

Instructions for Use

Trichrome Stains (Masson)

Procedure No. HT15



Intended Use

Trichrome Stains (Masson) are intended for use in the study of connective tissue, muscle and collagen fibers. Trichrome Stain reagents are for "In Vitro Diagnostic Use". For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure demonstrates muscle and collagen fibers in tissue samples of human specimens. This data when reviewed in conjunction with other diagnostic tests and information may be used as an aid to diagnosis of certain tumors and identifying increases in collagenous tissue in diseases such as cirrhosis of the liver.

"Trichrome" stains are used primarily for distinguishing collagen from muscle tissue.² In general, they consist of nuclear, collagenous and cytoplasmic dyes in mordants such as phosphotungstic or phosphomolybdic acid. Historically, the first trichrome system was attributed to Mallory.^{3,4} Further modifications were introduced by Masson and Gomori.^{4,5} The procedure described here is based on the work of Masson as modified by Lillie⁴ using aniline blue as a collagen stain instead of a green dye. Tissue sections are treated with Bouin's solution to intensify the final coloration. Nuclei are stained with Weigert's iron hematoxylin, and cytoplasm² and muscle are then stained with Biebrich scarlet-acid fuchsin. After treatment with phosphotungstic and phosphomolybdic acid, collagen is demonstrated by staining with aniline blue. Rinsing in acetic acid after staining renders the shades of color more delicate and transparent.⁵ Included is a trichrome stain technique for rapid staining in microwave ovens.⁶⁻⁷

Reagents

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution (Cat. No. HT151-250ML)

Biebrich scarlet, 0.9%, C.I. 26905, acid fuchsin 0.1%, C.I. 42685, in acetic acid, 1.0%.

Phosphotungstic Acid Solution (Cat. No. HT152-250ML)

Phosphotungstic acid, 10%.

Phosphomolybdic Acid Solution (Cat. No. HT153-250ML)

Phosphomolybdic Acid, 10%

Aniline Blue Solution (Cat. No. HT154-250ML)

Aniline blue, 2.4%, C.I. 42780 and acetic acid, 2%.

Special Materials Required but Not Provided

- Positive control slides, such as Trichrome TISSUE-TROL™ (Cat. No. TTR012) should be included in each run
- 1N Acetic Acid
- Bouin's Solution (Cat. No. HT10132-1L or HT101128-4L) picric acid, 1%, formaldehyde, 9% and acetic acid, 5%

For Standard Procedure Only

- Weigert's Iron Hematoxylin Set (Cat. No. HT1079-1SET)
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A (Cat. No. HT107-500ML), 1% certified hematoxylin in ethanol
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part B (Cat. No. HT109-500ML) ferric chloride 1.2% (w/v) and Hydrochloric acid, 1% (v/v)

For Microwave Procedure Only

- Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (Cat. Nos. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (Cat. No. S5134)
- Coplin Jar (plastic) with vented lids
- Microwave Oven

Storage and Stability

Store reagents at room temperature (18–26°C). Reagent labels bear expiration dates. Formation of a precipitate in Phosphomolybdic Acid Solution does not affect performance.

Trichrome Stain solutions, Bouin's solution, Weigert's Iron Hematoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, Acetic Acid solution and Scott's Tap Water Substitute Concentrate and Working solution should be stored at room temperature (18–26°C).

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin solution, Bouin's solution, Weigert's Iron Hematoxylin (Parts A and B), Trichrome TISSUE-TROL™, and Scott's Tap Water Substitute Concentrate and Working solution are stable until expiration date.

Weigert's Iron Hematoxylin working solution should be prepared fresh for each use.

Preparation

Prepare Working Phosphotungstic/Phosphomolybdic Acid Solution by mixing 1 volume of Phosphotungstic Acid Solution and 1 volume Phosphomolybdic Acid Solution with 2 volumes of deionized water. Discard after one use.

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin, Bouin's solution, and Gill's hematoxylin solution, Gill No. 3 are ready to use.

Weigert's Iron Hematoxylin solution is prepared by mixing equal parts of Solution A and Solution B.

Scott's Tap Water Substitute is prepared by mixing 1 part of Scott's Tap Water Substitute Concentrate with 9 parts deionized water.

Prepare 1% Acetic Acid by diluting 8.8 mL 1N Acetic Acid with 41.2 mL water.

Precautions

The IVDs included in this kit are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

Trichrome TISSUE-TROL™ control slides are paraffin embedded human tissue containing collagen and muscle tissue and should be considered potentially infectious.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Any well fixed paraffin section cut at 5–6 microns may be used. Incorporate appropriate control slides.

Procedure

Standard Procedure

- Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
- Mordant in preheated Bouin's Solution at 56°C for **15 minutes** or at **room temperature** overnight.
- Cool slides in tap water (18–26°C) contained in a Coplin jar.
- Wash in running tap water to remove yellow color from sections.
- Stain in Working Weigert's Iron Hematoxylin Solution for **5 minutes**.
- Wash in running tap water for **5 minutes**.
- Rinse in deionized water.
- Stain in Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin for **5 minutes**.
- Rinse in deionized water.
- Place slides in Working Phosphotungstic/Phosphomolybdic Acid Solution for **5 minutes**.
- Place slides in Aniline Blue Solution for **5 minutes**.
- Place slides in Acetic Acid, 1%, for **2 minutes**. Discard solution.
- Rinse slides, dehydrate through alcohol, clear in xylene and mount.

Microwave Procedure

- Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
- Place slides in **40 mL** of Bouin's Solution contained in a plastic Coplin jar. Loosely cover Coplin jar with lid before placing in microwave oven or use Coplin jars with holes drilled into the lids.
- Microwave on **600 watts** for **25 seconds**. Gently mix solution with beral pipet or applicator stick, incubate slides in heated Bouin's Solution for **5 minutes** in a fume hood or well ventilated area.
- Rinse slides in running tap water until yellow color disappears.
- Place slides in **40 mL** Hematoxylin Solution, Gill No. 3, contained in plastic Coplin jar.
- Microwave on **800 watts** for **5 seconds**.
- Rinse well in running tap water for **30 seconds** to **1 minute**.
- Blue in Working Scott's Tap Water Substitute at **room temperature**.
- Rinse well in running tap water.
- Place slides in **40 mL** Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution contained in plastic Coplin jar.
- Microwave on **600 watts** for **20 seconds**. Mix gently with beral pipet or applicator stick. Let incubate for **2 minutes**.
- Rinse quickly in several changes of deionized water.
- Place slides in **40 mL** Phosphotungstic-Phosphomolybdic Acid Solution contained in plastic Coplin jar.
- Microwave on **600 watts** for **20 seconds**. Immediately remove slides and rinse in several changes of deionized water.
- Place slides in **40 mL** Aniline Blue Solution contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave on **600 watts** for **15 seconds**. Mix gently with a beral pipet or applicator stick. Let incubate for **1 minute**.
- Rinse well in deionized water.
- Place slides in 1% Acetic Acid for **30 seconds** to **1 minute** at **room temperature**.
- Rinse slides, dehydrate through alcohol, clear and coverslip.

Performance Characteristics

Target Structure	Staining Result
Nuclei	Black, if Weigert's Iron Hematoxylin is used. Blue, if Hematoxylin Solution Gill No. 3 is used.
Cytoplasm	Red
Muscle fibers	Red
Collagen	Blue

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
HT151	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution	Collagen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Muscle	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT152	Phosphotungstic Acid Solution	Collagen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Muscle	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT153	Phosphomolybdic Acid Solution	Collagen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Muscle	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT154	Aniline Blue Solution	Collagen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Muscle	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

HT15:



- H272: May intensify fire; oxidizer.
- H314: Causes severe skin burns and eye damage.
- H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.
- P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
- P220: Keep away from clothing and other combustible materials. Avoid release to the environment.
- P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P303 + P361+ P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer

References

1. Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
2. Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
3. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
4. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
5. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 10:661, 1950
6. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
7. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
8. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986

Contact Information

To place an order, please visit our web site at [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revision History

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Moved aid to diagnosis statement to intended use. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Updated References. Added Warnings and Hazards.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Anweisungen für den Gebrauch

Trichrom-Färbungen (Masson)

Verfahren Nr. HT15



Verwendungszweck

Trichromfärbungen (Masson) sind für die Untersuchung von Bindegewebe, Muskeln und Kollagenfasern bestimmt. Die Reagenzien für die Trichromfärbung sind für die „In-vitro-Diagnose“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen, qualitativen Verfahren gewonnenen Daten zeigen Muskel- und Kollagenfasern in Gewebeproben von menschlichen Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose verschiedener Tumoren und zur Erkennung erhöhten Kollagengewebes in Krankheiten wie der Leberzirrhose verwendet werden.

Trichromfärbungen werden hauptsächlich zur Unterscheidung von Kollagen und Muskelgewebe verwendet.² Sie bestehen im Allgemeinen aus Kern-, Kollagen- und Zytoplasma-Farbstoffen in Beizmitteln wie Phosphorwolfram- oder Phosphomolybdänsäure. Historisch gesehen wird das erste Trichromsystem Mallory zugeschrieben.^{3,4} Weitere Modifikationen wurden von Masson und Gomori eingeführt.^{4,5} Das hier beschriebene Verfahren basiert auf der Arbeit von Masson, modifiziert von Lillie⁴ unter Verwendung von Anilinblau als Kollagenfärbung anstelle eines grünen Farbstoffs. Die Gewebeschnitte werden zur Intensivierung der endgültigen Färbung mit Bouin-Lösung behandelt. Die Zellkerne werden mit Weigerts Eisenhämatoxylin angefärbt, das Zytoplasma² und die Muskulatur werden mit Biebrich Scharlach-Säure-Fuchsin angefärbt. Nach der Behandlung mit Phosphorwolfram- und Phosphomolybdänsäure wird das Kollagen durch Anfärbung mit Anilinblau nachgewiesen. Das Abspülen in Essigsäure nach dem Färben macht die Farbtöne zarter und transparenter.⁵ Enthalten ist eine Trichrom-Färbetechnik für die schnelle Färbung im Mikrowellenofen.⁶⁻⁷

Reagenzien

Biebrich Scharlach-Säure-Fuchsin-Lösung (Kat. Nr. HT151-250ML)
Biebrichscharlach, 0,9 %, C.I. 26905, Säurefuchsin 0,1 %, C.I. 42685, in Essigsäure, 1,0 %.

Phosphorwolframsäure-Lösung (Kat. Nr. HT152-250ML)
Phosphorwolframsäure, 10 %.

Molybdatophosphorsäure-Lösung (Kat. Nr. HT153-250ML)
Molybdatophosphorsäure, 10 %.

Anilinblau-Lösung (Kat. Nr. HT154-250ML)
Anilinblau, 2,4 %, C.I. 42780 und Essigsäure, 2 %.

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Positive Kontroll-Objektträger, wie z. B. Trichrome TISSUE-TROL™ (Kat. Nr. TTR012), sollten in jedem Durchlauf enthalten sein
- 1N-Essigsäure
- Bouin-Lösung (Kat. Nr. HT10132-1L oder HT101128-4L) Pikrinsäure, 1 %, Formaldehyd, 9 % und Essigsäure, 5 %

Nur für Standardverfahren

- Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Set (Kat. Nr. HT1079-1SET)
- Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Lösung, Teil A (Kat. Nr. HT107-500ML) 1 % zertifiziertes Hämatoxylin in Ethanol
- Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Lösung, Teil B (Kat. Nr. HT109-500ML), Eisenchlorid 1,2 % (w/v) und Salzsäure, 1 % (v/v)

Nur für Mikrowellenverfahren

- Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 (Kat. Nr. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat (Kat. Nr. S5134)
- Coplin-Färbetrog (Plastik) mit belüfteten Deckeln
- Mikrowellenofen

Lagerung und Stabilität

Reagenzien bei Raumtemperatur (18-26 °C) lagern. Die Etiketten der Reagenzien tragen die Verfallsdaten. Die Bildung eines Niederschlags in Phosphomolybdänsäurelösung beeinträchtigt die Leistung nicht.

Trichrom-Färbelösungen, Bouin-Lösung, Weigerts Eisenhämatoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, Essigsäurelösung und Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat und Arbeitslösung sollten bei Raumtemperatur (18-26 °C) gelagert werden.

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Lösung, Bouin-Lösung, Weigerts Eisenhämatoxylin (Teile A und B), Trichrome TISSUE-TROL™ und Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat Concentrate und Arbeitslösung sind bis zum Verfallsdatum stabil.

Weigerts Eisenhämatoxylin-Arbeitslösung sollte für jeden Gebrauch frisch zubereitet werden.

Vorbereitung

Bereiten Sie eine Phosphorwolfram-/Phosphomolybdänsäure-Arbeitslösung vor, indem Sie 1 Volumen Phosphorwolframsäure-Lösung und 1 Volumen Phosphomolybdänsäure-Lösung mit 2 Volumen entionisiertem Wasser mischen. Nach einmaligem Gebrauch entsorgen.

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin, Bouin-Lösung und Gills Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 sind gebrauchsfertig.

Weigerts Eisenhämatoxylin-Lösung wird durch Mischen gleicher Teile von Lösung A und Lösung B hergestellt.

Scott's Leitungswasser-Ersatz wird durch Vermischen von 1 Teil Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat mit 9 Teilen deionisiertem Wasser hergestellt.

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

Vorsichtsmaßnahmen

Die in diesem Kit enthaltenen IVDs sind für die In-vitro-Diagnostik in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Laborpersonal bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

Trichrome TISSUE-TROL™-Kontroll-Objektträger sind in Paraffin eingebettetes menschliches Gewebe, das Kollagen- und Muskelgewebe enthält und als potenziell infektiös betrachtet werden sollte.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Es kann jeder gut fixierte Paraffinschnitt mit einem Durchmesser von 5-6 Mikrometern verwendet werden. Integrieren Sie geeignete Kontroll-Objektträger.

Verfahren

Standardverfahren

- Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
- In vorgewärmter Bouin-Lösung bei 56 °C für **15 Minuten** oder bei **Raumtemperatur** über Nacht beizen.
- Kühlen Sie die Objektträger in Leitungswasser (18-26 °C) in einem Coplin-Färbetrog.
- Unter fließendem Leitungswasser waschen, um die gelbe Farbe aus den Abschnitten zu entfernen.
- In Weigerts Eisen-Hämatoxylin-Arbeitslösung für **5 Minuten** färben.
- Unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** lang waschen.
- Mit deionisiertem Wasser abspülen.
- Färbung in Biebrich Scharlach-Säure-Fuchsin für **5 Minuten**.
- Mit deionisiertem Wasser abspülen.
- Legen Sie die Objektträger für **5 Minuten** in die Phosphorwolfram-/Phosphomolybdänsäure-Lösung.
- Legen Sie die Objektträger für **5 Minuten** in Anilinblau-Lösung.
- Legen Sie die Objektträger für **2 Minuten** in 1%ige Essigsäure. Lösung entsorgen.
- Objektträger abspülen, mit Alkohol dehydrieren, in Xylol klären und einbetten.

Mikrowellenverfahren

- Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Bouin-Lösung in einem Coplin-Färbetrog. Coplin-Färbetroge vor dem Einsetzen in den Mikrowellenofen locker mit einem Deckel verschließen oder Coplin-Färbetroge mit gebohrtten Deckeln verwenden.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **25 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einem Stäbchen oder einer Pipette vorsichtig umrühren und dann in einem Abzug oder gut belüfteten Raum für **5 Minuten** in Bouin-Lösung inkubieren.
- Objektträger unter fließendem Leitungswasser abspülen, bis die gelbe Farbe verschwindet.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Hämatoxylinlösung Gill Nr. 3, die sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **5 Sekunden** erhitzen.
- Gut abspülen unter fließendem Leitungswasser für **30 Sekunden** bis **1 Minute**.
- In Scott's Leitungswasser-Ersatz bei **Raumtemperatur** bläuen.
- Unter fließendem Leitungswasser gut abspülen.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Biebrich Scharlach-Säure-Fuchsin-Lösung in einem Coplin-Färbetrog.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **20 Sekunden** erhitzen. Mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstab vorsichtig mischen. **2 Minuten** inkubieren lassen.
- Spülen Sie die Objektträger schnell in mehrmaligem Wechsel mit destilliertem Wasser ab.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Phosphorwolfram-Phosphomolybdänsäure-Lösung, die sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **20 Sekunden** erhitzen. Nehmen Sie die Objektträger sofort heraus und spülen Sie sie in 6-maligem Wechsel mit deionisiertem Wasser.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Anilinblau-Lösung in einem Coplin-Färbetrog.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstab vorsichtig mischen. **1 Minute** inkubieren lassen.
- Mit deionisiertem Wasser gut abspülen.
- Legen Sie die Objektträger für **30 Sekunden** bis **1 Minute** bei **Raumtemperatur** in 1%ige Essigsäure.
- Objektträger abspülen, mit Alkohol dehydrieren, klären und Deckglas auflegen.

