



205 South 600 West Logan, Utah 84323, U.S.A. – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755-9848 – Fax (435) 755-0015 – www.scytek.com Rev. 6,
2 / 2 / 2 0 2 1

Instrucciones de uso

MPS-IFU

Kit de tinte pentacromático Movat (Russell-Movat modificado)

Descripción y principio

Este kit de tinción de pentacromo Movat (Russel-Movat modificado) está diseñado para su uso en la demostración histológica de colágeno, elastina, músculo y mucina en secciones de FFPE. Históricamente, este procedimiento ha sido particularmente útil cuando se estudia el corazón, los vasos sanguíneos y diversas enfermedades vasculares.

Todo el tejido se tiñe inicialmente con una solución de tinción elástica de trabajo tipo Verhoeff que contiene hematoxilina sin oxidar, un oxidante (cloruro férrico) y un mordiente (yodo). A continuación, el exceso de tinción de elastina se elimina del tejido utilizando una solución diluida de cloruro férrico que diferencia la elastina y los núcleos (negros) del resto del tejido. El azul alcian, un colorante de ftalocianina de cobre, se usa para unirse a las mucinas ácidas que proporcionan un color azul brillante. A continuación, se emplea una tinción de tipo tricrómico con escarlata / ácido de Biebrich, ácido fosfotúngstico y una solución de tinción amarilla patentada, que proporciona músculo rojo y colágeno amarillo.

Resultados esperados

Fibras elásticas:	Negro
Núcleos:	Azul/Negro a Rojo
Colágeno:	De amarillo a rojo
Mucina:	Azul brillante
Músculo:	Rojo

Contenido del kit

	Almacena miento
1. Solución de hematoxilina (5%)	18-25°C
2. Solución de cloruro férrico (10%)	18-25°C
3. Solución de yodo de Lugol	18-25°C
4. Solución de cloruro férrico (2%)	18-25°C
5. Solución de tiosulfato de sodio (5%)	18-25°C
6. Solución de ácido acético (1%)	18-25°C
7. Solución de azul alcian, pH 2,5	18-25°C
8. Biebrich Scarlet – Solución ácida de fucsina	18-25°C
9. Solución de ácido fosfotúngstico (5%)	18-25°C
10. Solución de tinte amarillo	18-25°C

Controles sugeridos (no incluidos)

Corazón, pulmón, piel, tracto gastrointestinal

Usos/Limitaciones

Solo para uso en diagnóstico in vitro.

No lo use si los reactivos se vuelven turbios o precipitan No lo use después de la fecha de vencimiento.

Tenga cuidado al manipular reactivos. No estéril

Diseñado para secciones FFPE cortadas a 5-10 µm.

Este procedimiento no se ha optimizado para secciones congeladas. Las secciones congeladas pueden requerir una modificación del protocolo.

Almacenamiento

Guarde el kit y todos los componentes a temperatura ambiente (18-25 °C).

Seguridad y precauciones

Consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) actuales para conocer la clasificación del SGA de este producto y componentes, los pictogramas y las declaraciones de peligro/precaución completas.

