

UTILIZAÇÃO PREVISTA

As colorações tricrómicas (Gomori) da Sigma-Aldrich foram concebidas para serem utilizadas no estudo das fibras do tecido conjuntivo, musculares e colagénias. Os reagentes de coloração tricrómica destinam-se à “utilização em diagnóstico in vitro”.

As colorações “tricrómicas” são utilizadas principalmente para distinguir o colagénio a partir do tecido muscular.¹ Em geral, estas colorações consistem em corantes nucleares, colagénios e citoplásmicos em mordentes como, por exemplo, o ácido fosfotúngstico ou ácido fosfomolibdico. Historicamente, o primeiro sistema tricrómico foi introduzido por Mallory.^{2,3} Posteriormente, foram apresentadas modificações por Masson, Foot e Gomori.^{3,4} O procedimento descrito neste documento baseia-se na obra de Gomori e consiste num sistema de apenas um só passo que combina a coloração citoplásmica e da fibra conjuntiva numa solução de ácido fosfotúngstico/ácido acético.⁴ As secções de tecido são tratadas em solução de Bouin para intensificar a coloração final. Em seguida, procede-se à coloração dos núcleos com hematoxilina férrica de Weigert, seguida por corante ácido vermelho (coloração do citoplasma e as fibras musculares) e verde resistente FCF ou anilina azul (coloração das fibras colagénias). A lavagem em ácido acético após a coloração torna as tonalidades da cor mais delicadas e transparentes.⁴ É incluída uma técnica de coloração tricrómica de Gomori para a coloração rápida em fornos microondas.^{5,6}

REAGENTES

SOLUÇÃO VERDE SUAVE DE COLORAÇÃO TRICRÓMICA, N.º de Catálogo HT10-3-16
Corante ácido vermelho, 0,6% (p/v), verde resistente FCF (certificado), 0,1% (p/v), ácido fosfotúngstico, 0,8% (p/v) e ácido acético, 1,0% (v/v). A coloração com o reagente resulta numa cor verde do colagénio.

SOLUÇÃO ANILINA AZUL DE COLORAÇÃO TRICRÓMICA, N.º de Catálogo HT10-5-16
Corante ácido vermelho, 0,6% (p/v), anilina azul (certificada), 0,3% (p/v), ácido fosfotúngstico, 0,8% (p/v) e ácido acético, 1,0% (v/v). A coloração com o reagente resulta numa cor azul do colagénio.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

As soluções de coloração tricrómica, solução de Bouin, hematoxilina férrica de Weigert, lâminas Trichrome TISSUE-TROL, solução de ácido acético, concentrado de substituto de “água canalizada de Scott” e a solução de trabalho deverão ser armazenados à temperatura ambiente (18–26°C).

As soluções de coloração tricrómica, solução de Bouin, hematoxilina férrica de Weigert (Partes A e B), lâminas Trichrome TISSUE-TROL, solução de ácido acético, concentrado de substituto de “água canalizada de Scott” e a solução de trabalho permanecerem estáveis até ao final do prazo de validade.

A solução de trabalho de hematoxilina férrica de Weigert deverá ser preparada fresca antes de cada utilização.

PREPARAÇÃO:

A solução LG (verde suave) de coloração tricrómica, solução AB (anilina azul) de coloração tricrómica e a solução de Bouin estão prontas a utilizar.

Para preparar a solução de trabalho de hematoxilina férrica de Weigert misturar partes iguais da solução A e da solução B.

É preparado um substituto de “água canalizada de Scott” misturando-se 1 parte de concentrado de substituto de “água canalizada de Scott” com 9 partes de água desionizada.

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

Preparar ácido acético a 1%, diluindo 8,8 mL de 1N ácido acético com 41,2 mL de água.

PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

As lâminas de controlo Trichrome TISSUE-TROL são lâminas de tecido humano embebidas em parafina que contém colagénio e tecido muscular, pelo que devem ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Declarações de riscos e segurança dos EUA

Solução LG de coloração tricrómica – Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

Solução AB de coloração tricrómica – Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

O álcool reagente é INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado. Órgãos alvo: Nervos e fígado.

O xilol é INFLAMÁVEL e NOCIVO. Possibilidade de risco de comprometimento da fertilidade. Pode ser prejudicial para o feto. Nocivo por inalação e em contacto com a pele. Irritante para as vias respiratórias e pele. Risco de lesões oculares graves. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

A solução de Bouin é NOCIVA. Explosiva no estado seco. Nociva por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Prova limitada de um efeito cancerígeno. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Utilizar apenas em áreas bem ventiladas. Guardar fechada à chave e fora do alcance das crianças.

A Solução de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, é INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado. Órgãos alvo: Nervos e fígado.

A Solução de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B, é TÓXICA. Tóxica por inalação. Provoca queimaduras. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

As soluções de hematoxilina de Gill são NOCIVAS. Nocivas em caso de ingestão. Irritante para as vias respiratórias e pele. Risco de lesões oculares graves. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado. Órgãos alvo: Fígado e rins.

Substituto de “água canalizada de Scott”. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

A solução de 1N ácido acético é CORROSIVA. Provoca queimaduras graves. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Órgãos alvo: Rins e dentes.

Declarações de riscos e segurança da UE

Solução LG de coloração tricrómica – Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

Solução AB de coloração tricrómica – Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

O álcool reagente é ALTAMENTE INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Altamente inflamável. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

O xilol é NOCIVO. Inflamável. Nocivo por inalação e em contacto com a pele. Irritante para a pele. Evitar o contacto com os olhos.