Leistungsmerkmale

Zielstruktur	Ergebnis der Färbung
Kerne	Schwarz, wenn Weigerts Eisenhämatoxylin verwendet wird. Blau, wenn Hämatoxylinlösung Gill Nr. 3 verwendet wird.
Zytoplasma	Rot
Muskelfasern	Rot
Kollagen	Blau

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Kat. Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT151	Biebrich Scharlach-Säure-Fuchsin-Lösung	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskeln	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT152	Phosphowolframsäure	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskeln	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT153	Molybdatophosphorsäure	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskeln	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT154	Anilinblau-Lösung	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskeln	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

HT15:



- H272: Kann Feuer verstärken; Oxidationsmittel.
- H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H412: Schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
- P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Rauchen verboten.
- P220: Von Kleidung und anderen brennbaren Materialien fernhalten. Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280: Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P303 + P361+ P353: WENN AUF DER HAUT (oder im Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P305 + P351 + P338: WENN IM AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

Wenn während der Verwendung dieses Geräts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur

Referenzen

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 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

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](#). Für den technischen Service besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Revisionshistorie

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Die Aussage über die Hilfe bei der Diagnose wurde in den Verwendungszweck verschoben. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Material Sicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Referenzen wurden aktualisiert. Zusätzliche Warnungen und Gefahren.

Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765

MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

Mode d'emploi

Colorations au trichrome (Masson)

Procédure n° HT15



Utilisation prévue

Les colorations au trichrome (Masson) sont destinées à être utilisées pour l'étude des fibres du tissu conjonctif, des fibres musculaires et des fibres de collagène. Les réactifs utilisés dans les colorations au trichrome sont destinés à un « usage en diagnostic *in vitro* ». À usage professionnel uniquement. Les données obtenues avec cette procédure qualitative manuelle permettent de mettre en évidence les fibres musculaires ainsi que les fibres de collagène dans les échantillons de tissus humains. Lorsqu'elles sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques et d'autres informations, ces données peuvent être utilisées comme aide au diagnostic de certaines tumeurs et pour identifier l'augmentation du collagène dans le tissu conjonctif associée à certaines maladies, par exemple la cirrhose hépatique.

Les colorations « au trichrome » sont utilisées principalement pour différencier le collagène du tissu musculaire.² En général, elles combinent un colorant nucléaire, un colorant des fibres de collagène et un colorant cytoplasmique dans un mordant, comme l'acide phosphotungstique ou l'acide phosphomolybdique. Historiquement, le premier système au trichrome a été attribué à Mallory.^{3,4} Des modifications ont été apportées par Masson et Gomori.^{4,5} La procédure décrite ici est basée sur le travail de Masson tel que modifié par Lillie⁶ en utilisant le bleu d'aniline comme colorant des fibres de collagène au lieu d'un colorant vert. Les coupes de tissus sont traitées avec du liquide de Bouin pour intensifier la coloration finale. Les noyaux sont colorés avec de l'hématoxyline ferrique de Weigert, et le cytoplasme⁷ et les muscles sont ensuite colorés avec une solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide. Après traitement avec de l'acide phosphotungstique et phosphomolybdique, le collagène est mis en évidence par une coloration au bleu d'aniline. Le rinçage à l'acide acétique après la coloration rend les nuances de couleur plus délicates et transparentes.⁵ Une technique de coloration au trichrome pour une coloration rapide au micro-ondes est également incluse.⁶⁻⁷

Réactifs

Solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide (réf. HT151-250ML)
Écarlate de Biebrich, 0,9 %, C.I. 26905, fuchsine acide 0,1 %, C.I. 42685, dans de l'acide acétique, 1,0 %.

Solution d'acide phosphotungstique (réf. HT152-250ML)
Acide phosphotungstique, 10 %.

Solution d'acide phosphomolybdique (réf. HT153-250ML)
Acide phosphomolybdique, 10 %.

Solution de bleu d'aniline (réf. HT154-250ML)
Bleu d'aniline, 2,4 %, C.I. 42780 et acide acétique, 2 %.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Lames de contrôle positives, comme les lames Trichrome TISSUE-TROL™ (réf. TTR012), qui doivent être incluses dans chaque série
- Acide acétique 1N
- Liquide de Bouin (réf. HT10132-1L ou HT101128-4L), acide picrique, 1 %, formaldéhyde, 9 % et acide acétique, 5 %

Pour la procédure standard uniquement

- Kit d'hématoxyline ferrique de Weigert (réf. HT1079-1SET)
- Solution d'hématoxyline ferrique de Weigert A (réf. HT107-500ML), 1 % d'hématoxyline certifiée dans de l'éthanol
- Solution d'hématoxyline ferrique de Weigert B (réf. HT109-500ML), chlorure ferrique, 1,2 % (p/v) et acide chlorhydrique, 1 % (v/v)

Pour la procédure au micro-ondes uniquement

- Solution d'hématoxyline de Gill n° 3 (réf. GHS316 ; GHS332 ; GHS380 ; GHS3128)
- Concentré de substitut à l'eau courante de Scott (réf. S5134)
- Cuves à coloration de Coplin (en plastique) avec couvercles pourvus d'orifices
- Four à micro-ondes

Conservation et stabilité

Conservé les réactifs à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Les étiquettes des réactifs portent une date limite d'utilisation. La formation d'un précipité dans la solution d'acide phosphomolybdique n'a pas d'impact sur les performances.

Les solutions de coloration au trichrome, le liquide de Bouin, l'hématoxyline ferrique de Weigert, les lames de contrôle Trichrome TISSUE-TROL™, la solution d'acide acétique, ainsi que le concentré et la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott doivent être conservés à température ambiante (entre 18 et 26 °C).

La solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide, le liquide de Bouin, l'hématoxyline ferrique de Weigert (A et B), les lames Trichrome TISSUE-TROL™, ainsi que le concentré et la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott sont stables jusqu'à leur date limite d'utilisation.

Une nouvelle solution de travail d'hématoxyline ferrique de Weigert doit être préparée avant chaque utilisation.

Préparation

Préparer la solution de travail d'acide phosphotungstique/d'acide phosphomolybdique en mélangeant 1 volume de solution d'acide phosphotungstique et 1 volume de solution d'acide phosphomolybdique avec 2 volumes d'eau déionisée. Jeter après une seule utilisation.

La solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide, le liquide de Bouin et la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 sont prêts à l'emploi.

La solution d'hématoxyline ferrique de Weigert est préparée en mélangeant à parts égales la solution A et la solution B.

Le substitut à l'eau courante de Scott est préparé en mélangeant 1 volume de concentré de substitut à l'eau courante de Scott avec 9 volumes d'eau déionisée.

Préparer de l'acide acétique à 1 % en diluant 8,8 ml d'acide acétique 1N avec 41,2 ml d'eau.

Précautions

Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* inclus dans ce kit sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Les lames de contrôle Trichrome TISSUE-TROL™ sont constituées de coupes de tissus humains inclus en paraffine contenant du collagène et du tissu musculaire et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Toutes les coupes incluses en paraffine correctement fixées d'une épaisseur comprise entre 5 et 6 microns maximum peuvent être utilisées. Inclure des lames de contrôle appropriées.

Procédure

Procédure standard

1. Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
2. Mordancer dans le liquide de Bouin préchauffé à 56 °C pendant **15 minutes** ou à **température ambiante** pendant toute une nuit.
3. Refroidir les lames dans une cuve à coloration de Coplin contenant de l'eau du robinet (entre 18 et 26 °C).
4. Laver sous l'eau du robinet pour retirer la couleur jaune des coupes.
5. Colorer dans la solution de travail d'hématoxyline ferrique de Weigert pendant **5 minutes**.
6. Laver sous l'eau du robinet pendant **5 minutes**.
7. Rincer à l'eau déionisée.
8. Colorer dans la solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide pendant **5 minutes**.
9. Rincer à l'eau déionisée.
10. Placer les lames dans la solution de travail d'acide phosphotungstique/d'acide phosphomolybdique pendant **5 minutes**.
11. Placer les lames dans la solution de bleu d'aniline pendant **5 minutes**.
12. Placer les lames dans l'acide acétique à 1 % pendant **2 minutes**. Jeter la solution.
13. Rincer les lames, les déshydrater dans une série de bains d'alcool, les éclaircir au xylène et procéder au montage.

Procédure au micro-ondes

1. Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau déionisée.
2. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de liquide de Bouin. Couvrir la cuve à coloration de Coplin avec un couvercle sans le fermer hermétiquement avant de placer la cuve dans le micro-ondes, ou bien utiliser des cuves à coloration de Coplin dont les couvercles sont pourvus d'orifices.
3. Mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **25 secondes**. Mélanger délicatement la solution à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet, puis incubé les lames dans le liquide de Bouin chauffé pendant **5 minutes** sous une hotte ou dans un endroit bien ventilé.
4. Rincer les lames sous l'eau du robinet jusqu'à ce que la couleur jaune disparaisse.
5. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'hématoxyline de Gill n° 3.
6. Mettre au micro-ondes sur **800 watts** pendant **5 secondes**.
7. Bien rincer sous l'eau du robinet pendant **30 secondes** à **1 minute**.
8. Réaliser le bleuissement dans la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**.
9. Bien rincer sous l'eau du robinet.
10. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide.
11. Mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **20 secondes**. Mélanger délicatement à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet. Laisser incubé pendant **2 minutes**.
12. Rincer rapidement dans plusieurs bains d'eau déionisée.
13. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'acide phosphotungstique/d'acide phosphomolybdique.
14. Mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **20 secondes**. Retirer immédiatement les lames et les rincer dans plusieurs bains d'eau déionisée.
15. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution de bleu d'aniline.
16. Mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **15 secondes**. Mélanger délicatement à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet. Laisser incubé pendant **1 minute**.
17. Bien rincer à l'eau déionisée.
18. Placer les lames dans de l'acide acétique à 1 % à **température ambiante** pendant **30 secondes** à **1 minute**.
19. Rincer les lames, les déshydrater dans une série de bains d'alcool, les éclaircir et procéder au montage.

Caractéristiques de performance

Structure cible	Résultat de la coloration
Noyaux	Noir, si l'hématoxyline ferrique de Weigert est utilisée. Bleu, si la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 est utilisée.
Cytoplasme	Rouge
Fibres musculaires	Rouge
Collagène	Bleu

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
HT151	Solution d'écarlate de Biebrich-fuch sine acide	Collagène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Muscle	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT152	Solution d'acide phosphotungstique	Collagène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Muscle	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT153	Solution d'acide phosphomolybdique	Collagène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Muscle	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT154	Solution de bleu d'aniline	Collagène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Muscle	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l'étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

HT15 :



H272 : Peut aggraver un incendie ; comburant.

H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et autres sources inflammables. Ne pas fumer.

P220 : Tenir à l'écart des vêtements et autres matières combustibles. Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P303 + P361+ P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Si, au cours de l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu'aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i>)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur

Références

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 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

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2022
Rév. 6.0	2022
Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Déplacement de la déclaration relative à l'aide au diagnostic vers l'utilisation prévue. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Mise à jour des références bibliographiques. Ajout de la section relative aux avertissements et risques.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Istruzioni per l'uso

Colorazioni tricromatiche (Masson)

Procedura n. HT15


Millipore
Sigma

Uso previsto

Le colorazioni tricromatiche (Masson) sono destinate all'uso nello studio del tessuto connettivo e delle fibre muscolari e di collagene. I reagenti per colorazione tricromica sono destinati a "uso diagnostico in vitro". Solo per uso professionale. I dati ottenuti da questa procedura qualitativa manuale dimostrano la presenza di fibre muscolari e di collagene in campioni di tessuto di campioni umani. Questi dati, se esaminati insieme ad altri esami e informazioni diagnostiche possono essere utilizzati come aiuto per la diagnosi di determinati tumori e nell'identificazione dell'aumento di tessuti collagenici in patologie come la cirrosi epatica.

Le colorazioni "tricromatiche" vengono utilizzate principalmente per distinguere il collagene dal tessuto muscolare.² In generale, sono costituite da coloranti nucleari, collagenici e citoplasmatici in mordenti come l'acido fosfotungstico o fosfomolibdico. Storicamente, il primo sistema tricromo è stato attribuito a Mallory.^{3,4} Ulteriori modifiche furono introdotte da Masson e Gomori.^{4,5} La procedura qui descritta si basa sul lavoro di Masson come modificato da Lillie⁴ utilizzando il blu di anilina come colorazione del collagene anziché un colorante verde. Le sezioni di tessuto vengono trattate con la soluzione di Bouin per intensificare la colorazione finale. I nuclei vengono colorati con l'ematossilina ferrica di Weigert, quindi il citoplasma² e il muscolo vengono colorati con la fucsina acida scarlatto di Biebrich. Dopo il trattamento con acido fosfotungstico e fosfomolibdico, la presenza di collagene viene dimostrata mediante colorazione con blu di anilina. Il risciacquo con acido acetico dopo la colorazione rende le sfumature di colore più delicate e trasparenti.⁵ È inclusa una tecnica di colorazione tricromica per la colorazione rapida nei forni a microonde.⁶⁻⁷

Reagenti

Soluzione di fucsina acida - scarlatto di Biebrich (N. di cat. HT151-250ML)

Scarlatto di Biebrich, 0,9%, C.I. 26905, fucsina acida 0,1%, C.I. 42685, in acido acetico, 1,0%.

Soluzione di acido fosfotungstico (N. di cat. HT152-250ML)

Acido fosfotungstico, 10%.

Soluzione di acido fosfomolibdico (N. di cat. HT153-250ML)

Acido fosfomolibdico, 10%.

Soluzione di blu di anilina (N. di cat. HT154-250ML)

Blu di anilina, 2,4%, C.I. 42780 e acido acetico, 2%.

Materiali speciali richiesti ma non forniti

- I vetrini di controllo positivi, come Trichrome TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR012) devono essere inclusi in ogni esecuzione
- Acido acetico 1N
- Soluzione di Bouin (N. di cat. HT10132-1L o HT101128-4L), acido picrico, 1%, formaldeide, 9% e acido acetico, 5%

Solo per procedura standard

- Set di ematossilina ferrica di Weigert (N. di cat. HT1079-1SET)
- Soluzione di ematossilina ferrica di Weigert, Parte A (N. di cat. HT107-500ML) 1% di ematossilina certificata in etanolo
- Soluzione di ematossilina ferrica di Weigert, Parte B (N. di cat. HT109-500ML), cloruro ferrico 1,2% (p/v) e acido cloridrico, 1% (v/v)

Solo per procedura con forno a microonde

- Soluzione di ematossilina di Gill n. 3 (N. di cat. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Soluzione di Scott concentrata sostitutiva all'acqua di rubinetto (N. di cat. S5134)
- Vaschette Coplin (in plastica) con coperchi ventilati
- Forno a microonde

Conservazione e stabilità

Tutti i reagenti sono conservati a temperatura ambiente (18-26 °C). Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza. La formazione di un precipitato nella soluzione di acido fosfomolibdico non influisce sulle prestazioni.

Le soluzioni di colorazione tricromica, la soluzione di Bouin, l'ematossilina ferrica di Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, la soluzione di acido acetico, la soluzione di Scott concentrata sostitutiva all'acqua di rubinetto e la soluzione di lavoro devono essere conservati a temperatura ambiente (18-26 °C).

La soluzione di fucsina acida - scarlatto di Biebrich, la soluzione di Bouin, l'ematossilina ferrica di Weigert (parti A e B), Trichrome TISSUE-TROL™, la soluzione di Scott concentrata sostitutiva all'acqua di rubinetto e la soluzione di lavoro sono stabili fino alla data di scadenza.

La soluzione di lavoro di ematossilina ferrica di Weigert deve essere preparata fresca per ogni utilizzo.

Preparazione

Preparare la soluzione di lavoro di acido fosfotungstico/fosfomolibdico mescolando 1 volume di soluzione di acido fosfotungstico e 1 volume di soluzione di acido fosfomolibdico con 2 volumi di acqua deionizzata. Eliminare dopo un singolo utilizzo.

La fucsina acida - scarlatto di Biebrich, la soluzione di Bouin e la soluzione di ematossilina di Gill n. 3 sono pronte per l'uso.

