

## Istruzioni per l'uso

# MPS-IFU

### Kit di macchie Movat Pentachrome

(Russell-Movat, modificato)

#### Descrizione e principio

Questo kit di colorazione Movat Pentachrome (Russel-Movat modificato) è destinato all'uso nella dimostrazione istologica di collagene, elastina, muscoli e mucina nelle sezioni FFPE. Questa procedura è stata storicamente particolarmente utile nello studio del cuore, dei vasi sanguigni e di varie malattie vascolari.

L'intero tessuto viene inizialmente sovracolorato con una soluzione di colorante elastico di tipo Verhoeff che contiene ematosilina non ossidata, un ossidante (cloruro ferrico) e un mordente (iodio). La colorazione in eccesso di elastina viene quindi rimossa dal tessuto utilizzando una soluzione diluita di cloruro ferrico che differenzia l'elastina e i nuclei (nero) dal resto del tessuto. Il blu di alciano, un colorante di ftalocianina di rame, viene quindi utilizzato per legare le mucine acide fornendo un colore blu brillante. Viene quindi impiegata una colorazione di tipo tricromo utilizzando lo scarlatto/acido di Biebrich, l'acido fosfotungstico e una soluzione brevettata di macchia gialla, che fornisce muscolo rosso e collagene giallo.

#### Risultati attesi

Fibre elastiche:	Nero
Nuclei:	Blu/Nero a Rosso
Collagene:	Da giallo a rosso
Mucina:	Blu brillante
Muscolo:	Rosso

#### Contenuto del kit

- Soluzione di ematosilina (5%)
- Soluzione di cloruro ferrico (10%)
- Soluzione di iodio di Lugol
- Soluzione di cloruro ferrico (2%)
- Soluzione di tiosolfato di sodio (5%)
- Soluzione di acido acetico (1%)
- Soluzione di blu di Alcian, pH 2,5
- Biebrich Scarlet – Soluzione di fucsina acida
- Soluzione di acido fosfotungstico (5%)
- Soluzione di macchia gialla

#### Immagazzinamento

- |         |
|---------|
| 18-25°C |

#### Controlli suggeriti (non forniti)

Cuore, Polmone, Pelle, Tratto gastrointestinale

#### Usi/Limitazioni

Solo per uso diagnostico in vitro.  
 Non utilizzare se i reagenti diventano torbidi o precipitano. Non utilizzare oltre la data di scadenza.  
 Prestare attenzione quando si maneggiano i reagenti. Non sterile  
 Destinato a sezioni FFPE tagliate a 5-10µm.  
 Questa procedura non è stata ottimizzata per le sezioni congelate. Le sezioni bloccate potrebbero richiedere una modifica del protocollo.

#### Immagazzinamento

Conservare il kit e tutti i componenti a temperatura ambiente (18-25°C).

#### Sicurezza e precauzioni

Si prega di consultare le schede di sicurezza (SDS) aggiornate per questo prodotto e componenti. Classificazione GHS, pittogrammi e dichiarazioni complete di pericolo/precauzione.

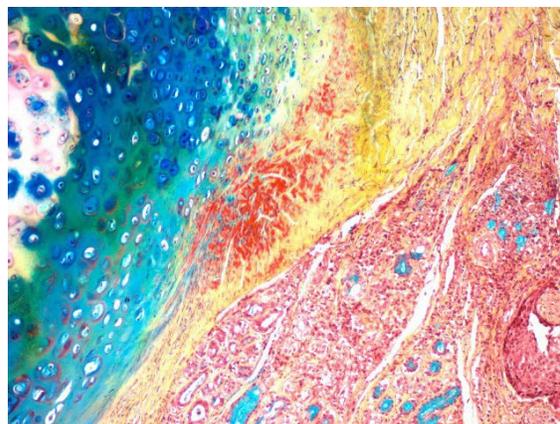


Figura 1 Colorazione Movat Pentachrome su polmone umano

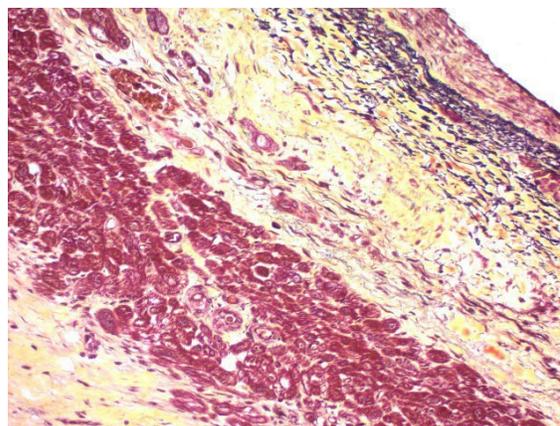


Figura 2. Colorazione Movat Pentachrome sul cuore umano.