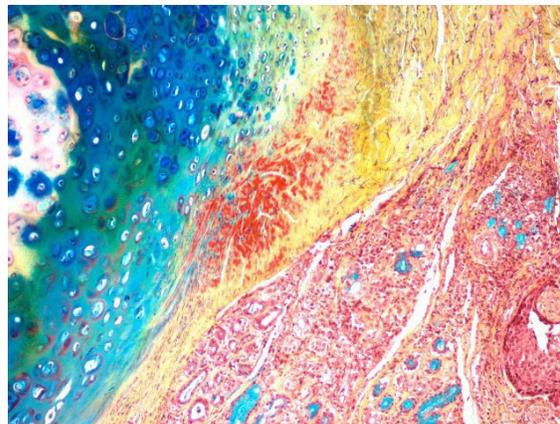


Figura 1 Tinción de pentacromo Movat en pulmón humano

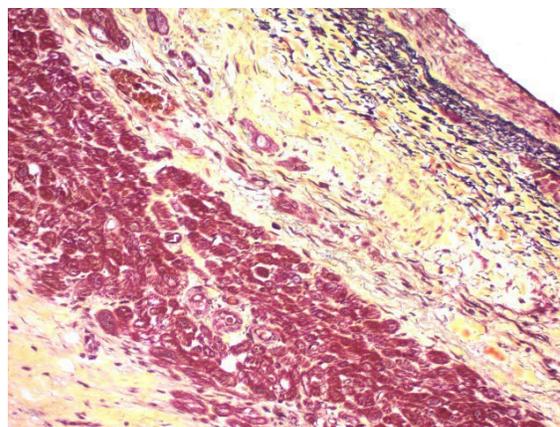


Figura 2. Movat Tinción de Pentacromo en el Corazón humano.

Preparación de los reactivos antes de comenzar:

Prepare la **solución de tinción elástica de trabajo** mezclando: 2 partes de solución de hematoxilina (5%)
1 parte de solución de cloruro férrico (10%) 1 parte de solución de yodo de Lugol.

(se puede usar solución mezclada durante 24 horas)

Ejemplo: 2 ml de solución de hematoxilina, 1 ml de cloruro férrico, 1 ml de yodo de Lugol.

Ejemplo (gotero): Utilice un vial de mezcla graduado adjunto - 14 gotas (560 µl)

+ 7 gotas (280 µl) + 7 gotas (280 µl) Total: 1120 µl o 1,12 ml
(1 gota = ~40 µl)

Sugerimos hacer al menos 1 ml de solución de trabajo por portaobjetos si se tiñe en portaobjetos horizontales porque la solución es alcohólica y más susceptible a la evaporación.

Notas de optimización de tinciones

1. Tinción de elastina Notas: Esta solución tiene un alto contenido de alcohol y es susceptible a la evaporación. Si mancha en portaobjetos colocados horizontalmente, controle y agregue más tinte según sea necesario para evitar que la mancha se seque en el portaobjetos. Cubrir el portaobjetos para reducir la exposición a las corrientes de aire también puede ayudar a prevenir la evaporación. Es posible que se necesite una mayor diferenciación si la solución se seca en el tejido.

2. Notas de diferenciación: Cada portaobjetos puede requerir un número único de inmersiones para una diferenciación óptima en función de la tinción de elastina y el bloque de tejido utilizado.

Macrocópicamente, incluso los portaobjetos bien diferenciados serán grisáceos después de este paso (dependiendo de la cantidad de elastina y los núcleos en el tejido). Los portaobjetos también se pueden revisar microscópicamente durante este paso para una diferenciación óptima. Cuando todo el kit esté completo, si se espera que las fibras de elastina no se tiñan (se diferencian demasiado), disminuya el número de inmersiones en los portaobjetos futuros. Si se observa elastina fina, pero otros elementos del tejido también permanecen grisáceos (poco diferenciados), se requerirán más inmersiones para eliminar el exceso de tinción en futuros portaobjetos. Sugerimos intentar subdiferenciar con nuevos tejidos para localizar toda la elastina disponible, y luego aumentar la diferenciación con los siguientes portaobjetos hasta que ya no se vea un fondo grisáceo pero permanezcan fibras finas de elastina.

3. Notas de tinción muscular y de colágeno (pasos 10-15): La diferenciación y la intensidad de la tinción de los colores amarillo y rojo pueden controlarse aumentando y/o disminuyendo los tiempos de tinción de la solución de biebrih escarlata - ácido fucsina (paso 12), la solución de ácido fosfotúngstico al 5% (paso 14) y la solución de tinción amarilla (paso 17). Enjuague siempre la solución para manchas amarillas con alcohol absoluto. El enjuague con agua eliminará muy rápidamente la mancha y puede alterar los resultados. Microscópicamente, algo de rojo o rosa puede permanecer en el colágeno después de la diferenciación. Esto es aceptable y aún así será desplazado por la mancha amarilla posterior.

Procedimiento:

- Desparafinar secciones si es necesario e hidratar hasta obtener agua destilada.
- Tiñe la sección de pañuelos con la solución elástica de trabajo durante 20 minutos.

