



Instrucciones de uso

TRM-IFU

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 Rev. 10, 20/12/2022

estándar de alcohol ácido (no incluida) para eliminar el exceso de fondo gris inmediatamente después del paso 6.

Kit de tinte tricrómico

(Modificado de Masson)

Descripción y principio

El kit de tinción tricrómica (Masson modificado) está diseñado para su uso en la visualización histológica de fibras de tejido conectivo colágeno en secciones de tejido. Este kit se puede utilizar en secciones fijadas en formol e incrustadas en parafina.

Este kit utiliza 3 soluciones de tinte utilizadas en secuencia junto con una solución de hematoxilina de hierro que resiste la decoloración por soluciones de tinción ácidas posteriores. Las secciones se morderan primero en el fluido de Bouin calentado, que actúa intensificando las manchas tricrómicas posteriores. La solución de escarlata / fucsina ácida de Biebrich tiñe de rojo todos los elementos de tejido acidófilo. Los ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico desplazan el tinte rojo de las fibras de colágeno, dejándolas incoloras y receptivas a la tinción por azul de anilina.

Resultados esperados

Colágeno:	Azul
Fibras musculares:	Rojo
Núcleos:	Rojo oscuro a negro/azul

Contenido del kit

Almacenamiento

1. Fluido de Bouin	18-25°C
2. Hierro de Weigert, hematoxilina (A)	18-25°C
3. Hierro de Weigert, hematoxilina (B)	18-25°C
4. Solución de Biebrich Scarlet / Acid Fuchsina	18-25°C
5. Solución de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico	18-25°C
6. Solución de azul de anilina	18-25°C
7. Solución de ácido acético (1%)	18-25°C

Controles sugeridos (no incluidos)

Pulmón, hígado, colon, estómago.

Usos/Limitaciones

Solo para uso en diagnóstico in vitro.
No lo use si los reactivos se vuelven turbios o precipitan
No lo use después de la fecha de vencimiento.
Tenga cuidado al manipular reactivos.
No estéril
Diseñado para secciones FFPE cortadas a 5-10 µm.
Este procedimiento no se ha optimizado para secciones congeladas.
Las secciones congeladas pueden requerir una modificación del protocolo.

Almacenamiento

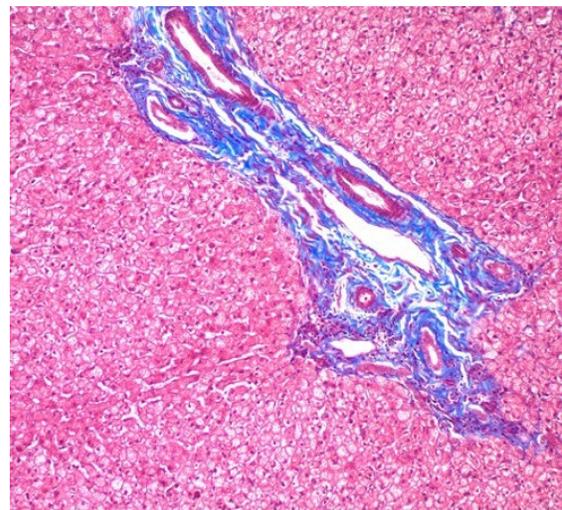
Guarde el kit y todos los componentes a temperatura ambiente (18-25 °C).

Seguridad y precauciones

Consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) actuales para conocer la clasificación del SGA de este producto y componentes, los pictogramas y las declaraciones de peligro/precaución completas.

Notas importantes:

1. Si el fondo final es oscuro o rojo/azul opaco, puede ser causado por un exceso de fondo gris de la hematoxilina de hierro de Weigert. Si este es el caso, reduzca el tiempo de tinción de la hematoxilina de hierro de Weigert para futuros portaobjetos (paso 6). También se puede usar una solución



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

2. La fuerza diferenciadora de la solución de ácido fosfomolibdico / fosfotúngstico aumenta considerablemente mezclando 1:1 con etanol (no incluido).

Esta modificación puede permitir una mejor visualización de las pequeñas fibras de colágeno que el método tradicional, pero eliminará la mancha roja mucho más rápidamente, por lo que debe hacerse con precaución:

Por ejemplo, mezcla:

-1ml de etanol

-1 ml de solución de ácido fosfomolibdico / fosfotúngstico

Reemplace el paso 11 aplicando **una solución de trabajo** 1:1 al pañuelo durante **2-6 minutos**. Revise el portaobjetos microscópicamente para ver la diferenciación adecuada y repita si es necesario. Enjuague bien con agua desionizada después de la diferenciación.

