

AVSEDD ANVÄNDNING

Sigma-Aldrich Trikromfärger (Gomori) är avsedda för studie av bindvävs-, muskel- och kollagenfibrer. Trikromreagenser är avsedda för "in vitro-diagnostik".

"Trikrom"-färger används huvudsakligen för att särskilja kollagen från muskelvävnad.¹ De består vanligen av kärn-, kollagen- och cytoplasmiska färger i betningsmedel som t.ex. fosforvolfram- eller fosfomolybdensyra. Historiskt sett tillskrevs Mallory det första trikromsystemet.^{2,3} Vidare modifieringar introducerades av Masson, Foot och Gomori.^{3,4} Den procedur som beskrivs här är baserad på Gomoris arbete och är ett system i ett steg som kombinerar de cytoplasmiska och bindvävsfibrerna i en fosforvolframsyra/ättiksyralösning.⁴ Vävnadssnitt behandlas med Bouins lösning för att intensivifiera den slutliga färgningen. Kärnorna färgas sedan med Weigerts järnhematoxylin, följt av kromotrop 2R (färgar cytoplasma och muskelfibrer) och fast green FCF eller anilinblått (färgar kollagenfibrer). Sköljning i ättiksyra efter färgning gör färgnyanserna skarpare och mer transparenta.⁴ En Gomori trikromfärgningsteknik för snabb färgning i mikrovågsugn inkluderas.⁵⁻⁶

REAGENSER

TRIKROMFÄRG LJUSGRÖN LÖSNING, katalognummer HT10-3-16
Kromotrop 2R, 0,6 % (v/v), fast green FCF (certifierad), 0,1 % (v/v), fosforvolframsyra, 0,8 % (v/v) och ättiksyra, 1,0 % (v/v). Reagensen färgar kollagen grönt.

TRIKROMFÄRG ANILINBLÅTT-LÖSNING, katalognummer HT10-5-16
Kromotrop 2R, 0,6 % (v/v), anilinblått, (certifierat), 0,3 % (v/v), fosforvolframsyra, 0,8 % (v/v) och ättiksyra, 1,0 % (v/v). Reagensen färgar kollagen blått.

FÖRVARING OCH STABILITET:

Trikromfärglösningar, Bouins lösning, Weigerts järnhematoxylin, Trikrom TISSUE-TROL, ättiksyralösning och Scotts koncentrerade och bruksfärdiga kranvattensättning kan förvaras i rumstemperatur (18–26 °C).

Trikromfärglösningar, Bouins lösning, Weigerts järnhematoxylin (del A och B), Trikrom TISSUE-TROL, ättiksyralösning och Scotts koncentrerade och bruksfärdiga kranvattensättning är stabila tills utgångsdatumet.

Weigert järnhematoxylinlösning bör beredas färsk för varje användning.

BEREDNING:

Trikromfärg Ljusgrön lösning, Trikromfärg anilinblått och Bouins lösning är bruksfärdiga. Weigerts järnhematoxylinlösning bereds genom att blanda lika delar av lösning A och lösning B.

Scotts kranvattensättning framställs genom att blanda 1 del Scotts kranvattensättningskoncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

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

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

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER:

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser ska iakttas. Kassera avfall enligt lokala lagar och bestämmelser. Se Faktatablad om materialsäkerhet för uppdaterad information om risker, faror eller säkerhet.

Trikrom TISSUE-TROL kontrollobjektglas är paraffinbäddade humana vävnadssnitt som innehåller kollagen och mukelvävnad och bör betraktas som potentiellt smittsamma.

Amerikanska risk- och säkerhetsbestämmelser

Trikromfärg Ljusgrön lösning – försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

Trikromfärg Anilinblått lösning – försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

Reagensalkohol är BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder. Målorgan: nerver och lever.

Xylen är BRANDFARLIGT och FARLIGT. Möjlig risk för nedsatt fortplantningsförmåga. Kan ge fosterskador. Farligt vid inandning och hudkontakt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Risk för svåra ögonskador. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Bouins lösning är FARLIG. Explosiv i torrt tillstånd. Skadlig vid inandning, hudkontakt och förtäring. Misstänks kunna ge cancer. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Weigerts järnhematoxylinlösning, del A, är BRANDFARLIG och IRRITERANDE. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder. Målorgan: nerver och lever.

Weigerts järnhematoxylinlösning, del B, är GIFTIG. Giftig vid inandning. Frätande. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Gill hematoxylinlösningar är FARLIGA. Farligt vid förtäring. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Risk för svåra ögonskador. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder. Målorgan: lever och njurar.

Scotts kranvattensättning Försiktighetsåtgärder: substansen är inte fullständigt testad ännu.

1N ättiksyralösningar är FRÅTANDE. Starkt frätande. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Målorgan: njurar och tänder.

Risk- och säkerhetsbestämmelser enligt EU

Trikromfärg Ljusgrön lösning – försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

Trikromfärg anilinblått lösning – försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

Reagensalkohol är MYCKET BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Mycket brandfarligt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Xylen är FARLIGT. Brandfarligt. Farligt vid inandning och hudkontakt. Irriterar huden. Undvik kontakt med ögonen.

Bouins lösning är FARLIG. Explosiv i torrt tillstånd. Skadlig vid inandning, hudkontakt och förtäring. Misstänks kunna ge cancer. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Produkt och förpackning skall oskadliggöras på säkert sätt. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.

Weigerts järnhematoxylinlösning, del A, är MYCKET BRANDFARLIG och IRRITERANDE. Mycket brandfarligt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Gill hematoxylinlösningar är FARLIGA. Farligt vid förtäring. Irriterar ögonen. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare.