Consulte las notas de tinción de elastina más arriba

- Enjuague con agua corriente del grifo durante 1 minuto seguido de un enjuague con agua desionizada.
- Diferencie el portaobjetos en la solución diferenciadora de cloruro férrico (2%) vertiendo en un pequeño frasco de tinción y sumergiendo el portaobjetos de 10 a 20 veces. **Consulte las Notas de diferenciación anteriores.** Continúe diferenciando si es necesario.
- Enjuague con agua del grifo seguido de un enjuague con agua destilada.
- Aplice la solución de tiosulfato de sodio (5%) e incube durante 1 minuto.
- Enjuague bien con agua destilada.
- Teñir el pañuelo con una solución de azul alcian, pH 2,5 durante 15-30 minutos.
- Enjuague el portaobjetos con agua destilada.
- Desliza el tinte en Biebrih Scarlet – Acid Fuchsina Solution durante 2 minutos.

Consulte las notas sobre las tinciones musculares y de colágeno más arriba.

- Enjuague el portaobjetos con agua destilada.
- Diferencie aplicando dos rondas de solución de ácido fosfotúngstico (5%) durante 7 minutos cada una.
- Enjuague el portaobjetos con agua destilada.
- Aplicar Solución de Ácido Acético (1%) durante 3 minutos.

17. Deshidratar en alcohol absoluto, **no deshidratar a través de alcoholes graduados que contengan agua. La mancha amarilla puede hacer que el alcohol deshidratante se vuelva amarillo.**

18. Transparente en xileno o sustituto y montaje en resina sintética.

Referencias

- He, J., Yan, J., Wang, J. et al. Disección de la ontogenia de células madre esqueléticas embrionarias humanas mediante análisis transcriptómicos y funcionales de una sola célula. *Cell 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. y Milewicz Dianna M. "La reversión del agrandamiento aórtico inducida por el aumento de las fuerzas biomecánicas requiere la inhibición de AT1R junto con la activación de AT2R". *Arteriosclerosis, trombosis y biología vascular* 39, No. 3 (Marzo 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. "Determinación del protocolo óptimo para preparar un andamio acelular de vasos sanguíneos de diámetro pequeño modificados por tejidos". *Revista de Investigación de Materiales Biomédicos Parte B: Biomateriales aplicados* 106, n.º 2 (2018): 619–31. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33827>.
- Dahal, Sudip, Peter Huang, Bruce T. Murray y Gretchen J. Mahler. "La transformación endotelial a mesenquimal es inducida por la matriz extracelular alterada en las células endoteliales de la válvula aórtica". *Revista de Investigación de Materiales Biomédicos Parte A* 105, no. 10 (2017): 2729–41. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36133>.
- Deb, Partha Pratim y Anand Ramamurthi. "Mapeo espacio-temporal de la remodelación de la matriz y evidencia de elastogénesis in situ en aneurismas experimentales de aorta abdominal". *Revista de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa* 11, no. 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 y Daping Fan. "El ácido ursólico mejora la autofagia de los macrófagos y atenúa la aterogénesis". *Revista de Investigación de Lípidos* 57, no. 6 (1 de junio de 2016): 1006–16. <https://doi.org/10.1194/jlr.M065888>.
- Alfonso, Abraham R., Sasmita Rath, Parvin Rafiee, Mario Hernández-Espino, Mahreen Din, Florence George y Sharan Ramaswamy. "Atrapamiento de glicosaminoglicanos por fibrina en tejidos de válvulas cardíacas diseñados". *Acta Biomaterialia* 9, no. 9 (1 de septiembre de 2013): 8149–57. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.009>.
- Movat, H.Z. Demostración de todos los elementos del tejido conectivo en una sola sección. *Arch Pathology*, 1955 Volumen 60, página 289.

15. Vierta la solución de ácido acético (1%) y tiña con la solución de tinte amarillo durante 10-20 minutos.

16. Enjuague bien el portaobjetos en alcohol absoluto. **No enjuague con agua, enjuagar con agua eliminará la mancha amarilla.**



Laboratorios ScyTek, Inc. 205
Sur 600 Oeste
Logan, UT 84321
435-755-9848
EE.UU.



EC REP

Emergo Europe Prinsessegracht 20
2514 AP La Haya, Payses Bajos