

Istruzioni per l'uso

Istruzioni per l'uso

TRM

205 South 600 West Logan, Utah 84323, U.S.A. – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755-9848 – Fax (435) 755-0015 – www.scytek.com Revisione 10, 20/12/2022
fornita) può essere utilizzata anche per rimuovere lo sfondo grigio in eccesso subito dopo il passaggio 6.

Kit di macchie tricromatiche

(Masson modificato)

Descrizione e principio

Il kit per macchie tricromatiche (Modified Masson's) è destinato all'uso nella visualizzazione istologica delle fibre di tessuto connettivo collagenoso in sezioni di tessuto. Questo kit può essere utilizzato su sezioni fissate in formalina e incluse in paraffina.

Questo kit utilizza 3 soluzioni coloranti utilizzate in sequenza insieme a una soluzione di ferro ematosilina che resiste alla decolorazione da parte delle successive soluzioni di colorazione acida. Le sezioni vengono prima mordenzate nel fluido di Bouin riscaldato che agisce per intensificare le successive macchie tricromatiche. La soluzione di fucsina scarlatta / acida di Biebrich colora di rosso tutti gli elementi del tessuto acidofilo. Gli acidi fosfomolibdico e fosfotungstico spostano il colorante rosso dalle fibre di collagene, lasciandole incolore e ricettive alla colorazione da parte del blu di anilina.

Risultati attesi

Collagene:	Blu
Fibre muscolari:	Rosso
Nuclei:	Dal rosso scuro al nero/blu

Contenuto del kit

Contenuto del kit	Immagazzinamento
1. Fluido di Bouin	18-25°C
2. Ferro di Weigert, ematosilina (A)	18-25°C
3. Ferro di Weigert, ematosilina (B)	18-25°C
4. Soluzione di Biebrich Scarlatta / Fucsina acida	18-25°C
5. Soluzione di acido fosfomolibdico/fosfotungstico	18-25°C
6. Soluzione blu di anilina	18-25°C
7. Soluzione di acido acetico (1%)	18-25°C

Controlli suggeriti (non forniti)

Polmone, fegato, colon, stomaco.

Usi/Limitazioni

Solo per uso diagnostico in vitro.
Non utilizzare se i reagenti diventano torbidi o precipitano
Non utilizzare la data di scadenza precedente.
Prestare attenzione quando si maneggiano i reagenti.
Non sterile
Destinato a sezioni FFPE tagliate a 5-10µm.
Questa procedura non è stata ottimizzata per le sezioni congelate.
Le sezioni bloccate potrebbero richiedere una modifica del protocollo.

Immagazzinamento

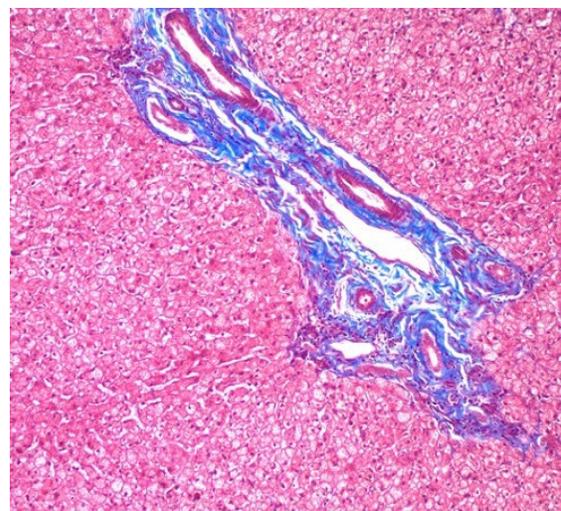
Conservare il kit e tutti i componenti a temperatura ambiente (18-25°C).

Sicurezza e precauzioni

Si prega di consultare le schede di sicurezza (SDS) aggiornate per questo prodotto e componenti Classificazione GHS, pittogrammi e dichiarazioni complete di pericolo/precauzione.

Note importanti:

1. Se lo sfondo finale è scuro/blu o opaco, potrebbe essere causato da un eccesso di sfondo grigio dell'ematosilina di ferro di Weigert. In questo caso, ridurre il tempo di colorazione dell'ematosilina di ferro di Weigert per i vetrini futuri (passaggio 6). Una soluzione standard di alcol acido (non



Human Liver stained with Trichrome Stain Kit (Modified Masson's) viewed at 100X magnification

2. La forza di differenziazione della soluzione di acido fosfomolibdico/fosfotungstico è notevolmente aumentata mescolando 1:1 con etanolo (non fornito).

