

Human Brain

## Modified Bielschowsky's Stain Kit Procedure



**100ml Kit Item #:** KTBIE

**Liter Kit Item#:** N/A

**Pint Kit Item #:** N/A

**Gallon Kit Item#:** N/A

| Control Slide(s) | Item#    |
|------------------|----------|
| Alzheimer        | CSA0225P |

| Included Components        |                            |
|----------------------------|----------------------------|
| Silver Nitrate Solution    | Stock Developer Solution C |
| Stock Developer Solution A | 5% Sodium Thiosulfate      |
| Stock Developer Solution B |                            |

**Components Not Included:**  
Concentrated Ammonium Hydroxide (Item#: SPA1326)

**PRINCIPLE AND RESULTS:** This kit is intended for use by laboratory professionals to stain routinely prepared paraffin embedded tissue specimens (in vitro) to identify axons, intracellular neurofibrils and senile plaques. Intracellular neurofibrils (neurofibrillary tangles), axons, and senile plaques stain gray to black, and nuclei and background yellow to gold.

**SPECIMEN CRITERIA:** Appropriately fixed, paraffin-embedded, 6-8µm tissue sections or frozen sections.

**STORAGE AND USAGE NOTES:** Store/Use each component according to the temperature and expiration on the label.

**PRECAUTIONS:** For use by laboratory professionals. See SDS for complete warnings, precautions, hazard and precautionary statements, and disposal information.

**AMMONIACAL SILVER SOLUTION PREPARATION:** Prepare solution at time of use. Solution expires after one use.

| # | Action | Amount | Chemical/Reagent                               | Details  |
|---|--------|--------|--|--|
| 1 | Add    | 20ml   | Silver Nitrate Solution                        | Into a chemically clean container or new/unused plasticware.   |
| 2 | Add    | Drops  | Concentrated Ammonium Hydroxide (Not Included) | Add drop by drop while carefully agitating container until <u>no precipitate remains</u> . Solution will turn brown, then colorless. |


**DEVELOPER SOLUTION PREPARATION:** Prepare solution at time of use. Solution expires after one use.

| # | Action | Amount  | Chemical/Reagent             | Details  |
|---|--------|---------|------------------------------|--|
| 1 | Add    | 50ml    | Distilled/DI Water           | Into a chemically clean container or new/unused plasticware. |
| 2 | Add    | 8 Drops | Stock Developer Solution "A" | Mix thoroughly.  |
| 3 | Add    | 8 Drops | Stock Developer Solution "B" | Mix thoroughly.  |
| 4 | Add    | 4 Drops | Stock Developer Solution "C" | Mix thoroughly.  |

**AMMONIA WATER PREPERATION:** Prepare solution at time of use.

| # | Action | Amount  | Chemical/Reagent                               | Details  |
|---|--------|---------|--|--|
| 1 | Add    | 25ml    | Distilled/DI Water                             | Into a chemically clean container or new/unused plasticware. |
| 2 | Add    | 3 Drops | Concentrated Ammonium Hydroxide (Not Included) | Mix thoroughly.  |

**STAINING PROCEDURE:** Preheating Required. See steps 4 and 5 for more information.

 Color coordinated steps denote stain baths that can be reused during autostainer configuration.

| #  | Action        | With                            | Heat °C | Time |      | Details   |
|----|---------------|---------------------------------|---------|------|------|---|
|    |               |                                 |         | Mins | Secs |   |
| 1  | Deparaffinize | Xylene or Substitute, 2 changes | --      | 5    | --   | 5 minutes each change or as required if using a xylene substitute.  |
| 2  | Rinse         | Absolute Alcohol, 3 changes     | --      | 1    | --   | 1 minute each change or as required if using graded alcohols.   |
| 3  | Rinse         | Running DI Water                | --      | 2    | --   |   |
| 4  | Waterbath     | Silver Nitrate Solution         | 40°     | 15   | --   | Immerse into preheated solution. Once complete, <b>rinse in running DI water (2 minutes)</b> and continue.            |
| 5  | Waterbath     | Ammoniacal Silver Solution      | 40°     | 10   | --   | Immerse into preheated solution. Once complete, drain excess solution. Without rinsing, continue to next step         |
| 6  | Immerse       | Developer Solution              | --      | --   | 3-30 | Agitate. Remove when golden brown tissue color is achieved.   |
| 7  | Immerse       | Ammonia Water                   | --      | --   | 30   | Quickly immerse to stop developing process. Once complete, <b>rinse in running DI water (2 minutes)</b> and continue. |
| 8  | Immerse       | 5% Sodium Thiosulfate           | --      | 2    | --   | Once complete, <b>rinse in running DI water (2 minutes)</b> and continue.   |
| 9  | Dehydrate     | Absolute Alcohol, 3 changes     | --      | 1    | --   | 1 minute each change.   |
| 10 | Clear         | Xylene or Substitute, 3 changes | --      | 1    | --   | 1 minutes each change or as required if using a xylene substitute.  |
| 11 | Coverslip     | Permanent Mounting Media        | --      | --   | --   |   |

1. Mirra SS Hart MN Terry RD: Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease, Arch Pathol Lab Med. 1993:117: 132 - 144.
2. Luna LG: Histopathologic Methods and Color Atlas of Special Stains and Tissue Artifacts; American Histolabs, Inc. 1992: 483 - 485.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

**AUTOSTAINER CONFIGURATION AND NOTES:**

This stain kit is not available in the pint or larger size.

**TEST YIELD:** \*Assumes pint kit and maximum slides per run. Actual Results may vary. S.C. denotes number of slides between "Solution Change".

| Bath Type              | Uses | Slides | S.C. | Bath Type              | Uses | Slides | S.C. |
|------------------------|------|--------|------|------------------------|------|--------|------|
| 20ml Plastic Slide Jar | 12   | 48     | 4    | 250ml Glass Stain Dish | n/a  | n/a    | n/a  |
| 30ml Glass Coplin Jar  | 8    | 64     | 8    | 200ml Bath Autostainer | n/a  | n/a    | n/a  |
| 40ml Hellendahl Jar    | 6    | 96     | 16   | 400ml Bath Autostainer | n/a  | n/a    | n/a  |

**CE MARKINGS AND DESIGNATIONS:**

|            |                                    |           |                                   |               |                          |  |
|------------|------------------------------------|-----------|-----------------------------------|---------------|--------------------------|--|
| <b>REF</b> | Catalogue Number                   |           | Temperature Limitation            |               | Manufacturer             | American MasterTech Scientific<br>1330 Thurman St.<br>Lodi, CA 95240 USA<br>Tel 800 860 4073<br>Fax 209 368 4136 |
| <b>LOT</b> | Batch Code                         |           | Use By                            | <b>EC REP</b> | Representative           | Emergo Europe<br>Prinsessegracht 20<br>2514 AP The Hague<br>The Netherlands                                      |
| <b>IVD</b> | In Vitro Diagnostic Medical Device |           | Consult Instructions Prior to Use | <br>GHS05     | Corrosive                | <b>CE</b>  |
| <br>GHS07  | Irritant                           | <br>GHS08 | Health Hazard                     | <br>GHS09     | Environmentally Damaging |  |

**CONTACT INFORMATION:**

**American MasterTech Scientific**  
1330 Thurman St.  
Lodi, CA 95240 USA  
Tel 800 860 4073  
Fax 209 368 4136  
www.americanmastertech.com

**StatLab**  
2090 Commerce Drive  
McKinney, TX 75069 USA  
Tel 800 442 3573  
Fax 972 436 1369  
www.statlab.com

1. Mirra SS Hart MN Terry RD: Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease, Arch Pathol Lab Med. 1993;117: 132 - 144.
2. Luna LG: Histopathologic Methods and Color Atlas of Special Stains and Tissue Artifacts; American Histolabs, Inc. 1992: 483 - 485.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

## PROCÉDURE DE KIT DE TACHANT EN FRANÇAIS

**COMPOSANTS INCLUS:** Silver Nitrate Solution, Stock Developer Solution A, Stock Developer Solution B, Stock Developer Solution C, 5% Sodium Thiosulfate. Les composants sans compter: Hydroxyde d'ammonium concentré (article #: SPA1326).

**LES CRITERES D'ÉCHANTILLONS:** Sections de 6-8 microns de tissus fixés au manière appropriée, enfoncé dans la paraffine ou des sections congelées.

**LA PRINCIPLE ET LES RÉSULTATS:** Ce kit est destiné pour l'utilisation par des professionnels de laboratoire pour tacher des échantillons de tissus inclus en paraffine, lesquels sont régulièrement préparés (in vitro) pour identifier les axones, neurofibrilles intracellulaires et les plaques seniles. Neurofibrilles intracellulaires (enchevêtrements neurofibrillaires), les axones et les plaques séniles tacher gris au noir, et les noyaux et fond jaune à l'or.

**LES NOTES DE STOCKAGE ET D'UTILISATION:** Utilisez chaque composante d'après la température et la date limite d'utilisation sur l'étiquette.