Procedimiento:

- Desparafinar secciones si es necesario e hidratar hasta obtener agua destilada.
- Pre caliente el fluido de Bouin en un baño de agua a 56 ° - 64 ° centígrados en una campana extractora o en un área muy bien ventilada.
- Coloque los portaobjetos en el líquido Bouin's precalentado durante 60 minutos, seguido de un período de enfriamiento de 10 minutos.
- Enjuague el portaobjetos con agua del grifo hasta que la sección esté completamente limpia.
- Enjuague una vez en agua destilada.
- Mezcle partes iguales de Weigert (A) y Weigert (B) y el portamanchas con la hematoxilina de hierro de Weigert durante 2-4 minutos. La mancha es alcohólica y

Propenso a la evaporación: controle y agregue tinte según sea necesario para asegurarse de que el tinte no se seque en el portaobjetos. La mancha seca puede dar lugar a un exceso de fondo gris.

7. Enjuague el portaobjetos con agua corriente del grifo durante 2 minutos.

8. Enjuague la corredera en agua destilada.

9. Aplique la solución de Biebrich Scarlet / Acid Fuchsin para deslizar durante 5-10 minutos.

10. Enjuague el portaobjetos con agua destilada.

11. Diferencie en una solución de ácido fosfomolibdico / fosfotúngstico durante 10-15 minutos. *Nota: Véase la modificación alternativa en la Nota Importante #2 anterior.*

12. Sin enjuagar, aplique la solución de azul de anilina para deslizar durante 5-10 minutos.

13. Enjuague la diapositiva en agua destilada.

14. Aplique la solución de ácido acético (1%) para deslizar durante 3-5 minutos.

15. Deshidratar muy rápidamente en 2 cambios de 95% de alcohol, seguidos de 2 cambios de alcohol absoluto.

16. Claro en xileno o sustituto de xileno, y montaje en resina sintética.

Referencias

- Liu, CT., Hsu, SC., Hsieh, HL. et al. La inhibición de la señalización de la β -catenina atenúa el engrosamiento de la fístula arteriovenosa en ratones mediante la supresión de los miofibroblastos. *Mol Med* 28, 7 (2022). <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00436-1>
- Zwaans, B.M.M., Carabulea, A.L., Bartolone, S.N. et al. Defectos miccionales en la cistitis aguda por radiación impulsada por un defecto de la barrera urotelial a través de la pérdida de E-cadherina. ZO-1 y uroplaquina III. *Sci Rep* 11, 19277 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98303-2>
- Kao CT, Chiu YC, Lee AK, Lin YH, Huang TH, Liu YC, Shie MY. Los efectos sinérgicos de Xu Duan combinaron andamios de silicato de calcio/poli- ϵ -caprolactona contenidos en Sr para la promoción de la expresión de marcadores de osteogénesis y la inducción de la regeneración ósea en la osteoporosis. *Ciencia e Ingeniería de Materiales: C*. febrero de 2021;119:111629.
- Zwaans BM, Wegner KA, Bartolone SN, Vezina CM, Chancellor MB, Lamb LE. Modelado de cistitis por radiación: un estudio comparativo de la radiosensibilidad a la fibrosis vesical en ratones C57BL/6, C3H y BALB/c. *Informes fisiológicos*. febrero de 2020; 8(4):E14377.
- Lin YY, Hong Y, Yu SH, Wu XB, Shyu WC, Chen JS, Ting H, Yang AL, Lee SD. Efectos biogénicos antiapoptóticos y mitocondriales del entrenamiento con ejercicio en corazones de rata hipertensos ovariectomizados. *Revista de Fisiología Aplicada*. 18 de abril de 2019.
- Callaghan NI, Capaz JC, Lamarre SG, Bourloutski É, Oliveira AR, MacCormack TJ, Driedzic WR, Sykes AV. La reversión a las vías de desarrollo subyace a la rápida regeneración del brazo en la sepia europea juvenil, *Sepia officinalis* (Linnaeus 1758). *Revista de Zoología Experimental Parte B: Evolución molecular y del desarrollo*. 19 de marzo de 2019.
- Chang RL, Nithiyanantham S, Kuo WW, Pai PY, Chang TT, Lai CH, Chen RJ, Vijaya Padma V, Huang CY, Huang CY. La sobreexpresión de IGF-1IR α regula la remodelación cardíaca y agrava la apoptosis y fibrosis inducidas por alto contenido de sal en ratas transgénicas. *Toxicología ambiental*. febrero de 2019; 34(2):210-8.
- Feng W, Lei T, Wang Y, Feng R, Yuan J, Shen X, Wu Y, Gao J, Ding W, Lu Z. La deficiencia de GCN2 mejora la disfunción cardíaca en ratones diabéticos al reducir la lipotoxicidad y el estrés oxidativo. *Biología y Medicina de los Radicales Libres*. 1 de enero de 2019;130:128-39.
- Chang RL, Nithiyanantham S, Kuo WW, Pai PY, Chang TT, Lai CH, Chen RJ, Vijaya Padma V, Huang CY, Huang CY. La sobreexpresión de IGF-1IR α regula la remodelación cardíaca y agrava la apoptosis y fibrosis inducidas por alto contenido de sal en ratas transgénicas. *Toxicología Ambiental*. 18 de noviembre de 2018.
- Liu S, Yuan J, Yue W, Bi Y, Shen X, Gao J, Xu X, Lu Z. La deficiencia de GCN2 protege contra la esteatosis hepática inducida por la dieta alta en grasas y la resistencia a la insulina en ratones. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bases moleculares de la enfermedad*. 1 de octubre de 2018; 1864(10):3257-67.
- Miyazaki T, Haraguchi S, Kim-Kaneyama JR, Miyazaki A. Los sistemas de calpaína endotelial orquestan la diferenciación de miofibroblastos durante la cicatrización de heridas. *La Revista FASEB*. 10 de septiembre de 2018;fj-201800588RR.

