

## Mode d'emploi

# MPS-IFU

### Kit de teinture Movat Pentachrome

(Russell-Movat modifié)

#### Description et principe

Ce kit de coloration pentachrome Movat (Russell-Movat modifié) est destiné à être utilisé dans la démonstration histologique du collagène, de l'élastine, du muscle et de la mucine dans les coupes FFPE. Cette procédure a toujours été particulièrement utile lors de l'étude du cœur, des vaisseaux sanguins et de diverses maladies vasculaires.

L'ensemble du tissu est d'abord recoloré avec une solution de coloration élastique de travail de type Verhoeff qui contient de l'hématoxyline non oxydée, un oxydant (chlorure ferrique) et un mordant (iode). L'excès de coloration à l'élastine est ensuite éliminé du tissu à l'aide d'une solution diluée de chlorure ferrique qui différencie l'élastine et les noyaux (noirs) du reste du tissu. Le bleu ancien, un colorant de phthalocyanine de cuivre, est ensuite utilisé pour lier les mucines acides en fournissant une couleur bleu vif. Une coloration de type trichrome à l'aide d'écarlate/acide de Biebrich, d'acide phosphotungstique et d'une solution exclusive de coloration jaune est ensuite utilisée, donnant du muscle rouge et du collagène jaune.

#### Résultats attendus

Fibres élastiques :	Noir
Noyaux:	Bleu/Noir à Rouge
Collagène:	Jaune à rouge
Mucine:	Bleu vif
Muscle:	Rouge

#### Contenu du kit

	Stockage
1. Solution d'hématoxyline (5%)	18 à 25 °C
2. Solution de chlorure ferrique (10%)	18 à 25 °C
3. La solution d'iode de Lugol	18 à 25 °C
4. Solution de chlorure ferrique (2%)	18 à 25 °C
5. Solution de thiosulfate de sodium (5%)	18 à 25 °C
6. Solution d'acide acétique (1%)	18 à 25 °C
7. Solution de bleu d'alcian, pH 2,5	18 à 25 °C
8. Biebrich Scarlet – Solution de fuchsine acide	18 à 25 °C
9. Solution d'acide phosphotungstique (5%)	18 à 25 °C
10. Solution de coloration jaune	18 à 25 °C

#### Commandes suggérées (non fournies)

Cœur, poumon, peau, tractus gastro-intestinal

#### Utilisations/limites

Pour un usage de diagnostic in vitro uniquement.  
 Ne pas utiliser si les réactifs deviennent troubles ou précipités N'utilisez pas de date de péremption dépassée.

Soyez prudent lorsque vous manipulez des réactifs. Non stérile

Destiné aux sections FFPE coupées à 5-10µm.

Cette procédure n'a pas été optimisée pour les sections congelées. Les sections gelées peuvent nécessiter une modification du protocole.

#### Stockage

Conservez le kit et tous les composants à température ambiante (18-25°C).

#### Sécurité et précautions

Veuillez consulter les fiches de données de sécurité (FDS) actuelles de ce produit et de la classification GHS de ses composants, les pictogrammes et les mentions complètes de danger/précautions.

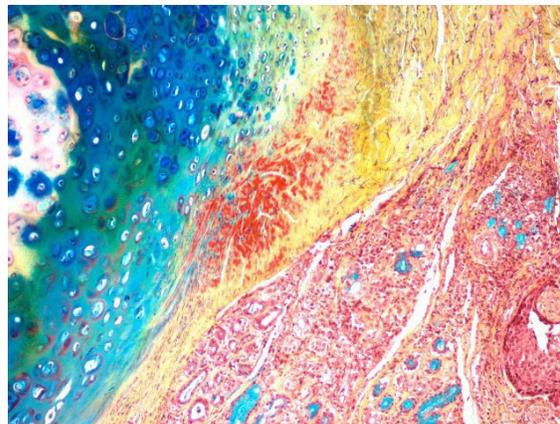
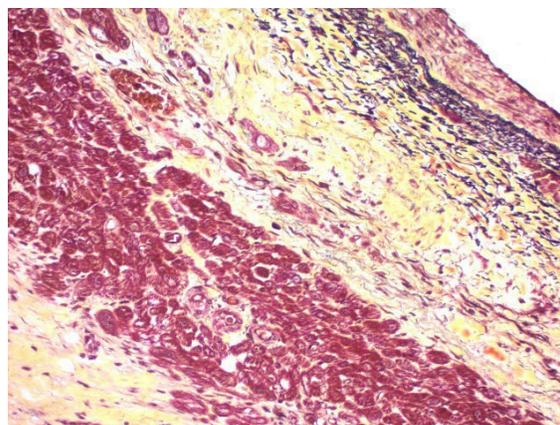


Figure 1 Coloration Movat Pentachrome sur poumon humain



Graphique 2. Coloration Movat Pentachrome sur le Cœur humain.