Questa modifica può consentire una migliore visualizzazione delle piccole fibre di collagene rispetto al metodo tradizionale, ma rimuoverà la macchia rossa molto più rapidamente, quindi dovrebbe essere eseguita con cautela:

Ad esempio, mescolare:

-1ml di etanolo

-1 ml di soluzione di acido fosfomolibdico/fosfotungstico

Sostituire il passaggio 11 applicando la **soluzione di lavoro** 1:1 sul tessuto per **2-6 minuti**. Controllare al microscopio il vetrino per verificare la corretta differenziazione e ripetere se necessario. Sciacquare bene con acqua deionizzata dopo la differenziazione.

Procedimento:

1. Deparaffinare le sezioni se necessario e idratarle in acqua distillata.
2. Preriscaldare il Fluido Bouin a bagnomaria a 56° - 64° centigradi in una cappa aspirante o in un'area molto ben ventilata.
3. Immergere i vetrini nel Fluido Bouin's preriscaldato per 60 minuti, seguiti da un periodo di raffreddamento di 10 minuti.
4. Sciacquare il vetrino con acqua di rubinetto fino a quando la sezione non è completamente libera.
5. Sciacquare una volta in acqua distillata.
6. Mescolare parti uguali di Weigert (A) e Weigert (B) e colorare il vetrino con l'ematosilina di ferro Weigert per 2-4 minuti. Stain è alcolico e

Incline all'evaporazione: monitorare e aggiungere la macchia se necessario per assicurarsi che la macchia non si asciughi durante il vetrino. La macchia secca può causare un eccesso di sfondo grigio.

7. Sciacquare lo scivolo con acqua corrente del rubinetto per 2 minuti.
8. Sciacquare il vetrino in acqua distillata.
9. Applicare la soluzione di Biebrich Scarlet / Acid Fuchsin sul vetrino per 5-10 minuti.
10. Sciacquare il vetrino in acqua distillata.
11. Differenziare in soluzione di acido fosfomolibdico/fosfotungstico per 10-15 minuti. *Nota: Vedere la modifica alternativa nella Nota Importante #2 sopra.*
12. Senza risciacquare, applicare la soluzione blu di anilina sul vetrino per 5-10 minuti.
13. Sciacquare il vetrino in acqua distillata.
14. Applicare la soluzione di acido acetico (1%) per far scorrere per 3-5 minuti.
15. Disidratatore molto rapidamente in 2 cambi di alcol al 95%, seguiti da 2 cambi di alcol assoluto.
16. Trasparente in xilene o sostituto dello xilene e montato in resina sintetica.

Referenze

1. Liu, CT., Hsu, SC., Hsieh, HL. et al. L'inibizione della segnalazione della β -catenina attenua l'ispessimento della fistola arterovenosa nei topi sopprimendo i miofibroblasti. *Mol Med* 28, 7 (2022). <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00436-1>
2. Zwaans, B.M.M., Carabulea, A.L., Bartolone, S.N. et al. Difetti minzionali nella cistite acuta da radiazioni guidata da difetto della barriera uroteliale attraverso la perdita di E-caderina, ZO-1 e Uropilakin III. *Sci Rep* 11, 19277 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98303-2>
3. Kao CT, Chiu YC, Lee AK, Lin YH, Huang TH, Liu YC, Shie MY. Gli effetti sinergici di Xu Duan hanno combinato scaffold di silicato di calcio/poli- ϵ -caprolattone contenuti in Sr per la promozione dell'espressione del marcatore dell'osteogenesi e l'induzione della rigenerazione ossea nell'osteoporosi. *Scienza e ingegneria dei materiali: C*. 2021 febbraio;119:111629.
4. Zwaans BM, Wegner KA, Bartolone SN, Vezina CM, Cancelliere MB, Lamb LE. Modellazione della cistite da radiazioni: uno studio comparativo della radiosensibilità della fibrosi vescicale nei topi C57BL/6, C3H e BALB/c. *Referti fisiologici*. Febbraio 2020; 8(4):e14377.
5. Lin YY, Hong Y, Yu SH, Wu XB, Shyu WC, chen JS, Ting H, Yang AL, Lee SD. Effetti biogenetici anti-apoptotici e mitocondriali dell'allenamento fisico su cuori di ratto ipertesi ovariettomizzati. *Giornale di fisiologia applicata*. 18 aprile 2019.
6. Callaghan NI, Capaz JC, Lamarr SG, Bourloutski É, Oliveira AR, MacCormack TJ, Driedzic WR, Sykes AV. Il ritorno alle vie di sviluppo è alla base della rapida rigenerazione del braccio nel novellame di seppia europea, *Sepia officinalis* (Linnaeus 1758). *Giornale di zoologia sperimentale Parte B: Evoluzione molecolare e dello sviluppo*. 19 marzo 2019.
7. Chang RL, Nithiyanantham S, Kuo WW, Pai PY, Chang TT, Lai CH, Chen RJ, Vijaya Padma V, Huang CY, Huang CY. La sovraespressione di IGF-1IR α regola il rimodellamento cardiaco e aggrava l'apoptosi e la fibrosi indotte da alti livelli di sale nei ratti transgenici. *Tossicologia ambientale*. Febbraio 2019; 34(2):210-8.
8. Feng W, Lei T, Wang Y, Feng R, Yuan J, Shen X, Wu Y, Gao J, Ding W, Lu Z. La carenza di GCN2 migliora la disfunzione cardiaca nei topi diabetici riducendo la lipotossicità e lo stress ossidativo. *Biologia e Medicina dei Radicali Liberi*. 1 gennaio 2019;130:128-39.
9. Chang RL, Nithiyanantham S, Kuo WW, Pai PY, Chang TT, Lai CH, Chen RJ, Vijaya Padma V, Huang CY, Huang CY. La sovraespressione di IGF-1IR α regola il rimodellamento cardiaco e aggrava l'apoptosi e la fibrosi indotte da alti livelli di sale nei ratti transgenici. *Tossicologia ambientale*. 18 novembre 2018.
10. Liu S, Yuan J, Yue W, Bi Y, Shen X, Gao J, Xu X, Lu Z. La carenza di GCN2 protegge dalla steatosi epatica indotta da una dieta ricca di grassi e dalla resistenza all'insulina nei topi. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Basi molecolari della malattia*. 1 ottobre 2018; 1864(10):3257-67.
11. Miyazaki T, Haraguchi S, Kim-Kaneyama JR, Miyazaki A. I sistemi endoteliali di calpaina orchestrano la differenziazione dei miofibroblasti durante la guarigione delle ferite. *Il giornale FASEB*. 10 settembre 2018:fj-201800588RR.
12. Zhang Y, Feng J, Wang Q, Zhao S, Xu J, Li H. L'agonista PPAR- γ rosigitazione migliora il deterioramento peritoneale nei ratti in dialisi peritoneale con peritonite indotta da LPS attraverso la sovraregolazione di AQP-1 e ZO-1. *Rapporti di bioscienza*. Giu 2018 5:BSR20180009.

