG – Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Trichrom-Färbelösung AB – Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Reagenz-Alkohol ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Nerven und Leber.

Xylen ist ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Mögliches Risiko einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit. Schädigungen des ungeborenen Kindes möglich. Schädlich bei Einatmen und beim Kontakt mit der Haut. Reizt Atemwege und Haut. Gefahr ernster Augenschäden. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Bouins-Lösung ist SCHÄDLICH. In trockenem Zustand explosiv. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Kontakt mit der Haut kann zu einer Sensibilisierung führen. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Nur an gut durchlüfteten Orten verwenden. Verschlucken und außerhalb der Reichweite von Kindern aufbewahren.

Weigerts Eisen-Hämatoxylinlösung, Teil A, ist ENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Nerven und Leber.

Weigerts Eisen-Hämatoxylinlösung, Teil B, ist TOXISCH. Beim Einatmen toxisch. Verursacht Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

Die Gill Hämatoxylin-Lösungen sind SCHÄDLICH. Bei Verschlucken schädlich. Reizt die Atemwege und die Haut. Gefahr ernster Augenschäden. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Leber und Nieren.

Scotts Leitungswasserersatz. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

1 N Essigsäure-Lösungen sind ÄTZEND. Verursacht schwere Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Zielorgane: Nieren und Zähne.

EU Gefahren- und Sicherheitsangaben

Trichrom-Färbelösung LG – Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Trichrom-Färbelösung AB – Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Reagenz-Alkohol ist HOCHENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Xylen ist SCHÄDLICH. Entzündlich. Schädlich bei Einatmen und bei Kontakt mit der Haut. Reizt die Haut. Augenkontakt vermeiden.

Bouins-Lösung ist SCHÄDLICH. In trockenem Zustand explosiv. Schädlich bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Kontakt mit der Haut kann zu einer Sensibilisierung führen. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Dieses Material und dessen Behälter müssen auf sichere Weise entsorgt werden. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.

Weigerts Eisen-Hämatoxylinlösung, Teil A, ist HOCHENTZÜNDLICH und ein REIZMITTEL. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Eine geeignete Schutzkleidung tragen.

Die Gill Hämatoxylin-Lösungen sind SCHÄDLICH. Bei Verschlucken schädlich. Reizt die Augen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen.

Scotts Leitungswasserersatz. Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

1 N Essigsäure-Lösungen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Nach Kontakt mit der Haut sofort jegliche kontaminierte Kleidung ausziehen, sofort mit reichlich Wasser waschen und ärztlichen Rat einholen. Dämpfe nicht einatmen.

VERFAHREN

PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Es können sämtliche gut fixierten Paraffin-Schnitte von 5 Mikron oder weniger verwendet werden.

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

Für jeden Durchlauf sollten positive Kontrollobjektträger, wie Sigma Trichrome TISSUE-TROL, Bestell-Nr. T8800, miteinbezogen werden.

1 N Essigsäure-Lösung.

Bouins-Lösung, Bestell-Nr. HT10-1-32 oder HT10-1-128, gesättigte wässrige Pikrinsäure, 71 %, Formaldehyd, 24 %, und Essigsäure, 5 %

NUR FÜR STANDARDVERFAHREN:

Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Set, Bestell-Nr. HT10-79

Weigerts Eisen-Hämatoxylinlösung, Teil A, Bestell-Nr. HT10-7, 1 % zertifiziertes Hämatoxylin in Ethanol

Weigerts Eisen-Hämatoxylinlösung, Teil B, Bestell-Nr. HT10-9, Eisenchlorid 1,2 % (Gew.%) und Salzsäure, 1 % (Vol.%)

NUR FÜR MIKROWELLENVERFAHREN:

Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, Bestell-Nr. GHS-3

Scotts Leitungswasserersatz-Konzentrat, Bestell-Nr. S 5134

ACCUMATE™ H2100 Mikrowellenherd, Bestell-Nr. A 9084 (110 V) oder A 9209 (220 V)

HINWEISE:

Falls der Sigma-Aldrich H2100 Mikrowellenherd benutzt wird, bitte die in der Bedienungsanleitung enthaltenen Anweisungen beachten.

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

VERFAHREN:

STANDARDVERFAHREN:

1. Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Arbeitslösung entsprechend den Anweisungen auf dem Etikett zubereiten.
2. Die Objektträger entparaffinieren und zu entionisiertem Wasser hydrieren.
3. Die Objektträger in vorgewärmte Bouins-Lösung stellen, **15 Minuten** bei 56 °C oder bei **Raumtemperatur über Nacht**.
4. Die Objektträger in Leitungswasser (**18–26 °C**) in einer Coplin-Küvette abkühlen.
5. Unter fließendem Leitungswasser waschen, um die gelbe Farbe von den Schnitten zu entfernen.
6. **5 Minuten** in Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Arbeitslösung färben.
7. Unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** waschen.
8. In Trichrom-Färbelösung (LG oder AB) **5 Minuten** färben.
9. **1 Minute** in 0,5 % Essigsäure stellen.
10. Die Objektträger spülen, mit Alkohol dehydrieren, in Xylen klären und fixieren.

ACCUMATE™ H2100 MIKROWELLENVERFAHREN:

1. Die Objektträger entparaffinieren und zu entionisiertem Wasser hydrieren.
2. Die Objektträger in eine Coplin-Küvette mit **40 ml** Bouins-Lösung stellen. Den Deckel leicht aufsetzen oder Deckel mit Löcher verwenden.
3. In der Mikrowelle bei **600 Watt 25 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einem Applikatorstab oder einer Beralpipette rühren und dann **5 Minuten** unter einem Dunstabzug oder in einem gut durchlüfteten Raum inkubieren.
4. Unter fließendem Leitungswasser spülen, bis die gelbe Farbe verschwindet.
5. Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Plastik mit **40 ml** Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, stellen.
6. In der Mikrowelle bei **800 Watt 5 Sekunden** erhitzen.
7. In Leitungswasser **30 Sekunden bis 1 Minute** gut spülen.
8. In Scotts Leitungswasser-Arbeitsersatz bei **Raumtemperatur** blau färben.
9. Unter fließendem Leitungswasser gut spülen.
10. Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Trichrom-Färbelösung (LG oder AB) stellen.
11. In der Mikrowelle bei **800 Watt 15 Sekunden** erhitzen. Die Lösung behutsam mit einem Applikatorstab oder einer Beralpipette rühren. Die Objektträger **1 Minute** inkubieren lassen.
12. Schnell in fließendem Leitungswasser spülen.
13. Die Objektträger **30 Sekunden bis 1 Minute** bei **Raumtemperatur** in 1 % Essigsäure stellen.
14. Die Objektträger spülen, mit Alkohol dehydrieren, in Xylen klären und fixieren.

LEISTUNGSMERKMALE

Zellkerne	– Blau bis Schwarz
Kollagen	– Grün (LG) oder Blau (AB)
Zytoplasma, Muskel	– Rot

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

LITERATURANGABEN

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. Coulomb Press, Leyden. Leyden 1992
10. Davis Mary: The Joy of Microwaving, NSH 1995 Symposium, Buffalo, NY

Sigma-Aldrich, Inc. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. HT10
Vorherige Ausgabe: 2003-03
Revidiert: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765

Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122

oder Email an clintech@sial.com

Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970