

## FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Sigma-Aldrich Trichrome Stains (Gomori) a kötőszövetek, az izom és a kollagén szövetek tanulmányozása során használt. A Trichrome Stain reagensok in vitro diagnosztikai felhasználásra javalltak.

A "Trichrome" festékeket elsősorban a kollagén és izom szövetek megkülönböztetésére használják. Általában, atommag-, kollagén- és citoplazmikus festékekből áll a pácban, mint pl. a foszfovolfrám- vagy foszformolibdén-sav. Történelmileg az első trikrom rendszert Mallory-nak tulajdonítják.<sup>2,3</sup> További módosításokat vezetett be Masson, Foot és Gomori.<sup>3,4</sup> Az itt leírt eljárás Gomori munkáján alapul és ez egy egy lépéses rendszer, mely a citoplazmikus és kötőszöveti festést kombinálja egy foszfovolfrám-sav/ecetsav oldatban.<sup>4</sup> A szövetmetszetet Bouin oldattal kezelik a végső szín intenzívebbé tételéhez. Az atommagokat ezután Weigert féle vas-hematoxilinnal festik, majd kromotróp 2R-rel (a citoplazmát és az izomszöveteket festi) és fast green FCF-fel vagy anilin-kékkel (a kollagén szöveteket festi). A festés utáni ecetsavas öblítés a színránylatot finomabbá és átlátszóbbá teszi.<sup>4</sup> Tartalmaz egy Gomori trikrom festési technikát a gyors, mikrohullámú sütőben történő festéshez.<sup>5-8</sup>

## REAGENSEK

### TRICHROME STAIN LG SOLUTION, Katalógus szám: HT10-3-16

Kromotróp 2R, 0,6 % (w/v), fast green FCF, (igazolt), 0,1 % (w/v), foszfovolfrám-sav, 0,8 % (w/v) és ecetsav, 1,0 % (v/v). A reagens a kollagént zöldre festi.

### TRICHROME STAIN AB SOLUTION, Katalógus szám: HT10-5-16

Kromotróp 2R, 0,6 % (w/v), anilin-kék, (igazolt), 0,3 % (w/v), foszfovolfrám-sav, 0,8 % (w/v) és ecetsav, 1,0 % (v/v). A reagens a kollagént kékre festi.

### TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:

A Trichrome Stain oldatok, a Bouin oldat, a Weigert's Iron Hematoxylin, a Trichrome TISSUE-TROL, az ecetsav oldat és a Scott's Tap Water Substitute Concentrate és a munkaoldat szobahőmérsékleten tárolandó (18–26 °C).

A Trichrome Stain oldatok, a Bouin oldat, a Weigert's Iron Hematoxylin, a Trichrome TISSUE-TROL, az ecetsav oldat és a Scott's Tap Water Substitute Concentrate és a munkaoldat a feltüntetett lejárati ideig felhasználható.

A Weigert's Iron Hematoxylin munkaoldat minden használat előtt frissen készíthető.

### ELŐKÉSZÍTÉS:

A Trichrome Stain LG Solution, Trichrome Stain AB és a Bouin oldat használatra kész. A Weigert's Iron Hematoxylin oldatot egyenlő mennyiségű Solution A és Solution B összekeverésével készítik.

A Scott's Tap Water Substitute-t egy rész Scott's Tap Water Substitute Concentrate és 9 rész ioncserélt víz összekeverésével készítik.

Készítsenek 0,5 % ecetsavat 4,4 ml ecetsavat 45,6 ml vízzel történő hígításával.

Készítsenek 1 % ecetsavat 8,8 ml ecetsavat 41,2 ml vízzel történő hígításával.

### ÖVINTÉZKEDÉSEK:

A laboratóriumi reagensekkel történő munka során a szokásos óvintézkedéseket be kell tartani. Hulladék-megsemmisítés az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével. A legfrissebb kockázati, veszély vagy biztonsági információkat lásd az Anyagbiztonsági adatlapban.

