



# Gebrauchsanweisung

## Masson-Goldner-Trichrom-Färbekit

Best.-Nr. 3459

### Trichromfärbung zur Darstellung des Bindegewebes

Bei der Trichromfärbung arbeitet man mit drei verschiedenen Farbnuancen (Dreifachfärbung), wodurch sich die unterschiedlichen Gewebestandteile differenziert darstellen lassen.

Zunächst erfolgt eine *Kernfärbung* mit Eisenhämatoxylinlösung. Eine einfache Hämatoxylinfärbung ist nicht möglich, da die Kerne durch die sauren Goldner-Lösungen wieder entfärbt würden.

Anschließend folgt die *eigentliche Trichromfärbung*. Dazu setzt man Farbstoffe ein, die sich in ihrer Molekülgröße unterscheiden. *Goldner-Lösung I* enthält eine feindisperse Phase (Ponceau), die schnell in alle Strukturen eindringt, und eine grobdisperse Phase (Säurefuchsin), die sehr viel langsamer einwirkt und zunächst nur die groben Strukturen anfärbt. Dabei wird die feindisperse Phase überfärbt. Man muss den Färbevorgang früh genug unterbrechen, um eine Überfärbung sämtlicher Strukturen durch die grobdisperse Phase zu vermeiden. Anschließend wird mit *Goldner-Lösung II* (Phosphorwolframsäure) differenziert. Wichtig ist, dass in dieser Phase das Bindegewebe weitgehend entfärbt wird (Schritt 5). Erst dann kann es mit *Goldner-Lösung III* (Lichtgrün) gefärbt werden.

Goldner-Lösung I: Muskulatur und Zytoplasma rot (Ponceau), Bindegewebe ebenfalls rot (Säurefuchsin)

Goldner-Lösung II: Erythrozyten orange (Orange G), Bindegewebe entfärbt (Phosphorwolframsäure)

Goldner-Lösung III: Bindegewebe grün (Lichtgrün SF)

#### Der Kit enthält:

- Weigerts Hämatoxylinlösung A (X906.1) 500 ml  
**Gefahr** H225-H319-H336
- Weigerts Hämatoxylinlösung B (X907.1) 500 ml  
**Gefahr** H290-H318
- Goldner-Lösung I (Ponceau-Säurefuchsin) (3469.1) 500 ml
- Goldner-Lösung II (Phosphorwolframsäure-Orange G) (3470.1) 500 ml  
**Gefahr** H315-H318
- Goldner-Lösung III (Lichtgrün SF) (3473.1) 500 ml

Lösungen vor Gebrauch filtrieren! Die Lösungen können einzeln bestellt werden.

#### Weitere benötigte Reagenzien:

- Essigsäure 1% (Essigsäure 100%, Best.-Nr. 3738)
- Intermedien: ROTI®Histol (Best.-Nr. 6640) oder ROTIclear® (Best.-Nr. A538) oder Xylol p.a. (Best.-Nr. 4436)
- Passendes Eindeckmedium: ROTI®Histokitt (Best.-Nr. 6638), kompatibel mit ROTI®Histol  
 ROTI®Mount (Best.-Nr. HP68), kompatibel mit ROTICLEAR®  
 ROTI®Histokitt II (Best.-Nr. T160), kompatibel mit Xylol

#### Durchführung *Für entparaffinierte, in Aqua dest. überführte Schnitte.*

1. Färben mit Eisenhämatoxylinlösung nach Weigert (Mischung 1:1 aus Lösung A+B) <b>max. 3 min</b>	6. Kurz spülen mit Essigsäure 1% <b>30 sec</b>
2. Spülen unter fließendem Leitungswasser (Bläuen) <b>10-15 min</b>	7. Gegenfärben mit Goldner-Lösung III <b>2-5 min</b> <i>ggf. Kontrolle unter Mikroskop</i>
3. Färben mit Goldner-Lösung I <b>5-10 min</b>	8. Auswaschen mit Essigsäure 1% <b>2-5 min</b>
4. Kurz spülen mit Essigsäure 1% <b>30 sec</b>	9. Aufsteigende Alkoholreihe (70-96-10%). 10. Zwischenschritt mit Intermedium. 11. Eindecken mit passendem Eindeckmedium.
5. Differenzieren mit Goldner-Lösung II bis zur Entfärbung des Bindegewebes <b>1-3 min (meist ausreichend) bis max. 30 min</b> <i>Überprüfung unter Mikroskop, Präparat dabei nicht austrocknen lassen.</i>	<b>Hinweis:</b> Statt Lichtgrün-SF-Lösung kann man auch eine 0,1-0,2%ige Lösung aus Anilinblau (Best.-Nr. 4002) verwenden (Schritt 7).