13. Yasuda Y, Iwama S, Kiyota A, Izumida H, Nakashima K, Iwata N, Ito Y, Morishita Y, Goto M, Suga H, Banno R. Ruolo critico della rabfilina-3A nella fisiopatologia della neuropofosite linfofocitaria sperimentale. *Il giornale di patologia*. Aprile 2018; 244(4):469-78.
14. Feng M, Tang PM, Huang XR, Sun SF, You YK, Xiao J, Lv LL, Xu AP, Lan HY. Il TGF- β media la fibrosi renale attraverso l'asse dell'RNA lungo non codificante Smad3-ERBB4-IR. *Terapia molecolare*. 3 gennaio 2018; 26(1):148-61.
15. Lin YC, Lin YC, Kuo WW, Shen CY, Cheng YC, Lin YM, Chang RL, Padma VV, Huang CY, Huang CY. La platicodina D inverte l'ipertrofia cardiaca patologica e la fibrosi nei ratti spontaneamente ipertesi. *Il giornale americano di medicina cinese*. 2018; 46(03):537-49.
16. Kim JH, Suk S, Jang WJ, Lee CH, Kim JE, Park JK, Kweon MH, Kim JH, Lee KW. L'estratto di salicornia migliora l'aggravamento indotto dal sale della steatosi epatica non alcolica nei topi obesi alimentati con una dieta ricca di grassi. *Giornale di scienza dell'alimentazione*. Luglio 2017; 82(7):1765-74.
17. Lin YY, Hsieh PS, Cheng YJ, Cheng SM, Chen CN, Huang CY, Kuo CH, Kao CL, Shyu WC, Lee SD. Effetti anti-apoptotici e pro-sopravvivenza della restrizione alimentare su cuori obesi indotti da una dieta ricca di grassi. *Tossicologia cardiovascolare*. 1 aprile 2017; 17(2):163-74.
18. Chiu HW, Chen CH, Chen YJ, Hsu YH. L'infrarosso lontano sopprime il fotoinvecchiamento cutaneo nei fibroblasti esposti ai raggi ultravioletti B e nei topi glabri. *PLoS uno*. 16 marzo 2017; 12(3):e0174042.
19. Duru N, Zhang Y, Gernapudi R, Wolfson B, Lo PK, Yao Y, Zhou Q. La perdita di miR-140 è un fattore di rischio chiave per la fibrosi polmonare indotta da radiazioni attraverso la riprogrammazione di fibroblasti e macrofagi. *Rapporti scientifici*. 20 dicembre 2016;6:39572.
20. Kuo TM, Hsu HT, Chung CM, Yeh KT, Wu CT, Lee CP, Chiang SL, Huang CM, Ko YC. L'alfa-chinasi 1 potenziata accelera molteplici nefropatie precoci nei topi iperglicemici indotti da streptozotocina. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Basi molecolari della malattia*. 1 novembre 2016; 1862(11):2034-42.
21. Zwaans BM, Krueger S, Bartolone SN, Cancelliere MB, Marples B, Lamb LE. Modellazione della cistite cronica indotta da radiazioni nei topi. *Progressi nella radioterapia oncologica*. 1 agosto 2016.
22. Chen YF, Shibu MA, Fan MJ, Chen MC, Viswanadha VP, Lin YL, Lai CH, Lin KH, Ho TJ, Kuo WW, Huang CY. L'estratto di antocianina di riso viola protegge la funzione cardiaca nei cuori di ratto diabetici indotti da STZ inibendo l'ipertrofia cardiaca e la fibrosi. *Il giornale di biochimica nutrizionale*. 1 maggio 2016;31:98-105.