La soluzione di ematossilina ferrica di Weigert viene preparata mescolando parti uguali di soluzione A e soluzione B.

La soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto viene preparata mescolando 1 parte di concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto con 9 parti di acqua deionizzata.

Preparare una soluzione di acido acetico all'1% diluendo 8,8 mL di acido acetico 1N con 41,2 mL di acqua.

Precauzioni

Gli IVD inclusi in questo kit sono destinati all'uso diagnostico in vitro in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich possono essere utilizzati da personale di laboratorio formato nella gestione di campioni umani che possono essere infettivi, nell'utilizzo di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio e che hanno la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

È necessario seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative locali, provinciali, regionali o nazionali.

I vetrini di controllo Trichrome TISSUE-TROL™ sono tessuti umani inclusi in paraffina contenenti collagene e tessuto muscolare e devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuti non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati ematici e i campioni di tessuti devono essere considerati potenzialmente infettivi.

È possibile utilizzare qualsiasi sezione ben fissata in paraffina e tagliata a 5-6 micron. Incorporare i vetrini di controllo appropriati.

Procedura

Procedura standard

- Deparaffinare i vetrini e idratarli in acqua deionizzata.
- Trattare con mordente mettendo i vetrini nella soluzione di Bouin preriscaldata a 56 °C per **15 minuti** o a **temperatura ambiente** durante la notte.
- Raffreddare i vetrini in acqua di rubinetto (18-26 °C) contenuta in una vaschetta Coplin.
- Lavare in acqua corrente di rubinetto per rimuovere il colore giallo dalle sezioni.
- Colorare con soluzione di lavoro di ematossilina ferrica di Weigert per **5 minuti**.
- Lavare in acqua corrente di rubinetto per **5 minuti**.
- Sciacquare in acqua deionizzata.
- Eseguire la colorazione con fucsina acida - scarlatto di Biebrich per **5 minuti**.
- Sciacquare in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini nella soluzione di lavoro di acido fosfotungstico/fosfomolibdico per **5 minuti**.
- Mettere i vetrini nella soluzione blu di anilina per **5 minuti**.
- Mettere i vetrini in acido acetico all'1%, per **2 minuti**. Gettare la soluzione.
- Sciacquare i vetrini, disidratare con alcol, chiarificare in xilene e montare.

Procedura con forno a microonde

- Deparaffinare i vetrini e idratarli in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di Bouin contenuta in una vaschetta Coplin di plastica. Appoggiare il coperchio sulla vaschetta Coplin prima di metterla nel forno a microonde, oppure utilizzare vaschette Coplin con coperchi con i fori.
- Scaldare in forno a microonde a **600 watt** per **25 secondi**. Agitare delicatamente la soluzione con una pipetta Beral o uno stick applicatore, quindi incubare i vetrini nella soluzione di Bouin calda per **5 minuti** in una cappa aspirante o in un'area ben ventilata.
- Sciacquare con acqua corrente di rubinetto fino a quando il colore giallo non scompare.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di ematossilina di Gill n. 3 contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **5 secondi**.
- Sciacquare bene in acqua corrente di rubinetto da **30 secondi** a **1 minuto**.
- Immergere in soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto a **temperatura ambiente**.
- Sciacquare bene in acqua corrente di rubinetto.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di fucsina acida - scarlatto di Biebrich contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **600 watt** per **20 secondi**. Mescolare delicatamente la soluzione con una pipetta Beral o uno stick applicatore. Lasciare incubare per **2 minuti**.
- Sciacquare velocemente in vari bagni di acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di acido fosfotungstico-fosfomolibdico contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **600 watt** per **20 secondi**. Rimuovere immediatamente i vetrini e sciacquare in vari bagni differenti di acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di blu di anilina contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **600 watt** per **15 secondi**. Mescolare delicatamente la soluzione con una pipetta Beral o uno stick applicatore. Lasciare incubare per **1 minuto**.
- Sciacquare bene in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in acido acetico all'1% da **30 secondi** a **1 minuto** a **temperatura ambiente**.
- Sciacquare i vetrini, disidratare con alcol, chiarificare e coprire.

Caratteristiche prestazionali

Struttura target	Risultato colorazione
Nuclei	Nero, se viene utilizzata l'ematossilina ferrica di Weigert. Blu, se viene utilizzata la soluzione di ematossilina di Gill n. 3.
Citoplasma	Rosso
Fibre muscolari	Rosso
Collagene	Blu

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per richiedere assistenza.

Caratteristiche prestazionali analitiche

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target, confermano il 100% di sensibilità, specificità e ripetibilità.

N. cat.	Descrizione prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
HT151	Soluzione di fucsina acida - scarlatto di Biebrich	Collagene	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Muscolo	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Citoplasma	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT152	Soluzione di acido fosfotungstico	Collagene	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Muscolo	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Citoplasma	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT153	Soluzione di acido fosfomolibdico	Collagene	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Muscolo	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Citoplasma	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
HT154	Soluzione blu anilina	Collagene	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Muscolo	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Citoplasma	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, fare riferimento alla Scheda dati di sicurezza e all'etichetta del prodotto.

HT15:



- H272: Può intensificare il fuoco; ossidante.
- H314: Provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari.
- H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti a lunga durata.
- P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere e altre fonti di accensione. Vietato fumare.
- P220: Tenere lontano da indumenti e altri materiali combustibili. Evitare il rilascio nell'ambiente.
- P280: Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezione per gli occhi/protezione per il viso.
- P303 + P361+ P353: SE A CONTATTO CON LA PELLE (o i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P305 + P351 + P338: SE ENTRA A CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Se indossate, rimuovere le lenti a contatto se è facile farlo. Continuare a sciacquare.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo o a seguito del suo utilizzo si è verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli come definiti in EN ISO 15223-1:2021

	Produttore		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione Europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico per la diagnostica in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di produzione		Importatore

Riferimenti

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134.
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61.
- 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 10:661, 1950.
- Leong AS-Y, Millios 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.

Informazioni di contatto

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Per assistenza tecnica, visitare la pagina dedicata all'assistenza tecnica sul nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Cronologia delle revisioni

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato per uso professionale nell'uso previsto e nelle precauzioni. Spostata la dichiarazione relativa all'aiuto alla diagnosi nella sezione uso previsto. Aggiornata la sezione uso previsto per allinearla alle linee guida IVDR. Aggiornata Scheda dati sicurezza dei materiali in Scheda dati di sicurezza. Aggiornate le informazioni di contatto. Istruzioni rimosse per seguire il CLSI per la raccolta dei campioni. Rimossa EN 980 e modificata in EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunte informazioni di contatto per eventi avversi. Riferimenti aggiornati. Aggiunta di avvertenze e pericoli.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrucciones de uso

Tinciones tricrómicas (Masson)

N.º de procedimiento HT15



Uso previsto

Las tinciones tricrómicas (Masson) se utilizan para el estudio del tejido conectivo, músculo y fibras colágenas. Los reactivos de tinción tricrómica son para "uso diagnóstico in vitro". Solo para uso profesional. Los datos obtenidos con este procedimiento manual y cualitativo demuestran la presencia de músculo y fibras colágenas en muestras de tejido de humanos. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, se pueden utilizar como ayuda para el diagnóstico de determinados tumores y la identificación de aumentos de tejidos colágenos en algunas enfermedades, como la cirrosis hepática.

Las tinciones "tricrómicas" se utilizan principalmente para diferenciar las fibras colágenas del tejido muscular.² Generalmente, son tintes nucleares, colágenos y citoplásmicos en mordientes, tales como el ácido fosfotúngstico o el ácido fosfomolibdico. Históricamente, el primer sistema tricrómico se atribuye a Mallory.^{3,4} Otras modificaciones fueron introducidas por Masson y Gomori.^{4,5} El procedimiento descrito en este proceso se basa en el trabajo de Masson, modificado por Lillie,⁴ utilizando el azul de anilina como tinción del colágeno en lugar del colorante verde. Los cortes de tejido se tratan con la solución de Bouin para intensificar la coloración final. Los núcleos se tiñen con la hematoxilina férrica de Weigert, y el citoplasma² y el músculo se tiñen con la fucsina ácida escarlata de Biebrich. Tras el tratamiento con ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico, la presencia del colágeno se demuestra mediante la tinción con azul de anilina. Su lavado en ácido acético después de la tinción hace que los tonos sean más delicados y transparentes.² Se incluye una técnica de tinción tricrómica para la tinción rápida en hornos microondas.⁶⁻⁷

Reactivos

Solución de fucsina ácida escarlata de Biebrich (n.º de cat. HT151-250ML)

Escarlata de Biebrich, 0,9 %, C.I. 26905, fucsina ácida 0,1 %, C.I. 42685, en ácido acético, 1,0 %.

Solución de ácido fosfotúngstico (n.º de cat. HT152-250ML)

Ácido fosfotúngstico, 10 %.

Solución de ácido fosfotúngstico (n.º de cat. HT153-250ML)

Ácido fosfomolibdico, 10 %.

Solución de azul de anilina (n.º de art. HT154-250ML)

Azul de anilina, 2,4 %, C.I. 42780 y ácido acético, 2 %.

Material especial necesario pero no suministrado

- Los portaobjetos de control positivo, tales como TISSUE-TROL™ tricrómico (n.º de cat. TTR012), deben utilizarse en cada proceso
- Ácido acético 1N
- Solución de Bouin: (n.º de cat. HT10132-1L o HT101128-4L) ácido pícrico al 1 %, formaldehído al 9 % y ácido acético al 5 %

Solo para procedimientos estándar

- Kit de hematoxilina férrica de Weigert (n.º de cat. HT1079-1SET)
- Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte A (n.º de cat. HT107-500ML), hematoxilina, 1 %, certificada en etanol
- Solución de hematoxilina férrica de Weigert, Parte B (n.º de cat. HT109-500ML), cloruro férrico 1,2 % (p/v) y ácido clorhídrico, 1 % (v/v)

Solo para procedimientos con microondas

- Solución de hematoxilina Gill N.º 3 (n.º de cat. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Concentrado sustituto del agua corriente de Scott (n.º de cat. S5134)
- Vaso de Coplin (de plástico) con tapas con respiraderos
- Horno microondas

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar los reactivos a temperatura ambiente (18-26 °C). Las etiquetas de los reactivos indican las fechas de caducidad. La formación de un precipitado en la solución de ácido fosfomolibdico no afecta al funcionamiento.

Almacenar las soluciones de tinción tricrómica, solución de Bouin, hematoxilina férrica de Weigert, TISSUE-TROL™ tricrómico, solución de ácido acético y concentrado sustituto del agua corriente de Scott, y la solución de trabajo a temperatura ambiente (18-26 °C).

Las soluciones de fucsina ácida de escarlata de Biebrich, de Bouin, de hematoxilina férrica de Weigert (partes A y B), el TISSUE-TROL™ tricrómico y el concentrado sustituto del agua corriente de Scott y la solución de trabajo son estables hasta la fecha de caducidad.

Debe prepararse una nueva solución de hematoxilina férrica de Weigert para cada uso.

Preparación

Preparar la solución de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico mezclando 1 volumen de solución de ácido fosfotúngstico y 1 volumen de solución de ácido fosfomolibdico con 2 volúmenes de agua desionizada. Desechar después de un solo uso.

Las soluciones de fucsina ácida de escarlata de Biebrich, de Bouin y de hematoxilina Gill N.º 3 están listas para su uso.

La solución de hematoxilina férrica de Weigert se prepara mezclando las soluciones A y B a partes iguales.

El sustituto del agua corriente de Scott se prepara mezclando 1 parte del concentrado sustituto del agua corriente de Scott con 9 partes de agua desionizada.

Preparar ácido acético al 1 % diluyendo 8,8 ml de ácido acético 1N con 41,2 ml de agua.

Precauciones

Los dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (DMDIV) incluidos en este kit están destinados a un uso de diagnóstico in vitro en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado de Sigma-Aldrich puede utilizar los DMDIV para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Los portaobjetos de control TISSUE-TROL™ tricrómico son de tejido humano embebido en parafina con tejido de colágeno y muscular, y deben considerarse potencialmente infecciosos.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Puede utilizarse cualquier sección cortada con un grosor de 5 a 6 micras, bien fijada con parafina. Incorporar los portaobjetos de control adecuados.

Procedimiento

Procedimiento estándar

- Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
- Poner mordiente en solución de Bouin precalentada a 56 °C durante **15 minutos** o a **temperatura ambiente** durante la noche.
- Enfriar los portaobjetos en agua del grifo (18-26 °C) dentro de un vaso de Coplin.
- Lavar los portaobjetos con agua corriente del grifo para eliminar el amarillo de los cortes.
- Teñir en solución de hematoxilina férrica de Weigert durante **5 minutos**.
- Lavar durante **5 minutos** con agua corriente del grifo.
- Aclarar con agua desionizada.
- Teñir en fucsina ácida de escarlata de Biebrich durante **5 minutos**.
- Aclarar con agua desionizada.
- Colocar los portaobjetos en solución de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico durante **5 minutos**.
- Colocar los portaobjetos en solución de azul de anilina durante **5 minutos**.
- Colocar los portaobjetos en ácido acético, 1 %, durante **2 minutos**. Desechar la solución.
- Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar en xileno y montar.

Procedimiento con microondas

- Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de Bouin dentro de un vaso de Coplin de plástico. Tapar el vaso de Coplin sin apretar la tapa, antes de colocarlo en el horno microondas, o utilizar vasos de Coplin con agujeros en las tapas.
- Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **25 segundos**. Mezclar la solución cuidadosamente con una pipeta Beral o una varilla aplicadora, e incubar los portaobjetos en solución de Bouin calentada durante **5 minutos** debajo de una campana extractora o en una zona con buena ventilación.
- Aclarar los portaobjetos con agua corriente del grifo hasta que desaparezca el color amarillo.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina Gill N.º 3 dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **5 segundos**.
- Aclarar bien con agua corriente del grifo de **30 segundos a 1 minuto**.
- Azular en sustituto del agua corriente de Scott a **temperatura ambiente**.
- Aclarar bien con agua corriente del grifo.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de fucsina ácida de escarlata de Biebrich dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **20 segundos**. Mezclar cuidadosamente con una pipeta Beral o una varilla aplicadora. Dejar incubar durante **2 minutos**.
- Aclarar rápidamente en agua desionizada, cambiándola varias veces.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **20 segundos**. Extraer los portaobjetos inmediatamente y aclararlos con agua desionizada, realizando varios cambios.
- Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de azul de anilina dentro de un vaso de Coplin de plástico.
- Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **15 segundos**. Mezclar cuidadosamente con una pipeta Beral o una varilla aplicadora. Dejar incubar durante **1 minuto**.
- Aclarar bien con agua desionizada.
- Sumergir los portaobjetos en ácido acético al 1 % de **30 segundos a 1 minuto a temperatura ambiente**.
- Aclarar los portaobjetos, deshidratar en alcohol, aclarar y colocar cubreobjetos.

Características de funcionamiento

Estructura objetivo	Resultado de la tinción
Núcleos	Negros, si se utiliza la hematoxilina férrica de Weigert. Azules, si se utiliza la solución de hematoxilina Gill N.º 3.
Citoplasma	Rojo
Fibras musculares	Rojas
Colágeno	Azul

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especificidad intraensayo	Sensibilidad intraensayo	Especificidad interensayo	Sensibilidad interensayo
HT151	Solución de fucsina ácida escarlata de Biebrich	Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT152	Solución de ácido fosfotúngstico	Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT153	Solución de ácido fosfomolibdico	Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT154	Solución de azul de anilina	Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

HT15:



- H272: Puede agravar un incendio; comburente.
- H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
- P210: Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. No fumar.
- P220: Mantener o almacenar alejado de la ropa y otros materiales combustibles. Evitar su liberación al medio ambiente.
- P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P303 + P361+ P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.
- P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Si durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, infórmelo al fabricante y/o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador

Referencias

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 1950
- Leong AS-Y, Millos 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

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en SigmaAldrich.com. Para solicitar el Servicio Técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en SigmaAldrich.com/techservice.

Historial de revisiones

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Se ha transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Se ha especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha movido la declaración de ayuda al diagnóstico al uso previsto. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices del IVDR. Se ha actualizado la hoja de datos de seguridad del material a la hoja de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se han actualizado las referencias. Se han añadido advertencias y peligros.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Brugsanvisning

Trikromfarvestoffer (Masson)

Procedure nr. HT15



Tilsigtet brug

Trikromfarvestoffer (Masson) er beregnet til brug ved studier af bindevævs-, muskel- og kollagenfibre. Trikromfarvestofreagenser er beregnet til "in vitro-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle kvalitative procedure, påviser muskel- og kollagenfibre i vævsprøver fra mennesker. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, bruges som en hjælp ved diagnosticering af visse tumorer og identifikation af stigninger i kollagent væv ved sygdomme såsom levercirrose.