**Ergebnis:** Kerne: braunschwarz; Zytoplasma, Muskulatur: rot; Erythrozyten: orange; Bindegewebe: grün

**Hinweis:** Die Farbintensität ist abhängig von der Vorbehandlung und Beschaffenheit der zu färbenden Probe. Eine Anpassung der Methode an die jeweiligen Bedingungen kann also ggf. erforderlich sein.



# Instructions for use

## Masson Goldner Trichrome Staining Kit

Art. No. 3459

### Trichrome staining for visualisation of connective tissue

Trichrome staining works with three different stains allowing a differentiated visualisation of tissues.

At first the nuclei are stained with Weigert's iron hematoxylin solution. A simple hematoxylin staining does not suffice for the nuclei would be decolourised by the acid Goldner's stains. Subsequently, the trichrome staining is carried out. The dyes differ in particle size: *Goldner's stain I* contains a fine-particle phase (Ponceau), which infiltrates quickly all structures of tissue, and a coarse-particle phase (Acid Fuchsin), which works more slowly. At first it stains only the coarse structures of tissue by masking the fine-particle phase. You have to stop the staining procedure at that point to avoid an overstaining of the tissue.

During the differentiation step with *Goldner's stain II* (Phosphotungstic acid) it is important to decolour the connective tissue as much as possible. Only then it can be stained with *Goldner's stain III* (Light green).

Goldner's stain I: Muscle fibers and cytoplasm red (Ponceau), connective tissue red (Acid Fuchsin)

Goldner's stain II: Erythrocytes orange (Orange G), connective tissue decolourised (Phosphotungstic acid)

Goldner's stain III: Connective tissue green (Light green SF yellowish)

#### Kit includes:

- Hematoxylin solution A acc. to Weigert (X906.1)
  - Danger** H225-H319-H336 500 ml
- Hematoxylin solution B acc. to Weigert (X907.1)
  - Danger** H290-H318 500 ml
- Goldner's stain I (Ponceau - Fuchsin) (3469.1) 500 ml
- Goldner's stain II (Phosphotungstic acid - Orange G) (3470.1)
  - Danger** H315-H318 500 ml
- Goldner's stain III (Light green SF yellowish) (3473.1) 500 ml

The staining solutions should be filtrated before use! Solutions may be bought separately.

#### Additional chemicals required:

- Acetic acid solution 1% (Acetic acid 100%, Art. No. 3738)
- Clearing Agents: ROTI®Histol (Art. No. 6640) or ROTICLEAR® (Art. No. A538) or Xylene p.a. (Art. No. 4436)
- Appropriate Mounting Media: ROTI®Histokitt (Art. No. 6638), compatible with ROTI®Histol  
 ROTI®Mount (Art. No. HP68), compatible with ROTICLEAR®  
 ROTI®Histokitt II (Art. No. T160), compatible with Xylene

**Instruction:** Use dewaxed, rehydrated sections.

1. Stain with Iron hematoxylin solution acc. to Weigert (Mix solution A+B at a ratio of 1:1). <b>max. 3 min</b>	6. Rinse with Acetic acid solution 1%. <b>30 sec</b>
2. Blue in flowing tap water. <b>10-15 min</b>	7. Counterstain with Goldner's stain III. <b>2-5 min</b> <i>Optionally: Examine by microscope.</i>
3. Stain with Goldner's stain I. <b>5-10 min</b>	8. Wash with Acetic acid solution 1%. <b>2-5 min</b>
4. Rinse with Acetic acid solution 1%. <b>30 sec</b>	9. Dehydrate by ascending alcohol series. 10. Clear with clearing agent. 11. Mount with appropriate mounting medium.
5. Stain with Goldner's stain II until decolouration of connective tissue. <b>1-3 min (normally sufficient) up to 30 min</b> <i>Examine by microscope. Specimens may not dry out.</i>	<b>Please note:</b> Instead of Light green solution it is possible to use a 0.1-0.2% solution of Anilinblue (Art. No. 4002) for counterstaining (step 7).

**Result:** Nuclei: dark brown; Cytoplasm, muscle fibers: red; Erythrocytes: orange; Connective tissue: green

**Please note:** The colour intensity depends on the pre-treatment and the composition of the samples to be stained. It may initially be necessary to adapt the method to the respective conditions.

**Masson-Goldner's trichrome staining kit**

**3459.1**

### Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe  
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 07/2021

Revisionen: 10.2021