23. Kwiatkowski A, Piatkowski M, Chen M, Kan L, Meng Q, Fan H, Osman AH, Liu Z, Ledford B, He JQ. L'angiogenesi superiore facilita la ricrescita delle dita nei topi MRL/MpJ rispetto ai topi C57BL/6. *Comunicazione della ricerca biochimica e biofisica*. 13 maggio 2016; 473(4):907-12.
24. M.-C. Chen, J.-P. Chang, T.-H. Chang, S.-D. Hsu, H.-D. Huang, W.-C. Ho, F.-S. Wang, C.-C. Hsiao, e W.-H. Liu, "Svelare i meccanismi regolatori del rimodellamento atriale dei suini da rigurgito mitralico mediante analisi del profilo di espressione genica: ruolo dell'antagonista del recettore dell'angiotensina II di tipo I", *Translational Research*, vol. 165, n. 5, pp. 599-620, maggio 2015.
25. C.-H. Lin, M.-L. Shen, S.-T. Kao e D. C. Wu, "L'effetto della sesamina sulla fibrosi delle vie aeree in vitro e in vivo", *International Immunopharmacology*, vol. 22, n. 1, pp. 141-150, settembre 2014.
26. J.-W. Yu, W.-J. Duan, X.-R. Huang, X.-M. Meng, X.-Q. Yu e H.-Y. Lan, "Il microRNA-29b inibisce la fibrosi peritoneale in un modello murino di dialisi peritoneale", *Lab Invest*, vol. 94, n. 9, pp. 978-990, settembre 2014.
27. a.-C. Wu, S.-C. Huang e S.-J. Ding, "Osteogenesi comparativa del cemento silicato bicalcico radiopaco e dell'aggregato di triossido minerale di colore bianco in un modello di femore di coniglio", *Materials*, vol. 6, n. 12, pp. 5675-5689, dicembre 2013.
28. H. M. Kim, Y. Y. Lim, M. Y. Kim, I. P. Son, D. H. Kim, S. R. Park, S. K. Seo, M. S. Lee, S.-K. Mun, C. W. Kim e B. J. Kim, "Effetto inibitorio della tianeptina sull'induzione del catagen nelle lesioni simili all'alopecia areata indotte dallo stress delle onde ultrasoniche nei topi", *Clin Exp Dermatol*, vol. 38, n. 7, pp. 758-767, ottobre 2013.
29. E. Nusayr, D. T. Sadideen e T. Doetschman, "FGF2 modula il rimodellamento cardiaco in modo specifico per isoforma e sesso", *Physiological Reports*, vol. 1, n. 4, settembre 2013.
30. E. Kniازهva, S. Kachgal e A. J. Putnam, "Effetti della densità della matrice extracellulare e delle cellule staminali mesenchimali sulla neovascolarizzazione in vivo", *Ingegneria tissutale Parte A*, vol. 17, n. 7-8, pp. 905-914, aprile 2011.
31. R. Bekeredjian, C. B. Walton, K. A. MacCannell, J. Ecker, F. Kruse, J. T. Outten, D. Sutcliffe, R. D. Gerard, R. K. Bruick e R. V. Shohet, "L'espressione condizionale di HIF-1 α produce una cardiomiopatia reversibile", *PLoS ONE*, vol. 5, n. 7, p. e11693, luglio 2010.
32. A.F.I.P. *Metodi di Laboratorio in Istotecnologia*; 1992, pagine 132-133.
33. Sheehan, DC., Hrapchak, BB. *Teoria e pratica dell'istotecnologia*; 1980, pagina 190.

 ScyTek Laboratories, Inc.
205 South 600 West
Logan, UT 84321
435-755-9848
U.S.A.

 
 Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands