

Human Striated Muscle

Masson's Trichrome 2000™ Stain Kit Procedure



100ml Kit Item #: KTMTR2

Liter Kit Item#: KTMTR2LT

Pint Kit Item #: KTMTR2PT

Gallon Kit Item#: N/A

Control Slide(s)	Item#
Heart	CSH0725P
Skeletal Muscle	CSS0725P
Trichrome	CST0125P
Uterus	CSU0325P

Included Components	
Weigert's Hematoxylin A	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid
Weigert's Hematoxylin B	Aniline Blue Stain
Bouin's 2000™	1% Acetic Acid
Biebrich Scarlet - Acid Fuchsin	

PRINCIPLE AND RESULTS: This kit is intended for use by laboratory professionals to stain routinely prepared paraffin embedded tissue specimens (in vitro) to identify collagen and muscle. Cytoplasm, keratin, muscle, and intercellular fiber are stained red, collagen and mucus blue, and nuclei black.

SPECIMEN CRITERIA: Appropriately fixed, paraffin-embedded, 4-6µm tissue section


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.

WORKING WEIGERT'S HEMATOXYLIN PREPARATION: Prepare solution at time of use. Solution expires after one use.

#	Action	Amount	Chemical/Reagent	Details
1	Add	25ml	Weigert's Hematoxylin A	Into a chemically clean container or new/unused plasticware.
2	Add	25ml	Weigert's Hematoxylin B	Mix thoroughly.

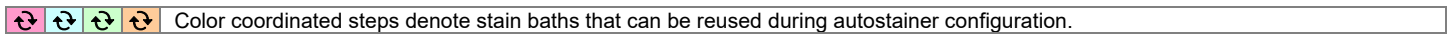
STAINING PROCEDURE: Preheating required. See step 4 for more information. Microwave procedure located on opposite page.


 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 Tap Water	--	1	--	
4	Waterbath	Bouin's 2000™	56-62°	90-120	--	Immerse into preheated solution. (Optional: Immerse overnight at room temperature). Once complete, rinse in running tap water (3 minutes) until tissue is colorless and continue.
5	Immerse	Working Weigert's Hematoxylin	--	5	--	Once complete, rinse in running tap water (2 minutes) and continue.
6	Immerse	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin	--	15	--	If staining Central Nervous System (C.N.S. Sections), reduce staining time to 1-2 minutes. Once complete, rinse in running tap water (1 minute) and continue.
7	Immerse	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid	--	10-15	--	Without rinsing continue to next step.
8	Immerse	Aniline Blue Stain	--	5-10	--	If staining Central Nervous System (C.N.S. Sections), increase staining time to 15-20 minutes. Once complete, rinse in running tap water (1 minute) and continue.
9	Immerse	1% Acetic Acid	--	3-5	--	
10	Dehydrate	Absolute Alcohol, 3 changes	--	1	--	Fresh changes. 1 minute each change.
11	Clear	Xylene or Substitute, 3 changes	--	1	--	1 minute each change or as required if using a xylene substitute.
12	Coverslip	Permanent Mounting Media	--	--	--	

1. Sheehan DC Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology; 1980, 190.
2. A.F.I.P. Laboratory Methods in Histotechnology: 1992, 132 - 133.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

MICROWAVE STAINING PROCEDURE:



#	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 Tap Water	--	1	--	
4	Microwave	Bouin's 2000™	80-85°	--	--	Heat Bouin's 2000™ in a loosely capped slide jar (without slides). Do not boil. Remove from microwave, immerse slide, tighten cap, agitate, and incubate for 4 minutes. Once complete, rinse in running tap water (3 minutes) until tissue is colorless and continue.
5	Microwave	Working Weigert's Hematoxylin	80-90°	--	--	Immerse slide into loosely capped jar of Weigert's Hematoxylin and heat (do not boil). Remove from microwave, cap jar tightly, and incubate for 30 seconds. Once complete, rinse in running tap water (1 minute) and continue.
6	Microwave	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin	80-90°	--	--	Immerse slide into loosely capped jar of Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin and heat (do not boil). Remove from microwave, cap jar tightly, and incubate for 2 minutes. Once complete, rinse in running tap water (1 minute) and continue.
7	Microwave	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid	80-90°	--	--	Immerse slide into loosely capped jar of Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid and heat (do not boil). Remove from microwave, cap jar tightly, and incubate for 1 minute. Without rinsing continue to step 8.
8	Microwave	Aniline Blue Stain	80-90°	--	--	Immerse slide into loosely capped jar of Aniline Blue Stain and heat (do not boil). Remove from microwave, cap jar tightly, and incubate for 45-90 seconds. Once complete, rinse in running tap water (1 minute) and continue.
9	Immerse	1% Acetic Acid (Room Temperature)	--	3-5	--	
10	Dehydrate	Absolute Alcohol, 3 changes	--	1	--	Fresh changes. 1 minute each change.
11	Clear	Xylene or Substitute, 3 changes	--	1	--	1 minute each change or as required if using a xylene substitute.
12	Coverslip	Permanent Mounting Media	--	--	--	