"Trikrom"-farvestoffer bruges primært til at skelne kollagen fra muskelvæv.² Generelt består de af nukleære, kollagene og cytoplasmiske farvestoffer i bejdsemidler såsom fosforwolframsyre eller molybdænfosphorsyre. Historisk set blev det første trikromsystem tilskrevet Mallory.^{3,4} Yderligere ændringer blev introduceret af Masson og Gomori.^{4,5} Proceduren, som er beskrevet her, er baseret på Massons arbejde, modificeret af Lillie,⁴ ved brug af anilinblåt som kollagenfarvestof i stedet for et grønt farvestof. Vævssnit behandles med Bouins opløsning for at intensivere den endelige farvning. Kerner farves med Weigerts jernhæmatoxylin, og cytoplasma² og muskel farves derefter med Biebrich- skarlagen-syrefuchsin. Efter behandling med fosforwolfram og molybdænfosphorsyre påvises kollagen ved farvning med anilinblåt. Skylning i eddikesyre efter farvning gør farvenuancerne mere sarte og gennemsigtige.⁵ Der medfølger en trikrom-farvningsteknik til hurtig farvning i mikrobølgeovne.⁶⁻⁷

Reagenser

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution (kat.nr. HT151-250ML)
Biebrich-skarlagennød, 0,9 %, CI 26905, syrefuchsin 0,1 %, CI 42685, i eddikesyre, 1,0 %.

Phosphotungstic Acid Solution (kat.nr. HT152-250ML)
Fosforwolframsyre, 10 %.

Phosphomolybdic Acid Solution (kat.nr. HT153-250ML)
Molybdænfosphorsyre, 10 %.

Aniline Blue Solution (kat.nr. HT154-250ML)
Anilinblåt, 2,4 %, CI 42780, og eddikesyre, 2 %.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Positive kontrolobjektglas, såsom Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR012), skal inkluderes i hver kørsel
- 1N-eddikesyre
- Bouin's Solution (kat.nr. HT10132-1L eller HT101128-4L) picrinsyre, 1 %, formaldehyd, 9 % og eddikesyre, 5 %

Kun til standardprocedure

- Weigert's Iron Hematoxylin Set (kat.nr. HT1079-1SET)
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part A (kat.nr. HT107-500ML), 1 % certificeret hæmatoxylin i ethanol
- Weigert's Iron Hematoxylin Solution, Part B (kat.nr. HT109-500ML), jernklorid 1,2 % (vægt/vol.) og saltsyre, 1 % (vol./vol.)

Kun til mikrobølgeprocedure

- Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (kat.nr. GHS316, GHS332, GHS380, GHS3128)
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (kat.nr. S5134)
- Coplin-skål (plast) med ventilerede låg
- Mikrobølgeovn

Opbevaring og stabilitet

Opbevar reagens ved stuetemperatur (18-26 °C). Reagensetiketterne er forsynet med udløbsdato. Dannelse af bundfald i molybdænfosphorsyreopløsning påvirker ikke ydeevnen.

Trikromfarvestofopløsninger, Bouins opløsning, Weigerts jernhæmatoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, eddikesyreopløsning og Scotts postevandserstatningskoncentrat og -arbejdsoopløsning skal opbevares ved stuetemperatur (18-26 °C).

Biebrich-skarlagen-syrefuchsin-opløsning, Bouins opløsning, Weigerts jernhæmatoxylin (del A og B), Trichrome TISSUE-TROL™ og Scotts postevandserstatningskoncentrat og -arbejdsoopløsning er stabile indtil udløbsdatoen.

Arbejdsoopløsningen af Weigerts jernhæmatoxylin skal tilberedes frisk til hver brug.

Forberedelse

Forbered en arbejdsopløsning af fosforwolframsyre/molybdænfosphorsyre ved at blande 1 del fosforwolframsyreopløsning og 1 del molybdænfosphorsyreopløsning med 2 dele demineraliseret vand. Skal kasseres efter en enkelt anvendelse.

Biebrich-skarlagen-syrefuchsin, Bouins opløsning og Gills hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, er klar til brug.

Arbejdsoopløsningen af Weigerts jernhæmatoxylin fremstilles ved at blande lige dele af opløsning A og opløsning B.

Scotts postevandserstatning fremstilles ved at blande 1 del Scotts postevandserstatningskoncentrat med 9 dele demineraliseret vand.

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

Forsigtighedsregler

IVD'erne, der er inkluderet i dette sæt, er beregnet til in vitro-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er kun til professionel brug udført af kvalificeret personale. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr, og har en farveopfattelse og synsstyrke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontrolobjektglas er fremstillet med paraffinindstøbt humant væv, der indeholder kollagen og muskelvæv, og skal betragtes som potentielt smittefarlige.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Ethvert velfikseret paraffinsnit, som er skåret i en tykkelse på 5-6 mikron, kan anvendes. Inkluder passende kontrolobjektglas.

Procedure

Standardprocedure

1. Afparraffiner objektglassene, og hydrer i demineraliseret vand.
2. Bejds i forvarmet Bouins opløsning ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **stuetemperatur** natten over.
3. Afkøl objektglassene i postevand (18-26 °C), som er indeholdt i en Coplin-skål.
4. Vask i rindende postevand for at fjerne gul farve fra snittene.
5. Farv i arbejdsopløsning af Weigerts jernhæmatoxylin i **5 minutter**.
6. Vask under rindende postevand i **5 minutter**.
7. Skyl i demineraliseret vand.
8. Farv i Biebrich-skarlagen-syrefuchsin i **5 minutter**.
9. Skyl i demineraliseret vand.
10. Placer objektglassene i en arbejdsopløsning af fosforwolframsyre/molybdænfosphorsyre i **5 minutter**.
11. Placer objektglassene i anilinblåt-opløsning i **5 minutter**.
12. Placer objektglassene i eddikesyre, 1 %, i **2 minutter**. Bortskaf opløsningen.
13. Skyl objektglassene, dehydrer i alkohol, klarér i xylen, og monter.

Mikrobølgeprocedure

1. Afparraffiner objektglassene, og hydrer i demineraliseret vand.
2. Placer objektglassene i **40 ml** Bouins opløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast. Dæk Coplin-skålene løst med et låg, før de sættes i mikrobølgeovnen, eller brug Coplin-skåle med huller i lågene.
3. Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**. Bland forsigtigt opløsningen med en engangspipette eller en applikatorpind, og inkuber objektglassene i opvarmet Bouins opløsning i **5 minutter** i et stinkskab eller et godt ventileret område.
4. Skyl objektglassene under rindende postevand, indtil den gule farve forsvinder.
5. Placer objektglassene i **40 ml** hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
6. Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 5 sekunder**.
7. Skyl grundigt under rindende postevand i **30 sekunder til 1 minut**.
8. Blå i arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**.
9. Skyl grundigt under rindende postevand.
10. Placer objektglassene i **40 ml** Biebrich-skarlagen-syrefuchsinopløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
11. Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Bland forsigtigt med en engangspipette eller applikatorpind. Lad inkubere i **2 minutter**.
12. Skyl hurtigt i flere hold demineraliseret vand.
13. Placer objektglassene i **40 ml** fosforwolframsyre-/molybdænfosphorsyreopløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
14. Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Fjern omgående objektglassene, og skyl i adskillige hold demineraliseret vand.
15. Placer objektglassene i **40 ml** anilinblåt-opløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
16. Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 15 sekunder**. Bland forsigtigt med en engangspipette eller applikatorpind. Lad inkubere i **1 minut**.
17. Skyl grundigt i demineraliseret vand.
18. Placer objektglassene i 1 % eddikesyre i **30 sekunder til 1 minut** ved **stuetemperatur**.
19. Skyl objektglassene, dehydrer i alkohol, klarér, og påsæt dækglass.

Præstationskarakteristika

Målstruktur	Farvningsresultat
Kerner	Sort, hvis Weigerts jernhæmatoxylin anvendes. Blå, hvis hæmatoxylinopløsning Gill nr. 3 anvendes.
Cytoplasma	Rød
Muskelfibre	Rød
Kollagen	Blå

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne af analyseydelsen for de givne tests, der er udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % følsomhed, specificitet og repeterbarhed.

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Specificitet i analyse	Følsomhed i analyse	Specificitet mellem analyser	Følsomhed mellem analyser
HT151	Biebrich-skarlageng-syrefuchsin-opløsning	Kollagen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Muskel	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT152	Fosforwolframsyreopløsning	Kollagen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Muskel	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Specificitet i analyse	Følsomhed i analyse	Specificitet mellem analyser	Følsomhed mellem analyser
HT153	Molybdænfosphorsyreopløsning	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Kollagen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Muskel	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT154	Anilinblåt-opløsning	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Kollagen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Muskel	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatablad og produktmærkning vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

HT15:



- H272: Kan forstærke brand, brandnærende.
- H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.
- H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
- P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
- P220: Holdes væk fra beklædningsgenstande og andre brændbare materialer. Undgå udledning til miljøet.
- P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P303 + P361+ P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skyllning.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/ Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret in IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør

Referencer

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 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

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Flyttet udtalelse om hjælp ved diagnosticering til tilsigtet brug. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialsikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Opdateret referencer. Advarsler og farer tilføjet.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

Bruksanvisning

Trikromfärger (Masson)

Förfarandebeteckning: HT15



Användningsområde

Trikromfärgerna (Masson) är avsedda att användas vid studier av bindväv, muskelfibrer och kollagena fibrer. Reagenserna för trikromfärger är avsedda för in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Med de data som erhålls genom detta manuella, kvalitativa förfarande påvisas muskelfibrer och kollagena fibrer i vävnadsprover från människa. Dessa data kan användas till hjälp vid diagnostisering av vissa tumörer och för att identifiera förekomsten av ökad kollagen vävnad vid sjukdomar såsom skrumplever, om de bedöms tillsammans med övriga diagnostiska undersökningar och uppgifter.

Så kallade "trikrom-färger" används främst för att skilja kollagen från muskelvävnad.² I allmänhet består de av nukleära, kollagena och cytoplasmatiska färgämnen i betningsmedel som fosfovolframsyra eller fosfomolybdensyra. Historiskt sett tillskrevs det första trikromsystemet Mallory.^{3,4} Masson och Gomori införde vidare modifieringar.^{4,5} Förfarandet som här beskrivs är baserat på Massons arbete, modifierat av Lillie⁴ med anilinblått som kollagenfärg istället för ett grön färg. Vävnadssnittet behandlas med Bouins lösning för att intensifiera den slutliga färgen. Kärnor färgas med Weigerts järnhematoxylin och cytoplasma² och muskler färgas sedan med Beibrich scharlakansrött-surt fuchsin. Efter behandling med fosfovolfram och fosfomolybdensyra påvisas kollagenet genom färgning med anilinblått. En sköljning i ättiksyra efter färgningen gör färgnyanserna mildare och genomskinliga.⁵ En trikromfärgningsteknik för snabbfärgning i mikrovågsugn är inkluderad.⁶⁻⁷

Reagenser

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning (kat.nr HT151-250ML)
Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning, 0,9 %, indexnr 26905, surt fuchsin 0,1 %, indexnr. 42685 i ättiksyra 1,0, %.

Fosfovolframsyralösning (kat.nr HT152-250ML)
Fosfovolframsyra 10 %.

Fosfomolybdensyralösning (kat.nr HT153-250ML)
Fosfomolybdensyra 10 %.

Anilinblå lösning (kat.nr HT154-250ML)
Anilinblått 2,4 %, indexnr. 42780 och ättiksyra 2 %.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Positiva kontrollglas, såsom Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR012) ska inkluderas i varje körning
- Ättiksyra 1N
- Bouins lösning (kat.nr HT10132-1L eller HT101128-4L) pikrinsyra, 1 %, formaldehyd, 9 % och ättiksyra, 5 %

Endast för standardförfaranden

- Weigerts järnhematoxylinset (kat.nr HT1079-1SET)
- Weigerts järnhematoxylinlösning, del A (kat.nr HT107-500ML), 1 % certifierat hematoxylin i etanol
- Weigerts järnhematoxylinlösning, del B (kat.nr HT109-500ML), järnklorid 1,2 % (vikt/volym) och saltsyra, 1 % (volym/volym)

Endast för mikrovågsförfaranden

- Hematoxylinlösning, Gill nr 3 (kat.nr GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scotts kranvattenersättning, koncentrat (kat.nr S5134)
- Coplin-burk (plast) med ventilförsett lock
- Mikrovågsgugn

Förvaring och hållbarhet

Förvara reagenser i rumstemperatur (18–26 °C). Utgångsdatum står på reagensetiketterna. Bildning av en fällning i fosfomolybdensyralösningen påverkar inte prestandan.

Trikromfärglösningar, Bouins lösning, Weigerts järnhematoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, ättiksyralösningen och Scotts kranvattenersättningskoncentrat och arbetslösning ska förvaras i rumstemperatur (18–26 °C).

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning, Bouins lösning, Weigerts järnhematoxylin (del A och B), Trichrome TISSUE-TROL™ och Scotts kranvattenersättningskoncentrat och arbetslösning är hållbara fram till utgångsdatum.

En ny Weigerts arbetslösning med järnhematoxylin ska beredas inför varje användningstillfälle.

Beredning

Bered arbetslösningen med fosfovolfram/fosfomolybdensyra genom att blanda 1 volym fosfovolframsyralösning och 1 volym fosfomolybdensyralösning med 2 volymer avjoniserat vatten. Kassera efter ett användningstillfälle.

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning, Bouins lösning, och Gills hematoxylinlösning, Gill nr 3 är klara för användning.

Weigerts arbetslösning med järnhematoxylin bereds genom att blanda lika delar av lösning A och lösning B.

Scotts kranvattenersättning bereds genom att blanda 1 del Scotts kranvattenersättning i koncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

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

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik som ingår i detta kit är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra färgseende och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagens. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontrollglas är paraffininbäddad humanvävnad som innehåller kollagen vävnad och muskelvävnad och ska anses vara potentiellt smittsamma.

Förfarande

Provtagning

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Vilket välfixerat paraffinsnitt som helst som är skuret i en tjocklek på 5–6 mikrometer eller mindre kan användas. Använd rätt kontrollglas.

Förfarande

Standardförfarande

1. Avparaffinera objektglaset och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Betningsmedel i förvärm Bouins lösning vid 56 °C i **15 minuter** eller i **rumstemperatur** över natten.
3. Kyl objektglaset i kranvatten (18–26 °C) i en Coplin-burk.
4. Tvätta i rinnande kranvatten för att avlägsna den gula färgen från snitten.
5. Färga i en arbetslösning med Weigerts järnhematoxylin under **5 minuter**.
6. Tvätta under rinnande kranvatten i **5 minuter**.
7. Skölj i avjoniserat vatten.
8. Färga i Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning i **5 minuter**.
9. Skölj i avjoniserat vatten.
10. Placera objektglaset i fosfovolfram/fosfomolybdensyralösning och låt ligga i **5 minuter**.
11. Placera objektglaset i anilinblå lösning och låt ligga i **5 minuter**.
12. Lägg objektglaset i ättiksyra, 1 %, och låt ligga i **2 minuter**. Kassera lösningen.
13. Skölj objektglaset, dehydrera med alkohol, rengör i xilen och montera.