- Zhang Y, Feng J, Wang Q, Zhao S, Xu J, Li H. El agonista PPAR- γ rosigitazona mejora el deterioro peritoneal en ratas de diálisis peritoneal con peritonitis inducida por LPS a través de la regulación positiva de AQP-1 y ZO-1. *Informes de biociencias*. 5 de junio de 2018;BSR20180009.
- Yasuda Y, Iwama S, Kiyota A, Izumida H, Nakashima K, Iwata N, Ito Y, Morishita Y, Goto M, Suga H, Banno R. Papel crítico de la rabfilina-3A en la fisiopatología de la neurohipofisiitis linfocítica experimental. *Revista de patología*. abril de 2018; 244(4):469-78.
- Feng M, Tang PM, Huang XR, Sun SF, You YK, Xiao J, Lv LL, Xu AP, Lan HY. El TGF- β media la fibrosis renal a través del eje de ARN largo no codificante Smad3-ERBB4-IR. *Terapia molecular*. 3 de enero de 2018; 26(1):148-61.
- Lin YC, Lin YC, Kuo WW, Shen CY, Cheng YC, Lin YM, Chang RL, Padma VV, Huang CY, Huang CY. Platyocodin D revierte la hipertrofia cardíaca patológica y la fibrosis en ratas espontáneamente hipertensas. *Revista Americana de Medicina China*. 2018; 46(03):537-49.
- Kim JH, Suk S, Jang WJ, Lee CH, Kim JE, Park JK, Kweon MH, Kim JH, Lee KW. El extracto de salicornia mejora el agravamiento inducido por la sal de la enfermedad del hígado graso no alcohólico en ratones obesos alimentados con una dieta alta en grasas. *Revista de ciencia de los alimentos*. julio de 2017; 82(7):1765-74.
- Lin YY, Hsieh PS, Cheng YJ, Cheng SM, Chen CN, Huang CY, Kuo CH, Kao CL, Shyu WC, Lee SD. Efectos antiapoptóticos y pro-supervivencia de la restricción alimentaria en corazones obesos inducidos por una dieta alta en grasas. *Toxicología cardiovascular*. 1 de abril de 2017; 17(2):163-74.
- Chiu HW, Chen CH, Chen YJ, Hsu YH. El infrarrojo lejano suprime el fotoenvejecimiento de la piel en fibroblastos expuestos a los rayos ultravioleta B y ratones sin pelo. *PloS uno*. 16 de marzo de 2017; 12(3):E0174042.
- Duru N, Zhang Y, Gernapudi R, Wolfson B, Lo PK, Yao Y, Zhou Q. La pérdida de miR-140 es un factor de riesgo clave para la fibrosis pulmonar inducida por radiación a través de la reprogramación de fibroblastos y macrófagos. *Informes Científicos*. 20 de diciembre de 2016;6:39572.
- Kuo TM, Hsu HT, Chung CM, Yeh KT, Wu CT, Lee CP, Chiang SL, Huang CM, Ko YC. La alfa-quinasa 1 mejorada acelera múltiples nefropatías tempranas en ratones hiperglucémicos inducidos por estreptozotocina. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bases moleculares de la enfermedad*. 1 de noviembre de 2016; 1862(11):2034-42.
- Zwaans BM, Krueger S, Bartolone SN, Chancellor MB, Marples B, Lamb LE. Modelado de la cistitis crónica inducida por radiación en ratones. *Avances en oncología radioterápica*. 1 de agosto de 2016.