AUTOSTAINER CONFIGURATION AND NOTES:

This stain kit in the pint or larger size may be easily adapted for use on most open-platform autostainers using the staining procedure grid on the reverse side of this page. A minimum of 7 baths is required to perform this procedure excluding deparaffinization, hydration, dehydration, and clearing, or 18 baths to run the complete procedure.

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	25	500	20	250ml Glass Stain Dish	2	375	188
30ml Glass Coplin Jar	16	480	30	200ml Bath Autostainer	2	320	160
40ml Hellendahl Jar	12	480	40	400ml Bath Autostainer	1	340	340

CE MARKINGS AND DESIGNATIONS:

REF	Catalogue Number		Temperature Limitation		Manufacturer	American MasterTech Scientific 1330 Thurman St. Lodi, CA 95240 USA Tel 800 860 4073 Fax 209 368 4136
LOT	Batch Code		Use By	EC REP	Representative	Emergo Europe Prinsessegracht 20 2514 AP The Hague The Netherlands
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device		Consult Instructions Prior to Use		Flammable	
	Corrosive		Irritant		Health Hazard	

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. Sheehan DC Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology; 1980, 190.
2. A.F.I.P. Laboratory Methods in Histotechnology: 1992, 132 - 133.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

MULTILINGUE PROCEDURE

PROCÉDURE DE KIT DE TACHANT EN FRANÇAIS

COMPOSANTS INCLUS: Weigert's Hematoxylin A, Weigert's Hematoxylin B, Bouin's 2000™, Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin, Phosphomolybdic/Phosphotungstic Acid, Aniline Blue Stain, 1% Acetic Acid

LES CRITÈRES D'ÉCHANTILLONS: Sections de 4-6 microns de tissus fixés au manière appropriée, enfoncé dans la paraffine.


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 le collagène et le muscle. Cytoplasme, la kératine, les muscles, et la fibre intercellulaire sont taches en rouge, le collagène et le mucus bleus, et les noyaux noirs.

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 WORKING WEIGERT'S HEMATOXYLIN: Préparez la solution au moment de l'emploi. Solution expire après une seule utilisation.

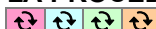
#	Action	Quantité	Chimique/Réactif	Détails
1	Ajoutez	25ml	Weigert's Hematoxylin A	Dans un récipient chimiquement propre ou un recipient en plastique nouveau/inutilisé.
2	Ajoutez	25ml	Weigert's Hematoxylin B	Mezcle completamente.

LA PROCÉDURE DE TACHANT: La préchauffage est nécessaire. Pour l' information supplémentaire, faites référence aux étapes 4. La procédure de micro-ondes est situé sur la page suivante.

 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	Corriente de agua grifo	--	1	--	
4	Bain d'Eau	Bouin's 2000™	56°-62°	90-120	--	Immergez dans la solution préchauffée. (Optionnel: Immergez la diapositive pendant la nuit à la température ambiante.) Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 3 minutes) jusqu'au tissu est sans couleur et continuez.
5	Immergez	Working Weigert's Hematoxylin	--	5	--	Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 2 minutes) et continuez.
6	Immergez	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin	--	15	--	S'il on tache le système nerveux central (Sections de C.N.S.), réduit le temps de tachant à 1-2 minutes. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 1 minute) et continuez.
7	Immergez	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid	--	10-15	--	Sans rincez, continuer à l'étape suivante.
8	Immergez	Aniline Blue Stain	--	5-10	--	S'il on tache le système nerveux central (Sections de C.N.S.), augmente le temps de tachant à 15-20 minutes. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 1 minute) et continuez.
9	Immergez	1% Acetic Acid	--	3-5	--	
10	Déshydratez	Alcool absolu, 3 changements	--	1	--	Nouveaux changements. 1 minute pour chaque changement.
11	Éclaircissez	Xylene ou remplaçant, 3 changements	--	1	--	1 minute pour chaque changement ou comme nécessité s'il on utilise une remplaçant de Xylene.
12	Faites une Lamelle	Milieu de montage permanent	--	--	--	