A Trichrome TISSUE-TROL kontroll lemezek paraffinba ágyazott, kollagén és izom szöveteket tartalmazó emberi szövetek, melyek esetlegesen fertőzőnek tekintendők.

### US Kockázati és biztonsági mondatok

Trichrome Stain LG Solution - Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

Trichrome Stain AB Solution - Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

A reagens alkohol GYÚLÉKONY és IRRITATÍV. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni. Célszervek: Idegek és máj.

A xilol GYÚLÉKONY és ÁRTALMAS. A fertilitást (fogamzóképeséget vagy nemzőképeséget) károsíthatja. A születendő gyermekre ártalmas lehet. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. Bőrizgató hatású, izgatja a légutakat. Súlyos szemkárosodást okozhat. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Bouin oldat ÁRTALMAS. Száraz állapotban robbanásveszélyes. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve ártalmas. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Jól szellőző helyen tartandó. Elzárva és gyermekek számára hozzáférhetetlen helyen tartandó.

A Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A, GYÚLÉKONY és IRRITATÍV. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni. Célszervek: Idegek és máj.

A Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part B, MÉRGEZŐ. Belélegezve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve

arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Gill Hematoxylin Solutions ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas. Bőrizgató hatású, izgatja a légutakat. Súlyos szemkárosodást okozhat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni. Célszervek: Máj és vesék.

Scott's Tap Water Substitute Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

Az 1M ecetsav oldat MARÓ. Súlyos égési sérülést okoz. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Célszervek: Vesék és fogak.

### EU Kockázati és biztonsági mondatok

Trichrome Stain LG Solution - Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

Trichrome Stain AB Solution - Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

A reagens alkohol RENDKÍVÜL GYÚLÉKONY és IRRITATÍV. Rendkívül gyúlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A xilol ÁRTALMAS. Gyúlékony. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. Bőrizgató hatású. Kerülni kell a szembejutást.

A Bouin oldat ÁRTALMAS. Száraz állapotban robbanásveszélyes. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve ártalmas. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Az anyagot és az edényzetét megfelelő módon ártalmatlanítani kell. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni.

A Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A, RENDKÍVÜL GYÚLÉKONY és IRRITATÍV. Rendkívül gyúlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A Gill Hematoxylin Solutions ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas. Szemizgató hatású. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni, és orvoshoz kell fordulni.

Scott's Tap Water Substitute Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

1 M ecetsav oldat. Kerülni kell a bőrrel való érintkezést és a szembejutást. Ha az anyag a bőrre jut, a szennyezett ruhát rögtön le kell vetni és a bőrt kellő mennyiségű...-val/-vel azonnal le kell mosni (az anyagot a gyártó határozza meg). A keletkező gőzt nem szabad belélegezni.

## ELJÁRÁS

### MINTA BEGYŰJTÉSE:

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2 NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmiféle vizsgálati módszer nem ismert, mely teljes bizonyossággal kimutathatja, hogy a vérminták vagy a szövet nem terjeszt fertőzést. Ezért, minden vér származék vagy szövetminta esetlegesen fertőzőnek tekintendő.

Bármilyen paraffinban fixált, 5 mikronnál vagy kevesebbnél elvágott metszet használható.

### SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK:

Posztív kontroll lemezek, pl. Sigma Trichrome TISSUE-TROL, katalógus szám: T 8800 futtatandók minden menetben.

1 M ecetsav oldat.

Bouin's Solution, katalógus szám: HT10-1-32 vagy HT10-1-128, telített vizes pikrinsav, 71 %, formaldehid, 24 % és ecetsav, 5 %

### CSAK A SZABVÁNYOS ELJÁRÁSHOZ:

Weigert's Iron Hematoxylin Set, katalógus szám: HT10-79

Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A, katalógus szám: HT10-7, 1 % igazolt hematoxilinnal etanolban

Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part B, katalógus szám: HT10-9, vas(III)-klorid 1,2 % (w/v) és sósav, 1 % (v/v)

### CSAK A MIKROHULLÁMÚ ELJÁRÁSHOZ:

Hematoxylin Solution, Gill No. 3, katalógus szám: GHS-3

Scott's Tap Water Substitute Concentrate, katalógus szám: S 5134

ACCUMATE™ H2100 Microwave Oven, katalógus számok: A 9084 (110 v) vagy A 9209 (220 v)

### MEGJEGYZÉSEK:

Ha Sigma-Aldrich H2100 Microwave Oven-t használnak, lásd a Tulajdonosi kézikönyvet.