Mikrovågsförfarande

1. Avparaffinera objektglaset och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Placera objektglaset i en Coplin-burk av plast med **40 ml** Bouins lösning. Täck Coplin-burken löst med lock innan du placerar den i mikrovågsgugnen eller använd Coplin-burkar med borrade hål i locken.
3. Värm i mikrovågsgugn på **600 watt i 25 sekunder**. Rör om i lösningen med en appliceringssticka eller beralpipett och inkubera sedan objektglaset i uppvärmd Bouins lösning i **5 minuter** under en draghuv eller i ett välventilerat utrymme.
4. Skölj objektglaset i rinnande kranvatten tills den gula färgen försvinner.
5. Placera objektglaset i **40 ml** hematoxylinlösning Gill nr 3 i en Coplin-burk av plast.
6. Värm i mikrovågsgugn på **800 watt i 5 sekunder**.
7. Skölj väl i kranvatten i **30 sekunder** till **1 minut**.
8. Blåfärga i Scotts kranvattenersättning i **rumstemperatur**.
9. Skölj väl i rinnande kranvatten.
10. Placera objektglaset i **40 ml** Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning i en Coplin-burk av plast.
11. Värm i mikrovågsgugn på **600 watt i 20 sekunder**. Blanda försiktigt med en beralpipett eller appliceringssticka. Inkubera i **2 minuter**.
12. Skölj snabbt i flera byten med avjoniserat vatten.
13. Placera objektglaset i en Coplin-burk av plast med **40 ml** fosfovolfram-fosfomolybdensyralösning.
14. Värm i mikrovågsgugn på **600 watt i 20 sekunder**. Ta genast bort objektglaset och skölj i flera byten med avjoniserat vatten.
15. Placera objektglaset i **40 ml** anilinlösning (blått) i en Coplin-burk av plast.
16. Värm i mikrovågsgugn på **600 watt i 15 sekunder**. Blanda försiktigt med en beralpipett eller appliceringssticka. Inkubera i **1 minut**.
17. Skölj väl i avjoniserat vatten.
18. Placera objektglaset i ättiksyra 1 % och låt ligga där i **30 sekunder** till **1 minut i rumstemperatur**.
19. Skölj objektglaset, dehydrera med alkohol, rengör i xilen och täck med täckglas.

Prestandaegenskaper

Målstruktur		Färgningsresultat	
Kärnor	Svart, om Weigerts järnhematoxylin används. Blått, om hematoxylinlösning Gill nr 3 används.		
Cytoplasma		Rött	
Muskelfibrer		Rött	
Kollagen		Blått	

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrichs för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

Analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.nr	Produktbe- skrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT151	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-lösning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT152	Fosfovolframsyra	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Kat.nr	Produktbe- skrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT153	Fosfomolybdinsyra	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT154	Anilinblå lösning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

HT15:



- H272: Kan intensifiera eld; oxidationsmedel.
- H314: Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H412: Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
- P210: Håll borta från värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
- P220: Håll borta från kläder och andra brännbara material. Undvik utsläpp i miljön.
- P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P303 + P361+ P353: VID KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P305 + P351 + P338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Om det har inträffat en allvarlig incident medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts, ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkrans om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Temperaturgräns		Iakttag försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör

Referenser

1. Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
2. Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
3. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
4. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
5. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 10:661, 1950
6. Leong AS-Y, Millos J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
7. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
8. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässig bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat påståendet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Användningsområde". Reviderat "Användningsområde" så att det motsvara riktlinjerna IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontaktuppgifter för biverkningar. Uppdaterade referenser. Lade till varningar och faror.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instruções de utilização

Colorações tricrómicas (Masson)

Procedimento n.º HT15



Utilização prevista

As colorações tricrómicas (Masson) destinam-se a ser utilizadas no estudo do tecido conjuntivo, músculo e fibras de colagénio. Os reagentes de coloração tricrómica destinam-se a "Utilização para diagnóstico in vitro". Apenas para utilização profissional. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo manual demonstram fibras musculares e de colagénio em amostras de tecidos de espécimes humanos. Quando revistos em conjunto com outras informações e testes de diagnóstico, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de determinados tumores e na identificação de aumentos no tecido colagenoso em doenças como cirrose hepática.

As colorações "tricrómicas" são utilizadas principalmente para distinguir o colagénio do tecido muscular.² Em geral, consistem em corantes nucleares, colagenosos e citoplasmáticos em mordentes como o ácido fosfotúngstico ou fosfomolibdico. Historicamente, o primeiro sistema tricrómico foi atribuído a Mallory.^{3,4} Outras modificações foram introduzidas por Masson e Gomori.^{4,5} O procedimento aqui descrito baseia-se no trabalho de Masson tal como modificado por Lillie⁴ utilizando azul anilina como corante de colagénio em vez de um corante verde. As secções do tecido são tratadas com a solução de Bouin para intensificar a coloração final. Os núcleos são corados com hematoxilina de ferro de Weigert, e o citoplasma² e o músculo são em seguida corados com escarlate de Biebrich e fucsina ácida. Após tratamento com ácido fosfotúngstico e fosfomolibdico, o colagénio é demonstrado através de coloração com azul anilina. O enxaugamento em ácido acético após a coloração torna as tonalidades de cor mais delicadas e transparentes.³ Está incluída uma técnica de coloração tricrómica para coloração rápida em fornos de micro-ondas.⁶⁻⁷

Reagentes

Solução de escarlate de Biebrich e fucsina ácida (N.º de cat. HT151-250ML)

Escarlate de Biebrich, 0,9%, C.I. 26905, fucsina ácida 0,1%, C.I. 42685, em ácido acético, 1,0%.

Solução de ácido fosfotúngstico (N.º de cat. HT152-250ML)

Ácido fosfotúngstico, 10%.

Solução de ácido fosfomolibdico (N.º de cat. HT153-250ML)

Ácido fosfomolibdico, 10%

Solução de azul anilina (N.º de cat. HT154-250ML)

Azul anilina, 2,4%, C.I. 42780 e ácido acético, 2%.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Devem ser incluídas em cada série lâminas de controlo positivo, como o Tricrómio TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR012)
- Ácido acético 1N
- Solução de Bouin (N.º de cat. HT10132-1L ou HT101128-4L) ácido pícrico, 1%, formaldeído, 9% e ácido acético, 5%

Apenas para o procedimento padrão

- Conjunto de hematoxilina de ferro de Weigert (N.º de cat. HT1079-1SET)
- Solução de hematoxilina de ferro de Weigert, Parte A (N.º de cat. HT107-500ML) 1% de hematoxilina certificada em etanol
- Solução de hematoxilina de ferro de Weigert, Parte B (N.º de cat. HT109-500ML), cloreto férrico 1,2% (p/v) e ácido clorídrico, 1% (v/v)

Apenas para procedimentos em micro-ondas

- Solução de hematoxilina, Gill N.º 3 (N.º de cat. GHS3316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Concentrado de substituto de água da torneira de Scott (N.º de cat. S5134)
- Jarras de Coplin (plástico) com tampas ventiladas
- Forno micro-ondas

Conservação e estabilidade

ConsERVE os reagentes à temperatura ambiente (18–26 °C). As etiquetas dos reagentes têm data de validade. A formação de um precipitado em solução de ácido fosfomolibdico não afeta o desempenho.

As soluções de mancha tricrómica, a solução de Bouin, hematoxilina de ferro de Weigert, corante tricrómico TISSUE-TROL™, solução de ácido acético, concentrado de substituto de água da torneira de Scott e solução de trabalho devem ser armazenados à temperatura ambiente (18–26 °C).

A solução de escarlate de Biebrich e fucsina ácida, a solução de Bouin, hematoxilina de ferro de Weigert (Partes A e B), o Trichrome TISSUE-TROL™ e o concentrado de substituto de água da torneira de Scott e a solução de trabalho permanecem estáveis até à data de validade.

A solução de trabalho de hematoxilina de ferro de Weigert deve ser preparada fresca para cada utilização.

Preparação

Prepare a solução de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico ativo misturando 1 volume de solução de ácido fosfotúngstico e 1 volume de solução de ácido fosfomolibdico com 2 volumes de água desionizada. Elimine após uma utilização.

O escarlate de Biebrich e fucsina ácida, a solução de Bouin e a solução de hematoxilina de Gill, Gill N.º 3 estão prontos a utilizar.

A solução de hematoxilina de ferro de Weigert é preparada misturando partes iguais da Solução A e da Solução B.

O substituto de água da torneira de Scott é preparado misturando 1 parte de concentrado de substituto de água da torneira de Scott em 9 partes de água desionizada.

Prepare ácido acético a 1% diluindo 8,8 mL de ácido acético 1N em 41,2 mL de água.

Precauções

Os DIV incluídos neste kit destinam-se a utilização para diagnóstico in vitro num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo Trichrome TISSUE-TROL™ consistem em tecidos humanos incluídos em parafina com colagénio e tecido muscular e devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

Pode ser utilizada qualquer secção de parafina bem fixada cortada a 5–6 micrones. Incorpore lâminas de controlo apropriadas.

Procedimento

Procedimento padrão

- Desparafinize e hidrate as lâminas com água desionizada.
- Utilize um mordente em solução de Bouin pré-aquecida a 56 °C durante **15 minutos** ou à **temperatura ambiente** durante a noite.
- Arrefeça as lâminas em água da torneira (18–26 °C) contidas num frasco de Coplin.
- Lave em água corrente da torneira para remover a cor amarela das secções.
- Proceda à coloração em solução de trabalho de hematoxilina de ferro de Weigert durante **5 minutos**.
- Lave em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
- Lave em água desionizada.
- Realize a coloração em escarlate de Biebrich-fucsina ácida durante **5 minutos**.
- Lave em água desionizada.
- Coloque as lâminas em solução de trabalho de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico durante **5 minutos**.
- Coloque as lâminas em solução de azul anilina durante **5 minutos**.
- Coloque as lâminas em ácido acético, 1%, durante **2 minutos**. Elimine a solução.
- Lave as lâminas, desidrate com álcool, limpe em xileno e proceda à montagem.

Procedimento em micro-ondas

- Desparafinize e hidrate as lâminas com água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de Bouin contida numa jarra de Coplin de plástico. Cubra a jarra de Coplin sem apertar com a tampa antes de a colocar num forno micro-ondas ou utilize jarras de Coplin com orifícios perfurados nas tampas.
- Leve ao micro-ondas a **600 watts** durante **25 segundos**. Misture suavemente a solução com uma pipeta de Beral ou com uma vareta aplicadora, incube as lâminas em solução de Bouin aquecida durante **5 minutos** numa hotte de aspiração ou numa área bem ventilada.
- Lave as lâminas em água corrente da torneira até desaparecer a cor amarela.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de hematoxilina, Gill N.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **5 segundos**.
- Lave bem em água da torneira durante **30 segundos a 1 minuto**.
- Realize a coloração azul em substituto de água da torneira de Scott ativo à **temperatura ambiente**.
- Lave bem em água da torneira corrente.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de escarlate de Biebrich e fucsina ácida contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **600 watts** durante **20 segundos**. Misture suavemente com uma pipeta de Beral ou uma vareta aplicadora. Deixe incubar durante **2 minutos**.
- Lave rapidamente em várias mudas de água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **600 watts** durante **20 segundos**. Retire imediatamente as lâminas e lave em várias mudas de água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de azul anilina contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **600 watts** durante **15 segundos**. Misture suavemente com uma pipeta de Beral ou uma vareta aplicadora. Deixe incubar durante **1 minuto**.
- Lave bem em água desionizada.
- Coloque as lâminas em ácido acético a 1% durante **30 segundos a 1 minuto à temperatura ambiente**.
- Lave as lâminas, desidrate com álcool, limpe e coloque numa lamela.

Características de desempenho

Estrutura alvo	Resultado de coloração
Núcleos	Preto, se for utilizada hematoxilina de ferro de Weigert. Azul, se for utilizada solução de hematoxilina Gill N.º 3.
Citoplasma	Vermelho
Fibras musculares	Vermelho
Colagénio	Azul

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características de desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
HT151	Solução de escarlate de Biebrich e fucsina ácida	Colagénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT152	Solução de ácido fosfotúngstico	Colagénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT153	Solução de ácido fosfomolibdico	Colagénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT154	Solução de azul anilina	Colagénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

HT15:



- H272: Pode agravar incêndios; comburente.
- H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
- P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
- P220: Manter afastado da roupa e de outras matérias combustíveis. Evitar a libertação para o ambiente.
- P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P303 + P361+ P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.
- P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cautelosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva IVDR 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador

Referências

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 1950
- Leong AS-Y, Millios 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

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Histórico de revisões

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Declaração de auxiliar de diagnóstico movida para a utilização prevista. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do RDIV. Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Atualização das referências. Avisos e perigos adicionados.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Οδηγίες χρήσης

Χρώσεις Trichrome (Masson)

Διαδικασία αρ. HT15



Προοριζόμενη χρήση

Οι χρώσεις Trichrome (Masson) προορίζονται για χρήση στη μελέτη ινών συνδετικού ιστού, μυϊκών ινών και ινών κολλαγόνου. Τα αντιδραστήρια χρώσης Trichrome προορίζονται για «in vitro διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτή τη μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζουν μυϊκές ίνες και ίνες κολλαγόνου σε δείγματα ανθρώπινων ιστών. Αυτά τα δεδομένα, όταν εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις και πληροφορίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα για τη διάγνωση ορισμένων όγκων και τον εντοπισμό της αύξησης του κολλαγόνου ιστού σε ασθένειες όπως η κίρρωση του ήπατος.

Οι χρώσεις «Trichrome» χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διάκριση του κολλαγόνου από τον μυϊκό ιστό.² Γενικά, αποτελούνται από πυρηνικές, κολλαγονικές και κυτταροπλασματικές χρωστικές σε προστάγματα όπως το φωσφοβολφραμικό ή το φωσφομολυβδικό οξύ. Ιστορικά, το πρώτο σύστημα trichrome αποδόθηκε στον Mallory.^{3,4} Περαιτέρω τροποποιήσεις εισήχθησαν από τους Masson και Gomori.^{4,5} Η διαδικασία που περιγράφεται εδώ βασίζεται στο έργο του Masson, όπως τροποποιήθηκε από τον Lillie⁴ χρησιμοποιώντας κυανό της ανιλίνης ως χρώση κολλαγόνου αντί για πράσινη χρωστική. Οι τομές των ιστών υφίστανται επεξεργασία με διάλυμα Bouin για να ενισχυθεί ο τελικός χρωματισμός. Οι πυρήνες χρωματίζονται με αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert και, στη συνέχεια, το κυτταρόπλασμα² και ο μυς χρωματίζονται με Biebrich scarlet-όξινη φουξίνη. Μετά από επεξεργασία με φωσφοβολφραμικό και φωσφομολυβδικό οξύ, το κολλαγόνο αναγνωρίζεται με χρώση με κυανό της ανιλίνης. Η έκλυση με οξικό οξύ μετά τη χρώση καθιστά τις αποχρώσεις του χρώματος πιο λεπτές και διαφανείς.⁵ Περιλαμβάνεται μια τεχνική χρώσης trichrome για ταχεία χρώση σε φούρνους μικροκυμάτων.⁶⁻⁷

Αντιδραστήρια

Διάλυμα Biebrich Scarlet-όξινης φουξίνης (αρ. καταλόγου HT151-250ML)
Biebrich scarlet, 0,9%, C.I. 26905, όξινη φουξίνη 0,1%, C.I. 42685, σε οξικό οξύ, 1,0%.

Διάλυμα φωσφοβολφραμικού οξέος (αρ. καταλόγου HT152-250ML)
Φωσφοβολφραμικό οξύ, 10%.

Διάλυμα φωσφομολυβδικού οξέος (αρ. καταλόγου HT153-250ML)
Φωσφομολυβδικό οξύ, 10%

Διάλυμα κυανού της ανιλίνης (αρ. καταλόγου HT154-250ML)
Κυανό της ανιλίνης, 2,4%, C.I. 42780 και οξικό οξύ, 2%.

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Θετικές αντικειμενοφόροι ελέγχου, όπως Trichrome TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR012) πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση
- Οξικό οξύ 1N
- Διάλυμα Bouin (αρ. καταλόγου HT10132-1L ή HT101128-4L) πικρικό οξύ, 1%, φορμαλδεϋδη, 9% και οξικό οξύ, 5%

Για τυπική διαδικασία μόνο

- Σετ αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert (αρ. καταλόγου HT1079-1SET)
- Διάλυμα αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert, Μέρος Α (αρ. καταλόγου HT107-500ML), 1% πιστοποιημένη αιματοξυλίνη σε αιθανόλη
- Διάλυμα αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert, Μέρος Β (αρ. καταλόγου HT109-500ML), τριχλωριούχος σίδηρος 1,2% (w/v) και υδροχλωρικό οξύ, 1% (v/v)

Για διαδικασία μικροκυμάτων μόνο

- Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 (αρ. καταλόγου GHS316, GHS332, GHS380, GHS3128)
- Συμπύκνωμα υποκατάστατο νερού βρύσης Scott (αρ. καταλόγου S5134)
- Δοχείο Corlin (πλαστικό) με εξερισμένο καπάκι
- Φούρνος μικροκυμάτων

Φύλλα και σταθερότητα

Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Οι ετικέτες των αντιδραστηρίων αναφέρουν τις ημερομηνίες λήξης. Ο σχηματισμός ιζήματος στο διάλυμα φωσφομολυβδικού οξέος δεν επηρεάζει την απόδοση.

