

Instructions for Use

Trichrome Stain (Masson) Kit

Procedure No. HT15



Intended Use

The Trichrome Stain (Masson) Kit is intended for use as a general laboratory histological stain used in the histological staining of connective tissue, muscle and collagen fibers. Trichrome Stain Kit 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 useful in the study of diseases of connective tissue and muscle characterized by fibrotic and dystrophic changes.

"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 Solution (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 Hematoxylin Solution, Gill No. 3 are ready to use.

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

Scott's Tap Water Substitute working solution 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

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

Microwave Procedure

1. Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
2. 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.
3. 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.
4. Rinse slides in running tap water until yellow color disappears.
5. Place slides in **40 mL** Hematoxylin Solution, Gill No. 3, contained in plastic Coplin jar.
6. Microwave on **800 watts** for **5 seconds**.
7. Rinse well in running tap water for **30 seconds** to **1 minute**.
8. Blue in Working Scott's Tap Water Substitute working solution at **room temperature**.
9. Rinse well in running tap water.
10. Place slides in **40 mL** Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution contained in plastic Coplin jar.
11. Microwave on **600 watts** for **20 seconds**. Mix gently with beral pipet or applicator stick. Let incubate for **2 minutes**.
12. Rinse quickly in several changes of deionized water.
13. Place slides in **40 mL** Phosphotungstic-Phosphomolybdic Acid Solution contained in plastic Coplin jar.
14. Microwave on **600 watts** for **20 seconds**. Immediately remove slides and rinse in several changes of deionized water.
15. Place slides in **40 mL** Aniline Blue Solution contained in a plastic Coplin jar.
16. Microwave on **600 watts** for **15 seconds**. Mix gently with a beral pipet or applicator stick. Let incubate for **1 minute**.
17. Rinse well in deionized water.
18. Place slides in 1% Acetic Acid for **30 seconds** to **1 minute** at **room temperature**.
19. 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
	Indicates the Authorised Representative in Switzerland		

References

- 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

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.
Rev. 7.0	2025
	Updated naming convention. Revised Intended Use statement. Added CH-REP and importer information.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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.

© 2025 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.

Gebrauchsanweisung

Trichrom-Färbekit (Masson)

Verfahren Nr. HT15



Verwendungszweck

Das Trichrom-Färbekit (Masson) ist als allgemeines histologisches Färbemittel für den Laborgebrauch zur histologischen Färbung von Bindegewebe, Muskel- und Kollagenfasern bestimmt. Die Reagenzien des Trichrom-Färbekits (Masson) sind „nur zur Verwendung als *In-vitro-Diagnostika*“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die Daten dieses qualitativen Verfahrens zeigen Muskel- und Kollagenfasern in Gewebe menschlicher Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen bei der Untersuchung von Erkrankungen des Bindegewebes und der Muskeln, die durch fibrotische und dystrophe Veränderungen gekennzeichnet sind, nützlich sein.

Trichromfärbungen dienen hauptsächlich zur Differenzierung von Kollagen und Muskelgewebe.² Im Allgemeinen bestehen sie aus Kern-, Kollagen- und Zytoplasma-Farbstoffen in Beizmitteln wie Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure. Historisch wird das erste Trichromsystem Mallory zugeschrieben.^{3,4} Weitere Modifikationen wurden von Masson und Gomori vorgestellt.^{4,5} Das hier beschriebene Verfahren basiert auf der durch Lillie modifizierten Arbeit von Masson⁴, wobei Anilinblau anstelle eines grünen Farbstoffs als Kollagenfärbung verwendet wird. Die Gewebeschnitte werden mit Bouin-Lösung behandelt, um die abschließende Färbung zu intensivieren. Die Zellkerne werden mit Eisen-Hämatoxylin nach Weigert gefärbt, Zytoplasma² und Muskel anschließend mit Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin. Nach der Behandlung mit Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure erfolgt der Kollagen-Nachweis durch Färbung mit Anilinblau. Durch Spülen in Essigsäure nach dem Färben werden die Farbtöne zarter und transparenter.⁵ Ein Trichromverfahren zur schnellen Färbung in Mikrowellenöfen ist enthalten.⁶⁻⁷

Reagenzien

Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin-Lösung (Art.-Nr. HT151-250ML)

Biebrich Scharlach, 0,9 %, C.I. 26905, Säurefuchsin 0,1 %, C.I. 42685, in Essigsäure, 1,0 %

Phosphorwolframsäure-Lösung (Art.-Nr. HT152-250ML)

Phosphorwolframsäure, 10 %

Phosphormolybdänsäure-Lösung (Art.-Nr. HT153-250ML)

Phosphormolybdänsäure, 10 %

Anilinblau-Lösung (Art.-Nr. HT154-250ML)

Anilinblau, 2,4 %, C.I. 42780, und Essigsäure, 2 %

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

- Objektträger zur Positivkontrolle, z. B. Trichrome TISSUE-TROL™ (Art.-Nr. TTR012), sind bei jedem Verfahren einzusetzen.
- 1N-Essigsäure
- Bouin-Lösung (Art.-Nr. HT10132-1L oder HT101128-4L) aus Pikrinsäure 1 %, Formaldehyd 9 % und Essigsäure 5 %

Nur für Standardverfahren

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

Nur für Mikrowellenverfahren

- Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 (Art.-Nr. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Leitungswassersersatz-Konzentrat nach Scott (Art.-Nr. S5134)
- Coplin-Färbetrog (Kunststoff) mit belüfteten Deckeln
- Mikrowellenöfen

Lagerung und Stabilität

Die Reagenzien bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. Die Etiketten der Reagenzien tragen das jeweilige Ablaufdatum. Die Bildung eines Präzipitats in der Phosphormolybdänsäure-Lösung hat keinen Einfluss auf die Leistung.

Trichromfärbelösungen, Bouin-Lösung, Eisen-Hämatoxylin nach Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, Essigsäure-Lösung sowie Leitungswassersersatz-Konzentrat und -Gebrauchslösung nach Scott sind bei Raumtemperatur (18–26 °C) zu lagern.

Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin-Lösung, Bouin-Lösung, Eisen-Hämatoxylin-Lösung nach Weigert (Teile A und B), Trichrome TISSUE-TROL™ und Leitungswassersersatz-Konzentrat und -Gebrauchslösung nach Scott sind bis zum jeweiligen Ablaufdatum haltbar.

Die Eisenhämatoxylin-Gebrauchslösung nach Weigert ist für jeden Gebrauch frisch zuzubereiten.

Vorbereitung

Für die Phosphorwolframsäure-/Phosphormolybdänsäure-Gebrauchslösung 1 Volumen Phosphorwolframsäure-Lösung und 1 Volumen Phosphormolybdänsäure-Lösung mit 2 Volumina deionisiertem Wasser mischen. Nach einmaligem Gebrauch entsorgen.

Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin, Bouin-Lösung und Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 sind gebrauchsfertig.

Für die Eisen-Hämatoxylin-Lösung nach Weigert gleiche Teile der Eisen-Hämatoxylin-Lösung nach Weigert, Teil A, und der Eisen-Hämatoxylin-Lösung nach Weigert, Teil B, mischen.

Für die Leitungswassersersatz-Gebrauchslösung nach Scott 1 Volumen Leitungswassersersatz-Konzentrat nach Scott mit 9 Volumina deionisiertem Wasser mischen.

Für die 1%ige Essigsäure 8,8 ml 1N-Essigsäure mit 41,2 ml Wasser verdünnen.

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.

Trichrom-TISSUE-TROL™-Kontrollobjektträger enthalten in Paraffin eingebettetes menschliches Kollagen- und Muskelgewebe und müssen als potenziell infektiös betrachtet werden.

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.

Jeder gut fixierte Paraffinschnitt mit einer Dicke von 5 bis 6 Mikrometern kann verwendet werden. Geeignete Kontrollobjektträger einsetzen.

Verfahren

Standardverfahren

- Die Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
- Für **15 Minuten** bei 56 °C oder über Nacht bei **Raumtemperatur** in vorgewärmter Bouin-Lösung beizen.
- Die Objektträger in einem Coplin-Trog in Leitungswasser (18 bis 26 °C) kühlen.
- Unter fließendem Leitungswasser waschen, um die gelbe Farbe von den Schnitten zu entfernen.
- In der Eisen-Hämatoxylin-Gebrauchslösung nach Weigert für **5 Minuten** färben.
- Unter fließendem Leitungswasser für **5 Minuten** waschen.
- Mit deionisiertem Wasser abspülen.
- In Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin für **5 Minuten** färben.
- Mit deionisiertem Wasser abspülen.
- Die Objektträger für **5 Minuten** in Phosphorwolframsäure-/Phosphormolybdänsäure-Gebrauchslösung geben.
- Die Objektträger für **5 Minuten** in Anilinblau-Lösung geben.
- Die Objektträger für **2 Minuten** in 1%ige Essigsäure geben. Die Lösung entsorgen.
- Die Objektträger spülen, mit Alkohol dehydrieren, in Xylol klären und einbetten.

Mikrowellenverfahren

- Die Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
- Die Objektträger in einen mit **40 ml** Bouin-Lösung gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben. Den Coplin-Färbetrog vor dem Hineinstellen in den Mikrowellenofen locker mit dem Deckel abdecken oder Coplin-Färbetröge mit vorperforierten Deckeln verwenden.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **25 Sekunden** erhitzen. Die Lösung vorsichtig mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen mischen sowie die Objektträger für **5 Minuten** in erwärmter Bouin-Lösung unter einer Abzugshaube oder in einem gut belüfteten Bereich inkubieren.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser abspülen, bis die gelbe Farbe verschwunden ist.
- Die Objektträger in einen mit **40 ml** Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **5 Sekunden** erhitzen.
- Für **30 Sekunden** bis **1 Minute** gründlich unter fließendem Leitungswasser abspülen.
- In Leitungswassersersatz-Gebrauchslösung nach Scott bei **Raumtemperatur** bläuen.
- Unter fließendem Leitungswasser gründlich abspülen.
- Die Objektträger in einen mit **40 ml** Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin-Lösung gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **20 Sekunden** erhitzen. Mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen vorsichtig mischen. Für **2 Minuten** inkubieren.
- In mehreren Spülgängen mit deionisiertem Wasser schnell abspülen.
- Die Objektträger in einen mit **40 ml** Phosphorwolfram-Phosphormolybdänsäure-Lösung gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **20 Sekunden** erhitzen. Die Objektträger sofort entnehmen und in mehreren Spülgängen mit deionisiertem Wasser abspülen.
- Die Objektträger in einen mit **40 ml** Anilinblau-Lösung gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen vorsichtig mischen. Für **1 Minute** inkubieren.
- Mit deionisiertem Wasser gut abspülen.
- Die Objektträger für **30 Sekunden** bis **1 Minute** bei **Raumtemperatur** in 1%ige Essigsäure legen.
- Die Objektträger abspülen, mit Alkohol dehydrieren, klären und mit Deckgläsern versehen.

Leistungsmerkmale

Zielstruktur	Färbungsergebnis
Kerne	Schwarz, wenn Eisen-Hämatoxylin nach Weigert verwendet wird. Blau, wenn Hämatoxylin-Lösung nach 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.

Art.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT151	Biebrich-Scharlachrot-Säurefuchsin-Lösung	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskel	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	Phosphorwolframsäure-Lösung	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskel	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	Phosphormolybdänsäure-Lösung	Kollagen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Muskel	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
		Muskel	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 Brand verstärken; Oxidationsmittel.

H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.

H412: Schädlich für Wasserorganismen mit lang anhaltenden Auswirkungen.

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: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P303 + P361 + P353: BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder mit dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.

P305 + P351 + P338: WENN IM AUGE: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Kontaktlinsen entfernen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter spülen.

Wenn während der Verwendung dieses Produkts 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
	Anweisungen für den Gebrauch beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches <i>In-vitro-Diagnosegerät</i>
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
	Bezeichnet den Bevollmächtigten in der Schweiz.		

Referenzen

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, S. 61
3. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2. Auflage, 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

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaldrich.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. Materialsicherheitsdatenblatt 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. Die Referenzen wurden aktualisiert. Warnungen und Gefahren hinzugefügt.
Rev. 7.0	2025
	Die Namenskonvention wurde aktualisiert. Die Erklärung zur Zweckbestimmung wurde überarbeitet. Vertreter in der Schweiz und Informationen des Importeurs hinzugefügt.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Die Initiale M, TISSUE-TROL und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland, oder ihrer Tochtergesellschaften. Alle anderen Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen über Marken sind über öffentlich zugängliche Quellen erhältlich.

© 2025 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®

Instructions d'utilisation

Kit de coloration au trichrome (Masson)

Procédure n° HT15


Millipore
Sigma

Utilisation prévue

Le kit de coloration au trichrome (Masson) est destiné à être utilisé en laboratoire d'histochimie pour la coloration histologique des fibres du tissu conjonctif, des fibres musculaires et des fibres de collagène. Les réactifs du kit de coloration au trichrome sont destinés à un "usage en diagnostic *in vitro*". Réservé à un usage professionnel. La présente procédure qualitative et manuelle fournit des données permettant de mettre en évidence les fibres musculaires et les fibres de collagène dans des échantillons de tissus humains. Lorsque ces données sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques ou d'autres informations, elles peuvent être utiles dans l'étude des maladies du tissu conjonctif et des muscles caractérisées par des changements fibrotiques et dystrophiques.

Les colorations "au trichrome" sont utilisées principalement pour différencier le collagène du tissu musculaire². En général, elles associent un colorant nucléaire, un colorant des fibres de collagène et un colorant cytoplasmique avec 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 ensuite été apportées par Masson et Gomori^{4,5}. La procédure décrite ici est basée sur le travail de Masson avec les modifications de Lillie⁴ avec le bleu d'aniline comme colorant du 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, puis le cytoplasme² et le tissu musculaire sont ensuite colorés avec une solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide. Après traitement avec de l'acide phosphotungstique et de l'acide phosphomolybdique, le collagène est mis en évidence par une coloration au bleu d'aniline. Après la coloration, un rinçage à l'acide acétique rend les nuances de couleur plus délicates et transparentes⁵. Une technique de coloration rapide au trichrome au micro-ondes est également incluse^{6,7}.

Réactifs

Solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide (réf. HT151-250ML)

Ecarlate 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 aucune conséquence sur ses performances.

Les solutions de coloration au trichrome, le liquide de Bouin, l'hématoxyline ferrique de Weigert, les lames 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, la solution d'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 à chaque fois.

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 désionisée. 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.

La solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott est préparée en mélangeant 1 volume de concentré de substitut à l'eau courante de Scott avec 9 volumes d'eau désionisée.

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 tissu ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Toute coupe incluse en paraffine correctement fixée d'une épaisseur de 5 à 6 microns peut être utilisée. Inclure des lames de contrôle appropriées.

Procédure

Procédure standard

1. Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau désionisée.
2. Réaliser le mordantage 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 de ville (entre 18 et 26 °C).
4. Les laver sous l'eau de ville 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 de ville pendant **5 minutes**.
7. Rincer à l'eau désionisée.
8. Colorer dans la solution d'écarlate de Biebrich-fuchsine acide pendant **5 minutes**.
9. Rincer à l'eau désionisée.
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 désionisée.
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 la placer 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 à une puissance de **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 de ville 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 à une puissance de **800 watts** pendant **5 secondes**.
7. Bien rincer sous l'eau de ville pendant **30 secondes à 1 minute**.
8. Faire bleuir dans la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**.
9. Bien rincer à l'eau de ville.
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 à une puissance de **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 désionisée.
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 à une puissance de **600 watts** pendant **20 secondes**. Retirer immédiatement les lames et les rincer dans plusieurs bains d'eau désionisée.
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 à une puissance de **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 désionisée.
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 de toute autre source d'inflammation. 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 tous 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
	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 in vitro)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- Carson F.L.: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., R.W. Horobin and J.A. Kiernan, Editors, Taylor & Francis, NY, 2002, p 61
- Theory and Practice of Histotechnology, Edited by D.C. Sheehan and B.B. Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
- Lillie R.D.: 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 A.S.-Y., Milios J.: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J. Pathol 148:183, 1986
- Brinn N.T.: 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 des mentions relatives à l'aide au diagnostic dans le paragraphe sur l'utilisation prévue. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. 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 Ajout de la section relative aux avertissements et risques.
Rév. 7.0	2025
	Mise à jour des conventions de nomenclature. Révision des mentions sur l'utilisation prévue. Ajout des informations sur le mandataire suisse (CH-REP) et l'importateur suisse.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Le M majuscule, TISSUE-TROL et Sigma-Aldrich sont des marques de commerce de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne ou de ses filiales. Toutes les autres marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. Des informations détaillées sur les marques de commerce sont disponibles via des ressources accessibles au public.

© 2025 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.

Istruzioni per l'uso

Kit di colorazione tricromica (Masson)

Procedura n. HT15



Uso previsto

Il kit di colorazione tricromica (Masson) è destinato all'uso come colorazione istologica generale di laboratorio utilizzata per la colorazione istologica del tessuto connettivo, del muscolo e delle fibre di collagene. I reagenti per il kit 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 valutati insieme ad altri esami e referti diagnostici, possono essere utili nello studio di malattie del tessuto connettivo e dei muscoli caratterizzati da alterazioni fibrotiche e distrofiche.

Le colorazioni "tricromiche" 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 sono state introdotte da Masson e Gomori.^{4,5} La procedura qui descritta si basa sul lavoro di Masson, come modificato da Lillie⁴ che utilizzò il blu di anilina come colorante per il collagene al posto di un colorante verde. Le sezioni di tessuto sono trattate con soluzione di Bouin per intensificare la colorazione finale. I nuclei vengono colorati con l'ematosillina 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 Include 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 specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- 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)
- Vaschetta Coplin (plastica) con coperchi ventilati
- Forno a microonde

Conservazione e stabilità

Conservare i reagenti a temperatura ambiente (18-26°C). Le etichette dei reagenti riportano le date 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'ematosillina ferrica di Weigert, il Trichrome TISSUE-TROL™, la soluzione di acido acetico, il concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'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'ematosillina ferrica di Weigert (parti A e B), il Trichrome TISSUE-TROL™, il concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'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 miscelando parti uguali della soluzione di ematossilina ferrica di Weigert, Parte A e soluzione di ematossilina ferrica di Weigert, Parte B.

La soluzione di lavoro 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 l'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 alla diagnostica *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 devono essere utilizzati da personale di laboratorio addestrato alla manipolazione di campioni biologici umani potenzialmente infettivi, come anche all'uso di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio, che abbia la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

Seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative vigenti a livello locale, provinciale, regionale o nazionale.

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 tessuto non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati del sangue o i campioni di tessuto devono essere considerati potenzialmente infettivi.

È possibile utilizzare sezioni ben fissate in paraffina aventi uno spessore di 5-6 micron. Includere i vetrini di controllo appropriati.

Procedura

Procedura standard

- Deparaffinare i vetrini e bagnarli con acqua deionizzata per idratarli.
- 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 con acqua corrente di rubinetto per rimuovere il colore giallo dalle sezioni.
- Eseguire la colorazione utilizzando la soluzione di lavoro di ematossilina ferrica di Weigert per **5 minuti**.
- Lavare in acqua corrente di rubinetto per **5 minuti**.
- Sciacquare con acqua deionizzata.
- Eseguire la colorazione con fucsina acida - scarlatto di Biebrich per **5 minuti**.
- Sciacquare con 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**. Eliminare la soluzione.
- Sciacquare i vetrini, disidratare con alcool, chiarificare in xilene e montare.

Procedura con forno a microonde

- Deparaffinare i vetrini e bagnarli con acqua deionizzata per idratarli.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di Bouin contenuta in una vaschetta Coplin di plastica. Coprire leggermente la 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 i vetrini 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 per **30 secondi - 1 minuto**.
- Immergere in soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto a **temperatura ambiente**.
- Sciacquare bene con 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 con una pipetta Beral o con 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 con una pipetta Beral o con uno stick applicatore. Lasciare incubare per **1 minuto**.
- Sciacquare bene in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in acido acetico all'1% per **30 secondi - 1 minuto a temperatura ambiente**.
- Sciacquare i vetrini, disidratare con alcol, chiarificare e coprire.

Caratteristiche prestazionali

Struttura target	Risultato della colorazione
Nuclei	Nero, se viene utilizzata l'ematosillina 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, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica di Sigma-Aldrich.

Caratteristiche di prestazione analitica

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

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

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, consultare la scheda dati di sicurezza e l'etichetta del prodotto.

HT15:



- H272: Può intensificare il fuoco; comburente.
- H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
- H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
- P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici riscaldate, scintille, fiamme o altre fonti di innesco. Non fumare.
- P220: Tenere lontano da indumenti e altri materiali combustibili. Non disperdere nell'ambiente.
- P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
- P303 + P361+ P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

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

Definizioni dei simboli

Simboli da usare in conformità con la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabbricante		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice del lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
	Indica il rappresentante autorizzato in Svizzera		

Bibliografia

- 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

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com. Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo 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" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Spostata l'espressione "ausilio per la diagnosi" nella sezione "Uso previsto". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Aggiornata la bibliografia. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli".
Rev. 7.0	2025
	Convenzione di denominazione aggiornate. Revisione dell'istruzione relativa all'uso previsto. Aggiunta di informazioni su CH-REP e importatore.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

L'iniziale "M", TISSUE-TROL e Sigma-Aldrich sono marchi commerciali di Merck KGaA, Darmstadt, Germania o delle sue affiliate. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi proprietari. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse accessibili pubblicamente.

© 2025 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

Kit de tinción tricrómica (Masson)

N.º de procedimiento HT15



Uso previsto

El kit de tinción tricrómica (Masson) está destinado a su uso como tinción histológica de laboratorio general de tejido conjuntivo, músculos y fibras de colágeno. Los reactivos del kit de tinción tricrómica son para «uso diagnóstico *in vitro*». Solo para uso profesional. Los datos obtenidos mediante este procedimiento manual y cualitativo demuestran fibras musculares y de colágeno en muestras de tejido de muestras humanas. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, pueden ser útiles en el estudio de enfermedades del tejido conjuntivo y del músculo caracterizadas por cambios fibróticos y distróficos.

La tinción tricrómica se utiliza principalmente para diferenciar el colágeno del tejido muscular.² En general, este tipo de tinción está formada por tintes nucleares, colágenos y citoplasmáticos en mordientes como el ácido fosfotúngstico o el ácido fosfomolibdico. Históricamente, el primer sistema tricrómico se atribuyó a Mallory.^{3,4} Masson y Gomori introdujeron modificaciones.^{4,5} El procedimiento que se describe se basa en el trabajo de Masson según las modificaciones de Lillie⁶, que utilizan azul de anilina como tinción del colágeno en lugar de un tinte verde. Las secciones de tejido se tratan con la solución de Bouin para intensificar la coloración final. Los núcleos se tiñen con hematoxilina de hierro de Weigert, y las tinciones de citoplasma² y de músculo se llevan a cabo con fucsina ácida-escarlata de Biebrich. Después del tratamiento con ácido fosfotúngstico o ácido fosfomolibdico, el colágeno se observa por tinción con azul de anilina. El enjuague con ácido acético después de la tinción hace que los matices de color sean más delicados y transparentes.⁵ 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 fosfomolibdico (n.º de cat. HT153-250ML)

Ácido fosfomolibdico, 10 %

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

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

Material especial necesario pero no suministrado

- En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo, como Trichrome TISSUE-TROL™ (n.º de cat. TTR012).
- Ácido acético 1N.
- Solución de Bouin (n.º de cat. HT10132-1L o HT101128-4L), ácido pícrico, 1 %, formaldehído, 9 %, y ácido acético, 5 %.

Solo para el procedimiento estándar

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

Solo para procedimiento de microondas

- Solución de hematoxilina, Gill n.º 3 (n.º de cat. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Concentrado de sustituto del agua corriente de Scott (n.º de cat. S5134)
- Frasco de Coplin (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 rendimiento.

Las soluciones de tinción tricrómica, la solución de Bouin, la hematoxilina de hierro de Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, la solución de ácido acético, la solución de trabajo y el concentrado de sustituto del agua corriente de Scott se deben almacenar a temperatura ambiente (18-26 °C).

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

La solución de trabajo de hematoxilina de hierro de Weigert se debe preparar nueva para cada uso.

Preparación

Preparar la solución de trabajo de ácido fosfotúngstico/ácido 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 uso.

La solución de fucsina ácida-escarlata de Biebrich, la solución de Bouin y la solución de hematoxilina, Gill n.º 3 están listas para su uso.

La solución de hematoxilina de hierro de Weigert se prepara mezclando la solución de hematoxilina de hierro de Weigert (parte A) y la solución de hematoxilina de hierro de Weigert (parte B) a partes iguales.

La solución de trabajo de sustituto del agua corriente de Scott se prepara mezclando 1 parte del concentrado de 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 puede utilizar los DMDIV de Sigma-Aldrich 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 Trichrome TISSUE-TROL™ son tejido humano incluido en parafina que contiene colágeno y tejido muscular, y se deben considerar 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.

Se puede utilizar cualquier sección de parafina bien fijada cortada a 5-6 micras. Incorporar los portaobjetos de control adecuados.

Procedimiento

Procedimiento estándar

- Desparafine e hidrate los portaobjetos con agua desionizada.
- Aplique mordiente en solución de Bouin precalentada a 56 °C durante **15 minutos** o a **temperatura ambiente** durante toda la noche.
- Enfríe los portaobjetos con agua corriente (18-26 °C) contenida en un frasco de Coplin.
- Lave con agua corriente para eliminar el color amarillo de las secciones.
- Tiña en solución de trabajo de hematoxilina de hierro de Weigert durante **5 minutos**.
- Lave con agua corriente durante **5 minutos**.
- Enjuague con agua desionizada.
- Tiña en solución de ácido fucsina-escarlata de Biebrich durante **5 minutos**.
- Enjuague con agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en solución de trabajo de ácido fosfotúngstico/ácido fosfomolibdico durante **5 minutos**.
- Coloque los portaobjetos en solución de azul de anilina durante **5 minutos**.
- Coloque los portaobjetos en ácido acético al 1 % durante **2 minutos**. Deseche la solución.
- Enjuague los portaobjetos, deshidráteles con alcohol, aclárelos con xileno y móntelos.

Procedimiento con microondas

- Desparafine e hidrate los portaobjetos con agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de Bouin contenida en un frasco de Coplin de plástico. Tape el frasco de Coplin sin apretar la tapa antes de colocarlo en el horno microondas o utilice tapas para frascos de Coplin con orificios.
- Coloque el frasco en el horno microondas a **600 vatios** durante **25 segundos**. Mezcle suavemente la solución con una varilla aplicadora o una pipeta beral en solución de Bouin calentada durante **5 minutos** en una campana extractora o en un área bien ventilada.
- Enjuague los portaobjetos con agua corriente hasta que el color amarillo desaparezca.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina, Gill n.º 3, dentro de un frasco de Coplin de plástico.
- Coloque el frasco en el horno microondas a **800 vatios** durante **5 segundos**.
- Enjuague bien en agua corriente entre **30 segundos y 1 minuto**.
- Lleve a cabo el azulado en solución de trabajo de sustituto del agua corriente de Scott a **temperatura ambiente**.
- Enjuague bien con agua corriente.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de fucsina ácida-escarlata de Biebrich dentro de un frasco de Coplin de plástico.
- Coloque el frasco en el horno microondas a **600 vatios** durante **20 segundos**. Mezcle suavemente con una pipeta beral o una varilla aplicadora. Deje incubar durante **2 minutos**.
- Enjuague rápidamente en varios cambios de agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido fosfotúngstico/ácido fosfomolibdico dentro de un frasco de Coplin de plástico.
- Coloque el frasco en el horno microondas a **600 vatios** durante **20 segundos**. Retire inmediatamente los portaobjetos y enjuague con varios cambios de agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de azul de anilina contenida en un frasco de Coplin de plástico.
- Coloque el frasco en el horno microondas a **600 vatios** durante **15 segundos**. Mezcle suavemente con una pipeta beral o una varilla aplicadora. Deje incubar durante **1 minuto**.
- Enjuague bien con agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en ácido acético al 1 % entre **30 segundos y 1 minuto** a **temperatura ambiente**.
- Enjuague los portaobjetos, deshidráteles con alcohol, aclárelos y coloque los cubreobjetos.

Características de funcionamiento

Estructura objetivo	Resultado de la tinción
Núcleos	Negro, si se utiliza hematoxilina de hierro de Weigert. Azul, si se utiliza la solución de hematoxilina, Gill n.º 3.
Citoplasma	Rojo
Fibras musculares	Rojo
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
HT152	Solución de ácido fosfotúngstico	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		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
HT153	Solución de ácido fosfomolibdico	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
		Colágeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT154	Solución de azul de anilina	Músculo	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Colágeno	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 del calor, superficies calientes, chispas, llamas al descubierto y otras fuentes de ignición. No fumar.

P220: Mantener alejado de la ropa y otros materiales combustibles. No dispersar en el medio ambiente.

P280: Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.

P303 + P361+ P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, informe de ello al fabricante 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 <i>in vitro</i>)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
	Indica el representante autorizado en Suiza		

Referencias

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

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 el diseño de marca actual. Se ha especificado su uso por parte de profesionales en las secciones de 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 europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha 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.
Rev. 7.0	2025
	Convención de nomenclatura actualizada. Se ha revisado la declaración de uso previsto. Se ha añadido la información del representante de Suiza y del importador.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Arau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

La M inicial, TISSUE-TROL y Sigma-Aldrich son marcas comerciales registradas de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania o sus filiales. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Puede consultarse la información detallada sobre las marcas comerciales en recursos accesibles al público.

© 2025 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

Trikromfarvestofsæt (Masson)

Procedure nr. HT15



Tilsigtet brug

Trikromfarvestofsæt (Masson) er beregnet til brug som en histologisk farvning til almindelig laboratoriebrug anvendt ved histologisk farvning af bindevævs-, muskel- og kollagenfibre. Trikromfarvestofreagenserne er beregnet til "in vitro-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. De data, der er indhentet fra denne manuelle, kvalitative procedure viser muskel- og kollagenfibre i vævsprøver fra mennesker. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, være nyttige ved undersøgelsen af sygdomme i bindevæv og muskler karakteriseret ved fibrotiske og dystrofiske ændringer.