Scotts kranvattensättning Försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

1N ättiksyralösningar. Undvik kontakt med hud och ögon. Vid kontakt med huden, ta genast av alla nedstänkta kläder, tvätta med mycket vatten och kontakta läkare. Undvik inandning av ångor.

PROCEDUR

PROVTAGNING:

Provtagningen bör utföras i enlighet med NCCLS dokument M29-A2. Ingen känd testmetod ger fullständig garanti för att blodprov eller vävnad inte överför infektion. Alla blodderivat eller vävnadsprov bör därför anses vara potentiellt smittsamma.

Alla välfixerade paraffinsnitt, som skurits till högst 5 mikroner, kan användas.

SPECIELLA MATERIAL SOM BEHÖVS, MEN INTE MEDFÖLJER:

Positiva kontrollobjektglas, som t.ex. Sigma Trichrome TISSUE-TROL, katalognummer T 8800, bör inkluderas i varje körning
1N ättiksyralösning

Bouins lösning, katalognummer HT10-1-32 eller HT10-1-128, mättad, vattenhaltig pikrinsyra, 71 %, formaldehyd, 24 % och ättiksyra, 5 %

ENDAST FÖR STANDARDPROCEDUR:

Weigerts järnhematoxylinlösning, katalognummer HT10-7-9

Weigerts järnhematoxylinlösning, del A, katalognummer HT10-7, 1 % certifierat hematoxylin i etanol

Weigerts järnhematoxylinlösning, del B, katalognummer HT10-9, järnklorid 1,2 % (vikt/voly) och saltsyra, 1 % (voly/voly)

Endast för mikrovågsprocedur:

Hematoxylinlösning, gillnummer 3, katalognummer GHS-3

Scotts kranvattensättningskoncentrat, katalognummer S 5134

ACCUMATE™ H2100 mikrovågsugn, katalognummer A 9084 (110 v) eller A 9209 (220 v)

ANMÄRKNINGAR:

Om Sigma-Aldrich H2100 mikrovågsugn används, läs bruksanvisningen.

Data som erhållits från denna procedur tjänar endast som ett hjälpmedel vid diagnos och bör granskas tillsammans med andra kliniska, diagnostiska tester eller information.

PROCEDUR:

STANDARDPROCEDUR

1. Bered Weigerts järnhematoxylinlösning enligt anvisningarna på etiketten.
2. Avparaffinera objektglaset och hydratisera till avjoniserat vatten.
3. Placera objektglaset i förvärd Bouins lösning vid 56 °C i **15 minuter** eller vid **rumstemperatur över natten**.
4. Kyl objektglaset i kranvatten (**18–26 °C**) i en Coplin-burk av plast.
5. Tvätta i rinnande kranvatten för att avlägsna gul färg från snitten.
6. Färga i arbetslösning av Weigerts järnhematoxylin i **5 minuter**.
7. Tvätta i rinnande kranvatten i **5 minuter**.
8. Färga i Trikromfärg (ljusgrön eller anilinblått) i **5 minuter**.
9. Placera i 0,5 % ättiksyra i **1 minut**.
10. Skölj objektglaset, dehydrera genom alkohol, rena i xylen och montera.

ACCUMATE™ H2100 MIKROVÅGSPROCEDUR

1. Avparaffinera objektglaset och hydratisera till avjoniserat vatten.
2. Placera objektglaset i **40 ml** Bouins lösning i en Coplin-burk av plast. Täck burken med ett löst liggande lock, eller använd lock med ventilationslock.
3. Värm i mikrovågsugn på **600 watt i 25 sekunder**. Agitera lösningen med applikator eller beralpipett och inkubera därefter i **5 minuter** i ett dragskåp eller på en plats med god ventilation.

- Skölj i rinnande kranvatten tills den gula färgen försvinner.
- Placera objektglasen i **40 ml** hematoxylinlösning, gillnummer 3, i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsugn på **800 watt** i **5 sekunder**.
- Skölj väl i kranvatten i **30 sekunder** till **1 minut**.
- Blåna i bruksfärdig Scotts kranvattensättning i **rumstemperatur**.
- Skölj ordentligt i rinnande kranvatten.
- Placera objektglasen i **40 ml** Trikrömfärg (ljusgrön eller anilinblått) i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsugn på **800 watt** i **15 sekunder**. Agitera lösningen försiktigt med användning av en applikator eller beralpipett. Inkubera i **1 minut**.
- Skölj hastigt i kranvatten.
- Placera objektglasen i 1 % ättiksyra i **30 sekunder** till **1 minut** i **rumstemperatur**.
- Skölj objektglasen, dehydrera genom alkohol, rena i xylen och montera.

PRESTANDAEGENSKAPER

Kärnor	- Blåa till svarta
Kollagen	- Grönt (ljusgrönt) eller blått (anilinblått)
Cytoplasma muskel	- Rött

Om observerade resultat skiljer sig från förväntade resultat, kontakta Sigma-Aldrich tekniska service för assistans.

REFERENSER

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

Sigma-Aldrich, Inc. garanterar att deras produkter överensstämmer med informationen i denna och andra Sigma-Aldrich-publikationer. Kunden måste avgöra produktens(ernas) lämplighet för deras speciella användning. Ytterligare villkor kan gälla. Se baksidan av fakturan eller packsedeln för ytterligare försäljningsvillkor.

Procedurnummer HT10
Föregående revidering: 2003-03
Reviderad: 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: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 3122

eller e-post till clintech@sial.com

För beställningar: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland +49-7329-970