



Movat Pentachrome

Zastosowanie:

Pentachrom Movata służy do wybarwiania wielu składników tkankowych na jednym preparacie histologicznym. W jego skład wchodzi 5 barwników. Błękit alcjanowy przy pH 2,5 wiąże się z kwaśnymi mukopolisacharydami, zabarwiając je na niebiesko. Hematoksylina Verhoeffa zabarwia jądra komórkowe i włókna sprężyste. Połączenie szkarłatu kroceinowego z kwaśną fuksyną barwi na czerwono kwasochłonne struktury tkanki. Zabarwione na czerwono włókna kolagenowe, zostają odbarwione kwasem fosforowolframowym i zabarwione na żółto roztworem szafranu.

Zestaw zawiera:

Odczynnik A: Błękit alcjanowy 8GX 1% roztwór w 1% kwasie octowym	100 ml
Odczynnik B: Amoniak 28% roztwór wodny	30 ml
Odczynnik C: Hematoksylina 10% roztwór alkoholowy	50 ml
Odczynnik D: Chlorek żelaza 10% roztwór wodny	50 ml
Odczynnik E: Jodyna Verhoeffa	50 ml
Odczynnik F: Chlorek żelaza 2% roztwór wodny	100 ml
Odczynnik G: Tiosiarczan sodu 5% roztwór wodny	100 ml
Odczynnik H: Szkarłat kroceinowy 7B roztwór wodny	100 ml
Odczynnik I: Kwaśna fuksyna roztwór wodny	50 ml
Odczynnik J: Kwas fosforowolframowy 5% roztwór wodny	200 ml
Odczynnik K: Szafran, roztwór w alkoholu absolutnym	100 ml
Odczynnik L: Kwas octowy 0,5% roztwór wodny	200 ml

Sposób użycia

Zalecane są skrawki parafinowe o grubości 5µm utrwalone w 10% buforowanej formalinie.

1. Odparafinować i nawodnić wycinki poprzez ksylene i alkohol. Spłukać wodą destylowaną
2. Nakropić na szkiełko ze skrawkiem 1 ml odczynnika A i barwić przez 20 minut.
3. Spłukać wodą destylowaną
4. Świeżo przygotować alkaliczny roztwór alkoholu przez zmieszanie:
 - a. Odczynnik B (roztwór amoniaku) 0,2 ml
 - b. Alkohol 95% (można użyć alkoholu skażonego) 1,8 mlPodana ilość jest wystarczająca do pokrycia 1 szkiełka mikroskopowego
5. Pokryć skrawek przygotowanym alkalicznym roztworem alkoholu i pozostawić na 30 minut.
6. Spłukiwać preparat przez 10 minut kilkakrotnie zmieniając wodą destylowaną. Niedokładne płukanie ujemnie wpływa na późniejsze barwienie.
7. Świeżo przygotować roztwór hematoksyliny Verhoeffa, przez zmieszanie w podanej kolejności:
 - a. Odczynnik C (hematoksylina alkoholowa) 0,25 ml
 - b. Alkohol etylowy skażony 100% 0,25 ml
 - c. Odczynnik D (Chlorek żelaza 10%) 0,25 ml
 - d. Odczynnik E (Jodyna Verhoeffa) 0,25 mlPodana ilość wystarcza do pokrycia jednego szkiełka.
8. Barwić skrawek w hematoksylinie Verhoeffa przez 5 –15 minut. Wraz z wydłużaniem czasu barwienia, włókna mięśniowe mają bardziej niebieski odcień w gotowym preparacie. W razie ułatwienia się barwnika z preparatu, można dodać na szkiełko kilkanaście kropli alkoholu 95%
9. Spłukać wodą destylowaną.
10. Różnicować preparat w 1 ml odczynnika F. Różnicowanie najlepiej prowadzić pod kontrolą mikroskopową – do odbarwienia tkanki łącznej i skonstrastowania włókien sprężystych

11. Spłukać wodą destylowaną
12. Pokryć szkiełko odczynnikiem G (tiosiarczan sodu) i pozostawić na 1 minutę.
13. Spłukać kilkakrotnie zmienianą wodą destylowaną
14. Przygotować roztwór szkarłatu kroceinowego-kwaśniej fuksyny przez zmieszanie:
 - a. Odczynnik H (szkarłat kroceinowy 7B) 0,8 ml
 - b. Odczynnik I (kwaśna fuksyna) 0,2 ml
15. Barwić preparat w przygotowanym barwniku przez 3 – 5 minut
16. Spłukać preparat wodą destylowaną
17. Pokryć szkiełko na 30 – 60 sek. odczynnikiem L (kwas octowy).
18. Różnicować skrawek w odczynniku J (kwas fosforowolframowy) do odbarwienia tkanki łącznej (najlepiej pod kontrolą mikroskopu)
19. Spłukać preparat odczynnikiem L
20. Nakropić na skrawek 1 ml 95% alkoholu etylowego i pozostawić na 1 minutę.
21. Barwić szkiełko przez 15 – 20 minut w odczynniku K (roztwór szafranu).
22. Odwodnić preparat w 3 zmianach alkoholu 100%, następnie przeprowadzić przez 2 zmiany ksylenu i zamknąć w obojętnym medium.

Wyniki:

Jądra, włókna elastyczne: czarne

Włókna kolagenowe: żółte

Śluz: niebieski

Mięśnie: czerwone do fioletowego