**LA PRÉPARATION DE LA SOLUTION DE AMMONIACAL SILVER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire après une seule utilisation.

| # | Action  | Quantité | Chimique/Réactif                              | Détails   |
|---|---------|----------|---|---|
| 1 | Ajoutez | 20ml     | Silver Nitrate Solution                       | Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouvau.  |
| 2 | Ajoutez | Gouttes  | Hydroxyde d'ammonium concentré (Sans compter) | Ajoutez les gouttes une à une pendant agitez prudemment le recipient jusqu'à il n'y a plus de la précipitation. La solution va tourner brune et puis elle va être sans couleur. |


**LA PRÉPARATION DE LA SOLUTION DE DEVELOPER:** Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire après une seule utilisation.

| # | Action  | Quantité  | Chimique/Réactif             | Détails  |
|---|---------|-----------|------------------------------|--|
| 1 | Ajoutez | 50ml      | Eau distillée                | Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouvau. |
| 2 | Ajoutez | 8 Gouttes | Stock Developer Solution "A" | Complètement mélangez.   |
| 3 | Ajoutez | 8 Gouttes | Stock Developer Solution "B" | Complètement mélangez.   |
| 4 | Ajoutez | 4 Gouttes | Stock Developer Solution "C" | Complètement mélangez.   |

**LA PRÉPARATION DE LA EAU DE AMMONIA:** Préparez la solution au moment de l'emploi.

| # | Action  | Quantité  | Chimique/Réactif               | Détails  |
|---|---------|-----------|--------------------------------|--|
| 1 | Ajoutez | 25ml      | Eau distillée                  | Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouvau. |
| 2 | Ajoutez | 3 Gouttes | Hydroxyde d'ammonium concentré | Complètement mélangez.   |

**LA PROCÉDURE DE TACHANT:** La préchauffage est nécessaire. Pour l' information supplémentaire, faites référence aux étapes 4 et 5.

 Les étapes couleur coordonnées dénotent les bains a teinture lesquels peuvent être réutilisés lors de la configuration d'Autostainer.

| #  | Action             | Avec                                | Temp °C | Durée |      | Détails   |
|----|--------------------|-------------------------------------|---------|-------|------|---|
|    |                    |                                     |         | mins  | secs |   |
| 1  | Déparaffinez       | Xylène ou remplaçant, 2 changements | --      | 5     | --   | 5 minutes pour chaque changement ou comme nécessité s'il on utilise une remplaçant de xylène.   |
| 2  | Rincez             | Alcool absolu, 3 changements        | --      | 1     | --   | 1 minute pour chaque changement ou comme nécessité s'il on utilise l'alcool graduée.  |
| 3  | Rincez             | L'eau DI (distillée) courante       | --      | 2     | --   |   |
| 4  | Bain d'Eau         | Silver Nitrate Solution             | 40°     | 15    | --   | Immergez dans la solution préchauffé. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau DI courante (pour 2 minutes) et continuez.  |
| 5  | Bain d'Eau         | Solution de Ammoniacal Silver       | 40°     | 10    | --   | Immergez dans la solution préchauffe. Une fois que c'est terminé, égouttez l'excès de solution. Sans rincez, continuez à l'étape suivante.                              |
| 6  | Immergez           | Solution de Developer               | --      | --    | 3-30 | Agitez. Enlevez la diapositive quand le tissu est brun doré.  |
| 7  | Immergez           | Eau de Ammonia                      | --      | --    | 30   | Immergez la diapositive en vitesse afin d'arrêter le procédé de développement. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau DI courante (pour 2 minutes) et continuez. |
| 8  | Immergez           | 5% Sodium Thiosulfate               | --      | 2     | --   | Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau DI courante (pour 2 minutes) et continuez.  |
| 9  | Déshydratez        | Alcool absolu, 3 changements        | --      | 1     | --   | 1 minute pour chaque changement.  |
| 10 | Éclaircissez       | Xylene ou remplaçant, 3 changements | --      | 1     | --   | 1 minute pour chaque changement ou comme nécessité s'il on utilise une remplaçant de Xylene.  |
| 11 | Faites une Lamelle | Milieu de montage permanent         | --      | --    | --   |   |

1. Mirra SS Hart MN Terry RD: Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease, Arch Pathol Lab Med. 1993:117: 132 - 144.
2. Luna LG: Histopathologic Methods and Color Atlas of Special Stains and Tissue Artifacts; American Histolabs, Inc. 1992: 483 - 485.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

## PROCEDIMIENTO PARA KIT DE TINCIÓN EN ESPAÑOL

**COMPONENTES INCLUIDOS:** Silver Nitrate Solution, Stock Developer Solution A, Stock Developer Solution B, Stock Developer Solution C, 5% Sodium Thiosulfate. Componentes no incluidos: Hidróxido de amonio concentrado (artículo#: SPA1326).

**CRITERIOS DE MUESTRAS:** Secciones de tejido 6-8µm o secciones congeladas apropiadamente fijadas, embebidas en parafina.

**PRINCIPIO Y RESULTADOS:** Este kit está diseñado para su uso por profesionales de laboratorio para teñir muestras de tejido embebidas en parafina preparadas de forma rutinaria (in vitro) para identificar los axones, neurofibrillas intracelulares y placas seniles. Neurofibrillas intracelulares (ovillos neurofibrilares), los axones y las placas seniles tiñen de color gris a negro, y los núcleos y el fondo de amarillo a oro.