"Trikrom"-farvestoffer bruges primært til at skelne kollagen fra muskelfæv.² Generelt består de af nukleære, kollagene og cytoplasmatiske farvestoffer i bejdsemidler såsom fosforwolframsyre eller molybdænforsyre. 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 som modificeret af Lillie⁴ ved hjælp af anilinblåt som et kollagenfarvestof i stedet for et grønt farvestof. Vævssnit behandles med Bouins opløsning for at forstærke den endelige farvning. Kernerne farves med Weigerts jernhæmatoxylin, og cytoplasmaet² og musklerne farves derefter med Biebrich scarlet-sur fuchsin. Efter behandling med fosforwolframsyre og molybdænforsyre påvises kollagen ved farvning med anilinblåt. Skylning i eddikesyre efter farvning gør farvenancerne mere sarte og transparente.⁵ Der medfølger en trikromfarvningsteknik til hurtig farvning i mikrobølgeovne.⁶⁻⁷

Reagenser

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution (kat.nr. HT151-250ML)

Biebrich Scarlet, 0,9 %, C.I. 26905, sur fuchsin 0,1 %, C.I. 42685, i eddikesyre, 1,0 %.

Phosphotungstic Acid Solution (kat.nr. HT152-250ML)

Fosforwolframsyre, 10 %.

Phosphomolybdic Acid Solution (kat.nr. HT153-250ML)

Molybdænforsyre, 10 %

Aniline Blue Solution (kat.nr. HT154-250ML)

Anilinblåt, 2,4 %, C.I. 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. HT109-500 ML), jern(III)klorid 1,2 % (vægt/vol.) og saltsyre, 1 % (vol./vol.)

Kun til mikrobølge-procedure

- 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 reagenserne ved stuetemperatur (18-26 °C). Reagensmærkaterne er forsynet med udløbsdatoer. Dannelse af bundfald i fosformolybdænsyreopløsning påvirker ikke ydeevnen.

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

Biebrich scarlet-sur fuchsin-opløsning, Bouins opløsning, Weigerts jernhæmatoxylinopløsning (Part A og Part B), Trichrome TISSUE-TROL™ samt Scotts postevandserstatningskoncentrat og -arbejdsoopløsning er stabile indtil udløbsdatoen.

Arbejdsoopløsning af Weigert's Iron Hematoxylin skal fremstilles frisk til hver brug.

Klargøring

Fremstil arbejdsopløsning af fosforwolframsyre-/fosformolybdænsyreopløsning ved at blande 1 volumen fosforwolframsyreopløsning og 1 volumen fosformolybdænsyreopløsning med 2 volumener deioniseret vand. Bortskaffes efter brug én gang.

Biebrich scarlet-sur fuchsin, Bouins opløsning og hæmatoxylinopløsning, Gill No. 3, er klar til brug.

Weigerts jernhæmatoxylinopløsning fremstilles ved at blande lige dele af Weigerts jernhæmatoxylinopløsning, Part A, og Weigerts jernhæmatoxylinopløsning, Part B.

Arbejdsoopløsning af Scotts postevandserstatning fremstilles ved at blande 1 del Scotts postevandserstatningskoncentrat med 9 dele deioniseret vand.

Fremstil 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 laboriemiljø. Disse IVD'er er udelukkende beregnet til kvalificeret personales professionelle brug. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratuerudstyr 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.

Trikrom TISSUE-TROL™ kontrolobjektglas er fremstillet med paraffinindstøbt humant væv, der indeholder kollagen og muskelfæv, 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, der er skåret i en tykkelse på 5-6 mikron, kan bruges. Inkorporer relevante kontrolobjektglas.

Procedure

Standardprocedure

- Afparaffiner objektglassene, og hydrer i deioniseret vand.
- Bejds i forvarmet Bouins opløsning ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **stuetemperatur** natten over.
- Afkøl objektglassene i postevand (18-26 °C) i en Coplin-skål.
- Vask i rindende postevand for at fjerne den gule farve fra snittene.
- Farv i arbejdsopløsning af Weigerts jernhæmatoxylin i **5 minutter**.
- Vask i rindende postevand i **5 minutter**.
- Skyl i deioniseret vand.
- Farv i Biebrich scarlet-sur fuchsin i **5 minutter**.
- Skyl i deioniseret vand.
- Placer objektglassene i arbejdsopløsning af fosforwolframsyre-/fosformolybdænsyreopløsning i **5 minutter**.
- Placer objektglassene i anilinblåt-opløsning i **5 minutter**.
- Anbring objektglas i eddikesyre, 1 %, i **2 minutter**. Kassér opløsningen.
- Skyl objektglassene, dehydrér dem gennem alkohol, klarér dem i xylene, og monter dem.

Mikrobølgeprocedure

- Afparaffiner objektglassene, og hydrer i deioniseret vand.
- Anbring objektglassene i **40 ml** Bouins opløsning indeholdt i en Coplin-skål af plast. Dæk Coplin-skålen løst med et låg, før skålen placeres i mikrobølgeovnen, eller brug Coplin-skåle med huller boret ind i lågene.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**. Bland forsigtigt opløsningen med engangspipette eller applikatorpind, inkuber objektglassene i opvarmet Bouins opløsning i **5 minutter** et stinkskab eller et godt ventileret område.
- Skyl objektglassene under rindende postevand, indtil den gule farve forsvinder.
- Placer objektglassene i **40 ml** hæmatoxylinopløsning, Gill No. 3, i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 5 sekunder**.
- Skyl grundigt under rindende postevand i **30 sekunder til 1 minut**.
- Blå i arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**.
- Skyl grundigt under rindende postevand.
- Anbring objektglassene i **40 ml** Biebrich scarlet-sur fuchsin-opløsning i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Bland forsigtigt med engangspipette eller applikatorpind. Lad inkubere i **2 minutter**.
- Skyl hurtigt i flere hold deioniseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** fosforwolframsyre-/fosformolybdænsyreopløsning i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Fjern straks objektglassene, og skyl dem i flere hold deioniseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** anilinblåt-opløsning i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 15 sekunder**. Bland forsigtigt med en engangspipette eller applikatorpind. Lad inkubere i **1 minut**.
- Skyl godt i deioniseret vand.
- Placer objektglassene i 1 % eddikesyre i **30 sekunder til 1 minut** ved **stuetemperatur**.
- Skyl objektglassene, dehydrér dem ved hjælp af alkohol, klarér, og læg dækglass på.

Præstationskarakteristika

Målstruktur	Farvningsresultat
Kerner	Sort, hvis Weigerts jernhæmatoxylin anvendes. Blå, hvis hæmatoxylinopløsning, Gill No. 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 for analyseydelsen for de givne tests, som blev udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % sensitivitet, specificitet og repeterbarhed.

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
HT151	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution	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	Phosphotungstic Acid Solution	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
HT153	Phosphomolybdic Acid Solution	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
HT154	Aniline Blue Solution	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 sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen 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: Må ikke anvendes/opbevares i nærheden af tøj og andre brændbare materialer. Undgå udledning til miljøet.

P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P303 + P361+ P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset 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 de er til stede og er lette at fjerne. Fortsæt med at skylle.

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 i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til <i>in vitro-diagnostik</i>
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
	Angiver den autoriserede repræsentant i Schweiz		

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, 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

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.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 stemme overens med IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad 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. Tilføjet advarsler og farer.
Rev. 7.0	2025
	Opdateret navngivningskonvention. Revideret erklæring om tilsigtet brug. Tilføjet CH-REP og importøroplysninger.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Forbogstavet M, TISSUE-TROL og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller deres tilknyttede virksomheder. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan indhentes via offentligt tilgængelige ressourcer.

© 2025 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

Trikromfärgkit (Masson)

Förfarande nr HT15



Avsedd användning

Trikromfärgkitet (Masson) är avsett att användas som en allmän histologisk laboriefärgning vid histologisk färgning av bindvävs-, muskel- och kollagenfibrer. Trikromfärgkitet är för *in vitro-diagnostiskt* bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Data som erhålls med detta manuella, kvalitativa förfarande påvisar muskel- och kollagenfibrer i vävnadsprover från mänskliga prover. Dessa data kan, om de granskas tillsammans med andra diagnostiska tester och informationskällor, vara användbara i studiet av sjukdomar i bindväv och muskler som kännetecknas av fibrotiska och dystrofiska förändringar.

Trikromfärger används främst för att särskilja kollagen från muskelvävnad.² I allmänhet består de av kärn-, kollagenösa och cytoplasmatiska färgämnen i betmedel såsom fosfovolframsyras eller fosformolybdensyras. Historiskt tillskrivs det första trikromsystemet Mallory.^{3,4} Ytterligare modifieringar gjordes av Masson och Gomori.^{4,5} Förfarandet som beskrivs här bygger på Massons arbete enligt Lillies⁴ modifiering med anilinblått som kollagenfärg i stället för ett grönt färgämne. Vävnadssnittet behandlas med Bouins lösning för att intensifiera den slutliga färgningen. Kärnorna färgas med Weigerts järnhematoxylin, och cytoplasma² och muskler färgas sedan med Biebrich scarlet-syrafuksin. Efter behandling med fosfovolfram- och fosformolybdensyras påvisas kollagen genom färgning med anilinblått. Sköljning i ättiksyras efter färgning gör färgnyanserna mildare och mer transparenta.⁵ Det ingår en trikromfärgteknik för snabb färgning i mikrovågsugnar.⁶⁻⁷

Reagenser

Biebrich Scarlet-syrafuksinlösning (kat.nr HT151-250ML)

Biebrich scarlet, 0,9 %, C.I. 26905, syrafuksin 0,1 %, C.I. 42685, i ättiksyras, 1,0 %.

Fosfovolframsyralösning (kat.nr HT152-250ML)

Fosfovolframsyras, 10 %.

Fosformolybdensyralösning (kat.nr HT153-250ML)

Fosformolybdensyras, 10 %

Anilinblåttlösning (kat.nr HT154-250ML)

Anilinblått, 2,4 %, C.I. 42780 och ättiksyras, 2 %.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Objektglas med positiva kontroller, som Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR012) ska inkluderas i varje körning
- 1N ättiksyras
- Bouins lösning (kat.nr HT10132-1L eller HT101128-4L) pikrinsyras, 1 %, formaldehyd, 9 % och ättiksyras, 5 %

Endast för standardförfarande

- 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 saltsyras, 1 % (v/v)

Endast för mikrovågsförfarande

- Hematoxylinlösning, Gill nr 3 (kat.nr GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scotts krantvattensättning, koncentrat (kat.nr: S5134)
- Coplinburk (plast) med ventilerade lock
- Mikrovågsugn

Förvaring och hållbarhet

Förvara reagensen i rumstemperatur (18–26 °C). Utgångsdatum står på reagensetiketterna. Bildande av en fällning i fosformolybdensyralösning påverkar inte prestandan.

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

Biebrich Scarlet-syrafuksinlösning, Bouins lösning, Weigerts järnhematoxylinlösning (del A och del B), Trichrome TISSUE-TROL™ och Scotts krantvattensättningskoncentrat samt -arbetslösning är hållbara tills utgångsdatumet.

Ny Weigerts järnhematoxylinarbetslösning ska beredas inför varje användning.

Beredning

Bered fosfovolfram-/fosformolybdensyraarbetslösning genom att blanda 1 del fosfovolframsyralösning och 1 del fosformolybdensyralösning med 2 delar avjoniserat vatten. Kassera efter en användning.

Biebrich Scarlet-syrafuksinlösning, Bouins lösning och hematoxylinlösning, Gill nr 3 är bruksfärdiga.

Weigerts järnhematoxylinlösning bereds genom att blanda lika delar Weigerts järnhematoxylinlösning, del A och Weigerts järnhematoxylinlösning, del B.

Arbetslösning av Scotts krantvattensättning bereds genom att blanda 1 del Scotts krantvattensättningskoncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

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

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik som ingår i denna sats är avsedda att användas i klinisk laboriemiljö. 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 laboratoriereagenser. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Trichrome TISSUE-TROL™-objektglas med kontroller är paraffinbäddad mänsklig vävnad som innehåller kollagen och muskelvävnad och ska betraktas som 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.

Ett valfritt väl fixerat paraffinsnitt som är skuret i en tjocklek på 5–6 mikron kan användas. Inkludera lämpliga objektglas med kontroller.

Förfarande

Standardförfarande

1. Avparaffinera objektglasen och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Betmedelsbehandla i förvärm� Bouins lösning i 56 °C i **15 minuter** eller i **rumstemperatur** över natten.
3. Kyl objektglasen i kranvatten (18–26 °C) i en coplinburk.
4. Tvätta i rinnande kranvatten för att avlägsna den gula färgen från snitten.
5. Färga i Weigerts järnhematoxylinarbetslösning i **5 minuter**.
6. Tvätta i rinnande kranvatten i **5 minuter**.
7. Skölj i avjoniserat vatten.
8. Färga i Biebrich Scarlet-syrafuksin i **5 minuter**.
9. Skölj i avjoniserat vatten.
10. Låt objektglasen ligga i fosfovolfram-/fosformolybdensyraarbetslösning i **5 minuter**.
11. Låt objektglasen ligga i anilinblåttlösning i **5 minuter**.
12. Låt objektglasen ligga i ättiksyras, 1 %, i **2 minuter**. Kassera lösningen.
13. Skölj objektglasen, dehydrera genom alkohol, klargör i xylen och montera.

Mikrovågsförfarande

1. Avparaffinera objektglasen och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Lägg objektglasen i **40 ml** Bouins lösning i en coplinburk av plast. Täck coplinburken med ett löst åtsittande lock innan du sätter den i mikrovågsugnen eller använd coplinburk med lock med iborrade hål.
3. Kör i mikrovågsugn på **600 watt i 25 sekunder**. Blanda lösningen försiktigt med en engångspipett eller applikatorpinne, inkubera objektglasen i uppvärmd Bouins lösning i **5 minuter** i ett dragskåp eller i ett välventilerat utrymme.
4. Skölj objektglasen i rinnande kranvatten tills den gula färgen försvinner.
5. Lägg objektglasen i **40 ml** hematoxylinlösning, Gill nr 3, i en coplinburk av plast.
6. Kör i mikrovågsugn på **800 watt i 5 sekunder**.
7. Skölj väl i rinnande kranvatten i **30 sekunder** till **1 minut**.
8. Blåfärga i arbetslösning av Scotts kranvattensättning i **rumstemperatur**.
9. Skölj väl i rinnande kranvatten.
10. Lägg objektglasen i **40 ml** Biebrich Scarlet-syrafuksinlösning i en coplinburk av plast.
11. Kör i mikrovågsugn på **600 watt i 20 sekunder**. Blanda försiktigt med en engångspipett eller applikatorpinne. Inkubera i **2 minuter**.
12. Skölj hastigt i flera byten avjoniserat vatten.
13. Låt objektglasen ligga i **40 ml** fosfovolfram-fosformolybdensyralösning i en coplinburk av plast.
14. Kör i mikrovågsugn på **600 watt i 20 sekunder**. Ta omedelbart ut objektglasen och skölj dem i flera byten avjoniserat vatten.
15. Lägg objektglasen i **40 ml** anilinblåttlösning i en coplinburk av plast.
16. Kör i mikrovågsugn på **600 watt i 15 sekunder**. Blanda försiktigt med en engångspipett eller applikatorpinne. Inkubera i **1 minut**.
17. Skölj ordentligt i avjoniserat vatten.
18. Låt objektglasen ligga i 1 % ättiksyras i **30 sekunder** till **1 minut** i **rumstemperatur**.
19. Skölj objektglasen, dehydratisera genom alkohol, klargör och lägg på 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-Aldrich för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeeterbarhet.

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT151	Biebrich Scarlet-syrafuksin-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
HT152	Fosfovolframsyra-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
HT153	Fosformolybden-syralösning	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	Anilinblåttlösning	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: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.
- P210: Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden.
- P220: Hålls åtskilt från kläder och andra brännbara material. Undvik utsläpp i miljön.
- P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
- P303 + P361+ P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P305 + P351 + P338: OM LÖSNINGEN KOMMER IN I ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Om det har inträffat ett allvarligt tillbud 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-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik
	Temperaturgräns		Försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör
	Anger den auktoriserade representanten Schweiz		

Referenser

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

Kontaktuppgifter

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

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2025

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässigt bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat uttalandet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Avsedd användning". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för 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 negativa händelser. Uppdaterat referenserna. Lagt till varningar och faror.

Uppdaterat namngivningskonventionen. Reviderat texten om avsedd användning. Lagt till CH-REP- och importörsinformation.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initialen M, TISSUE-TROL och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dess dotterbolag. Övriga varumärken tillhör respektive ägare. Detaljerad information om varumärken finns tillgänglig via allmänt tillgängliga resurser.

© 2025 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

Kit de Coloração Tricolor (Masson)

Procedimento N.º HT15



Utilização prevista

O Kit de Coloração Tricolor (Masson) destina-se a ser utilizado como uma coloração histológica de laboratório geral utilizado na coloração histológica de tecido conjuntivo, músculo e fibras de colagénio. Os reagentes do Kit de Coloração Tricolor destinam-se a "Utilização para diagnóstico *in vitro*". Apenas para utilização por profissionais. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo e manual demonstram fibras do tecido muscular e do colagénio em amostras de tecido humano. Estes dados, quando analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico e informações, podem ser úteis no estudo de doenças do tecido conjuntivo e músculo caracterizadas por alterações fibróticas e distróficas.

As colorações "tricolor" são utilizadas principalmente para distinguir o colagénio de tecido muscular.² Em geral, consistem em corantes nucleares, colagenosos e citoplasmáticos em mordentes como ácido fosfotúngstico ou o ácido fosfomolibdico. Historicamente, o primeiro sistema tricolor 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, modificado por Lillie⁶, utilizando anilina azul como uma coloração de colagénio em vez de corante verde. As secções de tecido são tratadas com 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 corados, em seguida, com fucsina ácida escarlata de Biebrich. Após tratamento com ácido fosfotúngstico e fosfomolibdico, o colagénio é demonstrado por coloração com anilina azul. O enxaguamento em ácido acético após a coloração torna as tonalidades da cor mais delicadas e transparentes.⁵ Está incluída uma técnica de coloração tricolor para coloração rápida em fornos micro-ondas.⁶⁻⁷

Reagentes

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

Escarlate de Biebrich, 0,9%, C.I. 26905, fucsina ácida a 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 anilina azul (N.º de cat. HT154-250ML)

Anilina azul, 2,4%, C.I. 42780 e ácido acético, 2%.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Devem ser incluídas lâminas de controlo positivo, tais como Trichrome TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR012), em cada série
- 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), hematoxilina certificada em etanol, 1%
- Solução de Hematoxilina de ferro de Weigert, parte B (N.º de cat. HT109-500ML), cloreto de ferro, 1,2% (p/v) e ácido clorídrico, 1% (v/v)

Apenas para o procedimento em micro-ondas

- Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3 (N.º de cat. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Concentrado de Substituto de água da torneira Scott (N.º de cat. S5134)
- Jarra de Coplin (plástico) com tampas ventiladas
- Forno micro-ondas

Conservação e estabilidade

Conservar os reagentes à temperatura ambiente (18–26 °C). Os rótulos dos reagentes têm data de validade. A formação de precipitados na Solução de ácido fosfomolibdico não afeta o desempenho.

As Soluções de coloração tricolor, a Solução de Bouin, a Hematoxilina de ferro de Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, a Solução de ácido acético, o Concentrado do Substituto de água da torneira Scott e a Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott devem ser armazenados à temperatura ambiente (18–26 °C).

A Solução de fucsina ácida escarlata de Biebrich, a Solução de Bouin, a Solução de Hematoxilina de ferro de Weigert (Partes A e B), Trichrome TISSUE-TROL™, o Concentrado do Substituto de água da torneira Scott e a Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott mantêm-se estáveis até à data de validade.

A Solução de trabalho de Hematoxilina de ferro de Weigert deve ser preparada fresca para cada utilização.

Preparação

Preparar a Solução de trabalho de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico misturando 1 volume de Solução de ácido fosfotúngstico e 1 volume de Solução de ácido fosfomolibdico com 2 volumes de água desionizada. Eliminar após uma utilização.

A fucsina ácida escarlata de Biebrich, a Solução de Bouin e a Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3 estão prontas a utilizar.

A Solução de Hematoxilina de ferro de Weigert é preparada misturando partes iguais da Solução de Hematoxilina de ferro de Weigert, parte A, e da Solução de Hematoxilina de ferro de Weigert, parte B.

A Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott é preparada misturando 1 parte de Concentrado de Substituto de água da torneira Scott com 9 partes de água desionizada.

Preparar ácido acético a 1% diluindo 8,8 ml de ácido acético 1N com 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 percepção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

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

As lâminas de controlo Trichrome TISSUE-TROL™ são tecido humano impregnado em parafina que contém tecido colagenoso e 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 com 5–6 micrones. Incorporar as lâminas de controlo adequadas.

Procedimento

Procedimento padrão

- Desparafinar as lâminas e hidratar com água desionizada.
- Utilizar mordente em solução de Bouin pré-aquecida a 56 °C durante **15 minutos** ou à **temperatura ambiente** durante a noite.
- Arrefecer as lâminas em água da torneira (18–26 °C) contida numa jarra de Coplin.
- Lavar em água da torneira corrente para remover a cor amarela das secções.
- Efetuar a coloração em Solução de trabalho de Hematoxilina de ferro de Weigert durante **5 minutos**.
- Lavar em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
- Enxaguar em água desionizada.
- Efetuar a coloração em fucsina ácida escarlata de Biebrich durante **5 minutos**.
- Enxaguar em água desionizada.
- Colocar as lâminas na Solução de trabalho de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico durante **5 minutos**.
- Colocar as lâminas na Solução de anilina azul durante **5 minutos**.
- Colocar as lâminas em ácido acético a 1% durante **2 minutos**. Eliminar a solução.
- Enxaguar as lâminas, desidratar com álcool, limpar em xileno e montar.

Procedimento em micro-ondas

- Desparafinar as lâminas e hidratar com água desionizada.
- Colocar as lâminas em **40 ml** da Solução de Bouin contida numa jarra de Coplin de plástico. Colocar a tampa na jarra de Coplin sem apertar antes de colocar no forno micro-ondas ou utilizar as tampas da jarra de Coplin com orifícios perfurados.
- Levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **25 segundos**. Misturar suavemente a solução com uma pipeta de Beral ou vareta aplicadora, incubar as lâminas na solução de Bouin aquecida durante **5 minutos** num exaustor de laboratório ou numa área bem ventilada.
- Enxaguar as lâminas em água da torneira corrente até que a cor amarela desapareça.
- Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Levar ao micro-ondas a **800 watts** durante **5 segundos**.
- Enxaguar bem em água da torneira corrente durante **30 segundos** a **1 minuto**.
- Efetuar a coloração a azul na Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott à **temperatura ambiente**.
- Enxaguar bem em água da torneira corrente.
- Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de fucsina ácida escarlata de Biebrich contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **20 segundos**. Misturar cuidadosamente com uma pipeta de Beral ou vareta aplicadora. Deixar incubar durante **2 minutos**.
- Enxaguar rapidamente em várias mudanças de água desionizada.
- Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **20 segundos**. Remover imediatamente as lâminas e enxaguar em várias mudanças de água desionizada.
- Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de anilina azul contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **15 segundos**. Misturar suavemente com uma pipeta de Beral ou vareta aplicadora. Deixar incubar durante **1 minuto**.
- Enxaguar bem em água desionizada.
- Colocar as lâminas em ácido acético a 1% durante **30 segundos** a **1 minuto** à **temperatura ambiente**.
- Enxaguar as lâminas, desidratar com álcool, limpar e colocar em lamelas.

Características do desempenho

Estrutura alvo	Resultado da 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 do 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 de intraensaio	Sensibilidade de intraensaio	Especificidade de interensaio	Sensibilidade de interensaio
HT151	Solução de fucsina ácida escarlate de Biebrich	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 anilina azul	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, fátscia, 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: Enxaguar cuidadosamente 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 RDIV 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador
	Indica o representante autorizado na Suíça		

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, 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

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em [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 regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> (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. Adição de Advertências e Perigos.
Rev. 7.0	2025
	Atualização da convenção de nomenclatura. Revisão da declaração de utilização prevista. Adição das informações CH-REP e do importador.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

O M inicial, TISSUE-TROL, e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha ou das respetivas afiliadas. Todas as outras marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários. Estão disponíveis informações detalhadas sobre marcas comerciais através de recursos acessíveis ao público.

© 2025 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.

Οδηγίες χρήσης

Κιτ χρώσης Trichrome (Masson)

Διαδικασία αρ. HT15



Προοριζόμενη χρήση

Το κιτ χρώσης Trichrome (Masson) προορίζεται για χρήση ως γενική εργαστηριακή ιστολογική χρώση που χρησιμοποιείται στην ιστολογική χρώση συνδεδετικού ιστού, μυϊκών ινών και ινών κολλαγόνου. Τα αντιδραστήρια του κιτ χρώσης Trichrome προορίζονται για «*in vitro*» διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτήν 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 αποβούν χρήσιμα στη μελέτη νόσων του συνδεδετικού ιστού και των μυών, που χαρακτηρίζονται από ινωτικές και δυστροφικές αλλοιώσεις.

Οι χρώσεις «Trichrome» χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διάκριση του κολλαγόνου από τον μυϊκό ιστό.² Γενικά, αποτελούνται από πυρηνικές, κολλαγονικές και κροτοπλασματικές χρωστικές σε προστίγματα 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 Lillie⁶ χρησιμοποιώντας κυανό της ανιλίνης ως χρώση κολλαγόνου αντί για πράσινη χρωστική. Οι τομές των ιστών υφίστανται επεξεργασία με διάλυμα Bouin ή να ενισχυθεί ο τελικός χρωματισμός. Οι πυρήνες χρωματίζονται με αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert και, στη συνέχεια, το κροτοπλάσμα² και ο μυς χρωματίζονται με Biebrich scarlet-όξινη φουξίνη. Μετά από επεξεργασία με φωσφοβολφραμικό και φωσφομολυβδικό οξύ, το κολλαγόνο ανιχνεύεται με χρώση με κυανό της ανιλίνης. Η έκπλυση 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 πλάκες ελέγχου, όπως Trichrome TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR012) θα 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), Τριχλωροϊχός σιδήρος 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 εξαεριζόμενο καπάκι
- Φούρνος μικροκυμάτων

Φύλλαξι και σταθερότητα

Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Οι επικέτες των αντιδραστηρίων αναφέρονται τις ημερομηνίες λήξης. Ο σχηματισμός κίτρινου 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, 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 αποιονισμένου νερού. Απορρίψτε μετά από μία χρήση.

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

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

Το διάλυμα εργασίας υποκατάστατο νερού βρύσης Scott παρασκευάζεται αναμειγνύοντας 1 μέρος συμπυκνώματος υποκατάστατο νερού βρύσης Scott με 9 μέρη αποιονισμένου 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 άλλον εργαστηριακό εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από 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 πλάκες ελέγχου Trichrome TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ανθρώπινος ιστός που περιέχει κολλαγόνο και μυϊκό ιστό και θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικά μολυσματικές.

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 δυνητικά μολυσματικά.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε καλώς μονιμοποιημένη τομή παραφίνης κομμένη στα 5–6 micron. Συμπεριλάβετε τις κατάλληλες αντικειμενοφόρους πλάκες ελέγχου.

Διαδικασία

Τυπική διαδικασία

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

Διαδικασία μικροκυμάτων

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

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Στοιχείο δομής	Αποτέλεσμα χρώσης
Πυρήνες	Μαύρο, εάν χρησιμοποιείται αιματοξυλίνη σιδήρου Weigert. Μπλε, εάν χρησιμοποιείται διάλυμα αιματοξυλίνης Gill αρ. 3.
Κροτοπλάσμα	Κόκκινο
Μυϊκές ίνες	Κόκκινο
Κολλαγόνο	Μπλε

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική εξυπηρέτηση 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. καταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των μεταξύνων αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των μεταξύνων 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 φωσφομολυβδικού 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 οποιαδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφάλειας.

HT15:



- H272: Μπορεί να αναξυπρώσει 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 καπνίζετε.
- P220: 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. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εάν είναι εύκολο. Συνεχίστε την έκπλυση.

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
	Υποδεικνύει τον Εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ελβετία		

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, σελ. 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](https://sigmaaldrich.com). Για την τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](https://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 προβλεπόμενη 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 ανειδίκευτα συμβάντα. Ενημερώθηκαν οι βιβλιογραφικές αναφορές. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων.
Αναθ. 7.0	2025	Ενημερώθηκε η σύμβαση ονοματοδοσίας. Αναθεωρήθηκε η δήλωση προβλεπόμενης χρήσης. Προστέθηκαν τα στοιχεία CH-REP και του εισαγωγέα.

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

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Το αρχικό γράμμα M, το TISSUE-TROL και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany ή των συνδεδεμένων με αυτήν εταιρειών. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω δημοσίων προσβάσιμων πόρων.

Használati utasítás

Trikróm festék (Masson) készlet

HT15 sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A Trikróm festék (Masson) készlet általános laboratóriumi szövettani festék, amely a kötőszövet, az izom- és kollagéntartó szövettani festésére használható. A Trikróm festék készlet reagensai „*in vitro* diagnosztikai felhasználásra” szolgálnak. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok segítségével azonosíthatók az izom- és kollagéntartó emberi szövetmintákban. Ezek az adatok más diagnosztikai vizsgálatokkal és információkkal együtt felhasználhatók a fibrotikus és dystrophias elváltozásokkal jellemezhető kötőszöveti és izombetegségek vizsgálatára.

