

COLORATION À L'HÉMATOXYLINE-ÉOSINE

Principe

Méthode de coloration de routine en histologie et en cytologie. Il s'agit d'une coloration basée sur deux étapes, la première étant une coloration nucléaire par un colorant basique (hématoxyline) et la seconde, une coloration cytoplasmique par un colorant xanthénique acide (éosine).

L'hématoxyline combinée à des sels d'aluminium, de fer ou de chrome forme un colorant actif, l'hématéine, formé par l'oxydation de l'hématoxyline. Ce colorant est utilisé comme colorant nucléaire, il colore les noyaux bleus/noirs et permet de bien les détailler. Pour cette raison, il est souvent utilisé avec un colorant cytoplasmique, généralement l'éosine, qui apporte un dégradé entre le rose et le rouge aux structures et matrices à caractère cationique (que l'hématoxyline ne colore pas ou très faiblement). Cela donne un bon contraste aux préparations microscopiques, ce qui facilite leur observation.

Matériau

Coupes en paraffine, coupes congelées, matériel cytologique clinique.

Réactifs

| Code | Description |
|--------|--|
| 251299 | Eosine jaunâtre (C.I. 45380) pour le diagnostic clinique (*) |
| 256879 | Eosine jaunâtre solution alcoolique 1% pour le diagnostic clinique (*) |
| 251301 | Solution hydroalcoolique jaunâtre d'éosine à 1 % pour le diagnostic clinique (*) |
| 255298 | Solution d'hématoxyline de Carazzi pour le diagnostic clinique (*) |
| 253949 | Solution d'hématoxyline de Harris pour le diagnostic clinique (*) |
| 256991 | Hématoxyline de Harris solution modifiée pour le diagnostic clinique (*) |
| 252081 | Phloxine B (C.I. 45410) pour le diagnostic clinique |
| 251008 | Acide acétique glacial pour le diagnostic clinique |
| 251769 | Xylène, mélange d'isomères pour le diagnostic clinique (*) |
| 192695 | Éthanol 70 % v/v (BP) qualité pharmaceutique |
| 251085 | Éthanol 96 % v/v pour le diagnostic clinique (*) |
| 251086 | Éthanol absolu pour le diagnostic clinique (*) |
| 253681 | Eukitt [®] , milieu de montage pour le diagnostic clinique |

Préparation des solutions

- Solution mère d'éosine : Dissoudre 1,0 g d'éosine jaunâtre (C.I. 45380) dans de l'eau et compléter à 100,0 ml avec de l'eau.
- Solution mère de Floxin : Dissoudre 1,0 g de Floxin B (C.I. 45410) dans de l'eau et compléter à 100,0 ml avec de l'eau.
- Solution mère d'éosine-floxine : Selon la présentation de l'éosine à utiliser, préparer ce qui suit. Mélanger les composants et bien homogénéiser et conserver à l'abri de la lumière.

1. Avec éosine jaune (C.I. 45380)

| | |
|-------------------------|--------|
| Eosin Stock solution | 10 ml |
| Phloxine Stock solution | 1 ml |
| Ethanol 96% | 78 ml |
| Acetic acid glacial | 0.4 ml |

2. Avec une solution hydroalcoolique jaunâtre d'éosine à 1 %.

| | |
|--|--------|
| Eosine Solution hydroalcoolique jaunâtre 1 | 10 ml |
| Phloxine Solution mère | 1 ml |
| Éthanol 96 | 78 ml |
| Acide acétique gla | 0.4 ml |

3. Avec une solution alcoolique jaunâtre d'éosine à 1 %.

| | |
|----------------------------|-------|
| Solution jaunâtre d'éosine | 10 ml |
| Phloxine Solution mère | 1 ml |
| Eau | 9 ml |

Procédure

| STAGE | REAGENT | TEMPS |
|----------------------|---|----------------------------------|
| Décire | Xylène | 3 x 5 min |
| Hydrater | Éthanol absolu | 7 min |
| | Éthanol à 90 | 7 min |
| | Éthanol 70 | 7 min |
| | Eau distillée | 7 min |
| Tache | Si hématoxyline Harris ou Harris modifiée | 6 min |
| | Si hématoxyline Carazzi | 6-9 min depending on sample size |
| Nettoyer | Eau courante | 5 min |
| Tourner la tache (1) | Acide acétique 2 | 10 – 20 s |
| Nettoyer | Eau courante | 5 min |
| | Éthanol 96 | 1 min |
| Tache | Solution d'éosine et de ploxine | 5 min |
| Déshydrater | Éthanol 70 | 5 s |
| Décire | Éthanol à 90 | 5 s |
| Hydrater | Éthanol absolu | 1 min |
| | Éthanol absolu | 5 min |
| | Xylène | 5 s + 5 min drying |
| | Xylène | 5 min + drying |
| Tache | Milieu de montage | |

⁽¹⁾ Si l'hématoxyline de Carazzi est utilisée, sauter cette étape.

Results

| | Hématoxyline de Harris | Hématoxyline de Harris modifiée | Hématoxyline de Carazzi |
|-----------------|------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| Nuclei (Noyaux) | Bleu intense | Bleuâtre | Bleu-violet clair |
| Cytoplasme et | Différentes nuances de | Différentes nuances | Différents tons de rose |

La tonalité des résultats sera différente selon l'hématoxyline utilisée et non selon l'éosine.

Note technique

Filtrer toute trace de terre présente dans la solution. Le microscope utilisé doit correspondre aux exigences d'un laboratoire de diagnostic clinique. En cas d'utilisation d'un appareil de coloration automatique, il convient de respecter le mode d'emploi du fabricant de l'appareil et du logiciel.

Préparation de l'échantillon

Tous les échantillons doivent être traités en fonction de l'état de la technologie. Tous les échantillons doivent être étiquetés sans ambiguïté.

Diagnostics

Le diagnostic ne doit être établi que par des personnes autorisées et qualifiées. Chaque application doit faire l'objet de contrôles appropriés afin d'exclure les résultats erronés.

Stockage

La solution de coloration doit être conservée à température ambiante.

Expiration

Le produit conservé à la température indiquée et dans un récipient bien fermé est utilisable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.

Notes sur l'utilisation

Pour éviter les erreurs, la coloration doit être effectuée par du personnel spécialisé. Réserve à un usage professionnel. Les directives nationales en matière de sécurité au travail et d'assurance qualité doivent être respectées.

Conseils sur l'élimination des déchets

Les solutions utilisées et périmées doivent être éliminées comme des déchets dangereux et les réglementations locales en matière d'élimination des déchets doivent être respectées. Si vous avez d'autres questions concernant l'élimination, vous pouvez les poser par courrier électronique à l'adresse suivante : info.es@itwreagents.com. Au sein de l'UE, les exigences basées sur la directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des substances dangereuses sont valables dans la version pertinente.

Classification des substances dangereuses

Respecter la classification des substances dangereuses figurant sur l'étiquette et les informations de la fiche de données de sécurité.

Fabricant

Panreac Química S.L.U.

an ITW Company

C/Garraf, 2 – Polígono Pla de la Bruguera

E-08211 Castellar del Vallès

(Barcelona) España

Tel. (+34) 937 489 400

Fax (+34) 937 489 401

(*) Certifié CE selon IVDR 2017/746, pour un usage professionnel.