- Chen YF, Shibu MA, Fan MJ, Chen MC, Viswanadha VP, Lin YL, Lai CH, Lin KH, Ho TJ, Kuo WW, Huang CY. El extracto de anticainina de arroz morado protege la función cardíaca en los corazones de ratas con diabetes inducida por STZ al inhibir la hipertrofia cardíaca y la fibrosis. *Revista de bioquímica nutricional*. 1 de mayo de 2016;31:98-105.
- Kwiatkowski A, Piatkowski M, Chen M, Kan L, Meng Q, Fan H, Osman AH, Liu Z, Ledford B, He JQ. La angiogénesis superior facilita el recrecimiento de los dedos en ratones MRL/MpJ en comparación con los ratones C57BL/6. *Comunicaciones de investigación bioquímica y biofísica*. 13 de mayo de 2016; 473(4):907-12.
- M.-C. Chen, J.-P. Chang, T.-H. Chang, S.-D. Hsu, H.-D. Huang, W.-C. Ho, F.-S. Wang, C.-C. Hsiao, y W.-H. Liu, "Desentrañando los mecanismos reguladores de la remodelación auricular de los cerdos con regurgitación mitral mediante el análisis de perfiles de expresión génica: papel del antagonista del receptor de angiotensina II tipo I", *Translational Research*, vol. 165, n.º 5, pp. 599-620, mayo de 2015.
- C.-H. Lin, M.-L. Shen, S.-T. Kao y D. C. Wu, "El efecto de la sesamina en la fibrosis de las vías respiratorias in vitro e in vivo", *International Immunopharmacology*, vol. 22, n.º 1, pp. 141-150, septiembre de 2014.
- J.-W. Yu, W.-J. Duan, X.-R. Huang, X.-M. Meng, X.-Q. Yu, y H.-Y. Lan, "MicroRNA-29b inhibe la fibrosis peritoneal en un modelo de ratón de diálisis peritoneal", *Lab Invest*, vol. 94, no. 9, pp. 978-990, septiembre de 2014.
- B.-C. Wu, S.-C. Huang, y S.-J. Ding, "Osteogénesis comparativa del cemento de silicato dicálcico radiopaco y el agregado de trióxido mineral de color blanco en un modelo de fémur de conejo", *Materials*, vol. 6, no. 12, pp. 5675-5689, diciembre de 2013.
- 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 y B. J. Kim, "Efecto inhibitorio de la tianeptina en la inducción catágena en lesiones similares a la alopecia areata inducidas por estrés por ondas ultrasónicas en ratones", *Clin Exp Dermatol*, vol. 38, no. 7, pp. 758-767, octubre de 2013.
- E. Nusayr, D. T. Sadideen y T. Doetschman, "FGF2 modula la remodelación cardíaca de una manera específica para la isoforma y el sexo", *Physiological Reports*, vol. 1, no. 4, septiembre de 2013.
- E. Kniatzeva, S. Kachgal y A. J. Putnam, "Efectos de la densidad de la matriz extracelular y las células madre mesenquimales en la neovascularización in vivo", *Tissue Engineering Part A*, vol. 17, no. 7-8, pp. 905-914, abril de 2011.
- R. Bekeredjian, C. B. Walton, K. A. MacCannell, J. Ecker, F. Kruse, J. T. Outten, D. Sutcliffe, R. D. Gerard, R. K. Bruick y R. V. Shohet, "La expresión condicional de HIF-1 α produce una miocardiopatía reversible", *PLoS ONE*, vol. 5, no. 7, p. e11693, julio de 2010.
- A.F.I.P. Métodos de laboratorio en histotecnología; 1992, páginas 132-133.
- Sheehan, DC., Hrapchak, BB. Teoría y Práctica de la Histotecnología; 1980, página 190.

 SeyTek 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