Τα διαλύματα χρώσης Trichrome, το διάλυμα Bouin, η αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert, το Trichrome TISSUE-TROL™, το διάλυμα οξικού οξέος και το συμπύκνωμα υποκατάστατο νερού βρύσης Scott και το διάλυμα εργασίας πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C).

Το διάλυμα Biebrich Scarlet-όξινης φουξίνης, το διάλυμα Bouin, η αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert (Μέρη Α και Β), το Trichrome TISSUE-TROL™, και το συμπύκνωμα υποκατάστατο νερού βρύσης Scott και το διάλυμα εργασίας είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης.

Το διάλυμα εργασίας αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert θα πρέπει να παρασκευάζεται πρόσφατο για κάθε χρήση.

Παρασκευή

Παρασκευάστε το διάλυμα φωσφοβολφραμικού/φωσφομολυβδικού οξέος εργασίας αναμειγνύοντας 1 όγκο διαλύματος φωσφοβολφραμικού οξέος και 1 όγκο διαλύματος φωσφομολυβδικού οξέος με 2 όγκους απιονισμένου νερού. Απορρίψτε μετά από μία χρήση.

Το διάλυμα Biebrich Scarlet-όξινης φουξίνης, το διάλυμα Bouin και το διάλυμα αιματοξυλίνης Gill, Gill αρ. 3 είναι έτοιμα για χρήση.

Το διάλυμα αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert παρασκευάζεται με την ανάμειξη ίσων μερών του διαλύματος Α και του διαλύματος Β.

Το υποκατάστατο νερού βρύσης Scott παρασκευάζεται αναμειγνύοντας 1 μέρος συμπύκνωματος υποκατάστατο νερού βρύσης Scott με 9 μέρη απιονισμένου νερού.

Παρασκευάστε οξικό οξύ 1% αραιώνοντας 8,8 mL οξικού οξέος 1N με 41,2 mL νερού.

Προφυλάξεις

Τα βοηθήματα IVD που περιλαμβάνονται σε αυτό το κιτ προορίζονται για in vitro διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκόπια και άλλων εργαστηριακό εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από το μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνθήκες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Οι αντικειμενοφόροι ελέγχου Trichrome TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ανθρώπινος ιστός που περιέχει κολλαγόνο και μυϊκό ιστό και θα πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικός.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοίμωξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικά.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε καλώς μονιμοποιημένη τομή παραφίνης κομμένη στα 5–6 microns. Συμπεριλάβετε τις κατάλληλες αντικειμενοφόρους ελέγχου.

Διαδικασία

Τυπική διαδικασία

1. Αποπαραφινώστε τις αντικειμενοφόρους και ενυδατώστε σε απιονισμένο νερό.
2. Προβείτε σε πρότυπη σε προθερμασμένο διάλυμα Bouin στους 56 °C για **15 λεπτά** ή σε **θερμοκρασία δωματίου** ολονύκτια.
3. Ψύξτε τις αντικειμενοφόρους σε νερό βρύσης (18–26 °C) που περιέχεται σε δοχείο Corlin.
4. Πλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης για να αφαιρέσετε το κίτρινο χρώμα από τις τομές.
5. Χρωματίστε σε διάλυμα αιματοξυλίνης σιδήρου Weigert εργασίας για **5 λεπτά**.
6. Πλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
7. Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό.
8. Χρωματίστε σε διάλυμα Biebrich Scarlet-όξινης φουξίνης για **5 λεπτά**.
9. Ξεπλύνετε σε απιονισμένο νερό.
10. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε διάλυμα φωσφοβολφραμικού/φωσφομολυβδικού οξέος εργασίας για **5 λεπτά**.
11. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε διάλυμα κυανού της ανιλίνης για **5 λεπτά**.
12. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε οξικό οξύ, 1%, για **2 λεπτά**. Απορρίψτε το διάλυμα.
13. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους, αφυδατώστε μέσω αλκοόλης, διουγάστε σε ξυλένιο και καλύψτε.

Διαδικασία μικροκυμάτων

1. Αποπαραφινώστε τις αντικειμενοφόρους και ενυδατώστε σε απιονισμένο νερό.
2. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος Bouin που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin. Καλύψτε χαλαρά τα δοχεία Corlin με καπάκι πριν τα τοποθετήσετε στον φούρνο μικροκυμάτων ή χρησιμοποιήστε δοχεία Corlin με οπές στα καπάκια.
3. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **25 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε ήπια το διάλυμα με πιπέτα Beral ή στελεό εφαρμογής, επώστε τις αντικειμενοφόρους σε θερμομασμένο διάλυμα Bouin για **5 λεπτά** σε απορροφητήρα ή καλό αεριζόμενο χώρο.
4. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε τρεχούμενο νερό βρύσης μέχρι να εξαφανιστεί το κίτρινο χρώμα.
5. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
6. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **5 δευτερόλεπτα**.
7. Ξεπλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **30 δευτερόλεπτα** έως **1 λεπτό**.
8. Προκαλέστε μπλε χρώση σε υποκατάστατο νερού βρύσης Scott εργασίας σε **θερμοκρασία δωματίου**.
9. Ξεπλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
10. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος Biebrich Scarlet-όξινης φουξίνης που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
11. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **20 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε ήπια με πιπέτα Beral ή στελεό εφαρμογής. Αφήστε να επωαστεί για **2 λεπτά**.
12. Ξεπλύνετε γρήγορα σε πολλές αλλαγές απιονισμένου νερού.
13. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος φωσφοβολφραμικού-φωσφομολυβδικού οξέος που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
14. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **20 δευτερόλεπτα**. Αφαιρέστε αμέσως τις αντικειμενοφόρους και ξεπλύνετε σε πολλές αλλαγές απιονισμένου νερού.
15. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος κυανού της ανιλίνης που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
16. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **15 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε ήπια με πιπέτα Beral ή στελεό εφαρμογής. Αφήστε να επωαστεί για **1 λεπτό**.
17. Ξεπλύνετε καλά σε απιονισμένο νερό.
18. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε οξικό οξύ 1% για **30 δευτερόλεπτα** έως **1 λεπτό** σε **θερμοκρασία δωματίου**.
19. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους, αφυδατώστε μέσω αλκοόλης, διουγάστε και καλύψτε με καλυπτρίδα.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Στοχευόμενη δομή	Αποτέλεσμα χρώσης
Πυρήνες	Μαύρο, εάν χρησιμοποιείται αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert. Μπλε, εάν χρησιμοποιείται διάλυμα αιματοξυλίνης Gill αρ. 3.
Κυτταρόπλασμα	Κόκκινο
Μυϊκές ίνες	Κόκκινο
Κολλαγόνο	Μπλε

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες δομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ. κατα-λόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
HT151	Διάλυμα Biebrich Scarlet-όξινης φουξίνης	Κολλαγόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Μυς	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κυτταρόπλασμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT152	Διάλυμα φωσφοβολφραμικού οξέος	Κολλαγόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Μυς	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κυτταρόπλασμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT153	Διάλυμα φω-σφομολυβδικού οξέος	Κολλαγόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Μυς	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κυτταρόπλασμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT154	Διάλυμα κυανού της ανιλίνης	Κολλαγόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Μυς	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κυτταρόπλασμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

HT15:



- H272: Μπορεί να αναζωπυρώσει την πυρκαγιά· οξειδωτικό.
- H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.
- P210: Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καννίζετε.
- P220: Να φυλάσσεται μακριά από ενδύματα και άλλα καύσιμα υλικά. Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.
- P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P303 + P361+ P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.
- P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn’s Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 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

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση SigmaAldrich.com. Για τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση SigmaAldrich.com/techservice.

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2022
Αναθ. 6.0	2022

Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η δήλωση βοηθήματος για διάγνωση μεταφέρθηκε στην προοριζόμενη χρήση. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Ενημερώθηκαν οι βιβλιογραφικές αναφορές. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

Használati utasítás

Trikróm festékek (Masson)

HT15 sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A trikróm festékek (Masson) a kötőszövetek, izom- és kollagénrostok vizsgálatára szolgálnak. A trikróm festőreagens „in vitro diagnosztikai felhasználásra” szolgál. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok segítségével kimutathatók az emberi szövetmintákban található izom- és kollagénrostok. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók bizonyos daganatok diagnosztizálásának és néhány betegségnek, mint a májzsugorodásnál fellépő kollagénszövet-növekedés azonosításának elősegítésére.

A „trikróm” festékeket elsősorban a kollagén és az izomszövet megkülönböztetésére használják.² Általában nukleáris, kollagén- és citoplazmatikus színezőanyagokból áll, melyek páccanyagban vannak, pl. foszforvolfrámsavban vagy a foszformolibdénsavban. Történelmileg az első trikróm rendszert Mallorynak tulajdonították.^{3,4} Masson és Gomori további módosításokat vezetett be.^{4,5} Az itt leírt eljárás alapja a Lillie⁴ által módosított Masson-módszer, amelyben anilinkéket használunk kollagénfestékként a zöld festék helyett. A szövetmetszeteket Bouin-oldattal kezelik a végső színeződés fokozására. A sejtmagokat Weigert-féle vas-hematoxilinnel, a citoplazmát² és az izmokat pedig Beirich-féle skarlát-savas fukszinnal festik. A foszforvolfrámsavval és foszformolibdénsavval végzett kezelés után a kollagén anilinkékfestéssel mutatható ki. A festés utáni ecetsavas öblítés finomabbá és áttetszőbbé teszi a színrnyalatokat.⁵ A csomag egy trikróm festési technikát tartalmaz a mikrohullámú sütőkben történő gyors festéshez.⁶⁻⁷

Reagens

Biebrich-féle skarlát-savas fukszinoldat (kat. sz. HT151-250ML)
Biebrich skarlát, 0,9%, C.I. 26905, savas fukszin 0,1%, C.I. 42685, ecetsavban, 1,0%.

Foszforvolfrámsav oldat (kat. sz. HT152-250ML)
Foszforvolfrámsav, 10%.

Foszformolibdénsav oldat (kat. sz. HT153-250ML)
Foszformolibdénsav, 10%.

Anilinkékoldat (kat. sz. HT154-250ML)
Anilinkék, 2,4%, C.I. 42780 és ecetsav, 2%.

Szükséges, de nem biztosított különleges anyagok

- Pozitív kontroll tárgylemezeket, mint például a Trikróm TISSUE-TROL™ (kat. sz. TTR012), minden kísérletben használni kell
- 1N ecetsav
- Bouin-oldat (kat. sz. HT10132-1L vagy HT101128-4L) pikrinsav, 1%, formaldehid, 9% és ecetsav, 5%

Csak a standard eljáráshoz

- Weigert-féle vas-hematoxilin készlet (kat. sz. HT1079-1SET)
- Weigert-féle vas-hematoxilin oldat, A rész (kat. sz. HT107-500ML), 1%, tanúsított hematoxilin etanolban
- Weigert-féle vas-hematoxilin oldat, B rész (kat. sz. HT109-500ML), vas-klorid 1,2% (w/v) és sósav, 1% (v/v)

Csak mikrohullámos eljáráshoz

- Hematoxilinololdat, Gill III (kat. sz. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum (kat. sz. S5134)
- Kuvetta (műanyag), szellőző fedéllel
- Mikrohullámú sütő

Tárolás és stabilitás

A reagenset szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. A reagens címkéin szerepel a lejárat dátum. A foszformolibdénsav oldatban csapadék képződése nem befolyásolja a teljesítményt.

A trikrómfestő oldatot, a Bouin-oldatot, a Weigert-féle vas-hematoxilin, a Trikróm TISSUE-TROL™ oldatot, az ecetsavoldatot és a Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot és munkaoldatát szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni.

A Biebrich-féle skarlát-savas fukszinoldat, a Bouin-oldat, a Weigert-féle vas-hematoxilin (A és B rész), a Trichrome TISSUE-TROL™ és a Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum munkaoldat a lejárat dátumig stabil.

A Weigert-féle vas-hematoxilin munkaoldatot minden használat előtt frissen kell elkészíteni.

Előkészítés

Készítse el a foszforvolfrámsav/foszformolibdénsav munkaoldatot, 1 térfogatrészt foszforvolfrámsav-törzsoldatot és 1 térfogatrészt foszformolibdénsav-törzsoldatot összekeverve 2 térfogatrészt ioncserélt vízzel. Egyszeri használat után ki kell dobni.

A Biebrich-féle skarlát-sav fukszin, a Bouin-oldat és a Gill III-as hematoxilinololdat készen áll a használatra.

A Weigert-féle vas-hematoxilin oldatot az A és a B oldat egyenlő térfogatának összekeverésével készítheti el.

A Scott-féle csapvíz-helyettesítő reagens elkészítéséhez keverjen össze 1 rész Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot 9 rész ioncserélt vízzel.

Készítsen 1%-os ecetsavat 8,8 ml 1N ecetsav 41,2 ml vízben történő hígításával.

Óvintézkedések

A készletben található in vitro diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő in vitro diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az in vitro diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich in vitro diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő színérzékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagens kezelés során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékot a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A trikróm TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, kollagént és izomszövetet tartalmazó humán szövetek találhatók, amelyeket potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérkészítményt vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Bármely helyesen rögzített, 5–6 mikronos, paraffinba ágyazott metszet használható. Használjon megfelelő kontroll tárgylemezeket.

Eljárás

Standard eljárás

1. Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt víz a metszeteket.
2. Pácolja a tárgylemezeket előlelegített Bouin-oldatban 56 °C-on **15 percig** vagy **szobahőmérsékleten** egy éjszakán át.
3. Hűtse le a tárgylemezeket csapvízzel (18–26 °C) töltött küvetában.
4. Mossa folyó csapvízben, hogy eltávolítsa a sárga színt a metszetekről.
5. Fesse Weigert-féle vas-hematoxilin munkaoldatban **5 percig**.
6. Mossa folyó csapvízben **5 percig**.
7. Öblítse le ioncserélt vízzel.
8. Fesse Biebrich-féle skarlát-savas fukszinban **5 percig**.
9. Öblítse le ioncserélt vízzel.
10. Helyezze a tárgylemezeket **5 perc**re foszforvolfrámsav/foszformolibdénsav munkaoldatba.
11. Helyezze a tárgylemezeket anilinkék oldatba **5 perc**re.
12. Helyezze a tárgylemezeket 1%-os ecetsavba **2 perc**re. Öntse ki az oldatot.
13. Öblítse le a tárgylemezeket, dehidratálja alkohollal, derítse xilolban és fedje le.

Mikrohullámos eljárás

1. Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt víz a metszeteket.
2. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** Bouin-oldatba. Mielőtt behelyezné a mikrohullámú sütőbe, lazán fedje le a küvetát a fedelével, vagy használjon a fedelebe fűrt lyukakkal ellátott küvetákat.
3. Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 25 másodpercig**. Óvatosan keverje össze az oldatot transzferpipettával vagy applikátorpálccal, majd inkubálja a tárgylemezeket Bouin-oldatban **5 percig** elszívófülke alatt vagy jól szellőző helyen.
4. Öblítse a tárgylemezeket folyó csapvízben, amíg a sárga szín el nem tűnik.
5. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** Gill III-as hematoxilinololdatba.
6. Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 5 másodpercig**.
7. Alaposan öblítse le a folyó csapvízben **30 másodperc** és **1 perc** közötti ideig.
8. Kéítse Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaoldatban **szobahőmérsékleten**.
9. Alaposan öblítse le a folyó csapvízzel.
10. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** Biebrich-féle skarlát-savas fukszinoldatba.
11. Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 20 másodpercig**. Óvatosan keverje össze transzferpipettával vagy applikátorpálccal. Inkubálja **2 percig**.
12. Többször váltott ioncserélt vízben gyorsan öblítse le.
13. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** foszforvolfrámsav/foszformolibdénsav oldatba.
14. Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 20 másodpercig**. Azonnal távolítsa el a tárgylemezeket, és öblítse többször váltott ioncserélt vízben.
15. Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetába, **40 ml** anilinkék oldatba.
16. Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 15 másodpercig**. Óvatosan keverje össze transzferpipettával vagy applikátorpálccal. Inkubálja **1 percig**.
17. Alaposan öblítse le a ioncserélt vízzel.
18. Helyezze a tárgylemezeket 1%-os ecetsavba **30 másodperc** és **1 perc** közötti időtartamra **szobahőmérsékleten**.
19. Öblítse le a tárgylemezeket, dehidratálja alkohollal, derítse és fedje le a fedőlemezzel.