LA PROCÉDURE DE LA TACHE À MICRO-ONDES:

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

1. Sheehan DC Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology; 1980, 190.
2. A.F.I.P. Laboratory Methods in Histotechnology; 1992, 132 - 133.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

#	Action	Avec	Temp °C	Durée		Détails
				min	s	
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 du robinet courante	--	1	--	
4	Mettez au Four de Micro-ondes	Bouin's 2000™	80°-85°	--	--	Chauffez Bouin's 2000™ dans un pot de diapos avec le couvercle fermé lâchement (Sans la diapo). Ne le faites pas bouillir. Sortez la pot de diapos au four du micro-ondes, immergez la diapositive, resserrez le couvercle, agitez et incubez pour 4 minutes. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 3 minutes) jusqu'au tissu est sans couleur et continuez.
5	Mettez au Four de Micro-ondes	Working Weigert's Hematoxylin	80°-90°	--	--	Plongez la diapositive dans le pot de diapos fourni contenant Weigert's Hematoxylin, fermez lâche, et chauffez (ne faites pas bouillir). Sortez la diapos du four à micro-ondes, fermez le couvercle solidement, et incubez ça pour 30 secondes. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 1 minute) et continuez.
6	Mettez au Four de Micro-ondes	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin	80°-90°	--	--	Plongez la diapositive dans le pot de diapos fourni contenant Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin, fermez lâche, et chauffez (ne faites pas bouillir). Sortez la pot de diapos au four du micro-ondes, immergez la diapositive, resserrez le couvercle, agitez et incubez pour 2 minutes. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 1 minute) et continuez.
7	Mettez au Four de Micro-ondes	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid	80°-90°	--	--	Plongez la diapositive dans le pot de diapos fourni contenant Phosphomolybdic /Phosphotungstic Acid, fermez lâche, et chauffez (ne faites pas bouillir). Sortez la pot de diapos au four du micro-ondes, immergez la diapositive, resserrez le couvercle, agitez et incubez pour 1 minute. Sans rincez, continuer à l'étape suivante.
8	Mettez au Four de Micro-ondes	Aniline Blue Stain	80°-90°	--	--	Plongez la diapositive dans le pot de diapos fourni contenant Aniline Blue Stain, fermez lâche, et chauffez (ne faites pas bouillir). Sortez la pot de diapos au four du micro-ondes, immergez la diapositive, resserrez le couvercle, agitez et incubez pour 45-90 secondes. Une fois que c'est terminé, rincez sous l'eau du robinet courante (pour 1 minute) et continuez.
9	Immergez	1% Acetic Acid (température ambiante)	--	3-5	--	
10	Déshydratez	Alcool absolu, 3 changements	--	1	--	Nouveaux changements. 1 minute pour chaque changement.
11	Éclaircissez	Xylene ou remplaçant, 3 changements	--	1	--	1 minute pour chaque changement ou comme nécessité s'il on utilise une remplaçant de Xylene.
12	Faites une Lamelle	Milieu de montage permanent	--	--	--	

1. Sheehan DC Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology; 1980, 190.
2. A.F.I.P. Laboratory Methods in Histotechnology: 1992, 132 - 133.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

PROCEDIMIENTO PARA KIT DE TINCIÓN EN ESPAÑOL

COMPONENTES INCLUIDOS: Weigert's Hematoxylin A, Weigert's Hematoxylin B, Bouin's 2000™, Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin, Phosphomolybdic/Phosphotungstic Acid, Aniline Blue Stain, 1% Acetic Acid

CRITERIOS DE MUESTRAS: Secciones de tejido 4-6µm apropiadamente fijadas, embebidas en parafina.


PRINCIPLE AND RESULTS: 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 colágeno y muscular. Citoplasma, queratina, músculo, y la fibra intercelular se tiñen de color rojo, el colágeno y moco de color azul y los núcleos de color negro.


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

PREPARACIÓN DE WORKING WEIGERT'S HEMATOXYLIN: Prepare la solución en el momento de su uso. Solución expira después de un uso.

