

METODA EVG (ELASTIC-VERHOEFF-van GIESON) KIT COLORAȚIE FIBRE ELASTICE

1. DESTINAȚIE

- ◊ Metoda asigură evidențierea atrofiei tesuturilor elastice în caz de enfizem, subțierea și pierderea de fibre elastice în ateroscleroză, precum și, în alte boli cardiovasculare.
- ◊ Identificarea fibrelor elastice și a celulelor mast pe secțiuni fixate în formol, înglobate în parafină, precum și pentru secțiuni criogenate.
- ◊ Tehnica de lucru asigură colorarea diferențiată a fibrelor elastice și a nucleilor în negru cu hematoxilina ferică și iod, a colagenului în roșu, iar a celorlalte elemente tisulare în galben. Diferențierea se produce datorită afinității puternice a complexului fier-hematoxilina față de tesuturile elastice și colorant, care este reținut mai mult decât alte elemente tisulare.

2. FIXAREA

FORMOL 10%.

3. COMPUNEREA KITULUI

- | | |
|---|------------|
| ◊ R-1 Reactiv Weigert A | 5 x 10 ml |
| ◊ R-2 Clorura ferică | 10 x 5 ml |
| ◊ R-3 Lugol stock | 5 x 5 ml |
| ◊ R-4 Reducător Hypo stock | 1 x 100 ml |
| ◊ R-5 Reactiv van Gieson (picrofucsina) | 1 x 100 ml |

4. PREPARAREA REACTIVILOR DE LUCRU

1. Hematoxilina – Verhoeff : se ia o doză cu R-1, se adaugă o doză cu R-2 se amestecă și apoi se introduce o doză cu R-3 și se omogenizează. Se lasă cca 5 minute la reacționat și se folosește ca atare. Soluția astfel, preparată este valabilă câteva ore după care se varsă.

2.-Soluția de diferențiere: se ia o doză cu R-2 și se amestecă cu 40 mL apă distilată. Se folosește proaspăt preparată ; după câteva ore se varsă.

5. TEHNICA DE LUCRU

- deparafinare și hidratare cu alcool de 95⁰ – apă distilată;
- colorare 30 minute în **hematoxilina Verhoeff**;
- spălare cu apă de robinet pentru îndepărtarea excesului de hematoxilina;
- diferențiere în **soluția de diferențiere** , sub control microscopic al zonei de interes selectată pe lamă, până ce fibrele elastice devin negre pe fond gri ;
- se clătesc cu apă de robinet ;
- se mențin un minut în **soluția reductoare** hypo-stock R-4 ;
- se spală cu apă de robinet pentru îndepărtarea substanțelor chimice reziduale ;
- colorare de contrast 6 minute în R – 5(picrofucsina van Gieson) ;
- deshidratare cu etanol absolut , clarificare în xilen, acoperire cu lamella.
- clarificare în xilen 2 bai, câte trei minute în fiecare baie ;
- montare în balsam sintetic.

6. OBSERVAȚII

- această tehnică este foarte mult folosită. Totuși, este dificilă operația de colorare și examinare pe aceeași secțiune, în același timp, a fibrelor dure cu fibrele fine. Colorarea intensă a fibrelor dure decolorează fibrele fine și invers. În această situație, trebuie să se selecteze zone de interes separate pentru fiecare categorie de fibre;
- nucleele se colorează adecvat dar nu foarte bine.
- la colorare se poate folosi **tehnica în picături**, adică pe zona de interes se depun **10 picături** de reactivi și se lasă la colorat timpul indicat prin tehnica de lucru. În acest mod se face o importantă economie de reactivi.
- la depunerea picăturilor se vor folosi pipete diferite. Se interzice utilizarea aceluși pipete, deoarece reactivii se pot degrada.

7. REZULTATE

- Fibre elastice, nucleii – negru;
- Colagenul – roșu;
- Alte elemente tisulare – galben.

BIBLIOGRAFIE

Luna L –Man. of Histol. Stain. Meth. of the Armed Forces Inst. of Pathology N.Y. (1968) pp. 76