Teljesítményjellemzők

Célstruktúra	Festési eredmény
Sejtmagok	Fekete, ha Weigert-féle vas-hematoxilint használt. Kék, ha Gill III-as hematoxilinololdatot használt.
Citoplazma	Piros
Izomrostok	Piros
Kollagén	Kék

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenységet, speciticitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli speciticitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti speciticitás	Tesztek közötti érzékenység
HT151	Biebrich-féle skarlát-savas fukszinoldat	Kollagén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Izom	3/3	3/3	3/3	3/3
		Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3
HT152	Foszforvolfrámsav	Kollagén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Izom	3/3	3/3	3/3	3/3
		Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifikitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifikitás	Tesztek közötti érzékenység
HT153	Foszformolibdénsav	Kollagén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Izom	3/3	3/3	3/3	3/3
		Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3
HT154	Anilinkékoldat	Kollagén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Izom	3/3	3/3	3/3	3/3
		Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információkért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

HT15:



H272: Fokozhatja a tűz intenzitását; oxidáló hatású.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P210: Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P220: Ruhától és egyéb gyúlékony anyagoktól távol tartandó. Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P303 + P361+ P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos baleset történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságnak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a Használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Felhasználható		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr

Hivatkozások

1. Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
2. Conn’s Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
3. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
4. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory’s connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
5. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 10:661, 1950
6. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
7. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
8. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Átdolgozási előzmények

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnosizhoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használatához. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Frissített hivatkozások. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Návod k použití

Trichromová barviva (Masson)

Postup č. HT15



Určené použití

Trichromová barviva (podle Massona) jsou určena pro studium pojivové tkáně, svalů a kolagenových vláken. Trichromová barvicí činidla jsou určena pro „diagnostické použití in vitro“. Pouze pro profesionální použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu prokazují svalová a kolagenová vlákna ve vzorcích tkání z lidských vzorků. Tyto údaje mohou být při přezkoumání společně s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice určitých nádorů a identifikaci zesílení kolagenní tkáně u nemocí, jako je cirhóza jater.

„Trichromové“ směsi barviv se používají především pro rozlišení kolagenu od svalové tkáně.² Obecně se skládají z jádrových, kolagenních a cytoplazmatických barviv v mořidlech, jako jsou kyseliny fosfowolframové nebo fosfomolybdenové. Historicky byl první trichromový systém připisán Mallorymu.^{3,4} Další úpravy byly zavedeny Massonem a Gomorim.^{4,5} Postup zde popsán je založený na práci Massona jak byla modifikována Lilliem⁶ s použitím anilinové modři jako barviva kolagenu namísto zeleného barviva. Tkáňové řezy jsou ošetřeny Bouinovým roztokem pro zintenzivnění konečného zbarvení. Jádra se barví Weigertovým železitým hematoxylinem a cytoplazma² a svaly jsou pak barveny Beirichovým šarlatem-kyselým fuchsinem. Po ošetření kyselinou fosfowolframovou a kyselinou fosfomolybdenovou je kolagen prokázán zbarvením anilinovou modří. Propláchnutí v kyselině octové po barvení činí odstíny barev jemnějšími a transparentními.⁵ Je použita trichromová barvicí technika pro rychlé barvení v mikrovlnných troubách.⁶⁻⁷

Činidla

Roztok Biebrichova šarlatu-kyselého fuchsinu (kat. č. HT151-250ML)

Biebrichův šarlat, 0,9%, C.I. 26905, kyselý fuchsin 0,1%, C.I. 42685, v kyselině octové, 1,0%.

Roztok kyseliny fosfowolframové (kat. č. HT152-250ML)

Kyselina fosfowolframová, 10%.

Roztok kyseliny fosfomolybdenové (kat. č. HT153-250ML)

Kyselina fosfomolybdenová, 10%.

Roztok anilinové modři (kat. č. HT154-250ML)

Anilinová modř, 2,4%, C.I. 42780 a kyselina octová, 2%.

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Pozitivní kontrolní preparáty, jako je Trichrome TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR012) by měly být zařazeny v každé zkoušce
- Kyselina octová 1N
- Bouinův roztok (kat. č. HT10132-1L nebo HT101128-4L) kyselina pikrová, 1%, formaldehyd, 9% a kyselina octová, 5%

Pouze pro standardní postup

- Sada Weigertova železitého hematoxylinu (kat. č. HT1079-1SET)
- Weigertův roztok železitého hematoxylinu, část A (kat. č. HT107-500ML), 1% certifikovaný hematoxylin v ethanolu
- Weigertův roztok železitého hematoxylinu, část B (kat. č. HT109-500ML), chlorid železitý 1,2% (m/V) a kyselina chlorovodíková, 1% (V/V)

Pouze pro mikrovlnný postup

- Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 (kat. č. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scottův koncentrát náhražky vodovodní vody (kat. č. S5134)
- Coplinova nádoba (plastová) s odvětrávacím víčkem
- Mikrovlnná trouba

Skladování a stabilita

Všechna činidla se skladují při pokojové teplotě (18–26 °C). Na štítcích činidel je uvedeno datum spotřeby. Tvorba sraženiny u roztoku kyseliny fosfomolybdenové nemá vliv na jeho funkci.

Roztoky trichromové směsi barviv, Bouinův roztok, Weigertův železitý hematoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, roztok kyseliny octové a Scottův koncentrát a pracovní roztok náhražky vodovodní vody by měly být skladovány při pokojové teplotě (18–26 °C).

Roztok Biebrichova šarlatu-kyselého fuchsinu, Bouinův roztok, Weigertův železitý hematoxylin (části A a B), Trichrome TISSUE-TROL™ a Scottův koncentrát a pracovní roztok náhražky vodovodní vody jsou stabilní do data spotřeby.

Pracovní roztok Weigertova železitého hematoxylinu by měl být připraven čerstvý pro každé použití.

Příprava

Přípravte pracovní roztok kyseliny fosfowolframové/fosfomolybdenové smícháním 1 objemu roztoku kyseliny fosfowolframové a 1 objemu roztoku kyseliny fosfomolybdenové se 2 objemy deionizované vody. Po jednom použití zlikvidujte.

Biebrichův šarlat-kyselý fuchsin, Bouinův roztok a Gillův roztok hematoxylinu, Gill č. 3 jsou připraveny k použití.

Weigertův roztok železitého hematoxylinu se připravuje smícháním stejných částí roztoku A a roztoku B.

Scottova náhražka vodovodní vody se připravuje zředěním 1 dílu Scottova koncentrátní náhražky vodovodní vody 9 díly deionizované vody.

Přípravte 1% kyselinu octovou zředěním 8,8 ml 1N kyseliny octové 41,2 ml vody.

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro obsažené v této soupravě jsou určeny pro diagnostické použití in vitro v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Kontrolní preparáty Trichrome TISSUE-TROL™ jsou vzorky lidské tkáně s obsahem kolagenu a svalové tkáně zalité v parafínu, které by měly být považovány za potenciálně infekční.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Lze použít jakýkoli dobře fixovaný parafinový řez o tloušťce 5–6 mikronů. Zařadte vhodné kontrolní preparáty.

Postup

Standardní postup

1. Odparafinujte sklička a hydratujte je pomocí deionizované vody.
2. Proveďte moření v předeřhátém Bouinově roztoku při 56 °C po dobu **15 minut** nebo při **pokojevé teplotě** přes noc.
3. Ochlaďte sklička ve vodovodní vodě (18–26 °C) obsažené v Coplinově nádobě.
4. Promyjte v tekoucí vodovodní vodě a odstraňte tak žlutou barvu z řezů.
5. Proveďte barvení v pracovním roztoku Weigertova železitého hematoxylinu po dobu **5 minut**.
6. Vymývejte v tekoucí vodovodní vodě po dobu **5 minut**.
7. Propláchněte v deionizované vodě.
8. Barvěte v Biebrichově šarlatu-kyselém fuchsinu po dobu **5 minut**.
9. Propláchněte v deionizované vodě.
10. Vložte sklička do pracovního roztoku kyseliny fosfowolframové/fosfomolybdenové na **5 minut**.
11. Vložte sklička do roztoku anilinové modři na **5 minut**.
12. Vložte sklička do 1% kyseliny octové po dobu **2 minut**. Roztok zlikvidujte.
13. Opláchněte sklička, dehydratujte přes alkohol, projasněte v xylenu a zamontujte.

Mikrovlnný postup

1. Odparafinujte sklička a hydratujte je pomocí deionizované vody.
2. Vložte sklička do **40 ml** Bouinova roztoku obsaženého v plastové Coplinově nádobě. Před vložením do mikrovlnné trouby volně zakryjte Coplinovy nádoby víčky nebo použijte Coplinovy nádoby s otvory vyvrtanými do víček.
3. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **25 sekund**. Jemně promíchejte roztok pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou, inkubujte sklička v zahřátém Bouinově roztoku **5 minut** v digestoři nebo v dobře větraném prostoru.
4. Proplachujte sklička tekoucí vodou z vodovodu, dokud nezmizí žlutá barva.
5. Vložte sklička do **40 ml** roztoku kyseliny hematoxylinu Gill č. 3 umístěného v plastové Coplinově nádobě.
6. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **5 sekund**.
7. Dobře proplachujte ve vodě z vodovodu po dobu **30 sekund** až **1 minutu**.
8. Modřete ve Scottově náhražce vodovodní vody při **pokojevé teplotě**.
9. Dobře propláchněte tekoucí vodou z vodovodu.
10. Vložte sklička do **40 ml** roztoku Biebrichova šarlatu-kyselého fuchsinu obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
11. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **20 sekund**. Jemně promíchejte pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou. Nechte inkubovat **2 minuty**.
12. Propláchněte rychle několika výměnami deionizované vody.
13. Vložte sklička do **40 ml** roztoku kyseliny fosfowolframové-fosfomolybdenové obsažené v plastové Coplinově nádobě.
14. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **20 sekund**. Ihned sklička vyjměte a propláchněte několika výměnami deionizované vody.
15. Vložte sklička do **40 ml** roztoku anilinové modři obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
16. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **15 sekund**. Jemně promíchejte roztok pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou. Nechte inkubovat **1 minutu**.
17. Dobře propláchněte v deionizované vodě.
18. Vložte sklička do 1% kyseliny octové na **30 sekund** až **1 minutu** při **pokojevé teplotě**.
19. Propláchněte sklička, dehydratujte přes alkohol, očistěte a opatřete krycím sklíčkem.

Pracovní charakteristiky

Cílová struktura	Výsledek barvení
Jádra	Černá, pokud je použit Weigertův železitý hematoxylin. Modrá, pokud je použit roztok hematoxylinu Gill č. 3.
Cytoplazma	Červená
Svalová vlákna	Červená
Kolagen	Modrá

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifickou a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
HT151	Roztok Biebrichova šarlatu-kyselého fuchsinu	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Svalovina	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT152	Roztok kyseliny fosfowolframové	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Svalovina	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT153	Roztok kyseliny fosfomolybdenové	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Svalovina	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT154	Roztok anilinové modři	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Svalovina	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

HT15:



- H272: Může zesílit oheň; oxidační činidlo.
- H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H412: Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
- P210: Uchovávejte mimo dosah tepla, horkých povrchů, jisker, otevřeného ohně a jiných zdrojů vznícení. Zákaz kouření.
- P220: Uchovávejte mimo dosah oděvů a jiných hořlavých materiálů. Zabraňte uvolňování do životního prostředí.
- P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P303 + P361+ P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

Pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobci a/nebo jeho autorizovanému zástupci a vašemu národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symbody definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si Návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVDR 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce

Reference

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, str. 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- 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 10:661, 1950
- Leong AS-Y, Millios 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

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Historie revizí

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Přesunutí nápovědy k určení diagnózy do určeného použití. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Aktualizované reference. Přidána varování a rizika.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Trichrome-fargemidler (Masson)

Prosedyrenr. HT15



Tiltenkt bruk

Trichrome-fargemidler (Masson) er beregnet for bruk i studiet av bindevev, muskel- og kollagenfibre. Trichrome-fargemiddelreagenser er for "In-vitro-diagnostisk bruk". Kun for profesjonell bruk. Dataene hentet fra denne håndboken, kvalitativ prosedyre påviser muskel- og kollagenfibre i vevsprøver fra humane prøver. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og informasjon, kan de brukes som en hjelp til diagnostisering av visse tumorer og identifisere økninger i kollagent vev ved sykdommer som cirrhose i leveren.

"Trikrom"-farger brukes først og fremst for å skille kollagen fra muskelvev.² Generelt består de av kjerne-, kollagen- og cytoplasmafargestoffer i beiser som fosforwolframsyre eller fosformolybdinsyre. Historisk sett ble det første trikromsystemet tilskrevet Mallory.^{3,4} Ytterligere modifikasjoner ble introdusert av Masson og Gomori.^{4,5} Prosedyren beskrevet her er basert på arbeidet til Masson, som modifisert av Lillie⁴ ved å bruke anilinblått som kollagenfargestoff i stedet for et grønt fargestoff. Vevssnitt behandles med Bouins løsning for å intensivere den endelige fargen. Kjerner farges med Weigerts jernhematoksylin, og cytoplasma², og deretter farges muskler med Beibrich skarlagensrød-syrefuksin. Etter behandling med fosforwolframsyre og fosformolybdinsyre påvises kollagen ved farging med anilinblått. Skylling i eddiksyre etter farging gjør fargenyansene mer delikate og gjennomskiktige.⁵ Inkludert er en trikrom-fargingsteknikk for rask farging i mikrobølgeovner.⁶⁻⁷

Reagenser

Biebrich skarlagensrød-syrefuksinløsning (kat.nr. HT151-250ML)
Biebrich skarlagensrød, 0,9 %, C.I. 26905, syrefuksin 0,1 %, C.I. 42685, i eddiksyre, 1,0 %.

Fosforwolframsyreløsning (kat.nr. HT152-250ML)
Fosforwolframsyre, 10 %.

Fosformolybdinsyreløsning (kat.nr. HT153-250ML)
Fosformolybdinsyre, 10 %

Anilinblått-løsning (kat.nr. HT154-250ML)
Anilinblått, 2,4 %, C.I. 42780 og eddiksyre, 2 %.

Spesielle materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

- Positive kontrollglass, som Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR012), skal inkluderes i hver kjøring
- 1N Eddiksyre
- Bouins løsning (kat. nr. HT10132-1L eller HT101128-4L) pikrinsyre, 1 %, formaldehyd, 9 % og eddiksyre, 5 %

Kun for standardprosedyre

- Weigerts jernhematoksylinsett (kat.nr. HT1079-1SET)
- Weigerts jernhematoksylinløsning, del A (kat.nr. HT107-500ML), 1 % sertifisert hematoksylin i etanol
- Weigerts jernhematoksylinløsning, del B (kat.nr. HT109-500ML) jernklorid 1,2 % (vekt/volum) og saltsyre, 1 % (volum/volum)

Kun for mikrobølgeprosedyrer

- Hematoksylinløsning, Gill nr. 3 (kat.nr. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scotts springvannsubstitutt-konsentrat (kat.nr. S5134)
- Coplin-krukke (plast) med ventiltett lokk
- Mikrobølgeovn

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar reagensene ved romtemperatur (18–26 °C). Reagensetiketter har utløpsdato. Dannelse av bunnfall i fosformolybdinsyreløsning påvirker ikke ytelsen.

Trichrome-fargemiddelløsninger, Bouins løsning, Weigerts jernhematoksylin, Trichrome TISSUE-TROL™, eddiksyreløsning og Scotts springvannsubstitutt-konsentrat og arbeidsløsning skal oppbevares ved romtemperatur (18–26 °C).

Biebrich skarlagensrød-syrefuksin-løsning, Bouins løsning, Weigerts jernhematoksylin (del A og B), Trichrome TISSUE-TROL™ og Scotts springvannsubstitutt-konsentrat og arbeidsløsning er stabile frem til utløpsdatoen.

Weigerts jernhematoksylin-arbeidsløsning skal klargjøres fersk for hvert bruk.

Klargjøring

Klargjør fosforwolfram-/fosformolybdensyre-arbeidsløsning ved å blande 1 volum fosforwolframsyreløsning og 1 volum fosformolybdensyreløsning med 2 volumer avionisert vann. Kast etter én gangs bruk.

Biebrich skarlagensrød-syrefuksin, Bouins løsning, og Gills hematoksylinløsning, Gill nr. 3, er klare til bruk.

Weigerts jernhematoksylinløsning klargjøres ved å blande like deler av løsning A og løsning B.