A solução de Bouin é NOCIVA. Explosiva no estado seco. Nociva por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Prova limitada de um efeito cancerígeno. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Deitar fora este produto e o seu recipiente com a devida precaução. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

A Solução de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, é ALTAMENTE INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Altamente inflamável. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

As soluções de hematoxilina de Gill são NOCIVAS. Nocivas em caso de ingestão. Irritante para os olhos. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico.

Substituto de “água canalizada de Scott”. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

Soluções de 1N ácido acético. Evitar o contacto com a pele e os olhos. Em caso de contacto com a pele, retirar imediatamente toda a roupa contaminada, lavar a zona afectada imediata e abundantemente com água e procurar assistência médica. Não respirar os vapores.

PROCEDIMENTO

COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

É possível utilizar uma secção bem fixada em parafina cortada em 5 micron ou menos.

MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

As lâminas de controlo positivo, como as Sigma Trichrome TISSUE-TROL, N.º de Catálogo T 8800, devem ser incluídas em cada execução.

Solução de 1N ácido acético

Solução de Bouin, N.º de Catálogo HT10-1-32 ou HT10-1-128, ácido pírico aquoso saturado, 71%, formaldeído, 24% e ácido acético, 5%

APENAS APLICÁVEL AO PROCEDIMENTO STANDARD:

Conjunto de hematoxilina férrica de Weigert, N.º de Catálogo HT10-79

Solução de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A, N.º de Catálogo HT10-7, hematoxilina a 1% certificada em etanol

Solução de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B, N.º de Catálogo HT10-9, cloreto férrico a 1,2% (p/v) e ácido clorídrico, 1% (v/v)

APENAS APLICÁVEL AO PROCEDIMENTO PARA MICROONDAS:

Solução de hematoxilina, N.º 3 de Gill, N.º de Catálogo GHS-3

Concentrado de substituto de "água canalizada de Scott", N.º de Catálogo S 5134

Forno microondas H2100 ACCUMATE™, N.º de Catálogo A 9084 (110 v) ou A 9209 (220 v)

NOTAS:

Se for utilizado o forno microondas H2100 da Sigma-Aldrich, consultar o Manual do Utilizador para obter as instruções.

Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

PROCEDIMENTO:

PROCEDIMENTO STANDARD

1. Preparar a solução de trabalho de hematoxilina férrica de Weigert de acordo com as instruções no rótulo.
2. Desparafinar as lâminas e hidratar em água desionizada.
3. Colocar as lâminas em solução de Bouin pré-aquecida a 56°C durante **15 minutos** ou à **temperatura ambiente de um dia para o outro**.
4. Arrefecer as lâminas em água da torneira (**18–26°C**) contida numa jarra de Coplin.
5. Lavar em água corrente para retirar a cor amarela das secções.
6. Corar na solução de trabalho de hematoxilina férrica de Weigert durante **5 minutos**.
7. Lavar em água corrente durante **5 minutos**.
8. Corar em solução de coloração tricrómica (LG ou AB) durante **5 minutos**.
9. Colocar em ácido acético a 0,5% durante **1 minuto**.
10. Lavar as lâminas, desidratar em álcool, limpar em xilol, e montar.

PROCEDIMENTO NO FORNO MICROONDAS H2100 ACCUMATE™

1. Desparafinar as lâminas e hidratar em água desionizada.
2. Colocar as lâminas em **40 mL** de solução de Bouin contida numa jarra de Coplin plástica. Cobrir folgadoamente a jarra com a tampa ou utilizar tampas ventiladas.
3. Colocar no microondas a **600 watts** durante **25 segundos**. Misturar a solução com uma haste aplicadora ou pipeta de beral e, em seguida, incubar durante **5 minutos** num sistema de aspiração ou numa área bem ventilada.
4. Lavar em água corrente até que a cor amarela desapareça.
5. Colocar as lâminas em **40 mL** de solução de hematoxilina N.º 3 de Gill, contida numa jarra de Coplin plástica.
6. Colocar no microondas a **800 watts** durante **5 segundos**.
7. Lavar bem em água da torneira durante **30 segundos a 1 minuto**.
8. Passar por corante azul em solução de trabalho de substituto de "água canalizada de Scott" à **temperatura ambiente**.
9. Lavar bem em água corrente.
10. Colocar as lâminas em **40 mL** de solução de coloração tricrómica (LG ou AB) contida numa jarra de Coplin plástica.
11. Colocar no microondas a **800 watts** durante **15 segundos**. Misturar cuidadosamente a solução com uma haste aplicadora ou pipeta de beral. Deixar incubar durante **1 minuto**.
12. Passar rapidamente por água da torneira.
13. Colocar as lâminas em ácido acético a 1% durante **30 segundos a 1 minuto** à **temperatura ambiente**.
14. Lavar as lâminas, desidratar em álcool, limpar em xilol, e montar.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Núcleos	- Azuis a pretos
Colagénio	- Verde (LG) ou azul (AB)
Citoplasmas, músculo	- Vermelhos

Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

BIBLIOGRAFIA

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

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º HT10
Revisão Anterior: 2003-03
Revisto: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Assistência Técnica: chamada paga no destino +1 314 771 3122

ou endereço de correio electrónico: clintech@sial.com

Para encomendar: chamada paga no destino +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Alemanha 49-7329-970