**NOTAS SOBRE ALMACENAMIENTO Y USO:** Guarde/Use cada componente de acuerdo con la temperatura y caducidad en la etiqueta.

**PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE AMMONIACAL SILVER:** Prepare la solución en el momento de su uso. Solución expira después de un uso.

| # | Acción | Cantidad | Químico/Reactivo                                    | Detalles   |
|---|--------|----------|---|--|
| 1 | Añadir | 20ml     | Silver Nitrate Solution                             | En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.   |
| 2 | Añadir | Gotas    | Hidróxido de amonio concentrado (No está incluido.) | Añada gota por gota mientras agita cuidadosamente el recipiente hasta que <u>no quede un precipitado</u> . La solución se convertirá de color marrón, y luego sin color. |


**PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE DEVELOPER:** Prepare la solución en el momento de su uso. Solución expira después de un uso.


| # | Acción | Cantidad | Químico/Reactivo                | Detalles   |
|---|--------|----------|---------------------------------|--|
| 1 | Añadir | 50ml     | Agua Destilada/DI (Desionizada) | En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso. |
| 2 | Añadir | 8 Gotas  | Stock Developer Solution "A"    | Mezcle completamente.  |
| 3 | Añadir | 8 Gotas  | Stock Developer Solution "B"    | Mezcle completamente.  |
| 4 | Añadir | 4 Gotas  | Stock Developer Solution "C"    | Mezcle completamente.  |

**PREPARACIÓN DE LA AGUA DE AMMONIA:** Prepare la solución en el momento de su uso.

| # | Acción | Cantidad | Químico/Reactivo                | Detalles   |
|---|--------|----------|---------------------------------|--|
| 1 | Añadir | 25ml     | Agua Destilada/DI               | En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso. |
| 2 | Añadir | 3 Gotas  | Hidróxido de amonio concentrado | Mezcle completamente.  |

**PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN:** Se requiere precalentamiento. Vea pasos 4 y 5 para más información.

 El color de pasos coordinados denota baños de tinción que pueden ser reutilizados durante la configuración de tinción automática.

| #  | Acción   | Con                                | Tª °C | Tiempo |      | Detalles  |
|----|--|------------------------------------|-------|--------|------|---|
|    |  |                                    |       | min    | s    |   |
| 1  | Desparafine  | Xileno o sustituto, 2 cambios      | --    | 5      | --   | 5 minutos cada cambio o según sea necesario si se utiliza un sustituto de xileno.   |
| 2  | Enjuague   | Alcohol absoluto, 3 cambios        | --    | 1      | --   | 1 minuto cada cambio o según sea necesario si se utiliza alcoholes graduados.   |
| 3  | Enjuague  | Corriente de agua DI (Desionizada) | --    | 2      | --   |   |
| 4  | Baño de agua   | Silver Nitrate Solution            | 40°   | 15     | --   | Sumerja en solución precalentada. Una vez terminado, <b>enjuague en corriente de agua DI (2 minutos)</b> y continúe.                                  |
| 5  | Baño de agua   | Solución de Ammoniacal Silver      | 40°   | 10     | --   | Sumerja en solución precalentada. Una vez terminado, drene el exceso de solución. Sin enjuagar, continúe al siguiente paso.                           |
| 6  | Sumerja  | Solución de Developer              | --    | --     | 3-30 | Agite. Retire cuando se logra el color marrón dorado del tejido.  |
| 7  | Sumerja  | Aqua de Ammonia                    | --    | --     | 30   | Sumerja <b>rápidamente</b> para detener el proceso de desarrollo. Una vez terminado, <b>enjuague con corriente de agua DI (2 minutos)</b> y continúe. |
| 8  | Sumerja  | 5% Sodium Thiosulfate              | --    | 2      | --   | Una vez terminado, <b>enjuague con corriente de agua DI (2 minutos)</b> y continúe.   |
| 9  | Deshidrate   | Alcohol absoluto, 3 cambios        | --    | 1      | --   | 1 minuto cada cambio.   |
| 10 | Clarifique   | Xileno o sustituto, 3 cambios      | --    | 1      | --   | 1 minuto cada cambio o según sea necesario si se utiliza un sustituto de xileno.  |
| 11 | Cubreobjetos   | Medios de montaje permanente       | --    | --     | --   |   |

1. Mirra SS Hart MN Terry RD: Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease, Arch Pathol Lab Med. 1993;117: 132 - 144.
2. Luna LG: Histopathologic Methods and Color Atlas of Special Stains and Tissue Artifacts; American Histolabs, Inc. 1992: 483 - 485.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.