Jelen eljárás során kapott adatok csak segítségként szolgálnak és azokat egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell nézni.

### ELJÁRÁS:

#### SZABVÁNYOS ELJÁRÁS

- A címke utasításai szerint készítsék elő a Working Weigert's Iron Hematoxylin Solution-t.
- Paraffinmentesítsék a tárgylemezeket és hidratálják ioncserélt vízzel.
- Helyezték a tárgylemezeket előmelegített Bouin oldatba 56 °C-on 15 percig vagy szobahőmérsékleten egy éjszakára.
- Hűtsék le a tárgylemezeket csapvízben (18–26 °C) mely Coplin edényben van.
- Mossák le folyó csapvízben a sárga szín eltávolításához a metszetekből.
- Fessék Working Weigert's Iron Hematoxylin Solution-ban 5 percig.
- Mossák folyó csapvízben 5 percig.
- Fessék Trichrome Stain (LG vagy AB) Solution-ban 5 percig.
- Helyezték 0,5 % ecetsavba 1 percig.
- Öblítsék le a tárgylemezeket, dehidratálják alkoholban, derítsék xilolban és fedjék le.

## ACCUMATE™ H2100 MICROWAVE ELJÁRÁS

1. Paraffinmentesítsék a tárgylemezeket és hidratálják ioncserélt vízzel.
2. Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Bouin oldatba. Lazán fedjék le az edényt fedéllel, vagy használjanak szellőző kupakos fedelet.
3. Mikrohullámozzák **600 watton 25 másodpercig**. Keverjék fel az oldatot applikátor bottal vagy beral pipettával, majd inkubálják **5 percig** füstelszívóval rendelkező vagy jól szellőző területen.
4. Öblítsék folyó csapvízzel, amíg a sárga szín el nem tűnik.
5. Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Hematoxylin Solution, Gill No. 3 oldatba.
6. Mikrohullámozzák **800 watton 5 másodpercig**.
7. Alaposan öblítsék le csapvízben **30 másodpercig–1 percig**.
8. Kékvéríték Working Scott's Tap Water Substitute-ban szobahőmérsékleten.
9. Alaposan öblítsék le folyó csapvízben.
10. Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Trichrome Stain (LG vagy AB) Solution-ba.
11. Mikrohullámozzák **800 watton 15 másodpercig**. Óvatosan keverjék meg az oldatot applikátor bottal vagy beral pipettával. Inkubálják **1 percig**.
12. Gyorsan öblítsék le csapvízben.
13. Helyezzék a tárgylemezeket 1 %-os ecetsavba **30 másodpercig–1 percre szobahőmérsékleten**.
14. Öblítsék le a tárgylemezeket, dehidratálják alkoholban, derítsék xilolban és fedjék le.

## TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Magok	—	Kék-fekete
Kollagén	—	Zöld (LG) vagy kék (AB)
citoplazma, izom	—	vörös



Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várttól, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma Aldrich műszaki szolgálatával.

## IRODALOMJEGYZÉK

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. garantálja, hogy termékei megfelelnek a jelen és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban közölt információkkal. A vevő köteles a termék(ek) megfelelőségét az adott felhasználáshoz meghatározni. További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Lásd a számla vagy csomagolás hátsó oldalát a további eladási kikötések és feltételek tekintetében.

Eljárás száma: HT10  
Korábbi felülvizsgálás: 2003-03  
Felülvizsgálva: 2003-09

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

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765  
Műszaki szolgálat: 800-325-0250 vagy hívják 314-771-3122  
vagy e-mail: [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Megrendelés: 800-325-3010 vagy hívják: 314-771-5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

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