#### Préparation des réactifs avant le début :

Préparez une solution de coloration élastique

**fonctionnelle** en mélangeant : 2 parties de solution d'hématoxyline (5 %) 1 partie de solution de chlorure ferrique (10%) 1 partie de solution d'iode de Lugol.

(la solution mixte peut être utilisée pendant 24 heures)

Exemple : 2 ml de solution d'hématoxyline, 1 ml de chlorure ferrique, 1 ml d'iode de Lugol.

Exemple (compte-gouttes) : Utiliser un flacon de mélange gradué fermé - 14 gouttes (560µl) + 7 gouttes (280µl) + 7 gouttes (280µl) Total : 1120µl ou 1.12ml (1 goutte = ~40µl)

Nous suggérons de préparer au moins 1 ml de solution de travail par lame si la coloration est sur des lames horizontales, car la solution est alcoolique et plus sensible à l'évaporation.

### Notes d'optimisation de la coloration

**1. Notes de coloration à l'élastine :** Cette solution a une teneur élevée en alcool et est sensible à l'évaporation. Si vous tachez sur des lames posées horizontalement, surveillez et ajoutez plus de teinture au besoin pour éviter que la tache ne sèche sur la lame. Le glissement de couverture pour réduire l'exposition aux courants d'air peut également aider à prévenir l'évaporation. Une différenciation plus poussée peut être nécessaire si la solution sèche sur les tissus.

**2. Notes de différenciation :** Chaque lame peut nécessiter un nombre unique de trempages pour une différenciation optimale en fonction de la coloration à l'élastine et du bloc tissulaire utilisé. Macroscopiquement, même les lames bien différenciées seront grisâtres après cette étape (en fonction de la quantité d'élastine et des noyaux dans les tissus). Les lames peuvent également être vérifiées au microscope au cours de cette étape pour une différenciation optimale. Lorsque l'ensemble du kit est terminé, si des fibres d'élastine sont attendues mais non colorées (surdifférenciées), diminuez le nombre de trempages sur les futures lames. Si de l'élastine fine est observée mais que d'autres éléments tissulaires restent également grisâtres (sous-différenciés), d'autres trempages seront nécessaires pour éliminer l'excès de coloration sur les lames futures. Nous suggérons d'essayer de sous-différencier avec de nouveaux tissus pour localiser toute l'élastine disponible, puis d'augmenter la différenciation avec les lames suivantes jusqu'à ce que le fond grisâtre ne soit plus visible mais que de fines fibres d'élastine restent.

**3. Notes sur la coloration musculaire et au collagène (étapes 10-15) :** La différenciation et l'intensité de la coloration des couleurs jaune et rouge peuvent être contrôlées par l'augmentation et/ou la diminution des temps de coloration de la solution Biebrich Scarlet - Acid Fuchsin (étape 12), de la solution d'acide phosphotungstique à 5 % (étape 14) et de la solution de coloration jaune (étape 17). Rincez toujours la solution de coloration jaune avec de l'alcool absolu. Le rinçage à l'eau enlèvera très rapidement la tache et peut altérer les résultats. Au microscope, un peu de rouge ou de rose peut rester dans le collagène après la différenciation. Ceci est acceptable et sera toujours remplacé par la tache jaune ultérieure.

### Procédure:

1. Déparaffiniser les sections si nécessaire et hydrater à l'eau distillée.

2. Teindre une section de tissu avec une solution élastique de travail pendant 20 minutes.

#### Voir les notes de coloration à l'élastine ci-dessus

3. Rincer à l'eau courante du robinet pendant 1 minute suivi d'un rinçage à l'eau déminéralisée.

4. Différenciez la lame dans la solution différenciante de chlorure ferrique (2%) en la versant dans un petit bocal de coloration et en trempant la lame 10 à 20 fois. **Voir les notes de différenciation ci-dessus.** Continuez à différencier si nécessaire.

