

МЕТОД ГРОКОТТА ПО ГРИБКАМ (ГМС)

- Цель** Демонстрация грибково-образных организмов
- Принцип** Полисахариды в стенках грибов окисляются до альдегидов через хромовую кислоту. Хромовая кислота является очень сильным оксидантом и еще больше окисляет многие из только что выпущенных групп альдегидов чтобы разорвать нереагирующие продукты. Это поможет приостановить и ослабить начальную реакцию коллагеновых волокон и первых мембран. Только вещества, которые имеют большое количество полисахаридов, например грибково-образные стенки, гликоген и муцины, остаются реактивными с метенаминовым серебром, доведенным до металлического серебра. Метенамин дает раствор щелочного характера необходимого для надлежащей реакции и декагидрат тетрабората натрия работает в качестве буфера. Золотистый хлорид является раствором тона и тиосульфат натрия удаляет любое невосстановленное серебро.
- Фиксатив** 10% нейтральный буферный формалин

Реактивы

10% Хромовая кислота

- Хромовая кислота ... 10.0 г
- Дистиллированная вода ... 100.0 мл

5% Ляпис

- Ляпис ... 5.0 г
- Дистиллированная вода... 100.0 мл

3% Метенамин

- Гексаметилентетраамине (метенамин) ... 3.0 г
- Дистиллированная вода... 100.0 мл

5% Бура

- Бура (декагидрат тетрабората натрия) ... 5.0 г
- Дистиллированная вода ... 100.0 мл

Метенамин-Ляпис (запасный)

- 5% Ляпис ... 5.0 мл
- 3% Метенамин ... 100.0 мл

Белый осадок образовывается но немедленно растворяется при встряске. Чистый раствор остаются годным к употреблению несколько месяцев. Хранить в холодильнике.

Метенамин-Ляпис (действующий)

- Метенамин-Ляпис (запасный) ... 25.0 мл
- Дистиллированная вода... 25.0 мл
- 5% Бура ... 2.0 мл

Действующий раствор должен быть свежо готовлен.

МЕТОД ГРОКОТТА ПО ГРИБКАМ (ГМС)

Реактивы (продолжение)

1% Гидгосульфит натрия

Гидгосульфит натрия... 1.0 г

Дистиллированная вода ... 100.0 мл

0.1% Золотистый хлорид

1% Золотистый хлорид ... 10.0 мл

Дистиллированная вода... 90.0 мл

2% Тиосульфат натрия (гипосульфит)

Тиосульфат натрия ... 2.0 г

Дистиллированная вода ... 100.0 мл

0.2% Светло-Зеленый (запасный)

Светло-Зеленый (запасный) ... 10.0 мл

Дистиллированная вода... 50.0 мл

Контроль Качества Использовать контрольный слайд с известным грибком.

Процедура

1. Депарафинировать и гидратировать до дистиллированной воды.
2. Окислять в растворе 10% хромовой кислоты на 10 минут.
3. Промыть водой несколько секунд.
4. Раствор 1% гидросульфита натрия 1 минуту чтобы устранить любую хромовую кислоту.
5. Промыть водопроводной водой 5-10 минут.
6. Промыть дистиллированной водой 3 – 4 раза, меняя воду каждый раз.
7. Положить в свежо приготовлен раствор Метенамина-Ляписа в духовку с температурой 58-63оС 30-60 минут или до того, как секции станут желто-коричневыми.
8. Промыть дистиллированной водой 6 раз, меняя воду каждый раз.
9. Окрасить в растворе 0.1% золотистого хлорида 2-5 минут.
- 10.Промыть дистиллированной водой.
- 11.Устранить нерастворимое серебро 2% Тиосульфатом натрия (гипосульфит)на 2-5 минут.
- 12.Тщательно промыть водопроводной водой.
- 13.Вторично окрасить действующем 2% светло-зеленым раствором 30-45 секунд.
- 14.Обезвожить в 95% алкоголе, потом в чистом алкоголе, и после этого очистить в ксилоле два раза, меняя раствор ксилولا каждый раз. Каждый раз положить в ксилол на тот же самый срок.
- 15.Установить с синтетической смолой.

МЕТОД ГРОКОТТА ПО ГРИБКАМ (ГМС)

Результаты

Грибки ... остро обрисованы черным цветом

Муцин ... от серо-коричневого цвета до темного серого

Внутренние части мицелина и гифы ... цвет старой розы

Фон ... высвеченный зеленый

Ссылки

Руководство по гистологическим методам окраски, Институт патологии вооруженных сил, 3е издание, стр. 230-231.