#	Acción	Cantidad	Químico/Reactivo	Detalles
1	Añadir	25ml	Weigert's Hematoxylin A	En un recipiente químicamente limpio o una vasija de plástico nueva/sin uso.
2	Añadir	25ml	Weigert's Hematoxylin B	Mezcle completamente.





PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN: Se requiere precalentamiento. Vea paso 4 y 6 para más información. Procedimiento de microondas situado en la página siguiente.

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

#	Acción	Con	T° °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 grifo	--	1	--	
4	Baño de agua	Bouin's 2000™	56°-62°	90-120	--	Sumerja en solución precalentada. (Sumerja la noche a temperatura ambiente). Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (3 minutos) hasta que el tejido es incoloro y continúe.
5	Sumerja	Working Weigert's Hematoxylin	--	5	--	Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (2 minutos) y continúe.
6	Baño de agua	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin	--	15	--	Si la tinción Sistema Nervioso Central (CNS Secciones), reducir tinción de tiempo para 1-2 minutos. Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (1 minuto) y continúe.
7	Sumerja	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid	--	10-15	--	Sin enjuagar siga al siguiente paso.
8	Sumerja	Aniline Blue Stain	--	5-10	--	Si la tinción Sistema Nervioso Central (CNS Secciones), aumentar tinción de tiempo para 15-20 minutos. Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (1 minuto) y continúe.
9	Sumerja	1% Acetic Acid	--	3-5	--	
10	Deshidrate	Alcohol absoluto, 3 cambios	--	1	--	Cambios nuevos. 1 minuto cada cambio.
11	Clarifique	Xileno o sustituto, 3 cambios	--	1	--	1 minuto cada cambio o según sea necesario si se utiliza un sustituto de xileno.
12	Cubreobjetos	Medios de montaje permanente	--	--	--	

1. Sheehan DC Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology; 1980, 190.
2. A.F.I.P. Laboratory Methods in Histotechnology: 1992, 132 - 133.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN EN MICROONDAS:

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

#	Acción	Con	T° °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 grifo	--	1	--	
4	Microonda	Bouin's 2000™	80°- 85°	--	--	Calentar Bouin's 2000™ en una jarra de portaobjetos, ligeramente tapado (sin portaobjetos). No hierva. Retirar la jarra del microondas, sumerja portaobjetos, tapar herméticamente, agitar y incube por 4 minutos. Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (3 minutos) hasta que el tejido es incoloro y continúe.
5	Microonda	Working Weigert's Hematoxylin	80°- 90°	--	--	Sumerja el portaobjeto en una jarra que contiene Weigert's Hematoxylin, tape ligeramente y caliente (no hierva). Retirar la jarra del microondas, tapar herméticamente, y incube por 30 segundos. Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (1 minuto) y continúe.
6	Microonda	Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin	80°- 90°	--	--	Sumerja el portaobjeto en una jarra que contiene Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin, tape ligeramente y caliente (no hierva). Retirar la jarra del microondas, tapar herméticamente, y incube por 2 minutos. Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (1 minuto) y continúe.
7	Microonda	Phosphomolybdic / Phosphotungstic Acid	80°- 90°	--	--	Sumerja el portaobjeto en una jarra que contiene Phosphomolybdic /Phosphotungstic Acid, tape ligeramente y caliente (no hierva). Retirar la jarra del microondas, tapar herméticamente, y incube por 1 minuto. Sin enjuagar siga al siguiente paso.
8	Microonda	Aniline Blue Stain	80°- 90°	--	--	Sumerja el portaobjeto en una jarra que contiene Aniline Blue Stain, tape ligeramente y caliente (no hierva). Retirar la jarra del microondas, tapar herméticamente, y incube por 45-90 segundos. Una vez terminado, enjuague con corriente de agua grifo (1 minuto) y continúe.
9	Sumerja	1% Acetic Acid (<i>Temperatura ambiente</i>)	--	3-5	--	
10	Deshidrate	Alcohol absoluto, 3 cambios	--	1	--	Cambios nuevos. 1 minuto cada cambio.
11	Clarifique	Xileno o sustituto, 3 cambios	--	1	--	1 minuto cada cambio o según sea necesario si se utiliza un sustituto de xileno.
12	Cubreobjetos	Medios de montaje permanente	--	--	--	

1. Sheehan DC Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology; 1980, 190.
2. A.F.I.P. Laboratory Methods in Histotechnology: 1992, 132 - 133.
3. With modifications by AMTS R&D Department, 1979-2019.