#### Preparazione dei reagenti prima dell'inizio:

Preparare la soluzione elastica di colorante di lavoro mescolando: 2 parti di soluzione di ematosilina (5%)  
 1 parte di soluzione di cloruro ferrico (10%), 1 parte di soluzione di iodio di Lugol.

(la soluzione miscelata può essere utilizzata per 24 ore)

Esempio: 2 ml di soluzione di ematosilina, 1 ml di cloruro ferrico, 1 ml di iodio di Lugol.

Esempio (contagocce): Utilizzare una fiala di miscelazione graduata inclusa - 14 gocce (560µl)  
 + 7 gocce (280µl) + 7 gocce (280µl) Totale: 1120µl o 1,12ml  
 (1 goccia = ~40µl)

Si consiglia di preparare almeno 1 ml di soluzione di lavoro per vetrino se si colora su vetrini orizzontali perché la soluzione è alcolica e più suscettibile all'evaporazione.

### Note sull'ottimizzazione della colorazione

**1. Note sulla colorazione dell'elastina:** Questa soluzione ha un alto contenuto alcolico ed è suscettibile di evaporazione. Se si colora su vetrini che giacciono orizzontalmente, monitorare e aggiungere altra macchia secondo necessità per evitare che la macchia si secchi sul vetrino. Anche lo scivolo di copertura per ridurre l'esposizione alle correnti d'aria può aiutare a prevenire l'evaporazione. Potrebbe essere necessaria una maggiore differenziazione se la soluzione si asciuga sui tessuti.

**2. Note sulla differenziazione:** Ogni vetrino può richiedere un numero unico di immersioni per una differenziazione ottimale in base alla colorazione dell'elastina e al blocco di tessuto utilizzato.

Macroscopicamente, anche i vetrini ben differenziati saranno grigiastri dopo questo passaggio (a seconda della quantità di elastina e nuclei nel tessuto). I vetrini possono anche essere controllati al microscopio durante questa fase per una differenziazione ottimale. Quando l'intero kit è completo, se le fibre di elastina sono previste ma non colorate (sovradifferenziate), diminuire il numero di tuffi sui vetrini futuri. Se si osserva elastina fine, ma anche altri elementi tissutali rimangono grigiastri (sottodifferenziati), saranno necessari più tuffi per rimuovere la macchia in eccesso sui vetrini futuri. Sugeriamo di tentare di sottodifferenziare con nuovi tessuti per localizzare tutta l'elastina disponibile, e quindi aumentare la differenziazione con i vetrini successivi fino a quando non si vede più lo sfondo grigiastro ma rimangono fibre fini di elastina.

**3. Note sulla colorazione muscolare e del collagene (passaggi 10-15):** La differenziazione e l'intensità della colorazione dei colori giallo e rosso possono essere controllate aumentando e/o diminuendo i tempi di colorazione della soluzione di fucsina acida scarlatta di Biebrich (fase 12), della soluzione di acido fosfotungstico al 5% (fase 14) e della soluzione di colorazione gialla (fase 17). Risciacquare sempre la soluzione di macchia gialla con alcool assoluto. Il risciacquo in acqua rimuoverà molto rapidamente le macchie e potrebbe alterare i risultati. Microscopicamente, un po' di rosso o rosa può rimanere nel collagene dopo la differenziazione. Questo è accettabile e sarà comunque sostituito dalla successiva macchia gialla.

### Procedimento:

1. Deparaffinare le sezioni se necessario e idratarle in acqua distillata.

2. Colorare la sezione di tessuto con la soluzione elastica di lavoro per 20 minuti.

#### Vedere le note sulla colorazione dell'elastina sopra

3. Sciacquare con acqua corrente del rubinetto per 1 minuto, seguito da un risciacquo con acqua deionizzata.

4. Differenziare il vetrino nella soluzione differenziante di cloruro ferrico (2%) versandolo in un piccolo barattolo di colorazione e immergendo il vetrino 10-20 volte. **Vedere le note di differenziazione sopra.** Continuare a differenziare se necessario.