A „Trichrome” festékeket elsősorban a kollagén és az izomszövet megkülönböztetésére használják.² Általában sejtmag-, kollagén- és citoplazmafestékekből állnak, olyan páncanyagokban, mint a foszfovolftrámsav vagy foszfolimolibdénsav. Történetileg az első trikróm rendszert Mallory-nak tulajdonítják.^{3,4} További módosításokat Masson és Gomori vezetett be.^{4,5} Az itt leírt eljárás Masson munkáján alapul, amelyet Lillie⁶ módosított, és zöld festék helyett anilin-kéket használt kollagénfestékként. A szövetmetszeteket Bouin-féle oldattal kezeljük a végső szín intenzitásának fokozása érdekében. A sejtmagokat Weigert-féle vas hematoxilinnal, a citoplazmát² és az izmokat pedig Biebrich skarlátvörös savas fukszinnal festjük meg. A foszfovolftrámsavval és foszfolimolibdénsavval történő kezelés után a kollagén anilin-kékkel történő festéssel mutatható ki. A festés utáni ecetsavas öblítés finomabbá és áttetszőbbé teszi a színrányalatokat.⁵ Tartalmaz egy trikróm festési technikát mikrohullámú sütőben végzett gyorsfestéshez.⁶⁻⁷

Reagens

Biebrich skarlátvörös savas fukszin oldat (kat. sz.: HT151-250ML)

Biebrich Scarlet, 0,9%, C.I. 26905, savas fukszin 0,1%, C.I. 42685, ecetsavban, 1,0%.

Foszfovolftrámsav oldat (kat. sz.: HT152-250ML)

Foszfovolftrámsav, 10%.

Foszfolimolibdénsav oldat (kat. sz.: HT153-250ML)

Foszfolimolibdénsav, 10%

Anilin-kék oldat (kat. sz.: HT154-250ML)

Anilin-kék, 2,4%, C.I. 42780 és ecetsav, 2%.

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Minden futtatásba be kell vonni pozitív kontroll tárgylemezeket, mint például a Trichrome TISSUE-TROL™ (kat. sz.: TTR012).
- 1N ecetsav
- Bouin-féle oldat (kat. sz.: HT10132-1L vagy HT101128-4L), pikrinsav, 1%, formaldehid, 9% és ecetsav, 5%

Kizárólag standard eljárás

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

Kizárólag mikrohullámos eljárás

- Hematoxilinnaloldat, Gill III (kat. sz.: GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum (kat. sz.: S5134)
- Küvetta (műanyag) szellőzőnyílással ellátott fedelel
- Mikrohullámú sütő

Tárolás és stabilitás

A reagensnek szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. A lejárati idő a reagenscímkéken szerepelnek. A csapadék képződése a foszfolimolibdénsav oldatban nem befolyásolja a teljesítményt.

A Trikróm festék oldatokat, a Bouin-féle oldatot, a Weigert-féle vas hematoxilinnal, a Trichrome TISSUE-TROL™ reagenst, az ecetsav oldatot és a Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot és munkaoldatot szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni.

A Biebrich skarlátvörös savas fukszin oldatokat, a Bouin-féle oldat, a Weigert-féle vas hematoxilinnal oldat (A és B rész), a Trichrome TISSUE-TROL™ reagens és a Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum és munkaoldat a lejárati időig stabil.

A Weigert-féle vas hematoxilinnal munkaoldatot minden egyes használatához frissen kell elkészíteni.

Előkészítés

Készítsen foszfovolftrámsav/foszfolimolibdénsav munkaoldatot 1 térfogat foszfovolftrámsavoldat és 1 térfogat foszfolimolibdénsavoldat 2 térfogat ioncserélt vízzel történő összekeverésével. Egy használat után dobja ki.

A Biebrich skarlátvörös savas fukszin a Bouin-féle oldat és a Hematoxilinnal oldat, Gill III használatra kész.

A Weigert-féle vas hematoxilinnal oldat elkészítéséhez keverjen össze azonos mennyiséget a Weigert-féle vas hematoxilinnal oldat, A részből és a Weigert-féle vas hematoxilinnal, B részből.

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

Készítsen 1%-os ecetsav oldatot 8,8 ml 1N ecetsav 41,2 ml vízzel 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 szűrőkézeléssel 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 Trichrome TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, kollagént és izomszövetet tartalmazó emberi 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 vérvérvizsgálatot vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Bármely megfelelően fixált, paraffinba ágyazott, max. 5–6 mikron vastagságúra vágott metszet használható. Alkalmazzon megfelelő kontroll tárgylemezeket.

Eljárás

Standard eljárás

- Deparaffinálja, majd hidratálja a tárgylemezeket ioncserélt vízzel.
- Végezzen pácolást előlegeztet Bouin-féle oldatban 56 °C-on **15 percig** vagy **szobahőmérsékleten** egy éjszakán át.
- Hűtse le a tárgylemezeket egy küvettaiban lévő csapvízben (18–26 °C).
- Folyó csapvízben mossa a metszeteket a sárga szín eltávolításához.
- Végezzen festést Weigert-féle vas hematoxilinnal munkaoldatban **5 percig**.
- Mossa folyó csapvízben **5 percig**.
- Öblítsen ioncserélt vízzel.
- Végezzen festést a Biebrich skarlátvörös savas fukszin oldattal **5 percig**.
- Öblítsen ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket **5 percig** foszfovolftrámsav/foszfolimolibdénsav munkaoldatba.
- Helyezze a tárgylemezeket **5 percig** anilin-kék oldatba.
- Helyezze a tárgylemezeket 1%-os ecetsav oldatba **2 percig**. Dobja ki oldatot.
- Mossa a tárgylemezeket, gyorsan dehidratálja alkohollal, derítse xilolban és fedje le.

Mikrohullámos eljárás

- Deparaffinálja, majd hidratálja a tárgylemezeket ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettaiba, **40 ml** Bouin-féle oldatba. A mikrohullámú sütőbe helyezés előtt lazán fedje le a küvetta fedővel, vagy használjon olyan küvettafedőt, amelyek fedele lyukakkal van ellátva.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 25 másodpercig**. Óvatosan keverje az oldatot transzferpipettával vagy applikátorpálcával, majd inkubálja a tárgylemezeket a fellemeztet Bouin-féle oldatban **5 percig** elszívófülkében vagy jól szellőző helyen.
- Folyó csapvízben öblítse a tárgylemezeket, amíg a sárga szín el nem tűnik.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettaiba, **40 ml** Gill III hematoxilinnaloldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 5 másodpercig**.
- Alaposan öblítse folyó csapvízzel **30 másodpercig – 1 percig**.
- Kékítse Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaoldattal **szobahőmérsékleten**.
- Alaposan öblítse folyó csapvízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettaiba, **40 ml** Biebrich skarlátvörös savas fukszin oldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 20 másodpercig**. Keverje óvatosan a transzferpipettával vagy applikátorpálcával. Inkubálja **2 percig**.
- Gyorsan öblítse a tárgylemezeket többször váltott ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettaiba, **40 ml** foszfovolftrámsav/foszfolimolibdénsav oldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 20 másodpercig**. Azonnal vegye ki a tárgylemezeket, és öblítse többször váltott ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettaiba, **40 ml** anilin-kék oldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 15 másodpercig**. Keverje óvatosan egy transzferpipettával vagy applikátorpálcával. Inkubálja **1 percig**.
- Alaposan öblítse ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket 1%-os ecetsav oldatba **30 másodpercig – 1 percig szobahőmérsékleten**.
- Öblítse a tárgylemezeket, gyorsan dehidratálja alkohollal, derítse és fedje le.

Teljesítményjellemzők

Célstruktúra	Festési eredmény
Sejtmagok	Fekete, Weigert-féle vas hematoxilinnal használat esetén. Kék, Gill III-as hematoxilinnaloldat használat esetén.
Citoplazma	Piros
Izomrostok	Piros
Kollagén	Kék

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

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

Analitikai teljesítményjellemzők

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

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifitás	Tesztek közötti érzékenység
HT151	Biebrich skarlátvörös savas fukszin	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	Foszfovolftrámsav oldat	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
HT153	Foszfomolibdén-sav oldat	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	Anilin-kék oldat	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 más éghető 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: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Folytassa az öblítést.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos váratlan esemény 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)
	Lejárat dátum		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr
	Meghatalmazott képviselő Svájcban		

Hivatkozások

- 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

Elérhetőségek

Átdolgozási előzmények

4.0 átd.	2016
5.0 átd.	2022
6.0 átd.	2022
	Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnózishoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használathoz. 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.
7.0 átd.	2025
	Az elnevezési konvenció frissítése. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása. CH-REP és importőr információk hozzáadása.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Az „M” kezdőbetű, a TISSUE-TROL és a Sigma-Aldrich a Merck KGaA (Darmstadt, Németország) vagy leányvállalatainak védjegyei. Minden egyéb védjegy a megfelelő tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekre vonatkozó részletes információk nyilvánosan hozzáférhető forrásokon keresztül érhetők el.

Návod k použití

Souprava pro trichromové barvení (Masson)

Postup č. HT15



Určené použití

Souprava pro trichromové barvení (Masson) je určena k použití jako obecné laboratorní barvivo na histologické barvení pojivové tkáně a svalových a kolagenových vláken. Reagencie soupravy pro trichromové barvení jsou určeny k „diagnostickému použití in vitro“. Pouze k profesionálnímu použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu prokazují svalová a kolagenová vlákna ve vzorcích tkáně z lidských vzorků. Tyto údaje v kombinaci s dalšími diagnostickými zkouškami a informacemi mohou být užitečné při studiu onemocnění pojivové tkáně a svalů charakterizovaných fibrotickými a dystrofickými změnami.

„Trichromová“ barviva se používají primárně k odlišení kolagenu od svalové tkáně.² Obecně jsou tvořena jaderným, kolagenním a cytoplazmatickým barvivem v mořidlech, jako je kyselina fosfowolframová nebo fosfomolybdenová. Historicky byl první systém s trichromem přiznán Mallorymu.^{3,4} Další modifikace provedli Masson, Foot a Gomori.^{4,5} Postup popisovaný zde vychází z práce Massona po úpravách provedených Lilliem⁴ s použitím anilinové modři jako barviva kolagenu namísto zeleného barviva. Tkáňové řezy jsou ošetřeny Bouinovým roztokem, aby se zvýšila intenzita konečného zbarvení. Jádra jsou zbarvena Weigertovým železitým hematoxylinem a cytoplazmou² a svalovina je poté zbarvena Biebrichovou červení v kyselém fuchsinu. Po ošetření kyselinou fosfowolframovou nebo fosfomolybdenovou je zbarvení anilinovou modří prokázán kolagen. Oplachování v kyselině octové po barvení zjemní odstíny barev a zprůhlední je.⁵ Je zahrnuta technika barvení trichromem pro rychlé barvení v mikrovlnné troubě.^{6,7}

Činidla

Roztok Biebrichovy červeně v kyselém fuchsinu (kat. č. HT151-250ML)

Biebrichova červeně, 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

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

Pouze pro standardní postup

- Souprava Weigertova železitého hematoxylinu (kat. č. HT1079-1SET)
- Roztok Weigertova železitého hematoxylinu, část A (kat. č. HT107-500ML): 1 % certifikovaný hematoxylin v ethanolu
- Roztok Weigertova 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 nahrazující vodu z vodovodu (kat. č. S5134)
- Coplinova nádoba (plastová) s odvětrávanými víčky
- Mikrovlnná trouba

Skladování a stabilita

Uchovávejte činidla při pokojové teplotě (18–26 °C). Na štítcích činidel je uvedeno datum spotřeby. Formování precipitátů v roztoku kyseliny fosfomolybdenové nemá vliv na pracovní charakteristiky.

Roztoky trichromových barviv, Bouinův roztok, Weigertův železitý hematoxylin, Trichrome TISSUE-TROL™, roztok kyseliny octové, koncentrát Scottovy náhražky za vodu z vodovodu a pracovní roztok je nutno skladovat při pokojové teplotě (18–26 °C).

Roztok Biebrichovy červeně v kyselém fuchsinu, Bouinův roztok, roztok Weigertova železitého hematoxylinu (složka A a B), Trichrome TISSUE-TROL™, Scottův koncentrát nahrazující vodu z vodovodu a pracovní roztok je stabilní do data spotřeby.

Pracovní roztok Weigertova železitého hematoxylinu je třeba připravit na každé použití čerstvý.

Příprava

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

Roztok Biebrichovy červeně v kyselém fuchsinu, Bouinův roztok a roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 je dodáván připravený k použití.

Roztok Weigertova železitého hematoxylinu se připravuje smícháním stejných dílů části A a části B roztoku Weigertova železitého hematoxylinu.

Pracovní roztok Scottovy náhražky vody z vodovodu se připraví smícháním 1 dílu Scottova koncentrátu nahrazujícího vodu z vodovodu s 9 díly deionizované vody.

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

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* obsažené v této soupravě jsou určeny k diagnostickému 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 lidská tkáň zalitá v parafínu obsahující kolagen a svalovou tkáň a je třeba je považovat 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 jakýkoliv řez dobře fixovaný v parafínu o tloušťce maximálně 5–6 mikronů. Použijte vhodné kontrolní preparáty.

Postup

Standardní postup

- Odparafinujte sklička a hydratujte je pomocí deionizované vody.
- Možte sklička v Bouinově roztoku předehřátém na 56 °C po dobu **15 minut** nebo do následujícího dne při **pokojevé teplotě**.
- Ochlaďte sklička kohoutkovou vodou (18–26 °C) v Coplinové nádobě.
- Omyjte pod tekoucí vodou z vodovodu, aby se z řezů odstranila žlutá barva.
- Proveďte barvení v roztoku Weigertova železitého hematoxylinu po dobu **5 minut**.
- Oplachujte vodou z vodovodu po dobu **5 minut**.
- Propláchněte v deionizované vodě.
- Proveďte barvení v Biebrichově červení v kyselém fuchsinu po dobu **5 minut**.
- Propláchněte v deionizované vodě.
- Vložte sklička na **5 minut** do pracovního roztoku kyseliny fosfowolframové nebo fosfomolybdenové.
- Vložte sklička na **5 minut** do roztoku anilinové modři.
- Vložte sklička na **2 minuty** do 1 % kyseliny octové. Roztok zlikvidujte.
- Opláchněte sklička, dehydratujte alkoholem, projasněte v xyleny a upevněte.

Mikrovlnný postup

- Odparafinujte sklička a hydratujte je pomocí deionizované vody.
- Vložte sklička do **40 ml** Bouinova roztoku v plastové Coplinové nádobě. Před vložením do mikrovlnné trouby Coplinovu nádobu volně zakryjte víčkem nebo na Coplinovu nádobu použijte víčka s vyvrtanými otvory.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **600 wattch** po dobu **25 sekund**. Jenmž roztok promíchejte pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou a inkubujte sklička v zahřátém Bouinově roztoku po dobu **5 minut** v digestoři nebo v dobře větraném prostoru.
- Oplachujte sklička tekoucí vodou z vodovodu, dokud nezmizí žlutá barva.
- Vložte sklička do **40 ml** roztoku hematoxylinu podle Gilla č. 3 v plastové Coplinové nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **5 sekund**.
- Dobře oplachujte vodou z vodovodu po dobu **30 sekund až 1 minuty**.
- Proveďte barvení na mdro v pracovním roztoku Scottovy náhražky vody z vodovodu při **pokojevé teplotě**.
- Dobře opláchněte tekoucí vodou z vodovodu.
- Vložte sklička do **40 ml** roztoku Biebrichovy červeně v kyselém fuchsinu v plastové Coplinové nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **600 wattch** po dobu **20 sekund**. Roztok jemně promíchejte pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou. Nechte inkubovat **2 minuty**.
- Rychle opláchněte deionizovanou vodou, kterou několikrát vyměňte.
- Vložte sklička do **40 ml** roztoku kyseliny fosfowolframové-fosfomolybdenové v plastové Coplinové nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **600 wattch** po dobu **20 sekund**. Ihned sklička vyjměte a opláchněte několikrát vyměněnou deionizovanou vodou.
- Vložte sklička do **40 ml** roztoku anilinové modři v plastové Coplinové nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **600 wattch** po dobu **15 sekund**. Roztok jemně promíchejte pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou. Nechte inkubovat **1 minutu**.
- Propláchněte důkladně v deionizované vodě.
- Vložte sklička do 1 % kyseliny octové na **30 sekund až 1 minutu při pokojové teplotě**.
- Opláchněte sklička, dehydratujte alkoholem, vyčistěte a zakryjte krycím skličkem.

Pracovní charakteristiky

Cílová struktura	Výsledek barvení
Jádra	Černá, pokud je použit Weigertův železitý hematoxylin. Modrá, pokud je použit roztok hematoxylinu podle Gilla 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, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
HT151	Roztok Biebrichovy červeně v kyselém fuchsinu	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Sval	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
		Sval	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
HT152	Roztok kyseliny fosfowolframové	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Sval	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
		Sval	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
HT153	Roztok kyseliny fosfomolybdenové	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Sval	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
		Sval	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
HT154	Roztok anilinové modři	Kolagen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Sval	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 nebezpečí

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: Chraňte před teplem, horkými povrchy, jiskrami, otevřeným ohněm a jinými zdroji hoření. Zákaz kouření.

P220: Uchovávejte/skladujte odděleně od 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 s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.

P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

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

Definice symbolů

Symbyly 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 <i>in vitro</i>
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce
	Označuje autorizovaného zástupce ve Švýcarsku		

Reference

- 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, str. 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

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 materiálů 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. Aktualizovány reference. Přidána varování a rizika.
Rev. 7.0	2025
	Aktualizovaná konvence pro názvosloví. Revidováno prohlášení o určeném použití. Přidány informace o zastoupení ve Švýcarsku a dovozcí.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Počáteční M, TISSUE-TROL a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Německo nebo jejich přidružených společností. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách jsou k dispozici prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů.

© 2025 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

Sett med trikrom-fargestoff (Masson)

Prosedyrenr. HT15



Tiltenkt bruk

Sett med trikrom-fargestoff (Masson) er beregnet for bruk som et generelt laboratoriehistologisk fargestoff, som brukes i histologisk farging av bindevev, muskel- og kollagenfibre. Reagensene i settet med trikrom-fargestoff er til «*in vitro*-diagnostisk bruk». Kun for profesjonell bruk. Data fra denne manuelle, kvalitative prosedyren viser muskel- og kollagenfibre i humane vevsprøver. Når disse dataene gjennomgås i forbindelse med andre diagnostiske tester og opplysninger, kan de være nyttige i studiet av sykdommer i bindevev og muskler preget av fibrotiske og dystrofiske endringer.

«Trikrom»-fargestoffer brukes først og fremst for å skille kollagen fra muskelvev.² Generelt består de av kjerne-, kollagen- og cytoplasmafargestoffer i mordanter som fosfowolframsyre eller fosfomolybdinsyre. Historisk ble det første trikrom-systemet 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 hjelp av anilinblå som et kollagenfargestoff i stedet for en grønn farge. Vevsnitt behandles med Bouins løsning for å intensivere den endelige fargen. Kjerner farges med Weigerts jernhematoksylin, og cytoplasma² og muskler blir deretter farget med Biebrich-skarlagen-syrefuksin. Etter behandling med fosfowolframsyre og fosfomolybdinsyre er kollagen demonstrert ved farging med anilinblå. Skylling i eddiksyrer etter farging gjør nyansene av farge mer delikat og gjennomskiktig.⁵ En trikrom-fargingsteknikk for rask farging i mikrobølgeovner er inkludert.⁶⁻⁷

Reagenser

Biebrich-skarlagen-syrefuksinløsning (kat.nr. HT151-250ML)

Biebrich-skarlagen, 0,9 %, C.I. 26905, syrefuksin 0,1 %, C.I. 42685, i eddiksyrer, 1,0 %.

Fosfowolframsyreløsning (kat.nr. HT152-250ML)

Fosfowolframsyre, 10 %.

Fosfomolybdinsyreløsning (kat.nr. HT153-250ML)

Fosfomolybdinsyre, 10 %

Anilinblå løsning (kat.nr. HT154-250ML)

Anilinblå, 2,4 %, C.I. 42780 og eddiksyrer, 2 %.

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Positive kontrollobjektglass, for eksempel Trichrome TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR012), bør inkluderes i hver kjøring
- 1 N eddiksyrer
- Bouins løsning (kat.nr. HT10132-1L eller HT101128-4L) pikrinsyre, 1 %, formaldehyd, 9 % og eddiksyrer, 5 %

Kun for standardprosedyrer

- Weigerts sett med jernhematoksylin (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 konsentrat til springvannserstatning (kat.nr. S5134)
- Coplin-krukke (plast) med ventilerte lokk
- Mikrobølgeovn

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar reagenser ved romtemperatur (18–26 °C). Reagensetiketter oppgir utløpsdato. Dannelsen av bunnfall i fosfomolybdinsyre påvirker ikke ytelsen.

Trikrom-fargeløsninger, Bouins løsning, Weigerts jernhematoksylin, Trichrome TISSUE-TROL™, eddiksyrerløsning, Scotts konsentrat til springvannserstatning, og arbeidsløsning skal oppbevares ved romtemperatur (18–26 °C).

Biebrich-skarlagen-syrefuksinløsning, Bouins løsning, Weigerts jernhematoksylinløsning (del A og B), Trichrome TISSUE-TROL™ og Scotts konsentrat til springvannserstatning og arbeidsløsning er stabile frem til utløpsdatoen.

Weigerts jernhematoksylinarbeidsløsning skal klargjøres ferskt til hver bruk.

Klargjøring

Klargjør fosfowolframsyre-/fosfomolybdinsyrearbeidsløsning ved å blande 1 volum fosfowolframløsning og 1 volum fosfomolybdinsyrearbeidsløsning med 2 volum avionisert vann. Kast etter én bruk.

Biebrich-skarlagen-syrefuksin, Bouins løsning og hematoksylinløsning, Gill No. 3 er klare til bruk.

Weigerts jernhematoksylinløsning fremstilles ved å blande like deler Weigerts jernhematoksylinløsning del A og Weigerts jernhematoksylinløsning del B.

Scotts arbeidsløsning til krannvannserstatning fremstilles ved å blande 1 del Scotts konsentrat til krannvannserstatning med 9 deler avionisert vann.

Klargjør 1 % eddiksyrer ved å fortynde 8,8 ml 1 N-eddiksyrer 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. Sigma-Aldrich-IVD-er kan betjenes av laboratoriepersonell som er opplært i å håndtere humane prøver som kan være smittsomme, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr, og som har fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre elementer under et mikroskop.

Normale forsiktighetsregler for håndtering av laboratoriereagenser bør følges. Avfall må kastes i samsvar med alle lokale, statlige, provinsielle eller nasjonale forskrifter.

Trikrom-TISSUE-TROL™-kontrollobjektglass er parafinnstøpt humant vev som inneholder kollagen og muskelvev, og skal betraktes som potensielt smittefarlig.

Prosedyrer

Prøvetaking

Ingen kjent testmetode kan fullt ut forsikre at blodprøver eller vev ikke utgjør en smittefare. Alle bloddriper eller vevsprøver bør derfor betraktes som potensielt smittefarlige.

Ethvert godt fikserte parafinnstøpt kuttet ved 5–6 mikron kan brukes. Innarbeid egnede kontrollobjektglass.

Prosedyrer

Standardprosedyrer

- Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
- Mordanter i forvarmet Bouins løsning ved 56 °C i **15 minutter** eller ved **romtemperatur** over natten.
- Kjøll objektglassene i krannvann (18–26 °C) i en Coplin-beholder.
- Vask i rennende krannvann for å fjerne gulffarge fra snittene.
- Farg i Weigerts jernhematoksylinarbeidsløsning i **5 minutter**.
- Vask i rennende krannvann i **5 minutter**.
- Skyll i avionisert vann.
- Farg i Biebrich-skarlagen-syrefuksin i **5 minutter**.
- Skyll i avionisert vann.
- Plasser objektglass i fosfowolframsyre-/fosfomolybdinsyrearbeidsløsning i **5 minutter**.
- Plasser objektglassene i anilinblå løsning i **5 minutter**.
- Plasser objektglassene i eddiksyrer, 1 %, i **2 minutter**. Kassér løsningen.
- Skyll objektglassene, dehydrer gjennom alkohol, klarne i xylen og monter.

Mikrobølgeprosedyrer

- Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** Bouins løsning i en Coplin-krukke i plast. Dekk Coplin-krukken løst med lokk før du plasserer den i mikrobølgeovn eller bruk Coplin-krukker med hull boret inn i lokkene.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**. Bland løsningen forsiktig med beralpipette eller applikatorpinne, inkuber objektglassene i oppvarmet Bouins løsning i **5 minutter** i en avtrekkskappe eller et godt ventilert område.
- Skyll objektglassene i rennende springvann til den gule fargen forsvinner.
- Plasser objektglassene i **40 ml** hematoksylinløsning, Gill No. 3, i Coplin-beholderen i plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 5 sekunder**.
- Skyll godt i rennende springvann i **30 sekunder** til **1 minutt**.
- Blå i Scotts arbeidsløsning til springvannserstatning ved **romtemperatur**.
- Skyll godt i rennende krannvann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** Biebrich-skarlagen-syrefuksinløsning i Coplin-krukke i plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Bland forsiktig med beralpipette eller applikatorpinne. Inkuber i **2 minutter**.
- Skyll raskt i flere utskiftede mengder avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** fosfowolfram-/fosfomolybdinsyrearbeidsløsning i Coplin-krukke i plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 20 sekunder**. Fjern objektglassene umiddelbart og skyll i flere utskiftede mengder avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** anilinblå løsning en Coplin-krukke av plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 15 sekunder**. Bland forsiktig med en beralpipette eller applikatorpinne. Inkuber i **1 minutt**.
- Skyll godt i avionisert vann.
- Plasser objektglassene i 1 % eddiksyrer i **30 sekunder** til **1 minutt i romtemperatur**.
- Skyll objektglass, dehydrer gjennom alkohol, klarne og påfør dekkglass.

Ytelseegenskaper

Målstruktur	Fargingsresultat
Kjerner	Svart, hvis Weigerts jernhematoksylin brukes. Blå, hvis hematoksylinløsning, Gill No. 3, brukes.
Cytoplasma	Rød
Muskelfibre	Rød
Kollagen	Blå

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

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

Kat.nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
HT151	Biebrich-skarlagensyre-fuksin-løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskler	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	Fosfowolframsyre-løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskler	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	Fosfomolybdinsyre-løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskler	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
HT154	Anilinblå løsning	Kollagen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Muskler	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 brann; oksiderende.

H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

P210: Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt.

P220: Holdes borte fra klær og andre brennbare materialer. Unngå utslipp til miljøet.

P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.

P305 + P351 + P338: VED PÅFØRING I ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skylling.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, må det rapporteres til produsenten eller produsentens autoriserte representant og til den nasjonale myndigheten.

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisning		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Best før-dato		In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
	Angir den autoriserte representanten i Sveits		

Referanser

- 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, 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

Kontaktinformasjon

Bestillinger kan legges inn via nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com](#). Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com/techservice](#) for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Flyttet utsagn om diagnostisk hjelpemiddel til tiltenkt bruk. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. Oppdaterte referanser. La til advarsler og farer.
Rev. 7.0	2025
	Oppdaterte navnekonvensjonen. Revidert erklæring om tiltenkt bruk. La inn informasjon om CH-REP og importør.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initialen M, TISSUE-TROL og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dets tilknyttede selskaper. Alle andre varemerker tilhører de respektive eierne. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.

© 2025 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.

Kullanım Talimatları

Trikrom Boya (Masson) Kiti

Prosedür No. HT15



Kullanım Amacı

Trikrom Boya (Masson) Kiti; bağ doku, kas ve kolajen liflerinin histolojik boyamasında kullanılan bir genel laboratuvar histolojik boyası olarak kullanım için tasarlanmıştır. Trikrom Boya Kiti reaktifleri "*In Vitro* Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel, kalitatif prosedürden elde edilen veriler, insan örneklerinin doku numunelerindeki kas ve kolajen liflerini gösterir. Diğer tanı amaçlı testler ve bilgilerle birlikte değerlendirildiğinde bu veriler, fibrotik ve distropik değişikliklerle karakterize bağ doku ve kas hastalıklarına ilişkin çalışmalarda faydalı olabilir.

"Trikrom" boyalar öncelikle kolajeni kas dokusundan ayırt etmek için kullanılır.² Genel olarak fosfotungstik veya fosfomolibdik asit gibi mordanlarda nükleer, kollajenöz ve sitoplazmik boyalandan oluşur. Geçmişte, ilk trikrom sistemi Mallory'ye atfedilmiştir.^{3,4} İlave değişiklikler Masson ve Gomori tarafından getirilmiştir.^{4,5} Burada açıklanan prosedür, Lillie⁶ tarafından yeşil boya yerine kolajen boyası olarak anılan mavisinin kullanıldığı Masson'un çalışmasına dayanmaktadır. Doku kesitleri, nihai renklendirmeyi yoğunlaştırmak için Bouin çözeltisiyle işlenir. Çekirdek Weigert demir hematoksilin ürünüyle boyandıktan sonra sitoplazma² ve kas gibi bileşenler Biebrich scarlet asit fuksin ile boyanır. Fosfotungstik ve fosfomolibdik asit ile uygulanan işlemin ardından anilin mavisi ile boyamaya kolajen gösterimi sağlanır. Boyamadan sonra asetik asitle durulama, renk tonlarını daha hassas ve şeffaf hale getirir.⁵⁻⁷ Mikrodalga fırınlarda hızlı boyama için trikrom boyama tekniği de dahildir.⁵⁻⁷

Reaktifler

Biebrich Scarlet Asit Fuksin Çözeltisi (Kat. No. HT151-250ML)

Biebrich scarlet, %0,9, C.I. 26905, %0,1 asit fuksin, C.I. 42685, asetik asitte, %1,0.

Fosfotungstik Asit Çözeltisi (Kat. No. HT152-250ML)

Fosfotungstik asit, %10.

Fosfomolibdik Asit Çözeltisi (Kat. No. HT153-250ML)

Fosfomolibdik Asit, %10

Anilin Mavisini Çözeltisi (Kat. No. HT154-250ML)

Anilin mavisi, %2,4, C.I. 42780 ve asetik asit, %2.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

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

Yalnızca Standart Prosedür için

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

Yalnızca Mikrodalga Prosedürü için

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

Saklama ve Stabilité

Reaktifleri oda sıcaklığında (18-26°C) saklayın. Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihleri bulunur. Fosfomolibdik Asit Çözeltisinde çökelti oluşması performansı etkilemez.

