

ТРИХРОМОВАЯ ОКРАСКА МАССОНА

- Цель** Трихромовая окраска часто используются для дифференцирования коллагена и гладких мускул в новообразованиях и для обнаружения увеличения коллагеновых тканей при таких болезнях как цирроз печени.
- Принцип** Трихромовая процедура названа так, потому что использованы три пигмента, которые имеют или не имеют свойство окрашивать ядро. Сечения сначала окрашиваются кислотным пигментом, таким как ярко-красный Бибричь. Все ацидофильные элементы тканей, цитоплазма, мускулы и коллаген, окрашиваются кислотными пигментами. Затем сечения возвращаются в фосфовольфрамовую и/или фосфомоёбденовую кислоту. Так как цитоплазма намного менее проницаемая, чем коллаген, фосфовольфрамовая и фосфомолибденовая кислоты вызывают диффузию ярко-красного Бибричь пигмента из коллагена, но не из цитопазмы.
- Фосфовольфрамовая и фосфомолибденовая кислоты имеют множество кислотных групп, которые, вероятно, выступают в качестве соединения между обесцвеченным коллагеном и синим анилином, коллагеновым красителем. Вероятно кислотность фосфовольфрамового/фосфомолибденового кислотных растворов также повышает избирательное окрашивание коллагена и способствует диффузии или удалению ярко-красного Бибричь пигмента.
- Фиксатив** Раствор Бауина предпочтителен, но можно использовать 10% нейтрально-буферированный формалин.

Реактивы

Раствор Бауина

Тринитрофенол (С₆Н₃Н₃О₇), насыщенный водный раствор ...75.0 мл

Формальдегид, 37-40% ...25.0 мл

Ледниковая уксусная кислота ... 5.0 мл

Примечание переводчика : Ледниковая уксусная кислота - уксусная кислота с концентрацией не менее 99.5%, затвердевает при 16.7 С

Вейгерт гематоксилин железа

Вейгерт гематоксилин железа

Раствор А

Гематоксилин ... 10.0 г

Алкоголь, 95% ... 1,000.0 мл

Раствор Б

Хлорид железа, 29% водный раствор ... 20.0 мл

Дистиллированная вода ... 475.0 мл

Ледниковая уксусная кислота ... 5.0 мл

Рабочий раствор

Смешать раствор А И Б в равных пропорциях

ТРИХРОМОВАЯ ОКРАСКА МАССОНА

Ярко-красный Бибричь-кислотный раствор фуксина

Ярко-красный Бибричь, 1% водный раствор ... 360.0 мл

Кислотный фуксин, 1% водный раствор ... 40.0 мл

Ледниковая уксусная кислота ... 4.0 мл

Фосфолибденовая-фосфовольфрамовая кислота

Раствор

Фосфолибденовая кислота ... 25.0 г

Фосфовольфрамовая кислота ... 25.0 г

Дистиллированная вода ... 2,000.0 мл

Синий анилиновый раствор

Синий анилин ... 25.0 г

Ледниковая уксусная кислота ... 20.0 мл

1% Раствор уксусной кислоты

ледниковая уксусная кислота ... 1.0 мл

дистиллированная вода ... 99.0 мл

Контроль Качества Практически каждая ткань имеет внутренний контроль, так что дополнительные срезы не нужны, тем не менее, если необходим контрольный срез, ткани матки, тонкого кишечника, аппендикса или фаллопиевой трубы будут хорошим материалом.

Процедура

1. Удалить парафин из среза и гидрировать в дистиллированной воде.
2. Хорошо промыть в дистиллированной воде.
3. Протравить срез в растворе Бауина 1 час при 56 С.
4. Вынуть предметное стекло из печки, дать остыть и промыть в текущей воде до исчезновения желтого цвета.
5. Промыть в дистиллированной воде.
6. Окрасить срез в Вейгерт гематоксилине 10 минут.
7. Промыть в текущей воде 10 минут.
8. Сполоснуть в дистиллированной воде.
9. Окрасить срезы в ярко-красный Бибричь-кислотном фуксине 2 минуты. При необходимости раствор может быть сохранен еще только для одной процедуры.
10. Промыть в дистиллированной воде.
11. Поместить предметные стекла в раствор фосфолибденовую-фосфовольфрамовой кислоты на 10-15 минут. Раствор выбросить.
12. Окрасить срезы в синем анилиновом растворе 5 минут. При необходимости этот

ТРИХРОМОВАЯ ОКРАСКА МАССОНА

раствор может быть сохранен для еще одной процедуры.

13. Промыть срез в дистиллированной воде.
14. Поместить срезы в 1% раствор уксусной кислоты на 3-5 минут. Раствор выбросить.
15. Высушить 95%-ным и абсолютным спиртом, две смены каждого.
16. Очистить двумя или тремя сменами ксилена и монтировать синтетической смолой.

Результаты

Ядра черные

Цитоплазма, кератин, мускульные волокна красные

Коллаген и слизь синие

ЗАМЕТКИ При желании, коллаген может быть окрашен контрастным бледно-зеленым цветом вместо синего. Изменения описаны на стр. 144 в Гистологии: текст для самоинструктирования.

Ссылки

Гистология, Текст для самоинструктирования, Фрида Л. Карсон, 1990, пп. 142-144, и тарелки 8-4, стр. 267.