5. Sciacquare in acqua di rubinetto seguito da un risciacquo in acqua distillata.

6. Applicare la soluzione di tiosolfato di sodio (5%) e incubare per 1 minuto.

7. Sciacquare bene con acqua distillata.

8. Colorare il tessuto con Alcian Blue Solution, pH 2,5 per 15-30 minuti.

9. Sciacquare il vetrino con acqua distillata.

10. Far scivolare la colorazione in Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin Solution per 2 minuti.

#### Vedere le note sulla colorazione muscolare e del collagene sopra.

11. Sciacquare il vetrino con acqua distillata.

12. Differenziare applicando due cicli di soluzione di acido fosfotungstico (5%) per 7 minuti ciascuno.

13. Sciacquare il vetrino con acqua distillata.

14. Applicare la soluzione di acido acetico (1%) per 3 minuti.

15. Versare la soluzione di acido acetico (1%) e colorare con la soluzione

17. Disidratare in alcool assoluto, **non disidratate attraverso alcoli graduati contenenti acqua. La macchia gialla può ingiallire l'alcol disidratante.**

18. Trasparente in xilene o sostituto e montato in resina sintetica.

### Referenze

- He, J., Yan, J., Wang, J. et al. Sezionamento dell'ontogenesi delle cellule staminali scheletriche embrionali umane mediante analisi trascrittomiche e funzionali a singola cellula. *Cellula Res* 31, 742–757 (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. e Milewicz Dianna M. "L'inversione dell'allargamento aortico indotto da un aumento delle forze biomeccaniche richiede l'inibizione di AT1R in combinazione con l'attivazione di AT2R". *Arteriosclerosi, trombosi e biologia vascolare* 39, No. 3 (marzo 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. "Determinazione del protocollo ottimale per la preparazione di un'impalcatura acellulare di vasi sanguigni di piccolo diametro ingegnerizzati in tessuto". *Giornale di ricerca sui materiali biomedici Parte B: Biomateriali applicati* 106, n. 2 (2018): 619–31. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33827>.
- Dahal, Sudip, Peter Huang, Bruce T. Murray e Gretchen J. Mahler. "La trasformazione da endoteliale a mesenchimale è indotta da una matrice extracellulare alterata nelle cellule endoteliali della valvola aortica". *Giornale di ricerca sui materiali biomedici Parte A* 105, n. 10 (2017): 2729–41. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36133>.
- Deb, Partha Pratim e Anand Ramamurthi. "Mappatura spaziotemporale del rimodellamento della matrice e prove di elastogenesi in situ negli aneurismi sperimentali dell'aorta addominale". *Giornale di ingegneria tissutale e medicina rigenerativa* 11, n. 1 (2017): 231–45. <https://doi.org/10.1002/term.1905>.
- Leng, Shuilong, Stephen Iwanowycz, Fatma Saoud, Junfeng Wang, Yuzhen Wang, Ismail Sergin, Babak Razani e Daping Fan. "L'acido ursolico migliora l'autofagia dei macrofagi e attenua l'aterogenesi". *Giornale di ricerca sui lipidi* 57, n. 6 (1 giugno 2016): 1006–16. <https://doi.org/10.1194/jlr.M065888>.
- Alfonso, Abraham R., Sasmita Rath, Parvin Rafiee, Mario Hernandez-Espino, Mahreen Din, Florence George e Sharan Ramaswamy. "Intrappolamento dei glicosaminoglicani da parte della fibrina nei tessuti delle valvole cardiache ingegnerizzate". *Acta Biomaterialia* 9, n. 9 (1 settembre 2013): 8149–57. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.009>.
- Movat, H.Z. Dimostrazione di tutti gli elementi del tessuto connettivo in una singola sezione, *Arch Pathology*, 1955 Volume 60, pagina 289.

di macchia gialla per 10-20 minuti.

16. Sciacquare abbondantemente il vetrino in alcool assoluto. **Non risciacquare con acqua, il risciacquo con acqua rimuoverà la macchia gialla.**



Laboratori ScyTek, Inc. 205 Sud  
600 Ovest  
Logan, UT 84321  
435-755-9848  
U.S.A.



EC REP

Emergo Europe Prinsessegracht 20  
2514 AP L'Aia, Paesi Bassi