Trikrom Boya çözeltileri, Bouin çözeltisi, Weigert Demir Hematoksilin, Trikrom TISSUE-TROL™, Asetik Asit çözeltisi ve Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi ve Çalışma çözeltisi oda sıcaklığında (18-26°C) saklanmalıdır.

Biebrich Scarlet Asit Fuksin Çözeltisi, Bouin Çözeltisi, Weigert Demir Hematoksilin Çözeltisi (Kısım A ve B), Trikrom TISSUE-TROL™ ve Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi ve Çalışma çözeltisi son kullanma tarihine dek stabildir.

Weigert Demir Hematoksilin çalışma çözeltisi her kullanım için yeni hazırlanmalıdır.

Hazırlama

1 hacimlik Fosfotungstik Asit Çözeltisi ile 1 hacimlik Fosfomolibdik Asit Çözeltisini 2 hacimlik deiyonize suyla karıştırarak Çalışma Fosfotungstik/Fosfomolibdik Asit Çözeltisini hazırlayın. Bir kullanımdan sonra atın.

Biebrich Scarlet Asit Fuksin, Bouin Çözeltisi ve Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3 kullanıma hazırdir.

Weigert Demir Hematoksilin çözeltisi, eşit kısımlar halinde Weigert Demir Hematoksilin Çözeltisi, Kısım A ve Weigert Demir Hematoksilin Çözeltisi, Kısım B karıştırılarak hazırlanır.

Scott Musluk Suyu İkame çalışma çözeltisi, 1 ölçü Scott Musluk Suyu İkame Konsantresini 9 ölçü deiyonize su ile karıştırarak hazırlanır.

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

Önlemler

Bu kitle 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.

Trikrom 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 numunelerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağına tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

İyi fiksasyon uygulanmış 5-6 mikron boyutunda kesilmiş herhangi bir parafin kesiti kullanılabilir. Uygun kontrol lamalarını dahil edin.

Prosedür

Standart Prosedür

- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Önceden ısıtılmış Bouin Çözeltisinde 56°C'de **15 dakika** veya **oda sıcaklığında bir gece** sabitleyin.
- Lamaları, Coplin kavanozunda bulunan musluk suyunda (18-26°C) soğutun.
- Kesitlerdeki sarı rengi ortadan kaldırmak için akan musluk suyunda yıkayın.
- Çalışma Weigert Demir Hematoksilin Çözeltisinde **5 dakika** süreyle boyayın.
- Akan musluk suyunda **5 dakika** boyunca yıkayın.
- Deiyonize suda durulayın.
- Biebrich Scarlet Asit Fuksinde **5 dakika** süreyle boyayın.
- Deiyonize suda durulayın.
- Lamaları **5 dakika** süreyle Çalışma Fosfotungstik/Fosfomolibdik Asit Çözeltisine yerleştirin.
- Lamaları **5 dakika** süreyle Anilin Mavisini Çözeltisine yerleştirin.
- Lamaları **2 dakika** süreyle %1 Asetik Asit içine yerleştirin. Çözeltiyi atın.
- Lamaları durulayın, alkolle dehidre edin, ksilende temizleyin ve yerleştirin.

Mikrodalga Prosedürü

- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamaları plastik Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Bouin Çözeltisine yerleştirin. Mikrodalga fırına yerleştirmeden önce Coplin kavanozunun kapağını gevşek şekilde kapatın veya kapakları delikli Coplin kavanozlar kullanın.
- 25 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Çözeltiyi beral pipet veya aplikatör çubukla nazikçe karıştırın, ardından lamaları çeker ocakta veya iyi havalandırılan bir alanda **5 dakika** süreyle ısıtılmış Bouin Çözeltisinde inkübe edin.
- Sarı renk kaybolana dek lamaları akan musluk suyunda durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3'e yerleştirin.
- 5 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Akan musluk suyunda **30 saniye** ile **1 dakika** boyunca iyice durulayın.
- Oda sıcaklığında** Çalışma Scott Musluk Suyu İkame çözeltisinde mavileştirin.
- Akan musluk suyunda iyice durulayın.
- Lamaları plastik Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Biebrich Scarlet Asit Fuksin Çözeltisine yerleştirin.
- 20 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Beral pipet veya aplikatör çubuk ile nazikçe karıştırın. **2 dakika** inkübe edin.
- Birkaç kez değiştirerek deiyonize suyla hızlıca durulayın.
- Lamaları plastik Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Fosfotungstik/Fosfomolibdik Asit Çözeltisine yerleştirin.
- 20 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Lamaları hemen çıkarın ve birkaç kez değiştirerek deiyonize suda durulayın.
- Lamaları plastik Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Anilin Mavisini Çözeltisine yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Beral pipet veya aplikatör çubuk ile nazikçe karıştırın. **1 dakika** inkübe edin.
- Deiyonize suda iyice durulayın.
- Lamaları oda sıcaklığında **30 saniye** ile **1 dakika** boyunca %1 Asetik Asit içine yerleştirin.
- Lamaları durulayın, alkolle dehidre edin, temizleyin ve lamel uygulayın.

Performans Özellikleri

Hedef Yapı	Boyama sonucu
Çekirdekler	Weigert Demir Hematoksilin kullanılıyorsa siyah. Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3 kullanılıyorsa mavi.
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	Tahliller Arası Özgüllük	Tahliller Arası Duyarlılık
HT151	Biebrich Scarlet 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
HT153	Fosfomolibdik 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
HT154	Anilin Mavisi 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

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 içmeyin.

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

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

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

P305 + P351 + P338: GÖZLE TEMASI DURUMUNDA: Birkaç dakika suda 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 makama 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
	İsviçre'deki Yetkili Temsilciyi belirtir		

Referanslar

- 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

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.
Rev. 7.0	2025
	Adlandırma kuralı güncellendi. Kullanım Amacı beyanı revize edildi. CH-REP ve ithalatçı bilgileri 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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya veya bağlı kuruluşlarının ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. Ticari markalar hakkında ayrıntılı bilgi, herkesin erişebileceği kaynaklar aracılığıyla edinilebilir.

© 2025 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.

Käyttöohje

Trikromiväripakkaus (Masson)

Menetelmänro HT15



Käyttötarkoitus

Trikromiväripakkaus (Masson) on tarkoitettu käytettäväksi laboratorion histologisena yleisväriaineena sidekudoksen, lihaksen ja kollageenisäikeiden histokemialliseen värjäykseen. Trikromiväripakkauksen reagenssit on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkaan. Vain ammattilaisten käyttöön. Tällä manuaalisella, kvalitatiivisella menetelmällä saaduista tiedoista tunnistetaan lihas- ja kollageenisäikeitä ihmisen kudostenäytteistä. Yhdessä muiden diagnostisten testien ja tietojen kanssa tarkasteltuina nämä tiedot voivat olla hyödyllisiä sellaisten sidekudos- ja lihassairauksien tutkimuksessa, joille fibroottiset ja dystrofiset muutokset ovat luonteellomaisia.

Trikromivärejä käytetään etupäässä kollageenin erottamiseen lihaskudoksesta². Tavallisesti ne käsittävät tuman, kollageenin ja sytoplasman väriaineet peittausaineissa, kuten fosfovolframii- tai fosfomolybdeenihapossa. Historiallisesti ensimmäinen trikromijärjestelmä liitetään Malloryyn.^{3,4} Lisämuunnelmia tekivät Masson ja Gomori.^{4,5} Tässä kuvattu menetelmä perustuu Massonin työhön Lillien muunnelmana⁴, jossa käytetään aniliinisistä kollageeniväriaineena vihreän väriaineen sijasta. Kudosteikkeitä käsitellään Bouinin liuoksella lopullisen värityksen voimistamiseksi. Tumat värjätään Weigertin rautahematoksyliinillä, ja sen jälkeen värjätään sytoplasma ja lihas Biebrichin punaisella-happofuksiinilla. Fosfovolframiihappo- ja fosfomolybdeenihappokäsittelyn jälkeen kollageeni tunnistetaan aniliinisillä värjätymisestä. Värjäyksen jälkeinen huuhtelu etikkahapossa tekee värisävyistä entistä tarkempia ja läpinäkyvämpiä.⁵ Ohjeet sisältävät trikromivärjäystekniikan nopealle värjäykselle mikroaaltouuneissa.⁶⁻⁷

Reagenssit

Biebrichin punainen-happofuksiiniliuos (luettelonro HT151-250ML)

Biebrichin punainen, 0,9 %, väri-indeksi 26905, happofuksiini, 0,1 %, väri-indeksi 42685, etikkahappo, 1,0 %.

Fosfovolframiihappoliuos (luettelonro HT152-250ML)

Fosfovolframiihappo, 10 %.

Fosfomolybdeenihappoliuos (luettelonro HT153-250ML)

Fosfomolybdeenihappoliuos, 10 %.

Aniliinisäikeiden liuos (luettelonro HT154-250ML)

Aniliinisäikeiden, 2,4 %, väri-indeksi 42780, ja etikkahappo, 2 %.

Tarvittavat erityisominaisuudet, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Jokaisella ajalla tulee käyttää positiivisia kontrolliohjeita, kuten Trichrome TISSUE-TROL™ (luettelonro TTR012)
- 1 N etikkahappo
- Bouinin liuos (luettelonro HT10132-1L tai HT101128-4L): pikiriinihappo, 1 %, formaldehydi, 9 %, ja etikkahappo, 5 %

Vain vakiomenetelmälle

- Weigertin rautahematoksyliinisäikeiden (luettelonro HT1079-1SET)
- Weigertin rautahematoksyliiniliuos, osa A (luettelonro HT107-500ML), 1-prosenttinen sertifioitu hematoksyliini etanolissa
- Weigertin rautahematoksyliiniliuos, osa B (luettelonro HT109-500ML), ferrikloridi, 1,2 % (w/v), ja suolahappo, 1 % (v/v)

Vain mikroaaltomenetelmälle

- Hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3 (luettelonro GHS316, GHS332, GHS380, GHS3128)
- Scottin vesiohtovedenkorvikkeen konsentraatti (luettelonro S5134)
- Coplin-astia (muovinen) ja tuuletusaukolliset kannet
- Mikroaaltouuni

Säilytys ja stabiilius

Säilytä reagensseja huoneenlämmössä (18–26 °C). Viimeiset käyttöpäivät on merkitty reagenssien etiketteihin. Saostuman muodostuminen fosfomolybdeenihappoliuokseen ei vaikuta suorituskykyyn.

Trikromiväri-liuokset, Bouinin liuos Weigertin rautahematoksyliini, Trichrome TISSUE-TROL™, etikkahappoliuos sekä Scottin vesiohtovedenkorvikkeen konsentraatti ja sen käyttöliuos on säilytettävä huoneenlämmössä (18–26 °C).

Biebrichin punainen-happofuksiiniliuos, Bouinin liuos, Weigertin rautahematoksyliiniliuos (osa A ja osa B), Trichrome TISSUE-TROL™ sekä Scottin vesiohtovedenkorvikkeen konsentraatti ja sen käyttöliuos ovat stabiileja viimeiseen käyttöpäivään asti.

Weigertin rautahematoksyliinin käyttöliuos on valmistettava juuri ennen käyttöä jokaista käyttökertaa varten.

Valmistelu

Valmista fosfovolframiihapon/fosfomolybdeenihapon käyttöliuos sekoittamalla yksi tilavuusosa fosfovolframiihappoliuosta ja yksi tilavuusosa fosfomolybdeenihappoliuosta kahteen tilavuusosaan deionisoitua vettä. Hävitä yhden käyttökerran jälkeen.

Biebrichin punainen-happofuksiiniliuos, Bouinin liuos ja hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3, toimitetaan käyttövalmiina.

Weigertin rautahematoksyliinin käyttöliuos valmistetaan sekoittamalla yhtä suuret määrät Weigertin rautahematoksyliini, osa A -liuosta ja Weigertin rautahematoksyliiniliuos, osa B -liuosta

Scottin vesiohtovedenkorvikkeen käyttöliuos valmistetaan sekoittamalla yksi osa Scottin vesiohtovedenkorvikkeen konsentraattia yhdeksään osaan deionisoitua vettä.

Valmista 1-prosenttinen etikkahappo laimentamalla 8,8 ml 1 N etikkahappoa 41,2 ml:lla vettä.

Varotoimet

Tämän pakkauksen *in vitro* -diagnostiset (IVD) laitteet on tarkoitettu käytettäväksi *in vitro* -diagnostiikassa kliinisessä laboratorioympäristössä. Nämä IVD-laitteet on tarkoitettu vain pätevän ammattihenkilöstön käyttöön. *In vitro* -diagnostisia Sigma-Aldrich-laitteita saa käyttää laboratoriohenkilöstö, joka on koulutettu käsittelemään mahdollisesti tartuntavaarallisia ihmisnäytteitä ja käyttämään mikroskooppia ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskooppilla.

Normaaleja laboratorioreagenssien käsittelyyn liittyviä varotoimia tulee noudattaa. Hävitä jätteet kaikkien paikallisten, alueellisten ja kansallisten määräysten mukaisesti.

Trichrome TISSUE-TROL™ -kontrolliohjeita ei voida täysin taata, että veri- tai kudostenäytteet eivät tartuttaisi infektiota. Siksi kaikkia verijohdannaisia ja kudostenäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Menettely

Näytteenotto

Millään tunnetulla testimenetelmällä ei voida täysin taata, että veri- tai kudostenäytteet eivät tartuttaisi infektiota. Siksi kaikkia verijohdannaisia ja kudostenäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Mitä tahansa hyvin kiinnitettyä 5–6 mikrometrin parafiinileikettä voidaan käyttää. Ota värjäyskäsittelyyn mukaan asianmukaiset kontrolliohjeet.

Menettely

Vakiomenetelmä

- Poista parafiini objektileasteista ja hydratoi deionisoituun veteen.
- Tee peittauskäsittely 56 °C:seen esilämmityssä Bouinin liuoksessa **15 minuutin** ajan tai **huoneenlämmössä** yön ajan.
- Jäähdytä objektilasit vesiohtovedessä (18–26 °C), joka on Coplin-astiasa.
- Pese juoksevalla vesiohtovedellä keltaisen värin poistamiseksi leikkeistä.
- Värjää Weigertin rautahematoksyliiniin käyttöliuoksessa **5 minuuttia**.
- Pese juoksevalla vesiohtovedellä **5 minuutin** ajan.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä.
- Värjää Biebrichin punainen-happofuksiiniliuoksessa **5 minuuttia**.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä.
- Aseta objektilasit fosfovolframiihapon/fosfomolybdeenihapon käyttöliuokseen **5 minuutiksi**.
- Aseta objektilasit aniliinisäikeiden liuokseen **5 minuutiksi**.
- Aseta objektilasit 1-prosenttiseen etikkahappoon **2 minuutiksi**. Hävitä liuos.
- Huuhtelee objektilasit, dehydroi alkoholisarjassa, kirkasta kysyessä ja peitä näyte.

Mikroaaltomenetelmä

- Poista parafiini objektileasteista ja hydratoi deionisoituun veteen.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** Bouinin liuosta, joka on muovisessa Coplin-astiasa. Peitä astia ennen mikroaaltouuniin asettamista kevyesti kannella tai käytä Coplin-astian kansia, joihin on porattu reikiä.
- Käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **25 sekunnin** ajan. Sekoita liuosta muovisella Pasteur-pipetillä tai levitystikulla ja inkuboi sitten lämmitetyssä Bouinin liuoksessa **5 minuuttia** vetokaapissa tai hyvin tuuletetulla alueella.
- Huuhtelee objektileasteja juoksevalla vesiohtovedellä, kunnes keltainen väri häviää.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** hematoksyliiniliuosta, Gillin nro 3, joka on muovisessa Coplin-astiasa.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **5 sekunnin** ajan.
- Huuhtelee huolellisesti juoksevalla vesiohtovedellä **30 sekunnin** – **1 minuutin** ajan.
- Muuta siniseksi Scottin vesiohtovedenkorvikkeen käyttöliuoksessa **huoneenlämmössä**.
- Huuhtelee huolellisesti juoksevalla vesiohtovedellä.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** Biebrichin punainen-happofuksiiniliuosta, joka on muovisessa Coplin-astiasa.
- Käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **20 sekunnin** ajan. Sekoita varovasti muovisella Pasteur-pipetillä tai levitystikulla. Anna inkuboitua **2 minuuttia**.
- Huuhtelee nopeasti deionisoidussa vedessä, useita kertoja vaihtaen.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** fosfovolframiihappo-fosfomolybdeenihappoliuosta, joka on muovisessa Coplin-astiasa.
- Käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **20 sekunnin** ajan. Poista objektilasit heti ja huuhtelee deionisoidussa vedessä, useita kertoja vaihtaen.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** aniliinisäikeiden liuosta, joka on muovisessa Coplin-astiasa.
- Käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **15 sekunnin** ajan. Sekoita varovasti muovisella Pasteur-pipetillä tai levitystikulla. Anna inkuboitua **1 minuutin** ajan.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä huolellisesti.
- Aseta objektilasit 1-prosenttiseen etikkahappoon **30 sekunnin** – **1 minuutin** ajaksi **huoneenlämmössä**.
- Huuhtelee objektilasit, dehydroi alkoholisarjassa, kirkasta ja peitä peitinlasilla.

Suorituskykyominaisuudet

Kohderakenne	Värjäystulos
Tumat	Musta, jos käytetään Weigertin rautahematoksyliiniä. Sininen, jos käytetään hematoksyliiniliuosta, Gillin nro 3.
Sytoplasma	Punainen
Lihassäikeet	Punainen
Kollageeni	Sininen

Jos havaitut tulokset eroavat odotetuista tuloksista, ota yhteyttä Sigma-Aldrichin tekniseen palveluun.

Analytyttiset suorituskykyominaisuudet

Kaikilla kohderakenteilla suoritetuista testeistä saadut analytyttiset suorituskykytulokset vahvistavat 100-prosenttisen herkkyyden, spesifisyyden ja toistettavuuden.

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittelyn sisäisen spesifisyys	Määrittelyn sisäisen herkkyys	Määrittelyn välinen spesifisyys	Määrittelyn välinen herkkyys
HT151	Biebrichin punainen-hap-pofuksiiniliuos	Kollageeni	3/3	3/3	3/3	3/3
		Lihas	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sytoplasma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3
HT152	Fosfovolframi-happoliuos	Kollageeni	3/3	3/3	3/3	3/3
		Lihas	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sytoplasma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3
HT153	Fosfomolybdeeni-happoliuos	Kollageeni	3/3	3/3	3/3	3/3
		Lihas	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sytoplasma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3
HT154	Aniliinisen liuos	Kollageeni	3/3	3/3	3/3	3/3
		Lihas	3/3	3/3	3/3	3/3
		Sytoplasma	3/3	3/3	3/3	3/3
		Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

Katso päivitetty riski-, vaara- ja turvallisuustiedot käyttöturvallisuustiedotteesta ja tuotemerkinnöistä.

HT15:



- H272: Voi edistää tulipaloa; hapettava.
- H314: Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.
- H412: Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.
- P210: Suojaa lämmöltä, kuumilta pinnoilta, kipinöiltä, avotulelta ja muilta sytytyslähteiltä. Tupakointi kielletty.
- P220: Pidä erillään vaatetuksesta ja muista syttyvistä materiaaleista. Vältettävä päästämistä ympäristöön.
- P280: Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.
- P303 + P361+ P353: JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo iho vedellä.
- P305 + P351 + P338: JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

Jos tämän laitteen käytön aikana tai sen seurauksena ilmenee vakava vaaratilanne, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		Vaativuudenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkekinnallinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Osoittaa valtuutetun edustajan Sveitsissä		

Lähteet

- 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

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuillamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Versiohistoria

Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2022
Versio 6.0	2022
	Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisätty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Lausuma diagnosointiavusta siirretty käyttötarkoituksen alle. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosiota poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Lisätty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Lähteet päivitetty. Lisätty kohta Varoitukset ja vaarat.
Versio 7.0	2025
	Nimeämiskäytäntöä päivitetty. Käyttötarkoituslausunto tarkistettu. Lisätty CH-REP-tiedot ja maahantuoja tiedot.

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

MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland

Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs

Gebruiksaanwijzing

Kit voor trichroomkleuring (Masson)

Procedurenr. HT15



Beoogd gebruik

De kit voor trichroomkleuring (Masson) is bedoeld voor gebruik als algemene histologische laboratoriumkleuring voor het histologisch kleuren van bindweefsel en spier- en collageenvezels. De kit voor trichroomkleuring-reagentia is bedoeld voor 'in vitro diagnostisch gebruik'. Uitsluitend voor professioneel gebruik. De gegevens uit deze handleiding, kwalitatieve procedure, tonen spier- en collageenvezels in weefselmonsters van menselijke monsters. Wanneer deze gegevens worden beoordeeld in combinatie met andere diagnostische tests en informatie, kunnen ze nuttig zijn bij het bestuderen van ziekten van bindweefsel en spieren die worden gekenmerkt door fibrotische en dystrofische veranderingen.

Trichroomkleuringen worden voornamelijk gebruikt om collageen van spierweefsel te onderscheiden.² Over het algemeen bestaan ze uit nucleaire, collageen en cytoplasmatische kleurstoffen in mordanten zoals fosfowolfram- of fosfomolybdeenzuur. Historisch gezien werd het eerste trichroomsysteem toegeschreven aan Mallory.^{3,4} Verdere modificaties werden geïntroduceerd door Masson en Gomori.^{4,5} De hier beschreven procedure is gebaseerd op het werk van Masson, zoals gewijzigd door Lillie⁶, waarbij anilineblauw als collageenkleuring werd gebruikt in plaats van een groene kleurstof. Weefselcoupes worden behandeld met Bouin-oplossing om de uiteindelijke kleur te versterken. De kernen worden gekleurd met ijzerhematoxyline volgens Weigert. Het cytoplasma² en de spieren worden vervolgens gekleurd met Biebrich Scarlet-zuurfuchsiene. Na behandeling met fosfowolfram- of fosfomolybdeenzuur wordt collageen aangetoond door kleuring met anilineblauw. Spoelen in azijnzuur na kleuring maakt de kleurschakeringen delicaat en transparanter.⁵ Een trichroomkleuringstechniek voor snelle kleuring in magnetrons is inbegrepen.⁶⁻⁷

Reagentia

Biebrich Scarlet-zuurfuchsieneoplossing (cat.nr. HT151-250ML)

Biebrich Scarlet, 0,9%, C.I. 26905, zuurfuchsiene 0,1%, C.I. 42685, in azijnzuur, 1,0%.

Fosfowolframzuuroplossing (cat.nr. HT152-250ML)

Fosfowolframzuur, 10%.

Fosfomolybdeenzuuroplossing (cat.nr. HT153-250ML)

Fosfomolybdeenzuur, 10%

Anilineblauwoplossing (cat.nr. HT154-250ML)

Anilineblauw, 2,4%, C.I. 42780 en azijnzuur, 2%.

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Objectglaasjes voor positieve controle, zoals Trichrome TISSUE-TROL™ (cat.nr. TTR012) moet in elke run worden gebruikt.
- 1N-azijnzuur
- Bouin-oplossing (cat.nr. HT10132-1L of HT101128-4L) picrinezuur, 1%, formaldehyde, 9% en azijnzuur, 5%

Alleen voor standaardprocedure

- Set met ijzerhematoxyline volgens Weigert (cat.nr. HT1079-1SET)
- Oplossing met ijzerhematoxyline volgens Weigert, deel A (cat.nr. HT107-500ML), 1% gecertificeerde hematoxyline in ethanol
- Oplossing met ijzerhematoxyline volgens Weigert, deel B (cat.nr. HT109-500ML), 1,2% ijzerchloride (gewicht/volume) en zoutzuur, 1% (volume/volume)

Alleen voor magnetronprocedures

- Hematoxylineoplossing, Gill nr. 3 (cat.nr. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott-kraanwatervervangingsconcentraat (cat.nr. S5134)
- Coplin-pot (kunststof) met geperforeerde deksels
- Magnetron

Opslag en stabiliteit

Bewaar reagentia bij kamertemperatuur (18-26 °C). Op de etiketten van de reagentia staat de vervaldatum. De vorming van neerslag in de fosfomolybdeenzuuroplossing heeft geen invloed op de prestaties.

Trichroomkleuringsoplossingen, Bouin-oplossing, ijzerhematoxyline volgens Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, azijnzuuroplossing, Scott-kraanwatervervangingsconcentraat en de werkoplossing van Scott-kraanwatervervangingsconcentraat moeten worden bewaard bij kamertemperatuur (18-26 °C).

Biebrich Scarlet-zuurfuchsieneoplossing, Bouin-oplossing, ijzerhematoxylineoplossing volgens Weigert (delen A en B), Trichrome TISSUE-TROL™ en Scott-kraanwatervervangingsconcentraat en de werkoplossing zijn stabiel tot de houdbaarheidsdatum.

De werkoplossing van ijzerhematoxyline volgens Weigert moet vers worden bereid voor elk gebruik.

Voorbereiding

Bereid de werkoplossing van fosfowolframzuur-/fosfomolybdeenzuuroplossing door 1 deel fosfowolframzuuroplossing en 1 deel fosfomolybdeenzuuroplossing te mengen met 2 delen gedeïoniseerd water. Gooi weg na één keer gebruik.

Biebrich Scarlet-zuurfuchsiene, Bouin-oplossing en hematoxylineoplossing, Gill nr. 3 zijn klaar voor gebruik.

De oplossing met ijzerhematoxyline volgens Weigert wordt bereid door gelijke delen ijzerhematoxylineoplossing volgens Weigert deel A en ijzerhematoxylineoplossing volgens Weigert deel B te mengen.

De werkoplossing van Scott-kraanwatervervangingsconcentraat te verdunnen met 9 delen gedeïoniseerd water.

Bereid 1% azijnzuur door 8,8 ml 1N-azijnzuur te verdunnen met 41,2 ml water.

Voorzorgsmaatregelen

De IVD's in deze kit zijn bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik in een klinische laboratoriumomgeving. Deze IVD's zijn uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik door gekwalificeerd personeel. IVD's van Sigma-Aldrich mogen bediend worden door laboratoriumpersoneel dat opgeleid is om om te gaan met humane monsters die infectieus kunnen zijn, microscopen en andere laboratoriumapparatuur te gebruiken en met voldoende kleurwaarneming en gezichtsscherpte om kleuren en andere objecten onder een microscoop te onderscheiden.

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. Voer afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften.

Trichrome TISSUE-TROL™-controleobjectglaasjes zijn in paraffine ingebed menselijk weefsel dat collageen en spierweefsel bevat en moeten als potentieel infectieus worden beschouwd.

Procedure

Monsterafname

Geen enkele bekende testmethode kan volledige zekerheid bieden dat bloedmonsters of weefsel geen infectie overdragen. Daarom moeten alle bloedderivaten of weefselmonsters als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Elke goed gefixeerde paraffinecoupe van 5-6 micron kan worden gebruikt. Gebruik geschikte controleobjectglaasjes.

Procedure

Standaardprocedure

1. Deparaffineer objectglaasjes en hydrateer ze met gedeïoniseerd water.
2. Beits **15 minuten** in de voorverwarmede Bouin-oplossing bij 56 °C of 's nachts **bij kamertemperatuur**.
3. Koel de objectglaasjes in kraanwater (18 tot 26 °C) in een Coplin-pot.
4. Was in stromend kraanwater om de gele kleur van de coupes te verwijderen.
5. Kleur **5 minuten** in werkoplossing van ijzerhematoxyline volgens Weigert.
6. Was **5 minuten** onder stromend kraanwater.
7. Spoel met gedeïoniseerd water.
8. Kleur **5 minuten** in Biebrich Scarlet-zuurfuchsiene.
9. Spoel met gedeïoniseerd water.
10. Plaats de objectglaasjes **5 minuten** in de werkoplossing van fosfowolframzuur-/fosfomolybdeenzuur.
11. Plaats de objectglaasjes **5 minuten** in de anilineblauwoplossing.
12. Plaats de objectglaasjes **2 minuten** in 1% azijnzuur. Gooi de oplossing weg.
13. Spoel de objectglaasjes af, dehydrateer ze met alcohol, maak ze doorzichtig in xyleen en bed ze in.

Magnetronprocedure

1. Deparaffineer objectglaasjes en hydrateer ze met gedeïoniseerd water.
2. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** Bouin-oplossing in een kunststof Coplin-pot. Bedek Coplin-potten losjes voordat u ze in de magnetron plaatst, of gebruik Coplin-potten met gaatjes in de deksels.
3. Verwarm **25 seconden** in de magnetron op **600 watt**. Meng de oplossing voorzichtig met een beralpipet of applicatorstaafje en incubeer de objectglaasjes **5 minuten** in de verwarmde Bouin-oplossing onder een afzuigkap of in een goed geventileerde ruimte.
4. Spoel de objectglaasjes onder stromend kraanwater totdat de gele kleur verdwijnt.
5. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** hematoxylineoplossing, Gill nr. 3, in een kunststof Coplin-pot.
6. Verwarm **5 seconden** in de magnetron op **800 watt**.
7. Spoel **30 seconden** tot **1 minuut** goed af onder stromend kraanwater.
8. Kleur blauw in de werkende werkoplossing van Scott-kraanwatervervangingsconcentraat **bij kamertemperatuur**.
9. Spoel goed af onder stromend kraanwater.
10. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** Biebrich Scarlet-zuurfuchsiene-oplossing in een kunststof Coplin-pot.
11. Verwarm **20 seconden** in de magnetron op **600 watt**. Meng voorzichtig met beralpipet of applicatorstaafje. Laat **2 minuten** incuberen.
12. Spoel kort met verschillende verversingen gedeïoniseerd water.
13. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** fosfowolframzuur-fosfomolybdeenzuur-oplossing in een kunststof Coplin-pot.
14. Verwarm **20 seconden** in de magnetron op **600 watt**. Verwijder de objectglaasjes onmiddellijk en spoel ze met verschillende verversingen gedeïoniseerd water.
15. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** anilineblauwoplossing in een kunststof Coplin-pot.
16. Verwarm **15 seconden** in de magnetron op **600 watt**. Meng voorzichtig met een beralpipet of applicatorstaafje. Laat **1 minuut** incuberen.
17. Spoel goed af met gedeïoniseerd water.
18. Plaats de objectglaasjes **30 seconden** tot **1 minuut** bij **kamertemperatuur** in 1% azijnzuur.
19. Spoel de objectglaasjes, dehydrateer ze met alcohol, maak ze schoon en dek ze af met een dekglasje.