5. Rincer à l'eau du robinet suivi d'un rinçage à l'eau distillée.

6. Appliquez une solution de thiosulfate de sodium (5%) et incubez pendant 1 minute.

7. Bien rincer à l'eau distillée.

8. Colorer le tissu avec une solution de bleu d'Alcian, pH 2,5 pendant 15 à 30 minutes.

9. Rincez la lame à l'eau distillée.

10. Appliquez une couche de teinture dans la solution Biebrich Scarlet - Acid Fuchsin pendant 2 minutes.

#### Voir les notes de coloration des muscles et du collagène ci-dessus.

11. Rincez la lame à l'eau distillée.

12. Différencier en appliquant deux cycles de solution d'acide phosphotungstique (5%) pendant 7 minutes chacun.

13. Rincez la lame à l'eau distillée.

14. Appliquez la solution d'acide acétique (1%) pendant 3 minutes.

17. Déshydrater dans de l'alcool absolu, **ne pas déshydrater dans des alcools gradués contenant de l'eau. Une tache jaune peut transformer l'alcool déshydratant en jaune.**

18. Transparent en xylène ou substitut et montage en résine synthétique.

### Références

- He, J., Yan, J., Wang, J. et al. Dissection de l'ontogenèse des cellules souches squelettiques embryonnaires humaines par des analyses transcriptomiques et fonctionnelles sur cellule unique. Cell Res 31, 742 à 757 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00467-z>
- Zhou Zhen, Peters Andrew M., Wang Shanzhi, Janda Alexandra, Chen Jiyuan, Zhou Ping, Arthur Erin, Kwartler Callie S. et Milewicz Dianna M. « L'inversion de l'élargissement de l'aorte induite par des forces biomécaniques accrues nécessite l'inhibition d'AT1R en conjonction avec l'activation d'AT2R. » Artériosclérose, thrombose et biologie vasculaire 39, Non. 3 (Mars 1,2019): 459-66. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.312158>.
- Pu, Lei, Jian Wu, Xingna Pan, Zongliu Hou, Jing Zhang, Wenmin Chen, Zhuhui Na et al. « Détermination du protocole optimal pour la préparation d'un échafaudage acellulaire de vaisseaux sanguins de petit diamètre issus de tissus modifiés. » Journal de la recherche sur les matériaux biomédicaux Partie B : Biomatériaux appliqués 106, n° 2 (2018) : 619-31. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33827>.
- Dahal, Sudip, Peter Huang, Bruce T. Murray et Gretchen J. Mahler. « La transformation endothéliale à mésenchymateuse est induite par une matrice extracellulaire altérée dans les cellules endothéliales de la valve aortique. » Journal de la recherche sur les matériaux biomédicaux, partie A 105, n° 10 (2017) : 2729-41. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36133>.
- Deb, Partha Pratim et Anand Ramamurthi. « Cartographie spatio-temporelle du remodelage matriciel et preuve d'élastogénèse in situ dans les anévrismes expérimentaux de l'aorte abdominale. » Journal de l'ingénierie tissulaire et de la médecine régénérative 11, n° 1 (2017) : 231-45. <https://doi.org/10.1002/term.1905>.
- Leng, Shuilong, Stephen Iwanowycz, Fatma Saaoud, Junfeng Wang, Yuzhen Wang, Ismail Sergin, Babak Razani et Daping Fan. « L'acide ursolique améliore l'autophagie des macrophages et atténue l'athérogenèse. » Journal de la recherche sur les lipides 57, n° 6 (1er juin 2016) : 1006-16. <https://doi.org/10.1194/jlr.M065888>.
- Alfonso, Abraham R., Sasmita Rath, Parvin Rafiee, Mario Hernandez-Espino, Mahreen Din, Florence George et Sharan Ramaswamy. « Piégeage de glycosaminoglycane par la fibrine dans des tissus valvulaires cardiaques modifiés. » Acta Biomaterialia 9, n° 9 (1er septembre 2013) : 8149-57. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.009>.
- Movat, H.Z. Démonstration de tous les éléments du tissu conjonctif dans une seule section. Arch Pathology, 1955 Volume 60, page 289.

15. Versez la solution d'acide acétique (1%) et colorez avec la solution de coloration jaune pendant 10 à 20 minutes.

16. Rincez abondamment la lame dans de l'alcool absolu. **Ne rincez pas à l'eau, le rinçage à l'eau enlèvera la tache jaune.**



ScyTek Laboratories, Inc. 205  
Sud 600 Ouest  
Logan, Utah 84321  
435-755-9848  
États-Unis



EC REP

Emergo Europe Prinsessegracht 20  
2514 AP La Haye, Pays-Bas