Scotts springvannsubstitutt klargjøres ved å blande 1 del Scotts springvannsubstitutt med 9 deler avionisert vann.

Klargjør 1 % eddiksyre ved å fortynne 8,8 ml 1N eddiksyre med 41,2 ml vann.

Forsiktighetsregler

IVD-ene inkludert i dette settet er beregnet for in vitro-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. IVD-er fra Sigma-Aldrich kan betjenes av laboratoriepersonell med opplæring i å håndtere humane prøver som kan være smittefarlige, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr og ha tilstrekkelig fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre gjenstander under et mikroskop.

Vanlige forholdsregler ved håndtering av laboratoriereagenser skal følges. Kast avfall i henhold til lokale, statlige eller nasjonale forskrifter.

Trichrome TISSUE-TROL™-kontrollglass er parafininnstøpt humant vev som inneholder kollagen og muskelvev, og skal betraktes som potensielt smittefarlig.

Prosedyre

Prøveinnhenting

Ingen kjente testmetoder kan fullt ut garantere at blodprøver eller vev ikke vil overføre infeksjon. Derfor skal alle blodderivater eller vevsprøver betraktes som potensielt smittefarlige.

Et hvilket som helst godt fiksert parafinsnitt kuttet ved 5–6 mikron eller mindre kan brukes. Ta med egnede kontrollglass.

Prosedyre

Standardprosedyre

1. Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
2. Beis i forvarmet Bouins løsning ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **romtemperatur** over natten.
3. Avkjøl objektglassene i springvann (18–26 °C) i en Coplin-krukke.
4. Vask i rennende springvann for å fjerne gul farge fra snittene.
5. Farg i Weigerts jernhematoksylinløsning i **5 minutter**.
6. Vask i rennende springvann i **5 minutter**.
7. Skyll i avionisert vann.
8. Farg i Biebrich skarlagensrød-syrefuksin i **5 minutter**.
9. Skyll i avionisert vann.
10. Plasser objektglassene i fosforwolfram-/fosformolybdensyre-arbeidsløsning i **5 minutter**.
11. Plasser objektglassene i anilinblåttløsning i **5 minutter**.
12. Plasser objektglassene i eddiksyre, 1 %, i **2 minutter**. Kast løsningen.
13. Skyll objektglassene, dehydrer gjennom alkohol, klare dem i xylen og monter dem.

Mikrobølgeprosedyre

1. Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
2. Plasser objektglassene i **40 ml** Bouins løsning i en Coplin-krukke av plast. Dekk Coplin-krukkene løst med lokk før de settes i mikrobølgeovnen, eller bruk Coplin-krukker med hull i lokket.
3. Kjør i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**. Bland løsningen forsiktig med beralpipette eller applikatorpinne, og inkuber deretter i oppvarmet Bouins løsning i **5 minutter** i et avtrekkskap eller godt ventilt område.
4. Skyll objektglassene i rennende springvann til den gule fargen forsvinner.
5. Plasser objektglassene i **40 ml** hematoksylinløsning, Gill nr. 3, i en Coplin-krukke av plast.
6. Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt i 5 sekunder**.
7. Skyll godt i rennende springvann i **30 sekunder til 1 minutt**.
8. Farg blått i Scotts springvannsubstitutt-arbeidsløsning ved **romtemperatur**.
9. Skyll godt i rennende springvann.
10. Plasser objektglassene i **40 ml** Biebrich skarlagensrød-syrefuksinløsning i en Coplin-krukke av plast.
11. Kjør i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Bland forsiktig med en beralpipette eller applikatorpinne. La inkludere i **2 minutter**.
12. Skyll raskt i flere skift med avionisert vann.
13. Plasser objektglassene i **40 ml** fosforwolfram-fosformolybdensyreløsning i en Coplin-krukke av plast.
14. Kjør i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Fjern objektglassene umiddelbart og skyll i flere skift med avionisert vann.
15. Plasser objektglassene i **40 ml** anilinblåttløsning i en Coplin-krukke av plast.
16. Kjør i mikrobølgeovn på **600 watt i 15 sekunder**. Bland forsiktig med en beralpipette eller applikatorpinne. La den inkubere i **1 minutt**.
17. Skyll godt i avionisert vann.
18. Plasser objektglassene i 1 % eddiksyre i **30 sekunder til 1 minutt** ved **romtemperatur**.
19. Skyll objektglassene, dehydrer gjennom alkohol, klare dem og legg på et dekkglass.

Ytelsesegenskaper

Målstruktur		Fargingsresultat	
Kjerner	Svart, hvis Weigerts jernhematoksylin brukes. Blå, hvis hematoksylinløsning, Gill nr. 3 brukes.		
Cytoplasma	Rød		
Muskelfibre	Rød		
Kollagen	Blå		

Hvis de observerte resultatene avviker fra de forventede resultatene, skal du kontakte Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene utført på alle målstrukturer bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet
HT151	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin-løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT152	Fosfotsyreløsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT153	Fosformolybdatsyre-løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet
HT154	Anilinblå løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskel	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

HT15:



H272: Kan forsterke brannen; oksidasjonsmiddel.

H314: Gir alvorlige hudbrannskader og øyeskader.

H412: Skadelig for plankton med langvarige effekter.

P210: Skal holdes unna varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antennelseskilder. Røyking forbudt.

P220: Må holdes unna klær og andre brennbare materialer. Unngå utslipp i miljøet.

P280: Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsvern.

P303 + P361+ P353: VED PÅFØRING PÅ HUDEN (eller håret): Ta umiddelbart av alle forurensede klær. Skyll huden med vann.

P305 + P351 + P338: VED PÅFØRING I ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de er tilgjengelige og det er enkelt å gjøre. Fortsett å skylle.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under eller som følge av bruk av denne enheten, skal den rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant og til din nasjonale myndighet.

Symboldefinisjoner

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap/EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Brukes innen-dato		In-vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktig
	Produksjonsdato		Importør

Referanser

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, s. 134
- Conn's Biological Stains, 10. utg., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, s. 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2. utg., 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 10:661, 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

Kontaktinformasjon

Besøk nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com) for å legge inn en bestilling. For teknisk service, besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Overført til ny mal med gjeldende merkevarebygging. Spesifisert for profesjonell bruk, for tiltenkt bruk og forholdsregler. Flyttet hjelp til diagnoseerklæring til tiltenkt bruk. Revidert tiltenkt bruk for å samsvare med IVDR-retningslinjene. Oppdatert materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdatert kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Lagt til kontaktinformasjon for uønskede hendelser. Oppdaterte referanser. Lagt til advarsler og farer.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Kullanma Talimatı

Trikrom Boyalar (Masson)

Prosedür No. HT15



Kullanım Amacı

Trikrom Boyaların (Masson) bağ dokusu, kas ve kolajen liflerinin incelenmesinde kullanımı amaçlanır. Trikróm Boya reaktifleri "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel kalitatif prosedürden elde edilen veriler, insan numunelerinin doku örneklerinde kas ve kolajen liflerini gösterir. Bu veriler, diğer tanı testleri ve bilgilerle birlikte gözden geçirildiğinde belirli tümörlerin ve karaciğerde siroz gibi hastalıklarda kolajen doku artışının tanısına yardımcı olarak kullanılabilir.

"Trikrom" boyalar ana olarak kolajeni kas dokusundan ayırt etmek için kullanılır.² Genel olarak, fosfotungstik veya fosfomolibdük asit gibi mordanlardaki nükleer, kolajen ve sitoplazmik boyalardan oluşurlar. Tarihsel olarak, ilk trikróm sistemi Mallory'ye atfedilir.^{3,4} Masson ve Gomori tarafından ek değişiklikler yapılmıştır.^{4,5} Burada açıklanan prosedür, Masson'un çalışmasında Lillie'nin⁴ modifikasyonlarını temel alır ve prosedürde yeşil boya yerine kolajen boyası olarak anilin mavi kullanılır. Doku kesitleri, son renklemeyi yoğunlaştırmak için Bouin çözeltisi ile işlenir. Çekirdekler Weigert demir hematoksiliniyle boyanır; sitoplazma² ve kaslar, Biebrich kırmızı asit fuksin ile boyanır. Fosfotungstik ve fosfomolibdük asit ile işlendikten sonra, anilin mavi ile boyanarak kolajen gösterilir. Boyamadan sonra asetik asitle durulama, renk tonlarını daha hassas ve şeffaflık hale getirir.⁵ Mikrodalga fırınlarda hızlı boyama için bir trikróm boyama tekniği eklenmiştir.⁶⁻⁷

Reaktifler

Biebrich Kırmızı Asit Fuksin Solüsyonu (Kat. No. HT151-250ML)
Biebrich kırmızı, %0,9, C.I. 26905, asit fuksin %0,1, C.I. 42685, asetik asit içinde, %1,0.

Fosfotungstik Asit Solüsyonu (Kat. No. HT152-250ML)
Fosfotungstik asit, %10.

Fosfomolibdük Asit Solüsyonu (Kat. No. HT153-250ML)
Fosfomolibdük asit, %10

Anilin Mavi Solüsyonu (Kat. No. HT154-250ML)
Anilin mavi, %2,4, C.I. 42780 ve asetik asit, %2.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Trichrome TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR012) gibi pozitif kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir
- 1N Asetik Asit
- Bouin Solüsyonu (Kat. No. HT10132-1L veya HT101128-4L) pikrik asit %1, formaldehit %9 ve asetik asit %5

Yalnızca Standart Prosedür İçin

- Weigert Demir Hematoksin Seti (Kat. No. HT1079-1SET)
- Weigert Demir Hematoksin Seti, Bölüm A (Kat. No. HT107-500ML) etanol içinde %1 sertifikalı hematoksin
- Weigert Demir Hematoksin Seti, Bölüm B (Kat. No. HT109-500ML), ferrik klorür %1,2 (a/h) ve Hidroklorik asit, %1 (h/h)

Yalnızca Mikrodalga Prosedürü İçin

- Hematoksin Solüsyonu, Gill No. 3 (Kat. No. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi (Kat. No. S5134)
- Coplin Kavanozu (plastik), havalandırılmalı kapaklı
- Mikrodalga Fırın

Saklama ve Stabilité

Reaktifleri oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur. Fosfomolibdük Asit Solüsyonunda bir çökelti oluşumu performansı etkilemez.

Trikrom Boya solüsyonları, Bouin solüsyonu, Weigert Demir Hematoksin, Trichrome TISSUE-TROL™, Asetik Asit solüsyonu ve Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi ile Çalışma solüsyonu oda sıcaklığında (18–26°C) saklanmalıdır.

Biebrich Kırmızı Asit Fuksin solüsyonu, Bouin solüsyonu, Weigert Demir Hematoksin (Bölüm A ve B), Trichrome TISSUE-TROL™ ve Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi ve Çalışma solüsyonu son kullanma tarihine kadar stabildir.

Weigert Demir Hematoksin çalışma solüsyonu her kullanımda yeniden hazırlanmalıdır.

Hazırlama

1 ölçü Fosfotungstik Asit Solüsyonu ve 1 ölçü Fosfomolibdük Asit Solüsyonunu 2 ölçü deiyonize su ile karıştırarak Çalışma Fosfotungstik/Fosfomolibdük Asit Solüsyonunu hazırlayın. Tek kullanımdan sonra atın.

Biebrich Kırmızı Asit Fuksin, Bouin solüsyonu ve Gill hematoksin solüsyonu, Gill No. 3 kullanıma hazırdır.

Weigert Demir Hematoksin solüsyonu, Solüsyon A ve Solüsyon B'nin eşit ölçüde karıştırılmasıyla hazırlanır.

Scott Musluk Suyu İkamesi, 1 ölçü Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi 9 ölçü deiyonize su ile karıştırılarak hazırlanır.

8,8 mL 1N Asetik Asidi 41,2 mL su ile seyrelterek %1 Asetik Asit hazırlayın.

Önlemler

Bu kitte bulunan IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontrol lamaları, kolajen ve kas dokusu içeren parafine gömülü insan dokusudur ve potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan örneklerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

5–6 mikron kesilen herhangi bir iyi fiksasyonlu parafin kesiti kullanılabilir. Uygun kontrol lamalarını dahil edin.

Prosedür

Standart Prosedür

- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- 15 dakika** boyunca 56°C'de veya gece boyunca **oda sıcaklığında** önceden ısıtılmış Bouin Solüsyonu içinde mordanlayın.
- Lamaları bir Coplin kavanozunda musluk suyunda (18–26°C) soğutun.
- Kesitlerdeki sarı rengi gidermek için akan musluk suyunda yıkayın.
- Weigert Demir Hematoksin Çalışma Solüsyonunda **5 dakika** boyunca boyama yapın.
- Akan musluk suyunda **5 dakika** boyunca yıkayın.
- Deiyonize suda durulayın.
- Biebrich Kırmızı Asit Fuksin içinde **5 dakika** boyunca boyama yapın.
- Deiyonize suda durulayın.
- Lamaları **5 dakika** boyunca Çalışma Fosfotungstik/Fosfomolibdük Asit Solüsyonuna yerleştirin.
- Lamaları **5 dakika** boyunca Anilin Mavi Solüsyonuna yerleştirin.
- Lamaları **2 dakika** boyunca %1 Asetik Asit içine yerleştirin. Solüsyonu atın.
- Lamaları durulayın, alkolle dehidratlayın, ksilende temizleyin ve yerleştirin.

Mikrodalga Prosedürü

- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Bouin Solüsyonuna yerleştirin. Mikrodalga fırına yerleştirmeden önce Coplin kavanozlarının kapakları gevşek bir şekilde kapatın veya delik kapaklı Coplin kavanozları kullanın.
- 25 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Solüsyonu aplikatör çubuğu veya beral pipet ile yavaşça karıştırın ve ardından davlumbaz veya iyi havalandırılan bir alanda **5 dakika** boyunca ısıtılmış Bouin Solüsyonunda inkübe edin.
- Sarı renk kaybolana kadar lamaları akan musluk suyunda durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Hematoksin Solüsyonu Gill No. 3'e yerleştirin.
- 5 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Akan musluk suyunda **30 saniye** ila **1 dakika** boyunca iyice durulayın.
- Oda sıcaklığında** Çalışma Scott Musluk Suyu İkamesinde mavi renge boyayın.
- Akan musluk suyunda iyice durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Biebrich Kırmızı Asit Fuksin Solüsyonuna yerleştirin.
- 20 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile yavaşça karıştırın. **2 dakika** boyunca inkübe edin.
- Lamaları deiyonize su ile birkaç kez hızlıca durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Fosfotungstik-Fosfomolibdük Asit Solüsyonuna yerleştirin.
- 20 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Lamaları hemen çıkarın ve birkaç kez değiştirdiğiniz deiyonize su ile durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Anilin Mavi Solüsyonuna yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile yavaşça karıştırın. **1 dakika** boyunca inkübe edin.
- Deiyonize suda iyice durulayın.
- Lamaları **oda sıcaklığında 30 saniye** ila **1 dakika** boyunca %1 Asetik Asit içine yerleştirin.
- Lamaları durulayın, alkolle dehidratlayın, temizleyin ve lamel yerleştirin.

Performans Özellikleri

Hedef Yapı	Boyama Sonucu
Çekirdekler	Siyah, Weigert Demir Hematoksin kullanılıyorsa. Mavi, Hematoksin Solüsyonu Gill No. 3 kullanılıyorsa.
Sitoplazma	Kırmızı
Kas lifleri	Kırmızı
Kolajen	Mavi

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
HT151	Biebrich Kırmızı Asit Fuksin Çözeltisi	Kolajen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kas	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT152	Fosfotungstik Asit Çözeltisi	Kolajen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kas	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
HT153	Fosfomolibdik Asit Çözeltilisi	Kolajen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kas	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT154	Anilin Mavi Çözeltilisi	Kolajen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Kas	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

HT15:



H272: Yangını güçlendirebilir; oksitleyici.

H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H412: Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle zararlıdır.

P210: Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcımlardan, açık alevlerden ve diğer tutuşturma kaynaklarından uzak tutun. Sigara içilmez.

P220: Kıyafetlerden ve diğer yanıcı malzemelerden uzak tutun. Çevreye salınmasını önleyin.

P280: Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P303 + P361+ P353: CİLTLE (veya saçla) TEMAS halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P305 + P351 + P338: GÖZLE TEMASI DURUMUNDA: Birkaç dakika su ile dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı

Referanslar

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, s. 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, s. 61
- 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 10:661, 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

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Taniya yardımcı ifadesi, kullanım amacı bölümüne aktarıldı. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Referanslar güncellendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271 Darmstadt,
Germany

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2022 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.