Prestatiekenmerken

Doelstructuur	Kleuringsresultaat
Kernen	Zwart, als ijzerhematoxyline volgens Weigert wordt gebruikt. Blauw, als hematoxylineoplossing wordt gebruikt, wordt Gill nr. 3 gebruikt.
Cytoplasma	Rood
Spiervezels	Rood
Collageen	Blauw

Als de waargenomen resultaten afwijken van de verwachte resultaten, neem dan contact op met de technische dienst van Sigma-Aldrich voor assistentie.

Analytische prestatiekenmerken

De resultaten van de analytische prestaties voor de gegeven tests, uitgevoerd op alle doelstructuren, bevestigen 100% gevoeligheid, specificiteit en herhaalbaarheid.

Cat.nr.	Productbe- schrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
HT151	Biebrich Scar- let-zuurfuchsi neo- plossing	Collageen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Spier	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Cytoplasma	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT152	Fosfowolfram- zuuroplossing	Collageen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Spier	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Cytoplasma	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT153	Fosformolybdeen- zuuroplossing	Collageen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Spier	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Cytoplasma	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT154	Anilineblauwop- lossing	Collageen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Spier	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Cytoplasma	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad en de etikettering van het product voor bijgewerkte informatie over risico's, gevaren of veiligheid.

HT15:



H272: Kan brand bevorderen; oxiderend.

H314: Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel.

H412: Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

P210: Verwijderd houden van warmte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Niet roken. Verboden te roken.

P220: Uit de buurt houden van kleding en andere brandbare materialen. Voorkom lozing in het milieu.

P280: Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming dragen.

P303 + P361+ P353: BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.

P305 + P351 + P338: BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Ga verder met spoelen.

Als zich tijdens het gebruik van dit apparaat of als gevolg van het gebruik ervan een ernstig incident heeft voorgedaan, meld dit dan aan de fabrikant en/of zijn gemachtigde vertegenwoordiger en aan uw nationale autoriteit.

Symboloedefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

	Fabrikant		Catalogusnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Batchcode
	Gemachtigd vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/ Europese Unie		Conformiteitsverklaring van de Europese Unie (gedefinieerd in IVDR 2017/746)
	Uiterste gebruiksdatum		Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Temperatuurlimiet		Let op
	Fabricagedatum		Importeur
	Geeft de geautoriseerde vertegenwoordiger in Zwitserland aan		

Referenties

1. Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pag. 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

Contactgegevens

Bezoek onze website op SigmaAldrich.com om een bestelling te plaatsen. Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website SigmaAldrich.com/techservice.

Herzieningsgeschiedenis

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Hulp bij diagnosticering verplaatst naar beoogd gebruik. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Bijgewerkte referenties. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd.
Rev. 7.0	2025
	Naamgevingsconventie bijgewerkt. Herziene verklaring voor beoogd gebruik. CH-REP en importeursinformatie toegevoegd.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

De Initial M, TISSUE-TROL en Sigma-Aldrich zijn handelsmerken van Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland of zijn gelieerde ondernemingen. Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaars. Gedetailleerde informatie over handelsmerken is beschikbaar via openbaar toegankelijke bronnen.

© 2025 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®

Navodila za uporabo

Komplet za trikromno obarvanje (Masson)

Postopek št. HT15

Millipore
Sigma

Predvidena uporaba

Komplet za trikromno obarvanje (Masson) je namenjen splošnemu laboratorijskemu histološkemu barvanju, ki se uporablja pri histološkem barvanju veznih tkiv ter mišičnih in kolagenskih vlaken. Reagenti kompleta za trikromno obarvanje so namenjeni za "diagnostično uporabo *in vitro*". Samo za strokovno uporabo. Ta ročni, kvalitativni postopek pokaže mišična in kolagenska vlakna v človeških vzorcih. Rezultati se lahko v povezavi z drugimi diagnostičnimi testi in informacijami uporabijo kot pomoč pri preučevanju bolezni veznega tkiva in mišic, za katere so značilne fibrozne in distrofične spremembe.

Trikromna barvila se uporabljajo predvsem za razlikovanje kolagena od mišičnega tkiva.² V splošnem jih sestavljajo jedrna, kolagenska in citoplazemska barvila v mordantih, kot sta fosfovolframova ali fosfomolibdenova kislina. Zgodovinsko gledano je bil prvi trikromni sistem pripisan Malloryju.^{3,4} Nadaljnje spremembe sta uvedla Masson in Gomori.^{4,5} Tu opisani postopek temelji na Massonovem delu, kot ga je spremenil Lillie⁴ z uporabo anilinske modre kot barvila za kolagen namesto zelenega barvila. Tkivne rezine so obdelane z Bouinovo raztopino, da je končno obarvanje intenzivnejše. Jedra so obarvana z Weigertovim železovim hematoksilinom, citoplazma² in mišice pa so nato obarvane z Biebrichovim škrlatno rdečim kislim fuksinom. Po obdelavi s fosfovolframovo in fosfomolibdenovo kislino je z barvanjem z anilinsko modro prikazan kolagen. Zaradi izpiranja v očetni kislini po barvanju so barvni odtenki bolj nežni in prosojni.⁵ Vključena je tehnika trikromnega barvanja za hitro barvanje v mikrovalovnih pečicah.⁶⁻⁷

Reagenti

Raztopina Biebrichovega škrlatno rdečega kislega fuksina (kat. št. HT151-250ML)
Biebrichova škrlatno rdeča, 0,9 %, C.I. 26905, kislil fuksin 0,1 %, C.I. 42685, v očetni kislini, 1,0 %.

Raztopina fosfovolframove kisline (kat. št. HT152-250ML)
Fosfovolframova kislina, 10 %.

Raztopina fosfomolibdenove kisline (kat. št. HT153-250ML)
Fosfomolibdenova kislina, 10 %.

Raztopina anilinske modre (kat. št. HT154-250ML)
Anilinska modra, 2,4 %, C.I. 42780, in očetna kislina, 2 %.

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- V vsako izvedbo je treba vključiti pozitivne kontrolne preparate, kot so Trichrome TISSUE-TROL™ (kat. št. TTR012).
- 1 N-očetna kislina
- Bouinova raztopina (kat. št. HT10132-1L ali HT101128-4L) pikrinska kislina, 1 %, formaldehid, 9 %, in očetna kislina 5 %

Samo za standardni postopek

- Komplet za Weigertov železov hematoksilin (kat. št. HT1079-1SET)
- Raztopina Weigertovega železovega hematoksilina, del A (kat. št. HT107-500ML), 1 %, certificiran hematoksilin v etanolu
- Raztopina Weigertovega železovega hematoksilina, del B (kat. št. HT109-500ML), železov klorid, 1,2 % (m/v), in klorovodikova kislina, 1 % (v/v)

Samo za postopek z mikrovalovno pečico

- Raztopina hematoksilina Gill št. 3 (kat. št. GHS316, GHS332, GHS380, GHS3128)
- Scottov koncentrat za nadomestek vode iz pipe (kat. št. S5134)
- Kozarec Coplin (plastični) z ventilacijskim pokrovom
- Mikrovalovna pečica

Shranjevanje in stabilnost

Reagente shranjujte pri sobni temperaturi (18–26 °C). Na etiketah reagentov so navedeni datumi izteka roka uporabnosti. Nastanek oborine v raztopini fosfomolibdenove kisline ne vpliva na rezultate.

Raztopine za trikromno barvanje, Bouinovo raztopino, Weigertov železov hematoksilin, Trichrome TISSUE-TROL™, raztopino očetne kisline ter Scottov koncentrat in delovno raztopino za nadomestek vode iz pipe je treba hraniti pri sobni temperaturi (18–26 °C).

Raztopina Biebrichovega škrlatno rdečega kislega fuksina, Bouinova raztopina, raztopina Weigertovega železovega hematoksilina (dela A in B), Trichrome TISSUE-TROL™ ter Scottov koncentrat in delovna raztopina za nadomestek vode iz pipe so stabilni do izteka roka uporabnosti.

Delovna raztopina Weigertovega železovega hematoksilina mora biti pripravljena sveža za vsako uporabo.

Priprava

Pripravite delovno raztopino fosfovolframove/fosfomolibdenove kisline, tako da zmešate 1 volumen raztopine fosfovolframove kisline in 1 volumen fosfomolibdenove kisline z 2 volumnom deionizirane vode. Po eni uporabi zavrzite.

Biebrichov škrlatno rdeči kislil fuksin, Bouinova raztopina in raztopina hematoksilina, Gill št. 3, so pripravljeni za uporabo.

Raztopina Weigertovega železovega hematoksilina se pripravi z mešanjem enakih delov raztopine Weigertovega železovega hematoksilina, del A, in raztopine Weigertovega železovega hematoksilina, del B.

Scottova delovna raztopina za nadomestek vode iz pipe se pripravi z mešanjem 1 dela Scottovega koncentrata za nadomestek vode iz pipe z 9 deli deionizirane vode.

Pripravite 1-% očetno kislino z redčenjem 8,8 mL 1 N-očetne kisline z 41,2 mL vode.

Previdnostni ukrepi

Izdelki IVD, ki so vključeni v ta komplet, so namenjeni za diagnostično uporabo *in vitro* v kliničnem laboratoriju. Ti izdelki IVD so namenjeni le strokovni uporabi s strani usposobljenega osebja. Z napravami Sigma-Aldrich IVD lahko upravlja laboratorijsko osebje, ki je usposobljeno za ravnanje s človeškimi vzorci, ki so lahko kužni, za uporabo mikroskopov in druge laboratorijske opreme ter imajo sposobnost zaznavanja barv in ostrino vida za razlikovanje barv in drugih predmetov pod mikroskopom.

Upoštevati je treba običajne previdnostne ukrepe pri ravnanju z laboratorijskimi reagenti. Odpadke odstranite v skladu z vsemi lokalnimi, državnimi, pokrajinskimi ali nacionalnimi predpisi.

Kontrolni preparati Trichrome TISSUE-TROL™ so v parafin vklopljeno človeško tkivo, ki vsebuje kolagen in mišično tkivo, in jih je treba obravnavati kot potencialno infektivne.

Postopek

Zbiranje vzorcev

Nobena znana testna metoda ne more dati popolnega zagotovila, da vzorci krvi ali tkiva ne bodo prenesli okužbe. Zato je treba vse krvne derivate ali tkivne vzorce obravnavati kot potencialno kužne.

Uporabi se lahko katera koli dobro fiksirana parafinska rezina, ki je razrezana na 5–6 mikronov. Vključite ustrezne kontrolne preparate.

Postopek

Standardni postopek

1. Prepare deparafinizirajte in hidrirajte do deionizirane vode.
2. Jedkajte v predhodno segreti Bouinovi raztopini **15 minut** pri 56 °C ali čez noč **pri sobni temperaturi**.
3. Preparate ohladite v vodovodni vodi (18–26 °C), ki je v kozarcu Coplin.
4. Sperite s tekočo vodovodno vodo, da odstranite rumeno barvo iz rezin.
5. Barvajte z delovno raztopino Weigertovega železovega hematoksilina **5 minut**.
6. Spirajte s tekočo vodovodno vodo **5 minut**.
7. Sperite v deionizirani vodi.
8. Barvajte v Biebrichovem škrlatno rdečem kislem fuksinu **5 minut**.
9. Sperite v deionizirani vodi.
10. Prepare za **5 minut** postavite v delovno raztopino fosfovolframove/fosfomolibdenove kisline.
11. Prepare za **5 minut** postavite v raztopino anilinske modre.
12. Prepare za **2 minuti** postavite v 1-% očetno kislino. Raztopino zavrzite.
13. Prepare sperite, dehidrirajte skozi alkohol, očistite v ksilenu in namestite.

Postopek z mikrovalovno pečico

1. Prepare deparafinizirajte in hidrirajte do deionizirane vode.
2. Prepare postavite v **40 mL** Bouinove raztopine, ki je v plastičnem kozarcu Coplin. Pred prenosom v mikrovalovno pečico rahlo pokrijte kozarec Coplin s pokrovom ali uporabite kozarec Coplin, ki imajo v pokrove izrtane luknje.
3. V mikrovalovni pečici **25 sekund** segrevajte s **600 W**. Previdno mešajte raztopino s plastično pipeto ali aplikatorsko palčko in v digestoriju ali na dobro prezračnem mestu **5 minut** inkubirajte preparate v ogreti Bouinovi raztopini.
4. Spirajte preparate s tekočo vodovodno vodo, dokler rumena barva ne izgine.
5. Prepare postavite v **40 mL** raztopine hematoksilina Gill št. 3, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
6. V mikrovalovni pečici **5 sekund** segrevajte s **800 W**.
7. Stekelca temeljito spirajte s tekočo vodovodno vodo od **30 sekund** do **1 minute**.
8. Izvedite modrenje v Scottovi delovni raztopini za nadomestek vode iz pipe pri **sobni temperaturi**.
9. Stekelca temeljito sperite s tekočo vodovodno vodo.
10. Postavite preparate v **40 mL** raztopine Biebrichovega škrlatno rdečega kislega fuksina, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
11. V mikrovalovni pečici **20 sekund** segrevajte s **600 W**. Previdno mešajte s plastično pipeto ali aplikatorsko palčko. Pustite inkubirati **2 minuti**.
12. Hitro sperite z več menjavami destilirane vode.
13. Prepare potopite v **40 mL** raztopine fosfovolframove/fosfomolibdenove kisline, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
14. V mikrovalovni pečici **20 sekund** segrevajte s **600 W**. Takoj odstranite preparate in sperite z več menjavami deionizirane vode.
15. Prepare postavite v **40 mL** raztopine anilinske modre, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
16. V mikrovalovni pečici **15 sekund** segrevajte s **600 W**. Previdno mešajte s plastično pipeto ali aplikatorsko palčko. Inkubirajte **1 minuto**.
17. Dobro sperite v deionizirani vodi.
18. Prepare vstavite v 1-% očetno kislino za **30 sekund** do **1 minute** pri **sobni temperaturi**.
19. Prepare sperite, dehidrirajte skozi alkohol, očistite in pokrijte s krovimi stekelci.

Lastnosti delovanja

Ciljna struktura	Rezultat barvanja
Jedra	Črna, če je uporabljen Weigertov železov hematoksilin. Modra, če je uporabljena raztopina hematoksilina, Gill št. 3.
Citoplazma	Rdeča
Mišična vlakna	Rdeča
Kolagen	Modra

Če opaženi rezultati odstopajo od pričakovanih, se za pomoč obrnite na oddelek za tehnično pomoč podjetja Sigma-Aldrich.

Značilnosti analitične učinkovitosti

Rezultati analitične učinkovitosti za dane teste, opravljene na vseh ciljnih strukturah, potrjujejo 100-odstotno občutljivost, specifičnost in ponovljivost.

Kat. št.	Opis izdelka	Cilj	Specifičnost znotraj testa	Občutljivost znotraj testa	Specifičnost med testi	Občutljivost med testi
HT151	Raztopina Biebrichovega škrlatno rdečega kislega fuksina	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišice	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT152	Raztopina fosfovolframove kisline	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišice	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT153	Raztopina fosfomolibdenove kisline	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišice	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT154	Raztopina anilinsko modre	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišice	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Opozorila in nevarnosti

Vse posodobljene informacije o tveganju, nevarnosti ali varnosti najdete na varnostnem listu in oznaki izdelka.

HT15:



H272: Lahko okrepi požar; oksidativna snov.

H314: Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.

H412: Dolgotrajno škodljivo za vodne organizme.

P210: Hraniti ločeno od vročine, vročih površin, isker, odprtega ognja in drugih virov vžiga. Kajenje je prepovedano.

P220: Hraniti ločeno od oblačil in drugih vnetljivih materialov. Preprečiti sproščanje v okolje.

P280: Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.

P303 + P361 + P353: PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.

P305 + P351 + P338: PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

Če je med uporabo te naprave ali kot posledica njene uporabe prišlo do resnega incidenta, o tem obvestite proizvajalca in/ali njegovega pooblaščenega zastopnika ter ustrezen državni organ.

Definicije simbolov

Simboli, kot so opredeljeni v standardu EN ISO 15223-1:2021

	Proizvajalec		Kataloška številka
	Natančno preberite navodila za uporabo		Koda serije
	Pooblaščen zastopnik v Evropski skupnosti/Evropski uniji		Izjava Evropske unije o skladnosti (opredeljena v IVDR 2017/746)
	Rok uporabe		Medicinski diagnostični pripomoček in vitro
	Temperaturna omejitev		Pozor
	Datum izdelave		Uvoznik
	Označuje pooblaščenega zastopnika v Švici		

Reference

- 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

Kontaktni podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Zgodovina revizij

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Pomoč za izjavo o diagnozi je predstavljena v predvideno uporabo. Revidiran je namen uporabe za uskladitev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Reference so posodobljene. Dodana so opozorila in nevarnosti.
Rev. 7.0	2025
	Posodobljeno skladno z dogovorom o poimenovanju. Popravljen stavek o predvideni uporabi. Dodani CH-REP in podatki o uvozniku.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

Velika črka M, TISSUE-TROL in Sigma-Aldrich so blagovne znamke družbe Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija ali njenih pridruženih družb. Vse druge blagovne znamke so last njihovih lastnikov. Podrobne informacije o blagovnih znamkah so na voljo v javno dostopnih virih.

© 2025 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®

Instrucțiuni de utilizare

Kit de colorație tricromă (Masson)

Nr. procedurii HT15



Domeniu de utilizare

Kitul de colorație tricromă (Masson) este destinat utilizării drept colorație histologică generală de laborator, folosită în colorarea histologică a țesutului conjunctiv, a fibrelor musculare și de collagen. Reactivii din kitul de colorație tricromă sunt pentru utilizarea în vederea diagnosticării *in vitro*. Numai pentru uz profesional. Datele obținute prin această procedură calitativă manuală evidențiază fibrele musculare și de collagen din probele de țesut provenite de la pacienți. Aceste date, atunci când sunt analizate împreună cu alte teste de diagnosticare și informații, pot fi utile în studierea bolilor țesutului conjunctiv și ale mușchilor caracterizate prin modificări fibrotice și distrofice.

Soluțiile de colorare „tricromă” sunt utilizate în principal pentru a distinge collagenul de țesutul muscular.² În general, acestea constau din coloranți nucleari, colagenici și citoplasmatici din mordanți, cum ar fi acidul fosfotungstic sau fosfomolibdic. Din punct de vedere istoric, primul sistem tricrom este atribuit lui Mallory.^{3,4} Masson și Gomori au adus modificări suplimentare.^{4,5} Procedura descrisă aici se bazează pe activitatea lui Masson, cu modificările aduse de Lillie⁴ folosind albastru de anilină drept colorant al collagenului în locul unui colorant verde. Secțiunile de țesut sunt tratate cu soluția lui Bouin pentru intensificarea colorației finale. Nucleele sunt colorate cu hematoxilină cu fier a lui Weigert și citoplasma² și fibrele musculare sunt apoi colorate cu fucsina acidă purpurie a lui Biebrich. După tratamentul cu acid fosfotungstic și fosfomolibdic, collagenul este evidențiat prin colorarea cu albastru de anilină. Clătirea cu acid acetic după colorare face nuanțele de culoare mai delicate și transparente.⁵ Este inclusă o tehnică de colorație tricromă pentru colorarea rapidă în cuptorul cu microunde.^{6,7}

Reactivi

Soluția de fucsina acidă purpurie a lui Biebrich (nr. cat. HT151-250ML)

Soluția purpurie a lui Biebrich, 0,9 %, C.I. 26905, fucsina acidă 0,1 %, C.I. 42685, în acid acetic, 1,0 %.

Soluție de acid fosfotungstic (nr. cat. HT152-250ML)

Acid fosfotungstic, 10 %.

Soluție de acid fosfomolibdic (nr. cat. HT153-250ML)

Acid fosfomolibdic, 10 %

Soluție de albastru de anilină (nr. cat. HT154-250ML)

Albastru de anilină, 2,4 %, C.I. 42780 și acid acetic, 2 %.

Sunt necesare materiale speciale, dar acestea nu sunt furnizate

- Lamele de control pozitiv, de exemplu, Trichrome TISSUE-TROL™ (nr. cat. TTR012) trebuie incluse în fiecare proces
- Acid acetic 1N
- Soluția lui Bouin (nr. cat. HT10132-1L sau HT101128-4L), acid picric 1 %, formaldehidă 9 % și acid acetic 5 %

Numai pentru procedura standard

- Setul pentru hematoxilină cu fier a lui Weigert (nr. cat. HT1079-1SET)
- Soluția de hematoxilină cu fier a lui Weigert, Partea A (nr. cat. HT107-500ML) 1 % hematoxilină în etanol certificată
- Soluția de hematoxilină cu fier a lui Weigert, Partea B (nr. cat. HT109-500ML), clorură ferică 1,2 % (w/v) și acid clorhidric, 1 % (v/v)

Numai pentru procedura cu microunde

- Soluție de hematoxilină, Gill nr. 3 (nr. cat. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (nr. cat. S5134)
- Vas Coplin (din plastic) cu capac cu orificii de aerisire
- Cuptor cu microunde

Depozitare și stabilitate

Păstrați reactivii la temperatura ambiantă (18-26 °C). Pe etichetele reactivilor este indicată data expirării. Formarea precipitatului în soluția de acid fosfomolibdic nu afectează performanța.

Soluțiile de colorație tricromă, soluția lui Bouin, hematoxilină cu fier a lui Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, soluția de acid acetic, Scott's Tap Water Substitute Concentrate și soluția de lucru trebuie păstrate la temperatura ambiantă (18-26 °C).

Soluțiile de fucsina acidă purpurie a lui Biebrich, soluția lui Bouin, soluția de hematoxilină cu fier a lui Weigert (părțile A și B), Trichrome TISSUE-TROL™, Scott's Tap Water Substitute Concentrate și soluția de lucru sunt stabile până la data expirării.

Soluția de lucru cu hematoxilină cu fier a lui Weigert trebuie preparată chiar înainte de fiecare utilizare.

Preparare

Preparați soluția de lucru de acid fosfotungstic/fosfomolibdic amestecând o parte de soluție de acid fosfotungstic și o parte de acid fosfomolibdic cu 2 părți de apă deionizată. Aruncați după o utilizare.

Soluția de fucsina acidă purpurie a lui Biebrich, soluția lui Bouin și soluția de hematoxilină, Gill nr. 3 sunt gata de utilizare.

Soluția de hematoxilină cu fier a lui Weigert se prepară prin amestecarea de părți egale din soluția de hematoxilină cu fier a lui Weigert, Partea A și soluția de hematoxilină cu fier a lui Weigert, Partea B.

Soluția de lucru cu Scott's Tap Water Substitute se prepară prin amestecarea unei părți de Scott's Tap Water Substitute Concentrate cu 9 părți apă deionizată.

Preparați acid acetic 1 % diluând 8,8 ml de acid acetic 1N cu 41,2 ml de apă.

Precauții

Dispozitivele pentru DIV incluse în acest kit sunt destinate utilizării pentru diagnosticarea *in vitro* într-un mediu de laborator clinic. Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate exclusiv utilizării profesionale de către personal calificat. Dispozitivele pentru DIV Sigma-Aldrich pot fi folosite de personal de laborator pregătit pentru manipularea de probe provenite de la oameni care pot fi infecțioase, folosirea microscopelor și a altor echipamente de laborator și care percepe culorile și are acuitate vizuală pentru a distinge culorile și alte obiecte la microscop.

Trebuie luate măsurile de precauție normale pentru manipularea reactivilor de laborator. Eliminați deșeurile respectând toate reglementările locale, statale, provinciale sau naționale.

Lamelele de control Trichrome TISSUE-TROL™ sunt probe de țesut uman inclus în bloc de parafină care conțin collagen și țesut muscular și trebuie considerate potențial infecțioase.

Procedură

Recoltarea probelor

Nicio metodă de testare cunoscută nu garantează că probele de sânge sau țesutul nu va transmite infecții. Prin urmare, toate probele de derivate din sânge sau de țesut trebuie considerate potențial infecțioase.

Se poate utiliza orice secțiune în parafină bine fixată, tăiată la 5 -6 microni. Includeți lamelele de control corespunzătoare.

Procedură

Procedura standard

- Deparafinați și hidratați lamelele cu apă deionizată.
- Fixați culoarea în soluția lui Bouin preîncălzită la 56 °C timp de **15 minute** sau la **temperatura ambiantă** peste noapte.
- Răciți lamelele în apă de la robinet (18-26 °C) într-un vas Coplin.
- Spălați-le sub jet de apă de la robinet pentru a scăpa de culoarea galbenă a secțiunilor.
- Colorați-le în soluția de lucru cu hematoxilină cu fier a lui Weigert timp de **5 minute**.
- Spălați-le sub jet de apă de la robinet timp de **5 minute**.
- Clătiți cu apă deionizată.
- Colorați-le cu soluția de fucsina acidă purpurie a lui Biebrich timp de **5 minute**.
- Clătiți cu apă deionizată.
- Introduceți lamelele în soluția de lucru cu acid fosfotungstic/fosfomolibdic timp de **5 minute**.
- Introduceți lamelele în soluție de albastru de anilină timp de **5 minute**.
- Introduceți lamelele în acid acetic 1 % timp de **2 minute**. Aruncați soluția.
- Clătiți lamelele, deshidratați-le cu alcool, curățați-le în xilen și preparați-le.

Procedura cu microunde

- Deparafinați și hidratați lamelele cu apă deionizată.
- Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție a lui Bouin într-un vas Coplin din plastic. Acoperiți vasul Coplin cu capacul fără să-l strângeți înainte să îl introduceți în cuptorul cu microunde sau folosiți vase Coplin cu capace cu orificii.
- Încălziți-le la microunde la **600 wați** timp de **25 secunde**. Amestecați ușor soluția cu o pipetă Beral sau un bețisor aplicator, incubați lamelele în soluția lui Bouin încălzită timp de **5 minute** sub o hotă de tiraj sau într-o zonă bine ventilată.
- Clătiți lamelele sub jet de apă de la robinet până când dispare culoarea galbenă.
- Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de hematoxilină Gill nr. 3 într-un vas Coplin din plastic.
- Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **5 secunde**.
- Clătiți-le bine sub jet de apă de la robinet timp de **30 de secunde** până la **1 minut**.
- Colorați în albastru cu soluția de lucru Scott's Tap Water Substitute la **temperatura ambiantă**.
- Clătiți bine sub jet de apă de la robinet.
- Introduceți lamelele în **40 ml** de soluția de fucsina acidă purpurie a lui Biebrich într-un vas Coplin din plastic.
- Încălziți-le la microunde la **600 wați** timp de **20 secunde**. Amestecați ușor cu o pipetă Beral sau un bețisor aplicator. Lăsați la incubat **2 minute**.
- Clătiți-le rapid cu mai multe schimburi de apă deionizată.
- Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de acid fosfotungstic/fosfomolibdic într-un vas Coplin din plastic.
- Încălziți-le la microunde la **600 wați** timp de **20 secunde**. Scoateți imediat lamelele și clătiți-le cu câteva schimburi de apă deionizată.
- Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de albastru de anilină într-un vas Coplin din plastic.
- Încălziți-le la microunde la **600 wați** timp de **15 secunde**. Amestecați ușor cu o pipetă Beral sau un bețisor aplicator. Lăsați la incubat **1 minut**.
- Clătiți bine cu apă deionizată.
- Introduceți lamelele în acid acetic 1 % timp de **30 de secunde** până la **1 minut** la **temperatura ambiantă**.
- Clătiți lamelele, deshidratați-le cu alcool, curățați-le și acoperiți-le cu lamele de acoperire.

Caracteristici de performanță

Structura vizată	Rezultatul colorării
Nucleu	Negru, dacă se utilizează hematoxilină cu fier a lui Weigert. Albastru, dacă se utilizează soluția de hematoxilină Gill nr. 3.
Citoplasmă	Roșu
Fibre musculare	Roșu
Collagen	Albastru

Dacă rezultatele observate diferă de rezultatele preconizate, contactați serviciul tehnic Sigma-Aldrich pentru asistență.

Caracteristici de performanță analitică

Rezultatele performanței analitice pentru testele efectuate pentru toate structurile vizate confirmă 100 % sensibilitate, specificitate și repetabilitate.

Nr. cat.	Descrierea produsului	Țintă	Specifi- citatea intra-test	Sensibi- litatea intra-test	Specifi- citatea inter-test	Sensibi- litatea inter-test
HT151	Soluția de fucsină acidă purpurie a lui Biebrich	Colagen	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Mușchi	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Citoplasmă	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
	Nuclee		3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT152	Soluție de acid fosfotungstic	Colagen	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Mușchi	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Citoplasmă	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
	Nuclee		3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT153	Soluție de acid fosfomolibdic	Colagen	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Mușchi	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Citoplasmă	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
	Nuclee		3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT154	Soluție de albastru de anilină	Colagen	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Mușchi	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Citoplasmă	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
	Nuclee		3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3

Avertizări și pericole

Consultați Fișa cu date de securitate și eticheta produsului pentru informații actualizate despre riscuri, pericole sau siguranță.

HT15:



H272: Poate agrava un incendiu; oxidant.

H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

H412: Nociv pentru mediul acvatic, cu efecte pe termen lung.

P210: A se păstra departe de surse de căldură, suprafețe fierbinți, scântei, flăcări și alte surse de aprindere. Fumatul interzis.

P220: A se păstra departe de îmbrăcăminte și de alte materiale combustibile. Evitați dispersarea în mediu.

P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ecipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P303 + P361 + P353: ÎN CAZUL CONTACTULUI CU PIELEA (sau părul): Scoateți-vă imediat toate hainele contaminate. Clătiți pielea cu apă.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă sunt prezente și sunt ușor de scos. Continuați să clătiți.

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a folosirii acestuia are loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Definițiile simbolurilor

Simboluri conform definiției din EN ISO 15223-1:2021

	Producător		Număr de catalog
	Consultați Instrucțiunile de utilizare		Codul lotului
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană		Declarația de conformitate pentru Uniunea Europeană (definită în IVDR 2017/746)
	Data limită de utilizare		Dispozitiv medical pentru diagnosticarea <i>in vitro</i>
	Limita de temperatură		Atenție
	Data fabricației		Importator
	Indică reprezentantul autorizat în Elveția		

Referințe

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10th ed., RW Horobin and JA Kierman, 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

Informații de contact

Pentru a plasa o comandă, vizitați site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pentru servicii tehnice, vizitați pagina de servicii tehnice de pe site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Istoricul versiunilor

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Am trecut la un șablon nou cu elemente de marcă actuale. Am precizat că dispozitivul este pentru uz profesional în secțiunile Domeniu de utilizare și Precauții. Am mutat afirmația despre instrumentul de diagnosticare în secțiunea Domeniu de utilizare. Am modificat secțiunea Domeniu de utilizare pentru a respecta îndrumările IVDR. Am schimbat Fișa tehnică de siguranță în Fișă cu date de securitate. Am actualizat informațiile de contact. Am eliminat instrucțiunile privind respectarea CLSI pentru recoltarea probelor. Am eliminat standardul EN 980 și am adăugat EN ISO 15223-1:2021 pentru simboluri. Am adăugat informații de contact în caz de evenimente adverse. Am actualizat referințele. Am adăugat secțiunea Avertizări și pericole.
Rev. 7.0	2025
	Am actualizat convenția de denumire. Am revizuit afirmația din secțiunea Domeniu de utilizare. Am adăugat informații despre reprezentantul autorizat în Elveția și importator.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inițiala M, TISSUE-TROL și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germania sau ale afiliaților săi. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărcile comerciale sunt disponibile în resurse accesibile publicului.

© 2025 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.

Upute za upotrebu

Komplet trikromatskog bojila (Masson)

Postupak br. HT15



Predviđena namjena

Komplet trikromatskog bojila (Masson) namijenjen je za uporabu kao opće histološko laboratorijsko bojilo za upotrebu u histološkom bojenju vezivnog tkiva, mišićnih i kolagenskih vlakana. Reagensi kompleta trikromatskog bojila (Masson) namijenjeni su za „*in vitro*” dijagnostičku upotrebu. Samo za profesionalnu upotrebu. Podaci dobiveni iz ovog ručnog, kvalitativnog postupka pokazuju mišićna i kolagenska vlakna u uzorcima tkiva ljudskih uzoraka. Kada se pregledaju zajedno s drugim dijagnostičkim testovima i informacijama, ovi se podaci mogu upotrijebiti pri proučavanju bolesti vezivnog tkiva i mišića koje karakteriziraju fibrotske i distrofijske izmjene.

„Trikromatska” se bojila prvenstveno upotrebljavaju za razlikovanje kolagenskog od mišićnog tkiva.² Općenito se sastojе od nuklearnih, kolagenskih i citoplazmatskih boja u nagriznim bojilima kao što su fosfotungstična ili fosfomolibdinska kiselina. Povijesno gledano, prvi trikromatski sustav pripisan je Malloryju.^{3,4} Dodatne modifikacije uveli su Masson i Gomori.^{4,5} Ovdje opisani postupak temelji se na radu Massona koji je modificiralo Lillie⁴ koristeći anilinsku plavu boju kao kolagensko bojilo umjesto zelenog bojila. Presjeci tkiva tretiraju se Bouinovom otopinom za intenziviranje konačnog obojenja. Jezgre se boje Weigertovim željezovim hematoksilinom, a citoplazma² i mišić se zatim boje Biebrichovim grimizno-kiselinskim fuksinom. Nakon tretmana fosfotungstičnom i fosfomolibdinskom kiselinom, kolagen se pokazuje bojanjem anilinskim plavim. Ispiranje octenom kiselinom nakon bojenja čini nijanse boje osjetljivijima i prozirnijima.⁵ Uključena je tehnika trikromatskog bojenja za brzo bojenje u mikrovalnim pećnicama.⁶⁻⁷

Reagensi

Biebrichova otopina grimizno-kiselinskog fuksina (kat. br. HT151 – 250 ML)

Biebrichova grimizna, 0,9 %, C.I. 26905, kiselni fuksin 0,1 %, C.I. 24685, u octenoj kiselini, 1,0 %.

Otopina fosfotungstične kiseline (kat. br. HT152 – 250 ML)

Fosfotungstična kiselina, 10 %

Otopina fosfomolibdinske kiseline (kat. br. HT153 – 250 ML)

Fosfomolibdinska kiselina, 10 %

Otopina anilinske plave (kat. br. HT154 – 250 ML)

Anilinska plava, 2,4 %, C.I. 42780 i octena kiselina, 2 %.

Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali

- Pri svakoj upotrebi potrebno je uključiti stakalca s pozitivnom kontrolom kao što je trikromatski TISSUE-TROL™ (kat. br. TTR012)
- 1N octena kiselina
- Bouinova otopina (kat. br. HT10132 – 1 L ili HT101128 – 4 L) pikrinska kiselina, 1 %, formaldehid, 9 % i octena kiselina, 5 %

Samo za standardni postupak

- Weigertov komplet za željezov hematoksilin (kat. br. - HT1079 – 1 KOMPLET)
- Otopina Weigertovog željezovog hematoksilina, dio A (kat. br. HT107 – 500 MK), 1 % certificirani hematoksilin u etilnom alkoholu
- Otopina Weigertovog željezovog hematoksilina, dio B (kat. br. HT109 – 500 ML), željezov klorid 1,2 % (maseni udio) i klorovodična kiselina, 1 % (volumni udio)

Samo za postupak s mikrovalnom pećnicom

- Gillova otopina hematoksilina br. 3 (kat. br. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Koncentrat Scottove zamjene za vodovodnu vodu (kat. br. S5134)
- Posuda za bojenje histoloških preparata (plastična) s poklopcima s otvorima
- Mikrovalna pećnica

Pohrana i stabilnost

Reagense pohranite na sobnoj temperaturi (18 – 26°C). Na oznakama reagensa navedeni su rokovi trajanja. Formiranje taloga u otopini fosfomolibdinske kiseline ne utječe na performanse.

Otopine trikromatskog bojila, Bouinova otopina, Weigertov željezov hematoksilin, trikromatski TISSUE-TROL™, otopina octene kiseline i koncentrat te radna otopina Scottove zamjene za vodovodnu vodu trebaju se pohraniti na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C).

Biebrichova otopina grimizno-kiselinskog fuksina, Bouinova otopina, Weigertova otopina željezovog hematoksilina (dijelovi A i B), trikromatski TISSUE-TROL™ i koncentrat te radna otopina Scottove zamjene za vodovodnu vodu stabilni su do isteka roka valjanosti.

Radnu otopinu Weigertovog željezovog hematoksilina treba svježe pripremiti za svaku upotrebu.

Priprema

Pripremite radnu otopinu fosfotungstične/fomolibdinske kiseline miješanjem 1 volumena otopine fosfotungstične kiseline i 1 volumena otopine fomolibdinske kiseline s 2 volumena deionizirane vode. Odložite u otpad nakon jedne upotrebe.

Biebrichova otopina grimizno-kiselinskog fuksina, Bouinova otopina i Gillova otopina hematoksilina br. 3 spremni su za upotrebu.

Otopina Weigertovog željezovog hematoksilina priprema se miješanjem jednakih dijelova otopine Weigertovog željezovog hematoksilina, dio A te otopine Weigertovog željezovog hematoksilina, dio B.

Radna otopina Scottove zamjene za vodovodnu vodu priprema se miješanjem 1 dijela koncentrata Scottove zamjene za vodovodnu vodu s 9 dijelova deionizirane vode.

Pripremite 1,0 %-tnu octenu kiselinu razrjeđivanjem 8,8 ml octene kiseline od 1N s 41,2 ml vode.

Mjere opreza

In vitro dijagnostički medicinski proizvodi uključeni u ovaj komplet namijenjeni su *in vitro* dijagnostičkoj uporabi u kliničkom laboratorijskom okruženju. Ti su *in vitro* dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su samo za profesionalnu uporabu od strane kvalificiranog osoblja. *In vitro* dijagnostičkim medicinskim proizvodima tvrtke Sigma-Aldrich može upravljati laboratorijsko osoblje koje je obučeno za rukovanje ljudskim uzorcima koji mogu biti zarazni, upotrebu mikroskopa i druge laboratorijske opreme te koje ima percepciju boja i oštrinu vida za razlikovanje boja i drugih predmeta pod mikroskopom.

Treba se pridržavati uobičajenih mjera opreza koje se primjenjuju pri rukovanju laboratorijskim reagensima. Odložite otpad poštujući sve lokalne, državne, pokrajinske ili nacionalne propise.

Stakalca s trikromatskom pozitivnom kontrolom TISSUE-TROL™ su ljudsko tkivo uronjeno u parafin koje sadrži kolagen i mišićno tkivo i treba ih smatrati potencijalno zaraznim.

Postupak

Prikupljanje uzorka

Nijedna poznata metoda ispitivanja ne može pružiti potpunu sigurnost da uzorci krvi ili tkiva neće prenijeti infekciju. Stoga se svi krvni derivati ili uzorci tkiva trebaju smatrati potencijalno zaraznima.

Može se upotrijebiti bilo koji dobro fiksirani parafinski presjek tkiva rezan na 5 – 6 mikrona. Uključite odgovarajuća kontrolna stakalca.

Postupak

Standardni postupak

- Deparafinizirajte stakalca i hidrirajte do deionizirane vode.
- Provedite nagrizanje u Bouinovoj otopini unaprijed zagrijanu na 56° C u trajanju od **15 minuta** ili na **sobnoj temperaturi** preko noći.
- Ohladite stakalca u vodovodnoj vodi (18 – 26 °C) u posudi za bojenje histoloških preparata (eng. Coplin jar).
- Ispirite pod mlazom vodovodne vode da biste uklonili žutu boju iz komadića tkiva.
- Bojite u radnoj Weigertovoj otopini željezovog hematoksilina **5 minuta**.
- Ispirite pod mlazom vodovodne vode **5 minuta**.
- Ispirite u deioniziranoj vodi.
- Bojite u Biebrichovoj otopini grimizno-kiselinskog fuksina **5 minuta**.
- Ispirite u deioniziranoj vodi.
- Stavite stakalca u radnu otopinu fosfotungstične/fomolibdinske kiseline **5 minuta**.
- Stavite stakalca u otopinu anilin plave **5 minuta**.
- Stavite stakalca u octenu kiselinu, 1 %, **2 minute**. Odložite otopinu u otpad.
- Ispirite stakalca, dehidrirajte alkoholom, prosvjetlite u ksilenu i postavite ih.

Postupak s mikrovalnom pećnicom

- Deparafinizirajte stakalca i hidrirajte do deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** Bouinove otopine u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata. Lagano zatvorite posudu za bojenje histoloških preparata poklopcem prije stavljanja u pećnicu ili upotrijebite poklopce za posude za bojenje s ubušanim otvorima.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **600 vata** na **25 sekundi**. Nježno promiješajte otopinu beralnom pipetom ili aplikatorskim štapićem, inkubirajte stakalca u zagrijanoj Bouinovoj otopini **5 minuta** u digestoru ili dobro prozračenom prostoru.
- Ispirite stakalca pod mlazom vodovodne vode dok žuta boja ne nestane.
- Stavite stakalca u 40 ml Gillove otopine hematoksilina br. 3, u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **800 vata** na **5 sekundi**.
- Dobro ispirite pod mlazom vodovodne vode **30 sekundi** do **1 minute**.
- Modrite u radnoj otopini Scottove zamjene za vodovodnu vodu pri **sobnoj temperaturi**.
- Dobro ispirite pod mlazom vodovodne vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** Biebrichove otopine grimizno-kiselinskog fuksina u plastične posude za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **600 vata** na **20 sekundi**. Nježno promiješajte beralnom pipetom ili štapićem za aplikaciju. Inkubirajte **2 minute**.
- Brzo ispirite u nekoliko izmjena deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** otopine fosfotungstične-fomolibdinske kiseline u plastične posude za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **600 vata** na **20 sekundi**. Odmah uklonite stakalca i ispirite u nekoliko izmjena deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** otopine anilin plave u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **600 vata** na **15 sekundi**. Nježno promiješajte beralnom pipetom ili aplikatorskim štapićem. Pustite da se inkubira **1 minutu**.
- Dobro ispirite u deioniziranoj vodi.
- Stavite stakalca u 1,0 %-tnu octenu kiselinu na **30 sekundi** do **1 minute**, na **sobnoj temperaturi**.
- Ispirite stakalca, dehidrirajte alkoholom, prosvjetlite i stavite pokrovno stakalce.

Značajke performansi

Ciljna struktura	Rezultat bojenja
Jezgre	Crno ako se upotrebljava Weigertov hematoksilin željeza. Plavo ako se upotrebljava Gillova otopina hematoksilina br. 3.
Citoplazma	Crvena
Mišićna vlakna	Crvena
Kolagen	Plava

Ako se uočeni rezultati razlikuju od očekivanih, obratite se tehničkoj službi tvrtke Sigma-Aldrich za pomoć.

Značajke analitičkih performansi

Rezultati analitičkih performansi za navedena ispitivanja provedena na svim ciljnim strukturama potvrđuju 100 % osjetljivost, specifičnost i ponovljivost.

Kat. br.	Opis proizvoda	Cilj	Specifičnost unutar testa	Osjetljivost unutar testa	Specifičnost između testova	Osjetljivost između testova
HT151	Biebrichova otopina grimizno-kiselinskog fuksina	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišić	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT152	Otopina fosfotungstične kiseline	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišić	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT153	Otopina fomolibdinske kiseline	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišić	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT154	Otopina anilin plave	Kolagen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Mišić	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Upozorenja i opasnosti

Pogledajte Sigurnosno-tehnički list i oznake na proizvodu za sve ažurirane informacije o riziku, opasnosti ili sigurnosti.

HT15:



H272: Može pojačati vatru; oksidizator.

H314: uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju.

H412: štetno za vodení okoliš s dugotrajnim učincima.

P210: držati podalje od vrućine, vrućih površina, iskri, otvorenog plamena i drugih izvora paljenja. Ne pušiti.

P220: držati podalje od odjeće i drugih zapaljivih materijala. izbjegavati ispuštanje u okoliš.

P280: Nositi zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

P303 + P361 + P353: U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu u vodi.

P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: Oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

Ako se tijekom uporabe ovog proizvoda ili kao rezultat njegove uporabe dogodila ozbiljna nezgoda, prijavite ju proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom predstavniku i svom nacionalnom tijelu.

Definicije simbola

Simboli u skladu s definicijom u standardu EN ISO 15223-1:2021.

	Proizvođač		Kataloški broj
	Pogledajte upute za upotrebu		Broj serije
	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici / Europskoj uniji		Izjava Europske unije o sukladnosti (definirano u IVDR 2017/746)
	Rok upotrebe		In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Ograničenje temperature		Oprez
	Datum proizvodnje		Uvoznik
	Upućuje na ovlaštenog zastupnika u Švicarskoj		

Reference

- Carson FL: Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, IL, 1990, pp 134
- Conn's Biological Stains, 10. izd., RW Horobin i JA Kiernan, urednici, Taylor & Francis, NY, 2002., str. 61
- Theory and Practice of Histotechnology, uredili DC Sheehan i BB Hrapchak, 2. izd., 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.

Podaci za kontakt

Za narudžbu, posjetite našu internetsku stranicu na adresi SigmaAldrich.com. Za Tehničku službu, posjetite stranicu tehničke službe na našoj internetskoj stranici na adresi SigmaAldrich.com/techservice.

Povijest izmjena

Rev. 4.0.	2016.
Rev. 5.0.	2022.
Rev. 6.0.	2022. Preneseno na novi obrazac s trenutačnom oznakom brenda. Specificirano za profesionalnu upotrebu u dijelu o predviđenoj namjeni i mjerama opreza. Izjava o pomoći pri dijagnostici prebačena u dio o predviđenoj namjeni. Revidirana predviđena namjena radi usklađivanja sa smjernicama IVDR-a. List o sigurnosti materijala ažuriran u Sigurnosno-tehnički list. Ažurirani podaci za kontakt. Uklonjena uputa o praćenju CLSI-a pri uzorkovanju. Uklonjen EN 980 i promijenjen u EN ISO 15223-1:2021 za simbole. Dodane nove informacije za kontakt za štetne događaje. Ažurirane reference. Dodana upozorenja i opasnosti
Rev. 7.0.	2025. Ažurirana konvencija o imenovanju. Revidirana izjava o predviđenoj namjeni. Dodane informacije o CH-REP i uvozniku.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicijal M, TISSUE-TROL i Sigma-Aldrich su zaštićeni znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka ili njegovih povezanih društava. Svi su drugi zaštićeni znakovi vlasništvo njihovih vlasnika. Detaljne informacije o zaštićenim znakovima dostupne su putem javno dostupnih izvora.

Sigma-Aldrich®

Instrukcja użycia

Zestaw do barwienia trichromem (Masson)

Procedura nr HT15



Przeznaczenie

Zestaw do barwienia trichromem (Masson) jest przeznaczony do stosowania jako ogólne laboratoryjne barwienie histologiczne stosowane do histologicznego barwienia tkanki łącznej, włókien mięśniowych i kolagenowych. Odczynniki z zestawu do barwienia trichromem są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro*. Wyłącznie do użytku profesjonalnego. Dane uzyskane w wyniku przeprowadzenia tej manualnej procedury jakościowej ukazują włókna kolagenowe w próbkach tkanek pochodzenia ludzkiego. Dane te w połączeniu z innymi testami i informacjami diagnostycznymi mogą być przydatne w badaniu chorób tkanki łącznej i mięśni charakteryzujących się zmianami zwłóknieniowymi i dystroficznymi.

Barwniki trichromowe wykorzystuje się przede wszystkim do odróżniania włókien kolagenowych od tkanki mięśniowej². Na ogół składają się z barwników jądrowych, kolagenowych i cytoplazmatycznych w zaprawach takich jak kwas fosforowolframowy lub fosforomolibdenowy. Dawniej pierwszy system barwienia trichromem przypisano Mallory.^{3,4} Dalsze modyfikacje wprowadzili Masson i Gomori.^{4,5} Opisana tutaj metoda oparta jest na pracy Massona w modyfikacji Lillie⁴ z wykorzystaniem błękitu anilinowego jako barwienia kolagenowego zamiast zielonego barwnika. Skrawki należy traktować roztworem Bouina w celu intensyfikacji ostatecznego zabarwienia. Jądra barwiono zestawem Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie, a cytoplazmę i mięśnie następnie barwiono roztworem kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha. Po potraktowaniu kwasem fosforowolframowym i fosforomolibdenowym kolagen wykrywa się poprzez barwienie błękitem anilinowym. Płukanie w kwasie octowym po barwieniu sprawia, że kolory stają się delikatniejsze i bardziej przezroczyste⁵. Dołączono metodę barwienia trichromem obejmującą szybkie barwienie w kuchence mikrofalowej⁶⁻⁷.

Odczynniki

Roztwór kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha (nr kat. HT151-250ML)
Szkarłat Biebricha, 0,9%, CI 26905, kwaśna fuksyna 0,1%, CI 42685, w kwasie octowym, 1,0%.

Roztwór kwasu fosforowolframowego (nr kat. HT152-250ML)
Kwas fosforowolframowy, 10%.

Roztwór kwasu fosforomolibdenowego (nr kat. HT153-250ML)
Kwas fosforomolibdenowy, 10%

Roztwór błękitu anilinowego (nr kat. HT154-250ML)
Błękit anilinowy, 2,4%, CI 42780 i kwas octowy, 2%.

Specjalne materiały wymagane, ale niedostarczone

- Za każdym razem należy używać dodatknych preparatów kontrolnych, takich jak Trichrome TISSUE-TROL™ (nr kat. TTR012).
- Kwas octowy 1N
- Roztwór Bouina (nr kat. HT10132 — 1 l lub HT101128 — 4 l) kwas pikrynowy, 1%, formaldehyd, 9% i kwas octowy, 5%

Tylko w przypadku procedury standardowej

- Zestaw hematoksyliny żelazowej Weigerta (nr kat. HT1079-1SET)
- Roztwór hematoksyliny żelazowej Weigerta, część A (nr kat. HT107 — 500 ml) 1-procentowy roztwór certyfikowanej hematoksyliny w etanolu
- Roztwór hematoksyliny żelazowej Weigerta, część B (nr kat. HT109 — 500 ml), chlorek żelazowy 1,2% (wag./obj.) i kwas solny, 1% (obj./obj.)

Tylko w przypadku procedury obróbki z wykorzystaniem mikrofal

- Roztwór hematoksyliny Gilla, nr 3 (nr kat. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Koncentrat substytutu wody wodociągowej Scotta (nr kat. S5134)
- Słoik do barwienia Coplina (tworzywo sztuczne) z wentylowanymi pokrywkami
- Kuchenka mikrofalowa

Przechowywanie i stabilność

Odczynniki przechowywać w temperaturze pokojowej (18–26°C). Na etykietach odczynników znajduje się termin ważności. Tworzenie się osadu w roztworze kwasu fosforomolibdenowego nie wpływa na działanie urządzenia.

Roztwory do barwienia trichromem, plyn Bouina, zestaw Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie, Trichrome TISSUE-TROL™, roztwór kwasu octowego i koncentrat substytutu wody wodociągowej Scotta i roztwór roboczy należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–26°C).

Roztwór kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha, roztwór Bouina, zestaw Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie (części A i B), Trichrom TISSUE-TROL™, koncentrat substytutu wody wodociągowej Scotta i roztwór roboczy zachowują stabilność do upływu terminu ważności.

Przy każdym użyciu należy przygotować świeży zestaw Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie.

Przygotowanie

Przygotować roboczy roztwór kwasu fosforowolframowego/fosforomolibdenowego, mieszając 1 objętość roztworu kwasu fosforowolframowego i 1 objętość roztworu kwasu fosforomolibdenowego z 2 częściami wody dejonizowanej. Wyrzucić po jednokrotnym użyciu.

Roztwór kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha, roztwór Bouina i roztwór hematoksyliny Gilla No. 3 są gotowe do użycia.

Zestaw Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie przygotowuje się poprzez wymieszanie w równych proporcjach części A i B zestawu Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie.

Roztwór roboczy substytutu wody wodociągowej Scotta przygotowuje się przez zmieszanie 1 części koncentratu substytutu wody wodociągowej Scotta z 9 częściami wody dejonizowanej.

Przygotować 1-procentowy roztwór kwasu octowego, rozcieńczając 8,8 ml kwasu octowego 1 N z użyciem 41,2 ml wody.

Środki ostrożności

Wyroby znajdujące się w tym zestawie są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro* w klinicznym środowisku laboratoryjnym. Niniejsze wyroby do diagnostyki *in vitro* są przeznaczone do użytku profesjonalnego i powinny być stosowane wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Wyroby do diagnostyki *in vitro* firmy Sigma-Aldrich mogą być stosowane wyłącznie przez personel laboratorium przeszkolony w zakresie obróbki potencjalnie zakaźnych próbek pochodzenia ludzkiego oraz korzystania z mikroskopów i innego sprzętu laboratoryjnego, a także posiadający zdolność do rozróżniania kolorów i ostrość wzroku niezbędną do rozpoznawania barw i innych obiektów pod mikroskopem.

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności zalecanych w przypadku korzystania z odczynników laboratoryjnych. Odpady należy utylizować zgodnie ze wszystkimi przepisami prawa miejscowego, stanowego, wojewódzkiego i krajowego.

Preparaty kontrolne Trichrome TISSUE-TROL™ to zawierające kolagen i włókna mięśniowe, zatopione w parafinie, tkanki ludzkie i należy traktować je jako potencjalnie zakaźne.

Procedura

Pobieranie próbek

Żadna ze znanych metod testowych nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi lub tkanki nie przeniosą zakażenia. W związku z tym wszystkie pochodne próbek krwi lub tkanek należy uznawać za potencjalne źródło zakażenia.

Można użyć dowolnego dobrze umocowanego skrawka parafinowego o grubości 5–6 mikronów. Wprowadzić odpowiednie płytki kontrolne.

Procedura

Procedura standardowa

1. Odparafinować i uwodnić preparaty w wodzie dejonizowanej.
2. Zanurzyć w podgrzanym roztworze Bouina o temperaturze 56°C na **15 minut** lub w **temperaturze pokojowej na całą noc**.
3. Schłodzić preparaty wodą wodociągową (18–26°C) zawartą w słoiku do barwienia Coplina.
4. Płukać pod bieżącą wodą wodociągową do usunięcia żółtego koloru skrawków.
5. Barwić w roztworze Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie przez **5 minut**.
6. Płukać pod bieżącą wodą wodociągową przez **5 minut**.
7. Wypłukać w wodzie dejonizowanej.
8. Barwić w roztworze kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha przez **5 minut**.
9. Wypłukać w wodzie dejonizowanej.
10. Umieścić płytki w roboczym roztworze kwasu fosforowolframowego/fosforomolibdenowego na **5 minut**.
11. Umieścić płytki w roztworze błękitu anilinowego na **5 minut**.
12. Umieścić płytki w 1% kwasie octowym na **2 minuty**. Wyrzucić roztwór.
13. Wypłukać preparaty, odwodnić za pomocą alkoholu, oczyścić w ksylenie i osadzić.

Procedura obróbki w kuchence mikrofalowej

1. Odparafinować i uwodnić preparaty w wodzie dejonizowanej.
2. Umieścić preparaty w **40 ml** roztworu Bouina zawartego w plastikowym słoiku do barwienia Coplina. Luźno przykryć słoik do barwienia Coplina pokrywką przed włożeniem do kucharki mikrofalowej lub użyć słoików Coplina z otworami wywierconymi w pokrywach.
3. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **600 watów** przez **25 sekund**. Delikatnie wymieszać roztwór za pomocą pipety beralowej lub sztyftu z aplikatorem, inkubować płytki w podgrzanym płynie Bouina przez **5 minut** pod wyciągiem lub w dobrze wentylowanym miejscu.
4. Płukać skrawki pod bieżącą wodą wodociągową do utraty żółtego koloru.
5. Umieścić preparaty w **40 ml** roztworu hematoksyliny Gilla nr 3 zawartego w plastikowym słoiku do barwienia Coplina.
6. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **5 sekund**.
7. Płukać dokładnie pod bieżącą wodą wodociągową przez czas od **30 sekund** do **1 minuty**.
8. Barwić na niebiesko w roztworze roboczym substytutu wody wodociągowej Scotta w **temperaturze pokojowej**.
9. Wypłukać dokładnie pod bieżącą wodą wodociągową.
10. Umieścić płytki w **40 ml** roztworu kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha zawartego w plastikowym słoiku do barwienia Coplina.
11. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **600 watów** przez **20 sekund**. Delikatnie wymieszać za pomocą pipety beralowej lub aplikatora sztyftowego. Inkubować przez **2 minuty**.
12. Szybko wypłukać, kilkakrotnie wymieniając wodę dejonizowaną.
13. Umieścić płytki w **40 ml** roztworu kwasu fosforowolframowego/fosforomolibdenowego zawartego w plastikowym słoiku do barwienia Coplina.
14. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **600 watów** przez **20 sekund**. Natychmiast wyjąć płytki i przepłukać kilkakrotnie wodą dejonizowaną.
15. Umieścić płytki w **40 ml** roztworu błękitu anilinowego zawartego w plastikowym słoiku do barwienia Coplina.
16. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **600 watów** przez **15 sekund**. Delikatnie wymieszać za pomocą pipety beralowej lub aplikatora sztyftowego. Inkubować przez **1 minutę**.
17. Dobrze wypłukać w wodzie dejonizowanej.
18. Zanurzyć preparaty w 1-procentowym roztworze kwasu octowego na czas od **30 sekund** do **1 minuty** w **temperaturze pokojowej**.
19. Oplukać płytki, odwodnić je alkoholem, wyklarować i przykryć szkiełkiem nakrywkowym.

Charakterystyka wydajności

Struktura docelowa	Kolor
Jądra komórkowe	Kolor czarny, jeśli stosuje się zestaw Weigerta do oznaczania żelaza w hematoksylinie. Niebieski, w przypadku użycia roztworu hematoksyliny Gilla nr 3.
Cytoplazma	Czerwony
Włókna mięśniowe	Czerwony
Kolagen	Niebieski

Jeśli uzyskane wyniki różnią się od spodziewanych, prosimy o skontaktowanie się z serwisem technicznym firmy Sigma-Aldrich w celu uzyskania pomocy.

Charakterystyka wydajności analitycznej

Badania w zakresie wydajności analitycznej danych testów przeprowadzone względem wszystkich struktur docelowych potwierdzają 100-procentową czułość, swoistość i powtarzalność.

Nr kat.	Opis produktu	Struktura docelowa	Swoistość w obrębie testu	Czułość w obrębie testu	Swoistość między testami	Czułość między testami
HT151	Roztwór kwaśnej fuksyny i szkarłatu Biebricha	Kolagen	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Tkanka mięśniowa	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT152	Roztwór kwasu fosforowolframowego	Kolagen	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Tkanka mięśniowa	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT153	Roztwór kwasu fosforomolibdenowego	Kolagen	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Tkanka mięśniowa	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT154	Roztwór błękitu anilinowego	Kolagen	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Tkanka mięśniowa	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Ostrzeżenia i zagrożenia

Informacje na temat aktualnych zagrożeń i środków ostrożności można znaleźć w Karcie charakterystyki substancji oraz etykiecie produktu.

HT15:



- H272: Może intensyfikować pożar; utleniacz.
- H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
- H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
- P210: Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.
- P220: Przechowywać z dala od odzieży i innych materiałów łatwopalnych. Unikać uwolnienia do środowiska.
- P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
- P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.
- P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.

Jeśli podczas lub w wyniku stosowania tego wyrobu dojdzie do poważnego incydentu, prosimy o zgłoszenie go do producenta i/lub jego autoryzowanego przedstawiciela oraz właściwych organów krajowych.

Definicje symboli

Symbole są zgodne z definicjami pochodzącymi normy EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Numer katalogowy
	Zapoznać się z instrukcją użycia		Kod partii
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / na terenie Unii Europejskiej		Deklaracja zgodności Unii Europejskiej (zdefiniowana w IVDR 2017/746)
	Termin przydatności do użycia		Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zakres dopuszczalnych temperatur		Przeostroga
	Data produkcji		Importer
	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii		

Literatura

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

Dane kontaktowe

Zamówienia można składać za pośrednictwem naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Pomoc Serwisu Technicznego można uzyskać za pośrednictwem karty serwisowej w obrębie naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Poprzednie wersje

Wer. 4.0	2016 r.
Wer. 5.0	2022 r.
Wer. 6.0	2022 r.
Przeniesiono do nowego szablonu z aktualnymi oznaczeniami marki. Uwzględniono informację o tym, że wyrób jest przeznaczony do użytku profesjonalnego w częściach „Przeznaczenie” i „Środki ostrożności”. Przeniesiono oświadczenie o wspomaganiu diagnostyki do części „Przeznaczenie”. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie” w celu uwzględnienia wytycznych IVDR. Zaktualizowano nazwę „Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej” na „Karcie charakterystyki substancji”. Zaktualizowano dane kontaktowe. Usunięto instrukcję dotyczącą pobierania próbek zgodnie z wytycznymi CLSI. Usunięto normę EN 980 i zmieniono na EN ISO 15223-1:2021 w części „Symbole”. Dodano dane kontaktowe na potrzeby zgłaszania zdarzeń niepożądanych. Zaktualizowano odniesienia. Dodano część „Ostrzeżenia i zagrożenia”.	
Wer. 7.0	2025 r.
Zaktualizowano konwencje nazewnictwa. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie”. Dodano informacje dotyczące przedstawiciela na terenie Szwajcarii (CH-REP) i informacje dotyczące importera.	



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicjał „M”, TISSUE-TROL i Sigma-Aldrich są znakami towarowymi spółki Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy lub jej podmiotów stowarzyszonych. Wszelkie inne znaki towarowe należą do odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje dotyczące znaków towarowych można uzyskać z powszechnie dostępnych źródeł.

Инструкции за употреба

Trichrome Stain (Masson) Kit

Процедура № HT15



Предназначение

Trichrome Stain (Masson) Kit е предназначен за използване като общолабораторен хистологичен оцветител, използван при хистологично оцветяване на съединителна тъкан, мускулни и колагенови влакна. Реагентите на Trichrome Stain Kit са предназначени за „*in vitro* диагностична употреба“. Само за професионална употреба. Данните, получени от тази ръчна качествена процедура, демонстрират мускулни и колагенови влакна в тъканни проби от човешки образци. Тези данни, когато се разглеждат във връзка с други диагностични тестове и информация, могат да бъдат полезни в изследването на заболявания на съединителната тъкан и мускулите, характеризирани с фиброзни и дистрофични промени.

„Трихромните“ оцветители се използват основно за разграничаване на колагена от мускулната тъкан.² Като цяло те се състоят от ядрени, колагенови и цитоплазмени багрила във фиксатори, като например фосфоволфрамова или фосфомолибденова киселина. Исторически първата трихромна система се приписва на Mallory.^{3,4} Следващи модификации са направени от Masson и Gomori.^{4,5} Процедурата, описана тук, се основава на работата на Masson, модифицирана от Lillie⁶, която използва анилиново синьо като колагенов оцветител вместо зелено багрило. Тъканните срезове се третират с разтвор на Bouin за интензифициране на окончателното оцветяване. Ядрата се оцветяват с железен хематоксилин по Weigert, а цитоплазмата² и мускулите се оцветяват след това с алено-киселинен фуксин по Biebrich. След третиране с фосфоволфрамова и фосфомолибденова киселина колагенът се проявява чрез оцветяване с анилиново синьо. Изплакването в оцетна киселина след оцветяване прави нюансите на цвета по-деликатни и прозрачни.² Включена е техника за трихромнен оцветител за бързо оцветяване в микровълнови фурни.⁶⁻⁷

Реагенти

Разтвор на алено-киселинен фуксин по Biebrich (кат. № HT151-250ML)
Алено по Biebrich, 0,9%, C.I. 26905, киселинен фуксин 0,1%, C.I. 42685, в оцетна киселина, 1,0%.

Разтвор на фосфоволфрамова киселина (кат. № HT152-250ML)
Фосфоволфрамова киселина, 10%.

Разтвор на фосфомолибденова киселина (кат. № HT153-250ML)
Фосфомолибденова киселина, 10%

Разтвор на анилиново синьо (кат. № HT154-250ML)
Анилиново синьо, 2,4%, C.I. 42780 и оцетна киселина, 2%.

Необходими специални материали, които не са осигурени

- При всеки цикъл трябва да се включват положителни контролни предметни стъкла, като например Trichrome TISSUE-TROL™ (кат. № TTR012)
- 1N оцетна киселина
- Разтвор на Bouin (кат. № HT10132-1L или HT101128-4L), пикринова киселина, 1%, формалдехид, 9%, и оцетна киселина, 5%

Само за стандартна процедура

- Набор за железен хематоксилин по Weigert (кат. № HT1079-1SET)
- Железен хематоксилин разтвор по Weigert, част А (кат. № HT107-500ML) 1% сертифициран хематоксилин в етанол
- Железен хематоксилин разтвор по Weigert, част В (кат. № HT109-500ML), железен хлорид 1,2% (w/v) и солна киселина, 1% (v/v)

Само за микровълнова процедура

- Хематоксилин разтвор по Gill № 3 (кат. № GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Концентрат за заместител на чешмяна вода на Скот (кат. № S5134)
- Вана Коплин (пластмасова) с вентилирани капаци
- Микровълнова фурна

Съхранение и стабилност

Съхранявайте реагентите на стайна температура (18 – 26°C). На етикетите на реагентите е посочен срокът на годност. Образуването на утайка в разтвор на фосфомолибденова киселина не влияе на действието.

Разтворите на трихромни оцветители, разтворът на Bouin, железният хематоксилин по Weigert, Trichrome TISSUE-TROL™, разтворът на оцетна киселина и концентратът за заместител на чешмяна вода на Скот и работният разтвор трябва да се съхраняват на стайна температура (18 – 26°C).

Разтворът на алено-киселинен фуксин по Biebrich, разтворът на Bouin, разтворът на железния хематоксилин по Weigert (части А и В), Trichrome TISSUE-TROL™, концентратът за заместител на чешмяна вода на Scott и работният разтвор са стабилни до изтичане на срока им на годност.

Работният железен хематоксилин разтвор по Weigert трябва да се приготвя пресен за всяка употреба.

Подготовка

Подгответе работен разтвор на фосфоволфрамова/фосфомолибденова киселина чрез смесване на 1 обем разтвор на фосфоволфрамова киселина и 1 обем на разтвор на фосфомолибденова киселина с 2 обема дейонизирана вода. Изхвърлете, след като използвате веднъж.

Алено-киселинен фуксин по Biebrich, разтворът на Bouin и хематоксилин разтворът по Gill № 3 се доставят готови за употреба.

Железният хематоксилин разтвор по Weigert се приготвя чрез смесване на равни части от железен хематоксилин разтвор по Weigert, част А, и железен хематоксилин разтвор по Weigert, част В.

Работният разтвор със заместител на чешмяна вода на Scott се приготвя чрез смесване на 1 част от концентрат за заместител на чешмяна вода на Scott с 9 части дейонизирана вода.

Пригответе 1% оцетна киселина чрез разреждане на 8,8 mL 1N оцетна киселина с 41,2 mL вода.

Предпазни мерки

IVD, включени в този комплект, са предназначени за *in vitro* диагностична употреба в клинична лабораторна среда. Тези IVD са само за професионална употреба от квалифициран персонал. С IVD на Sigma-Aldrich може да работи лабораторен персонал, който е обучен да бори с потенциално инфекциозни човешки образци, да използва микроскопи и друго лабораторно оборудване и има цветово възприятие и зрителна острота, за да различава цветовете и други обекти под микроскоп.

При боравене с лабораторни реагенти трябва да се спазват обичайните предпазни мерки. Изхвърляйте отпадъците, като спазвате всички местни, държавни, локални или национални разпоредби.

Контролните предметни стъкла Trichrome TISSUE-TROL™ са с включена в парафин човешка тъкан, съдържаща колаген и мускулна тъкан, и трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Процедура

Взимане на проба

Никой известен тестов метод не може да гарантира напълно, че кръвните проби или тъканта няма да пренесат инфекция. Поради това всички кръвни производни или тъканни образци трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Може да се използва какъвто и да било добре фиксиран срез от парафинов участък, срязан с дебелина 5 – 6 микрона. Използвайте подходящи контролни предметни стъкла.

Процедура

Стандартна процедура

- Депарафинизирайте предметните стъкла и хидратирайте с дейонизирана вода.
- Фиксатор в предварително загрят разтвор на Bouin при 56°C за **15 минути** или на **стайна температура** през нощта.
- Охладете предметните стъкла в чешмяна вода (18 – 26°C), поставена в вана Коплин.
- Промийте в течаща чешмяна вода, за да премахнете жълтия цвят от срезовете.
- Оцветете с работния железен хематоксилин разтвор по Weigert за **5 минути**.
- Промийте под течаща чешмяна вода за **5 минути**.
- Изплакнете в дейонизирана вода.
- Оцветете в алено-киселинен фуксин по Biebrich фуксин за **5 минути**.
- Изплакнете в дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в работен разтвор на фосфоволфрамова/фосфомолибденова киселина за **5 минути**.
- Поставете предметните стъкла в разтвор на анилиново синьо за **5 минути**.
- Поставете предметните стъкла в оцетна киселина, 1% за **2 минути**. Изхвърлете разтвора.
- Изплакнете предметните стъкла, дехидратирайте с алкохол, просветлете в скилен и залейте.

Микровълнова процедура

- Депарафинизирайте предметните стъкла и хидратирайте с дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на Bouin в пластмасова вана Коплин. Покрийте хлабаво ваната Коплин с капак, преди да поставите в микровълнова фурна, или използвайте капаци Коплин с пробити дупки в капачите.
- Сложете в микровълнова фурна при **600 вата** за **25 секунди**. Смесете внимателно разтвора с обемна пипета или апликаторна пръчка, инкубирайте предметните стъкла в затоплен разтвор на Bouin за **5 минути** в аспиратор или добре вентилирано място.
- Изплакнете предметните стъкла с течаща чешмяна вода, докато жълтият цвят не изчезне.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** хематоксилин разтвор по Джил № 3 в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **800 вата** за **5 секунди**.
- Изплакнете добре с течаща чешмяна вода за **30 секунди** до **1 минута**.
- Посинете с работния разтвор със заместител на чешмяна вода на Скот на **стайна температура**.
- Изплакнете добре на течаща чешмяна вода.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на алено-киселинен фуксин по Biebrich в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **600 вата** за **20 секунди**. Смесете внимателно с обемна пипета или апликаторна пръчка. Оставете за инкубация за **2 минути**.
- Изплакнете бързо с няколко смени на дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на фосфоволфрамова/фосфомолибденова киселина в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **600 вата** за **20 секунди**. Незабавно извадете предметните стъкла и изплакнете с няколко смени на дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на анилиново синьо в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **600 вата** за **15 секунди**. Смесете внимателно с обемна пипета или апликаторна пръчка. Оставете за инкубация за **1 минута**.
- Изплакнете добре в дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в 1% оцетна киселина за **30 секунди** до **1 минута** на **стайна температура**.
- Изплакнете предметните стъкла, дехидратирайте с алкохол, просветлете и поставете покривно стъкло.

Работни характеристики

Целева структура	Резултат от оцветяване
Ядра	Черно, ако се използва железният хематоксилин по Weigert. Синьо, ако се използва хематоксилин разтвор по Gill № 3.
Цитоплазма	Червено
Мускулни влакна	Червено
Колаген	Синьо

Ако наблюдаваните резултати се различават от очакваните, моля, свържете се с отдела по техническо обслужване на Sigma-Aldrich за съдействие.

Характеристики на аналитичното действие

Резултатите за аналитичното действие за дадените тестове, проведени върху всички целеви структури, потвърждават 100% чувствителност, специфичност и повторемост.

Кат. №	Описание на продукта	Цел	Специфичност в рамките на анализа	Чувствителност между рамките на анализа	Специфичност между анализите	Чувствителност между анализите
HT151	Разтвор на алено-киселинен фуксин по Biebrich	Колаген	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Мускул	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Цитоплазма	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT152	Разтвор на фосфоволфрамова киселина	Колаген	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Мускул	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Цитоплазма	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT153	Разтвор на фосфомолибденова киселина	Колаген	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Мускул	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Цитоплазма	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT154	Разтвор на анилиново синьо	Колаген	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Мускул	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Цитоплазма	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3

Предупреждения и опасности

Направете справка с информационния лист за безопасност и етикетирането на продукта за актуализирана информация за риск, опасност или безопасност.

HT15:



- H272: Може да усили пожара; окислител.
- H314: Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.
- H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.
- P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък и други източници на запалване. Тютюнопушенето забранено.
- P220: Да се държи далеч от облекло и други горими материали. Да се избягва изпускане в околната среда.
- P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
- P303 + P361+ P353: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.
- P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Дефиниции на символите

Символи, както са дефинирани в EN ISO 15223-1:2021

	Производител		Каталожен номер
	Вижте инструкциите за употреба		Код на партида
	Упълномощен представител в Европейската общност/ Европейския съюз		Декларация за съответствие на Европейския съюз (дефинирана в IVDR 2017/746)
	Дата на срок на годност		Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика
	Температурна граница		Внимание
	Дата на производство		Вносител
	Указва упълномощения представител в Швейцария		

Референции

- 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

Информация за контакт

За да направите поръчка, моля, посетете нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com. За техническо обслужване, моля, посетете страницата за техническо обслужване на нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com/techservice.

Хронология на редакциите

Ред. 4.0	2016 г.
Ред. 5.0	2022 г.
Ред. 6.0	2022 г. Прехвърлено на нов шаблон с текущо брендиране. Посочено за професионална употреба при предназначение и предпазни мерки. Преместено твърдение за помощно средство за диагностициране към предназначението. Редактирана предвидена употреба, за да се приведе в съответствие с насоките за IVDR. Актуализиран информационен лист за безопасност на материалите към информационния лист за безопасност. Актуализирана информация за контакт. Премахната инструкция за следване на CLSI за вземане на образци. Премахнат EN 980 и променен на EN ISO 15223-1:2021 за символи. Добавена информация за контакт при нежелани събития. Обновени референции. Добавени предупреждения и опасности.
Ред. 7.0	2025 г. Актуализирана конвенция за именуване. Преработена декларация за предназначение. Добавена информация за CH-REP и вносителя.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Darmstadt, Германия или свързаните дружества на компанията. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки е налична чрез публично достъпни ресурси.

© 2025 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.

Lietošanas pamācība

Trihroma iekrāsošanas (Masson) komplekts

Procedūra Nr. HT15



IVD CE Paredzētais lietojums

Trihroma iekrāsošanas (Masson) komplekts ir paredzēts lietošanai kā vispārējs laboratorijas histoloģiskais iekrāsojums, ko izmanto saistaudu, muskuļu un kolagēna šķiedru histoloģiskai iekrāsošanai. Trihroma iekrāsošanas komplekta reaģenti ir paredzēti "in vitro diagnostikai". Tikai profesionālai lietošanai. Ar šo manuālo, kvalitatīvo procedūru iegūtie dati uzrāda muskuļu un kolagēna šķiedras cilvēka audu paraugos. Šie dati, pārskatot tos kopā ar citiem diagnostikas testiem un informāciju, var būt noderīgi, pētīt saistaudu un muskuļu slimības, kurām raksturīgas fibrotiskas un distrofiskas izmaiņas.

"Trihroma" krāsvielas primāri izmanto, lai atšķirtu kolagēna audus no muskuļaudiem.² Parasti tās satur kodolu, kolagēna un citoplazmas krāsas kodinātājos, piemēram, fosforvolframskābē vai fosformolibdēnskābē. Vēsturiski pirmā trihromu sistēma tika attiecināta uz Mallory.^{3,4} Papildu modifikācijas ieviesa Masson un Gomori.^{4,5} Šeit aprakstītā procedūra ir balstīta uz Masson darbu, ko modificēja Lillie⁴, izmantojot anilīna zilo kā kolagēna iekrāsošanai vajadzīgās krāsas vietā. Audu sekcijas tiek apstrādātas ar Buēna šķīdumu, lai pastiprinātu galīgo krāsojumu. Kodolus iekrāso ar Veigerta dzelzs hematoksilīnu, citoplazmu² un muskuļus pēc tam iekrāso ar Biebrich Scarlet-Acid fuksīnu. Pēc apstrādes ar fosfotungstīnskābi un fosfomolibdīnskābi kolagēnu uzrāda, iekrāsojot ar anilīna zilo krāsu. Pēc iekrāsošanas skalošana etišķskābē padara krāsas toņus maigākus un caurspīdīgākus.⁵ Iekļauta trihroma iekrāsošanas metode ātrai iekrāsošanai mikrovilņu krāsnīs.⁶⁻⁷

Reaģenti

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin šķīdums (kat. Nr. HT151-250ML)
Biebrich scarlet, 0,9 %, C.I. 26905, skābais fuksīns 0,1 %, C.I. 42685, etišķskābē, 1,0 %.

Fosforvolframskābes šķīdums (kat. Nr. HT152-250ML)
Fosforvolframskābe, 10 %.

Fosfomolibdīnskābes šķīdums (kat. Nr. HT153-250ML)
Fosfomolibdīnskābe, 10 %

Anilīna zilā šķīdums (kat. Nr. HT154-250ML)
Anilīna zilaiss, 2,4 %, C.I. 42780 un etišķskābe, 2 %.

Speciāli nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli

- Katrā testēšanas ciklā jāiekļauj pozitīvi kontroles priekšmetstiklīpi, piemēram, Trichrome TISSUE-TROL™ (kat. Nr. TTR012)
- 1N etišķskābe
- Buēna šķīdums (kat. Nr. HT10132-1L vai HT101128-4L) pikrīnskābe, 1 %, formaldehīds, 9 % un etišķskābe, 5 %

Tikai standarta procedūrai

- Veigerta dzelzs hematoksilīna komplekts (kat. Nr. HT1079-1SET)
- Veigerta dzelzs hematoksilīna šķīdums, A daļa (kat. Nr. HT107-500ML), 1 %, sertificēts hematoksilīns etanolā
- Veigerta dzelzs hematoksilīna šķīdums, B daļa (kat. Nr. HT109-500ML), dzelzs hlorīds, 1,2 % (masas %), un sāļsskābe, 1 % (v/v)

Tikai procedūrai mikrovilņu krāsnī

- Hematoksilīna šķīdums, Gila hematoksilīna šķīdumā Nr. 3 (kat. Nr. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott krāna ūdens aizvietotāja koncentrāts (kat. Nr. SS134)
- Kopliņa trauks (plastmasas) ar ventilējamam vākiem
- Mikrovilņu krāsns

Uzglabāšana un stabilitāte

Uzglabājiet reaģentus istabas temperatūrā (18–26 °C). Reaģentu etiķetēs ir norādīts derīguma termiņš. Nogulšņu veidošanās fosfomolibdīnskābes šķīdumā neietekmē veiktspēju.

Trihroma iekrāsošanas šķīdumi, Buēna šķīdums, Veigerta dzelzs hematoksilīns, Trichrome TISSUE-TROL™, etišķskābes šķīdums un Scott krāna ūdens aizvietotāja koncentrāts un darba šķīdums jāuzglabā istabas temperatūrā (18–26 °C).

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin šķīdums, Buēna šķīdums, Veigerta dzelzs hematoksilīna šķīdums (A un B daļa), Trichrome TISSUE-TROL™ un Scott krāna ūdens aizvietotāja koncentrāts un darba šķīdums ir stabili līdz derīguma termiņa beigām.

Pirms katras lietošanas reizes jāsaņem svaigs Veigerta dzelzs hematoksilīna darba šķīdums.

Sagatavošana

Sagatavojiet darba fosfotungstīnskābes/fosfomolibdīnskābes šķīdumu, sajaucot 1 tilpumu fosforvolframskābes šķīduma un 1 tilpuma fosfomolibdīnskābes šķīdumu ar 2 tilpumiem dejonizēta ūdens. Izmetiet pēc vienas lietošanas reizes.

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin, Buēna šķīdums un hematoksilīna šķīdums, Gila hematoksilīna šķīdumā Nr. 3, ir gatavi lietošanai.

Veigerta dzelzs hematoksilīna šķīdumu sagatavo, sajaucot vienādās daļās Veigerta dzelzs hematoksilīna šķīduma A daļu un Veigerta dzelzs hematoksilīna šķīduma B daļu.

Scott krāna ūdens aizvietotāja darba šķīdumu sagatavo, sajaucot 1 daļu Scott krāna ūdens aizvietotāja koncentrāta ar 9 daļām dejonizēta ūdens.

Sagatavojiet 1 % etišķskābi, atšķaidot 8,8 mL 1N etišķskābes ar 41,2 mL ūdens.

Piesardzības pasākumi

Šajā komplektā iekļautās IVD ir paredzēts lietot *in vitro* diagnostikai klīniskās laboratorijas vidē. Šis IVD ir paredzēts profesionālai lietošanai un tikai kvalificētam personālam. Sigma-Aldrich IVD drīkst lietot laboratorijas darbinieki, kas apmācīti rīkoties ar varbūtēji infekcioziem cilvēku paraugiem, lietot mikroskopus un citu laboratorijas aprīkojumu, un kuriem ir atbilstoša krāsu uztvere un redzes aums, lai spētu atšķirt krāsas un citus objektus mikroskopā.

Rīkojoties ar laboratorijas reaģentiem, ir jāievēro standarta piesardzības pasākumi. Utilizējiet atkritumus saskaņā ar vietējiem, štata, provinces vai valsts noteikumiem.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontroles priekšmetstiklīpi ir parafinā iegulti cilvēka audi, kas satur kolagēna un muskuļu audus, un tie uzskatāmi par potenciāli infekcioziem.

Procedūra

Paraugu ņemšana

Nav zināma neviena metode, kas sniegtu pilnīgu pārliecību, ka ar asins paraugiem vai audiem netiks pārnestas infekcijas. Tāpēc visus asins produktus vai audu paraugus jāuzskata par potenciāli infekcioziem.

Var izmantot jebkuru labi fiksētu parafina griezumu ar 5–6 mikroniem. Iekļaujiet atbilstošus vadības priekšmetstiklīšus.

Procedūra

Standarta procedūra

- Deparfinējiet priekšmetstiklīšus un samitriniet ar dejonizētu ūdeni.
- Kodinātājs iepriekš uzskarsētā Buēna šķīdumā 56 °C temperatūrā **15 minūtes** vai **istabas temperatūrā** uz nakti.
- Atzdesējiet priekšmetstiklīšus ar krāna ūdeni (18–26 °C) Koplina traukā.
- Mazgājiet ar tekošu krāna ūdeni, lai no audu griezumiem noņemtu dzelteno krāsu.
- Ievietojiet Veigerta darba dzelzs hematoksilīna šķīdumā **5 minūtes**.
- Mazgājiet ar tekošu krāna ūdeni **5 minūtes**.
- Noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Iekrāsojiet Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin šķīdumā **5 minūtes**.
- Noskalojiet ar dejonizētu ūdeni.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus darba fosfotungstīnskās/fosfomolibdīnskābes šķīdumā uz **5 minūtēm**.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus anilīna zilā šķīdumā uz **5 minūtēm**.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus etišķskābē, 1 %, uz **2 minūtēm**. Izmetiet šķīdumu.
- Noskalojiet priekšmetstiklīšus, dehidrējiet ar spirtu, attīriet ar ksilolu un nostipriniet.

Procedūra mikrovilņu krāsnī

- Deparfinējiet priekšmetstiklīšus un samitriniet ar dejonizētu ūdeni.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus **40 mL** Buēna šķīduma, kas atrodas plastmasas Koplina traukā. Pirms ievietošanas mikrovilņu krāsnī brīvi pārklājiet Koplina traukus ar vāku vai izmantojiet Koplina traukus, kuru vākos ir izurbti caurumi.
- Apstrādājiet mikrovilņu krāsnī ar **600 vatu** jaudu **25 sekundes**. Viegli samaisiet šķīdumu ar berala pipeti vai aplikatoru, inkubējiet priekšmetstiklīšus uzskarsētā Bouin šķīdumā **5 minūtes** vilkmes skapī vai labi vēdināmā vietā.
- Noskalojiet priekšmetstiklīšus tekošā krāna ūdenī, līdz pazūd dzeltenā krāsa.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus **40 mL** hematoksilīna šķīdumā, Gila hematoksilīna šķīdumā Nr. 3, kas atrodas plastmasas Koplina traukā.
- Apstrādājiet mikrovilņu krāsnī ar **800 vatu** jaudu **5 sekundes**.
- Rūpīgi noskalojiet tekošā krāna ūdenī **30 sekundes** līdz **1 minūtei**.
- Iekrāsojiet zilā krāsā **Scott** krāna ūdens aizvietotāja darba šķīdumā **istabas temperatūrā**.
- Rūpīgi noskalojiet ar tekošu krāna ūdeni.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus **40 mL Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin** šķīdumā, kas atrodas plastmasas Koplina traukā.
- Apstrādājiet mikrovilņu krāsnī ar **600 vatu** jaudu **20 sekundes**. Viegli samaisiet ar berala pipeti vai aplikatoru. Atstājiet inkubēties **2 minūtes**.
- Ātri noskalojiet vairākas reizes dejonizētā ūdenī.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus **40 mL** fosfotungstīnskās fosfomolibdīnskābes šķīdumā, kas atrodas plastmasas Koplina traukā.
- Apstrādājiet mikrovilņu krāsnī ar **600 vatu** jaudu **20 sekundes**. Nekavējoties izņemiet priekšmetstiklīšus un noskalojiet vairākas reizes dejonizētā ūdenī.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus **40 mL** anilīna zilā šķīduma, kas atrodas plastmasas Koplina traukā.
- Apstrādājiet mikrovilņu krāsnī ar **600 vatu** jaudu **15 sekundes**. Viegli samaisiet ar berala pipeti vai aplikatoru. Atstājiet inkubēties **1 minūti**.
- Rūpīgi noskalojiet dejonizētā ūdenī.
- Ievietojiet priekšmetstiklīšus 1 % etišķskābē uz laiku no **30 sekundēm** līdz **1 minūtei** istabas temperatūrā.
- Noskalojiet priekšmetstiklīšus, dehidrējiet ar spirtu, notīriet un pārklājiet.

Veiktspējas raksturlielumi

Mērķa struktūra	Iekrāsošanas rezultāts
Kodoli	Melsns, ja tiek izmantots Veigerta dzelzs hematoksilīns. Zils, ja tiek izmantots hematoksilīna šķīdums, Gila hematoksilīna šķīdums Nr. 3
Citoplazma	Sarkans
Muskuļu šķiedras	Sarkans
Kolagēns	Zils

Ja novērotie rezultāti atšķiras no gaidāmajiem rezultātiem, lūdzu, sazinieties ar Sigma-Aldrich Tehniskā atbalsta dienestu, lai saņemtu palīdzību.

Analītiskās veikspējas raksturlielumi

Analītiskās veikspējas rezultāti minētajos testos, kas veikti ar visām mērķa struktūrām, apstiprina 100% jutību, specifiskumu un atkārtojamību.

Kat. Nr.	Produkta apraksts	Mērķis	Specifiskums analīzes laikā	Jutība analīzes laikā	Starpanalīžu specifiskums	Starpanalīžu jutība
HT151	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin šķīdums	Kolagēns	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Muskuļi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Citoplazma	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT152	Fosforvolframskābes šķīdums	Kolagēns	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Muskuļi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Citoplazma	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT153	Fosfomolibdīnskābes šķīdums	Kolagēns	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Muskuļi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Citoplazma	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT154	Anilīna zilā šķīdums	Kolagēns	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Muskuļi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Citoplazma	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3

Bīdīnājumi un riski

Jaunāko informāciju par riskiem, bīstamību vai drošumu skatiet Drošības datu lapā un produkta marķējumā.

HT15:



H272: Var pastiprināt degšanu; oksidētājs.

H314: Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.

H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

P210: Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.

P220: Turēt/uzglabāt vietās, kur nav piekļuves drēbēm un citiem uzliesmojošiem materiāliem. Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

P280: Izmantot aizsargcimdus / aizsargdrēbes / acu aizsargus / sejas aizsargus.

P303 + P361+ P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.

P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: uzmanīgi izskalo ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot.

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns incidents, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī kompetentajai iestādei jūsu valstī.

Simbolu definīcijas

Simboli atbilst definīcijām standartā EN ISO 15223-1:2021

	Ražotājs		Kataloga numurs
	Skatīt lietošanas instrukciju		Partijas kods
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā		Eiropas Savienības atbilstības deklarācija (definēta IVDR 2017/746)
	Derīguma termiņš		Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
	Temperatūras ierobežojums		Uzmanību!
	Izgatavošanas datums		Importētājs
	Norāda pilnvaroto pārstāvi Šveicē		

Atsauces

- 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

Kontaktinformācija

Lai veiktu pasūtījumu, apmeklējiet mūsu tīmekļvietni SigmaAldrich.com. Lai sazinātos ar Tehniskā atbalsta dienestu, apmeklējiet tehniskā atbalsta dienesta lapu mūsu tīmekļvietnē SigmaAldrich.com/techservice.

Pārskatīto versiju vēsture

Vers. 4.0	2016
Vers. 5.0	2022
Vers. 6.0	2022 Pāreja uz jaunu veidni ar pašreizējo zīmola identitāti. Sadaļā ar paredzēto lietojumu un piesardzības pasākumiem norādīta profesionāla lietošana. Norāde par palīgīdzekli diagnostikā pārvietota uz sadaļu par paredzēto lietojumu. Pārskatīts paredzētais lietojums, lai to pieskaņotu IVDR vadlīnijām. Termins "Materiālu drošības datu lapa" mainīts uz "Drošības datu lapa". Atjaunināta kontaktinformācija. Svītrots norādījums paraugu ņemšanā ievērot CLSI. Svītrots EN 980 un aizstāts ar standartu EN ISO 15223-1:2021 attiecībā uz simboliem. Pievienota kontaktinformācija ziņošanai par nevēlamiem notikumiem. Atjauninātas atsauces. Pievienota sadaļa "Bīdīnājumi un riski".
Vers. 7.0	2025 Atjaunināti nosaukumu veidošanas principi. Pārskatīta informācija par paredzēto lietojumu. Pievienots CH-REP un informācija par importētāju.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Iniciālais M, TISSUE-TROL un Sigma-Aldrich ir preču zīmes, kas pieder uzņēmumam Merck KGaA, Darmštātē, Vācijā, vai tā saistītajiem uzņēmumiem. Visas pārējās preču zīmes pieder to attiecīgajiem īpašniekiem. Sīkāka informācija par preču zīmēm sniegta publiski pieejamos avotos.

© 2025 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.

Naudojimo instrukcija

Trichromo dažymo reagentų (Masson) rinkinys

Procedūros Nr. HT15



Paskirtis

Trichromo dažymo reagentų (Masson) rinkinys skirtas naudoti kaip bendras laboratorinis histologinis dažiklis, naudojamas jungiamojo audinio, raumenų ir kolageno skaidulų histologiniam dažymui. Trichromo dažymo rinkinio reagentai skirti *in vitro* diagnostikai. Tik profesionaliam naudojimui. Šio vadovo kokybinės procedūros metu gauti duomenys rodo žmogaus audinių mėginių raumenų ir kolageno skaidulas. Šie duomenys, peržiūrėjus juos kartu su kitais diagnostiniais tyrimais ir informacija, gali būti naudingi tiriant jungiamojo audinio ir raumenų ligas, kurioms būdingi fibroziniai ir distrofiniai pakitimai.

Trichromo dažymo reagentai pirmiausia naudojami kolagenui atskirti nuo raumeninio audinio.² Paprastai juos sudaro branduoliniai, kolageniniai ir citoplazminiai dažai mordantuose, pavyzdžiui, fosfovolframo ar fosfomolibdeno rūgštyje. Istorikai pirmąją trichromo sistemą sukūrė Mallory.^{3,4} Vėliau ją modifikavo Masson ir Gomori.^{4,5} Čia aprašyta procedūra pagrįsta Masson darbu, kurį modifikavo Lillie⁴, vietoj žalio dažiklio kaip kolageno dažiklį naudodamas anilino mėlį. Audinių pjūviai apdorojami Bouin tirpalu, kad galutinė spalva būtų intensyvesnė. Branduoliai nudažomi Weigert geležies hematoksilinu,² o citoplazma ir raumenys – Biebricho skaisčiai raudonos spalvos rūgštinio fuksino. Apdorojus fosfovolframo ir fosfomolibdeno rūgštimi, kolagenas parodomas dažant anilino mėliu. Nuskalavus acto rūgštyje, spalvos atspalviai tampa subtilesni ir skaidresni.⁵ Komplekte yra trichromo dažymo technika, skirta greitam dažymui mikrobangų krosnelėse.⁶⁻⁷

Reagentai

Biebricho skaisčiai raudonos rūgšties fuksino tirpalas (kat. Nr. HT151-250ML)
Biebricho skaisčiai raudona, 0,9 %, C.I. 26905, rūgšties fuksinas 0,1 %, C.I. 42685, acto rūgštis 1,0 %.

Fosfovolframo rūgšties tirpalas (kat. Nr. HT152-250ML)
Fosfovolframo rūgštis, 10 %.

Fosfomolibdeno rūgšties tirpalas (kat. Nr. HT153-250ML)
Fosfomolibdeno rūgštis, 10 %

Anilino mėlio tirpalas (kat. Nr. HT154-250ML)
Anilino mėlis, 2,4 %, C.I. 42780 ir acto rūgštis, 2 %.

Reikalingos, bet nepateikiamos specialios medžiagos

- Teigiamos kontrolės stikleliai, pvz., trichromo TISSUE-TROL™ (kat. Nr. TTR012) turėtų būti naudojami kiekviename tyrime.
- 1N acto rūgštis
- Bouin tirpalas (kat. Nr. HT10132-1L arba HT101128-4L) pikrino rūgštis, 1 %, formaldehidas, 9 % ir acto rūgštis, 5 %

Tik standartinei procedūrai

- Weigert geležies hematoksilino rinkinys (kat. Nr. HT1079-1SET)
- Weigert geležies hematoksilino tirpalas, A dalis (kat. Nr. HT107-500ML), 1 % sertifikuoto hematoksilino etanolyje
- Weigert geležies hematoksilino tirpalas, B dalis (kat. Nr. HT109-500ML), geležies chloridas 1,2 % (svorio tūryje) ir druskos rūgštis, 1 % (tūrio tūryje)

Tik procedūrai mikrobangų krosnelėje

- Hematoksilino tirpalas, Gill Nr. 3 (kat. Nr. GHS316; GHS332; GHS380; GHS3128)
- Scott's vandens iš čiaupo pakaitalo koncentratas (kat. Nr. S5134)
- Coplin tipo indelis (plastikinis) su ventiliuojamais dangteliais
- Mikrobangų krosnelė

Laikymas ir stabilumas

Reagentus laikykite kambario temperatūroje (18–26 °C). Reagentų etiketėse nurodytos galiojimo datos. Fosfomolibdeno rūgšties tirpale susidariusios nuosėdos neturi įtakos veikimui.

Trichromo dažymo tirpalai, Bouin tirpalas, Weigert geležies hematoksilinas, trichromo TISSUE-TROL™, acto rūgšties tirpalas, Scott's vandens iš čiaupo pakaitalo koncentratas ir darbinis tirpalas turėtų būti laikomi kambario temperatūroje (18–26 °C).

Biebrich skaisčiai raudonos rūgšties fuksino tirpalas, Bouin tirpalas, Weigert geležies hematoksilino tirpalas (A ir B dalys), trichromo TISSUE-TROL™ ir Scott's vandens iš čiaupo pakaitalo koncentratas ir darbinis tirpalas yra stabili iki galiojimo pabaigos datos.

Weigert geležies hematoksilino darbinis tirpalas turi būti paruoštas šviežias kiekvienam naudojimui.

Pasiruošimas

Paruoškite darbinį fosfovolframo / fosfomolibdeno rūgšties tirpalą, sumaišydami 1 tūrį fosfovolframo rūgšties tirpalo ir 1 tūrį fosfomolibdeno rūgšties tirpalo su 2 tūriais dejonizuoto vandens. Vieną kartą panaudoję išmeskite.

Biebrich skaisčiai raudonos rūgšties fuksino tirpalas, Bouin tirpalas ir hematoksilino tirpalas, Gill Nr. 3 yra paruošti naudoti.

Weigert geležies hematoksilino tirpalas ruošiamas lygiomis dalimis sumaišant Weigert geležies hematoksilino tirpalo A dalį ir Weigert geležies hematoksilino tirpalo B dalį.

Scott's čiaupo vandens pakaitalo darbinis tirpalas ruošiamas sumaišant 1 dalį Scott's čiaupo vandens pakaitalo koncentrato su 9 dalimis dejonizuoto vandens.

Paruoškite 1 % acto rūgštį atskiedę 8,8 ml 1N acto rūgšties 41,2 ml vandens.

Atsargumo priemonės

Šiame rinkinyje esančios IVD medžiagos yra skirtos *in vitro* diagnostikai klinikinės laboratorijos aplinkoje. Šios IVD skirtos naudoti tik kvalifikuotam personalui. Sigma-Aldrich IVD medžiagas gali naudoti laboratorijos darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su žmonių mėginiais, kurie gali būti užkrečiami, naudoti mikroskopus ir kitą laboratorinę įrangą bei turi spalvų suvokimą ir regėjimo aštrumą, kad galėtų atskirti spalvas ir kitus objektus mikroskopu.

Dirbant su laboratoriniais reagentais reikia laikytis įprastų atsargumo priemonių. Išmeskite atliekas laikydamiesi visų vietinių, valstijos, provincijos ar nacionalinių taisyklių.

Trichrome TISSUE-TROL™ kontroliniai stikleliai yra parafine įlieti žmogaus audiniai, kuriuose yra kolageno ir raumenų audinio, ir jie turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamomis medžiagomis.

Procedūra

Mėginio paėmimas

Joks žinomas tyrimo metodas negali visiškai užtikrinti, kad kraujo mėginiai ar audiniai neperduos infekcijos. Todėl visi kraujo dariniai ar audinių mėginiai turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamais.

Gali būti naudojamas bet koks gerai parafine fiksuotas 5–6 mikronų pjūvis. Įtraukite atitinkamus kontrolinius stiklelius.

Procedūra

Standartinė procedūra

- Deparafinizuokite stiklelius ir drėkinkite pjūvius dejonizuotu vandeniu.
- Įdėkite mordantą į pašildytą Bouin tirpalą 56 °C temperatūroje **15 minučių** arba **kambario temperatūroje** per naktį.
- Atvėsinkite stiklelius čiaupo vandeniu (18–26 °C) Coplin indelyje.
- Nuplaukite tekančiu vandeniu iš čiaupo, kad pašalintumėte geltoną pjūvių spalvą.
- Dažykite dariniame Weigert geležies hematoksilino tirpale **5 minutes**.
- Plaukite tekančiu vandeniu iš čiaupo **5 minutes**.
- Nuskaulaukite dejonizuotu vandeniu.
- Dažykite Biebrich skaisčiai raudonos rūgšties fuksine **5 minutes**.
- Nuskaulaukite dejonizuotu vandeniu.
- Įdėkite stiklelius į darbinį fosfovolframo / fosfomolibdeno rūgšties tirpalą **5 minutėms**.
- Įdėkite stiklelius į anilino mėlio tirpalą **5 minutėms**.
- Įdėkite stiklelius į 1 % acto rūgštį **2 minutėms**. Išmeskite tirpalą.
- Nuplaukite stiklelius, dehidratuokite per alkoholį, nuvalykite ksilene ir užfiksuokite.

Mikrobangų krosnelės procedūra

- Deparafinizuokite stiklelius ir drėkinkite pjūvius dejonizuotu vandeniu.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** Bouin tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje. Prieš dėdami į mikrobangų krosnelę laisvai uždenkite Coplin indelį dangteliu arba naudokite Coplin indelius su dangteluose išgręžtomis skylutėmis.
- 25 sekundžių laikykite 600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Atsargiai sumaišykite tirpalą beralio pipete arba aplikatoriaus lazdele, inkubuokite stiklelius šildomame Bouin tirpale **5 minutes** traukos gaubte arba gerai vėdinamoje vietoje.
- Skalaukite stiklelius tekančiame vandenyje iš čiaupo, kol išnyks geltona spalva.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** hematoksilino tirpalo, Gill Nr. 3, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 5 sekundžių laikykite 800 vatų** mikrobangų krosnelėje.
- Gera skalaukite tekančiu čiaupo vandeniu nuo **30 sekundžių** iki **1 minutės**.
- Dažykite mėlynai dariniame Scott's vandens iš čiaupo pakaitalo dariniame tirpale **kambario temperatūroje**.
- Nuskaulaukite po tekančiu čiaupo vandeniu.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** Biebrich skaisčiai raudonos rūgšties fuksino tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 20 sekundžių laikykite 600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Atsargiai sumaišykite beralio pipete arba aplikatoriaus lazdele. Leiskite inkubuoti **2 minutes**.
- Greitai nuplaukite keliais distiliuoto vandens keitimais.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** fosfovolframo ir fosfomolibdeno rūgšties tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 20 sekundžių laikykite 600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Nedelsdami išimkite stiklelius ir nuplaukite kelis kartus pakeisdami dejonizuotą vandenį.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** anilino mėlio tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 15 sekundžių laikykite 600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Atsargiai sumaišykite beralio pipete arba aplikatoriaus lazdele. Leiskite inkubuoti **1 minutę**.
- Gera nuskaulaukite dejonizuotu vandeniu.
- Palaišykite stiklelius 1 % acto rūgštyje nuo **30 sekundžių** iki **1 minutės kambario temperatūroje**.
- Nuplaukite stiklelius, dehidratuokite per alkoholį, nuvalykite ir uždenkite.

Veikimo charakteristikos

Tiklinė struktūra	Dažymo rezultatas
Branduoliai	Juoda, jei naudojamas Weigert geležies hematoksilinas. Mėlyna, jei naudojamas hematoksilino tirpalas, Gill Nr. 3.
Citoplazma	Raudona
Raumenų skaidulos	Raudona
Kolagenas	Mėlyna

Jei pastebėti rezultatai skiriasi nuo laukiamų rezultatų, kreipkitės pagalbos į „Sigma-Aldrich“ techninę tarnybą.

Analitinio veikimo charakteristikos

Pateiktų tyrimų, atliktų su visomis tikslinėmis struktūromis, analitinio efektyvumo rezultatai patvirtina 100 % jautrumą, specifiškumą ir pakartojamumą.

Kat. Nr.	Produkto aprašymas	Tikslas	Tyrimo specifiškumas	Jautrumas tyrimo metu	Specifiškumas tarp tyrimų	Jautrumas tarp tyrimų
HT151	Biebrich skaisčiai raudonos rūgšties fukso tirpalas	Kolagenas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Raumenys	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Citoplazma	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT152	Fosfovolframo rūgšties tirpalas	Kolagenas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Raumenys	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Citoplazma	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT153	Fosfomolibdeno rūgšties tirpalas	Kolagenas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Raumenys	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Citoplazma	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT154	Anilino mėlio tirpalas	Kolagenas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Raumenys	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Citoplazma	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3

Įspėjimai ir pavojai

Atnaujintą rizikos, pavojaus ar saugos informaciją rasite saugos duomenų lape ir gaminio etiketėje.

HT15:



H272: Gali padidinti gaisrą, oksidatorius.

H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.

H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

P210: Laikyti atokiau nuo karščio, karštų paviršių, kibirkščių, atviros liepsnos ir kitų uždegimo šaltinių. Nerūkyti.

P220: Laikyti atokiau nuo drabužių bei kitų degių medžiagų. Saugoti, kad nepatektų į aplinką.

P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

P303 + P361+ P353: Patekus ANT ODOS (arba plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu.

P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti.

Jei naudojant šį įrenginį arba dėl jo naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo nacionalinei institucijai.

Simbolių apibrėžimai

Simboliai, kaip apibrėžta EN ISO 15223-1:2021

	Gamintojas		Katalogo numeris
	Žr. naudojimo instrukcijas		Partijos kodas
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje		Europos Sąjungos atitikties deklaracija (apibrėžta IVDR 2017/746)
	Galiojimo data		In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Temperatūros riba		Atsargiai
	Pagaminimo data		Importuotojas
	Nurodo įgaliotąjį atstovą Šveicarijoje		

Šaltiniai

- 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

Kontaktinė informacija

Norėdami pateikti užsakymą, apsilankykite mūsų svetainėje [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Dėl techninės priežiūros apsilankykite techninės priežiūros puslapyje mūsų svetainėje [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Peržiūrų istorija

4.0 red.	2016
5.0 red.	2022
6.0 red.	2022
	Perkelta į naują šablono su dabartiniu prekės ženklu. Skirta profesionaliam naudojimui pagal paskirtį ir taikomas atsargumo priemonės. Pagalbinė priemonė perkelta į diagnozės išrašą pagal paskirtį. Peržiūrėta paskirtis, siekiant suderinti su IVDR gairėmis. Atnaujintas medžiagos saugos duomenų lapas į saugos duomenų lapą. Atnaujinta kontaktinė informacija. Pašalintas nurodymas laikytis CLSI dėl mėginių paėmimo. Išimtas EN 980 ir pakeistas į EN ISO 15223-1:2021 simboliams. Pridėta nepageidaujamo įvykio kontaktinė informacija. Atnaujintas literatūros sąrašas. Pridėti įspėjimai ir pavojai.
7.0 red.	2025
	Atnaujintas pavadinimų suteikimo susitarimas. Peržiūrėtas numatytosios paskirties pareiškimas. Pridėta atstovo Šveicarijoje ir importuotojo informacija.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

Inicialas „M“, „TISSUE-TROL“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija arba jos filialų prekės ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamią informaciją apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose ištekliaus.

© 2025 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 na použitie

Súprava trichrómového farbiva (Masson)

Postup č. HT15



Určené použitie

Súprava trichrómového farbiva (Masson) je určená na použitie ako všeobecné laboratórne histologické farbivo, ktoré sa používa na histologické farbenie spojivového tkaniva, svalov a kolagénových vlákien. Reagencie súpravy trichrómového farbiva sú určené na „diagnostické použitie *in vitro*“. Len na odborné použitie. Údaje získané z tohto manuálneho, kvalitatívneho postupu preukazujú svalové a kolagénové vlákna vo vzorkách tkanív ľudských vzoriek. Tieto údaje v spojení s ďalšími diagnostickými testami a informáciami môžu byť užitočné pri štúdiu ochorení spojivového tkaniva a svalov charakterizovaných fibrotickými a dystrofickými zmenami.

„Trichrómové“ farbivá sa používajú predovšetkým na rozlíšenie kolagénu od svalového tkaniva.² Vo všeobecnosti pozostávajú z jadrových, kolagénových a cytoplazmatických farieb v moridlách, ako je kyselina fosfowolfrámová alebo fosfomolybdénová. Historicky sa prvý trichrómový systém pripisuje Mallorymu.^{3,4} Ďalšie modifikácie zaviedli Masson a Gomori.^{4,5} Tu opísaný postup vychádza z práce Massona, ktorú modifikoval Lillie⁴ s použitím anilínovej modrej ako farbiva kolagénu namiesto zeleného farbiva. Rezy tkaniva sa ošetrí Bouinovým roztokom, aby sa zintenzívnilo konečné sfarbenie. Jadrá sa farbja Weigertovým železitým hematoxylinom, cytoplazma² a svalstvo sa potom farbí Biebrichovým šarlátovo-kyslým fuchsínom. Po ošetroaní kyselinou fosfowolfrámovou a fosfomolybdénovou sa kolagén preukáže zafarbením anilínovou modrou. Opláchnutie v kyseline octovej po farbení vytvorí jemnejšie a jasnejšie farebné odtiene.⁵ Súčasťou je technika trichrómového farbenia na rýchle farbenie v mikrovlnných rúrach.^{6,7}

Reagencie

Roztok Biebrichovho šarlátovo-kyslého fuchsínu (kat. č. HT151-250ML)

Biebrichova šarlátová, 0,9 %, C.I. 26905, kyslý fuchsín 0,1 %, C.I. 42685, v kyseline octovej, 1,0 %.

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

Kyselina fosfowolfrámová, 10 %.

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

Kyselina fosfomolybdénová, 10 %

Roztok anilínovej modrej (kat. č. HT154-250ML)

Anilínová modrá, 2,4 %, C.I. 42780 a kyselina octová, 2 %.

Potrebné špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia

- Pozitívne kontrolné sklička, ako napríklad trichrómové TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR012), by mali byť súčasťou každého cyklu
- 1N kyselina octová
- Bouinov roztok (kat. č. HT10132-1L alebo HT101128-4L) kyselina pikrová, 1 %, formaldehyd, 9 % a kyselina octová, 5 %

Iba pre štandardný postup

- Weigertova sada železitého hematoxylinu (kat. č. HT1079-1SET)
- Weigertov roztok železitého hematoxylinu, časť A (kat. č. HT107-500ML) 1 % certifikovaný hematoxylin v etanole
- Weigertov roztok železitého hematoxylinu, časť B (kat. č. HT109-500ML), chlorid železitý 1,2 % (obj. hm.) a kyselina chlorovodíková 1 % (obj./obj.)

Iba pre mikrovlnný postup

- Roztok hematoxylinu, Gill č. 3 (kat. č. GHS316, GHS332, GHS380, GHS3128)
- Scottov koncentrát náhrady vody z vodovodu (kat. č. S5134)
- Nádobka Coplin (plastová) s odvetrávaným viečkom
- Mikrovlnná rúra

Skladovanie a stabilita

Reagencie skladujte pri izbovej teplote (18 – 26°C). Na etiketách reagencie je uvedený dátum expirácie. Tvorba zrazeniny v roztoku kyseliny fosfomolybdénovej nemá vplyv na výkon.

Roztoky trichrómového farbenia, Bouinov roztok, Weigertov železitý hematoxylin, trichrómový TISSUE-TROL™, roztok kyseliny octovej, koncentrát Scottovej náhrady vody z vodovodu a pracovný roztok by sa mali skladovať pri izbovej teplote (18 – 26 °C).

Roztok Biebrichovho šarlátovo-kyslého fuchsínu, Bouinov roztok, roztok Weigertovho železitého hematoxylinu (časti A a B), trichrómové TISSUE-TROL™ a koncentrát a pracovný roztok Scottovej náhrady vody z vodovodu sú stabilné do dátumu expirácie.

Pracovný roztok Weigertovho železitého hematoxylinu sa má pripravovať čerstvý na každé použitie.

Príprava

Prípravte pracovný roztok kyseliny fosfowolfrámovej/fosfomolybdénovej zmiešaním 1 objemu roztoku kyseliny fosfowolfrámovej a 1 objemu roztoku kyseliny fosfomolybdénovej s 2 objemami deionizovanej vody. Zlikvidujte po jednom použití.

Biebrichov šarlátovo-kyslý fuchsín, Bouinov roztok a roztok hematoxylinu, Gill č. 3 sú pripravené na použitie.

Roztok Weigertovho železitého hematoxylinu sa pripraví zmiešaním rovnakých častí roztoku Weigertovho železitého hematoxylinu, časť A, a roztoku Weigertovho železitého hematoxylinu, časť B.

Pracovný roztok Scottovej náhrady vody z vodovodu sa pripraví zmiešaním 1 dielu koncentráta Scottovej náhrady vody z vodovodu s 9 dielmi deionizovanej vody.

Prípravte 1 % kyselinu octovú zriedením 8,8 ml kyseliny octovej 1N so 41,2 ml vody.

Bezpečnostné opatrenia

Pomôcky IVD, ktoré sú súčasťou tejto súpravy, sú určené na diagnostické použitie *in vitro* v prostredí klinického laboratória. Tieto IVD sú určené len na profesionálne použitie kvalifikovaným personálom. IVD Sigma-Aldrich môžu obsluhovať laboratórni pracovníci, ktorí sú vyškolení na manipuláciu s ľudskými vzorkami, ktoré môžu byť infekčné, používajú mikroskopy a iné laboratórne vybavenie a majú farebné vnímanie a zrakovú ostrosť na rozlišovanie farieb a iných objektov pod mikroskopom.

Musia sa dodržiavať bežné bezpečnostné opatrenia uplatňované pri manipulácii s laboratórnymi činidlami. Odpad likvidujte v súlade so všetkými miestnymi, štátnymi, provinčnými alebo národnými predpismi.

Trichrómové kontrolné sklička TISSUE-TROL™ sú ľudské tkanivá zaliate do parafínu obsahujúce kolagén a svalové tkanivo a mali by sa považovať za potenciálne infekčné.

Postup

Odber vzorky

Žiadna známa testovacia metóda nemôže poskytnúť úplnú záruku, že vzorky krvi alebo tkaniva neprenesú infekciu. Všetky deriváty krvi alebo vzorky tkaniva by sa preto mali považovať za potenciálne infekčné.

Môžu sa použiť akékoľvek dobre fixované parafínové rezy s hrúbkou 5 – 6 mikróvov. Začleňte vhodné kontrolné sklička.

Postup

Štandardný postup

1. Sklička deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
2. Moridlo umiestnite do predhriateho Bouinovho roztoku na 56 °C na **15 minút** alebo pri **izbovej teplote na noc**.
3. Sklička ochladte vo vode z vodovodu (18 – 26 °C) v Coplinovej nádobke.
4. Premyte v tečúcej vode z vodovodu, aby sa z rezov odstránila žltá farba.
5. Zafarbte v pracovnom roztoku Weigertovho železitého hematoxylinu počas **5 minút**.
6. Umyjte **5 minút** pod tečúcou vodou z vodovodu.
7. Opláchnite deionizovanou vodou.
8. Zafarbte v Biebrichovom šarlátovo-kyslom fuchsíne počas **5 minút**.
9. Opláchnite deionizovanou vodou.
10. Sklička umiestnite do pracovného roztoku kyseliny fosfowolfrámovej/fosfomolybdénovej na **5 minút**.
11. Sklička umiestnite do roztoku anilínovej modrej na **5 minút**.
12. Vložte sklička na **2 minúty** do 1 % kyseliny octovej. Roztok zlikvidujte.
13. Sklička opláchnite, dehydratujte ich alkoholom, vyčistite v xyléne a zafixujte.

Mikrovlnný postup

1. Sklička deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
2. Sklička umiestnite do **40 ml** Bouinovho roztoku v plastovej Coplinovej nádobke. Pred vložením do mikrovlnnej rúry voľne zakryte Coplinovu nádobku viečkom alebo použite viečka Coplinových nádobiek s navŕtanými otvormi.
3. Mikrovlnnú rúru zapnite na **600 wattov** na **25 sekúnd**. Roztok jemne premiešajte beralovou pipetou alebo aplikačnou tyčinkou, sklička inkubujte v zahriatom Bouinovom roztoku počas **5 minút** v digestore alebo dobre vetranom priestore.
4. Opláchnite sklička pod tečúcou vodou z vodovodu, kým nezmizne žltá farba.
5. Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku hematoxylinu Gill č. 3 v plastovej Coplinovej nádobke.
6. Mikrovlnnú rúru zapnite na **800 wattov** na **5 sekúnd**.
7. Dôkladne opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu na **30 sekúnd až 1 minútu**.
8. Zamodrite v pracovnom roztoku Scottovej náhrady vody z vodovodu pri **izbovej teplote**.
9. Dobře opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu.
10. Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku Biebrichovho šarlátovo-kyslého fuchsínu v plastovej Coplinovej nádobke.
11. Mikrovlnnú rúru zapnite na **600 wattov** na **20 sekúnd**. Jemne premiešajte pomocou beralovej pipety alebo aplikačnej tyčinky. Nechajte inkubovať **2 minúty**.
12. Rýchlo opláchnite niekoľkokrát vo vždy vymenenej deionizovanej vode.
13. Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku kyseliny fosfowolfrámovej/fosfomolybdénovej v plastovej Coplinovej nádobke.
14. Mikrovlnnú rúru zapnite na **600 wattov** na **20 sekúnd**. Okamžite odstráňte sklička a opláchnite ich v niekoľkých výmenách deionizovanej vody.
15. Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku anilínovej modrej v plastovej Coplinovej nádobke.
16. Mikrovlnnú rúru zapnite na **600 wattov** na **15 sekúnd**. Jemne premiešajte pomocou beralovej pipety alebo aplikačnej tyčinky. Nechajte inkubovať **1 minútu**.
17. Dôkladne opláchnite deionizovanou vodou.
18. Umiestnite sklička do 1 % kyseliny octovej na **30 sekúnd až 1 minútu** pri **izbovej teplote**.
19. Sklička opláchnite, dehydratujte ich alkoholom, vyčistite a prekryte krycím sklíčkom.

Vlastnosti výkonu

Cieľová štruktúra	Výsledok farbenia
Jadrá	Čierna, ak sa použije Weigertov železitý hematoxylin. Modrá, ak sa použije roztok hematoxylinu, Gill č. 3.
Cytoplazma	Červená
Svalové vlákna	Červená
Kolagén	Modrá

Ak sa pozorované výsledky líšia od očakávaných výsledkov, obráťte sa na technický servis spoločnosti Sigma-Aldrich a požiadajte o pomoc.

Vlastnosti analytického výkonu

Výsledky analytického výkonu pre dané testy vykonané na všetkých cieľových štruktúrach potvrdzujú 100 % citlivosť, špecifickosť a opakovateľnosť.

Kat. č.	Opis výrobku	Cieľ	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami
HT151	Roztok Biebrichovho šariátovo-kyslého fuchsinu	Kolagén	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Sval	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT152	Roztok kyseliny fosfomolybdénovej	Kolagén	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Sval	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT153	Roztok kyseliny fosfomolybdénovej	Kolagén	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Sval	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT154	Roztok anilínovej modrej	Kolagén	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Sval	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Cytoplazma	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Výstrahy a nebezpečenstvá

Všetky aktualizované informácie o riziku, nebezpečenstve alebo bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov a na etikete výrobku.

HT15:



H272: Môže prispieť k rozvoju požiaru; oxidačné činidlo.

H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.

H412: Škodlivé pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P210: Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčiťe.

P220: Uchovávať mimo odevov a iných horľavých materiálov. Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

P303 + P361 + P533: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou.

P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu orgánu.

Definície symbolov

Symbody podľa vymedzenia v norme EN ISO 15223-1:2021

	Výrobca		Katalógové číslo
	Prečítajte si návod na použitie		Kód šarže
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/Európskej únii		Vyhlasenie Európskej únie o zhode (definované v IVDR 2017/746)
	Dátum spotreby		Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Hranica teploty		Upozornenie
	Dátum výroby		Dovozca
	Označuje autorizovaného zástupcu pre Švajčiarsko		

Odkazy

- 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

Kontaktné informácie

Ak chcete urobiť objednávku, navštívte našu webovú lokalitu na [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Informácie o technickom servise nájdete na stránke technického servisu na našej webovej lokalite na [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

História revízií

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Prenesené do novej šablóny s aktuálnou značkou. Špecifikované na profesionálne použitie pri určenom použití a bezpečnostných opatreniach. Presunutie vyhlásenia o pomôcke pri diagnostike do určeného použitia. Revidované určené použitie, aby bolo v súlade s usmerneniami IVDR. Aktualizovanie karty bezpečnostných údajov materiálu na karte bezpečnostných údajov. Aktualizované kontaktné informácie. Odstránený pokyn na dodržiavanie CLSI pre odber vzoriek. Odstránená norma EN 980 a zmenená na normu EN ISO 15223-1:2021 pre symboly. Pridané kontaktné informácie pre nežiaduce udalosti. Aktualizované odkazy. Pridané upozornenia a nebezpečenstvá.
Rev. 7.0	2025
	Aktualizované pravidiel názvoslovia. Revidované vyhlásenie o určenom použití. Doplnené informácie o CH-REP a dovozcovi.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Arau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko alebo jej dcérskych spoločností. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov. Podrobné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii prostredníctvom verejne dostupných zdrojov.

© 2025 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.