

INDICATION

Les solutions d'hématoxyline de Harris sont des colorants nucléaires destinés à être utilisés en histologie et en cytologie. Les solutions d'hématoxyline de Harris sont destinées à un « Usage diagnostique in vitro ».

L'hématoxyline, un colorant nucléaire commun, est isolée à partir d'un extrait de bois de campêche (Haematoxylon campechianum).¹ La première application biologique d'hématoxyline réussie a été décrite par Bohmer¹ en 1865. Depuis, de nombreuses formules sont apparues. Parmi celles-ci, celles de Harris, de Gill, de Mayer et de Weigert sont devenues populaires.

Avant d'être utilisée comme colorant nucléaire, l'hématoxyline doit être oxydée en hémateïne et combinée avec un ion métallique (mordant). Les mordants les plus efficaces sont les sels d'aluminium ou de fer.

Les solutions d'hématoxyline sont des colorants régressifs destinés à être utilisés en histologie et en cytologie. Le composé d'hémateïne d'aluminium à charge positive se combine avec la phosphatase à charge négative de l'ADN nucléaire, formant la couleur bleue violette caractéristique des colorations à l'hématoxyline.

La solution d'hématoxyline de Harris peut également être utilisée avec les procédures de coloration de Papanicolaou en cytologie. Voir la procédure Sigma-Aldrich N° HT40.

RÉACTIF

SOLUTION D'HÉMATOXYLINE DE HARRIS, référence N° HHS

Hématoxyline certifiée, 7,0 g/l, iodate de sodium, sulfate double d'aluminium et d'ammonium, 12 H₂O, conservateur et stabilisants.

CONSERVATION ET STABILITÉ :

Conserver le réactif à température ambiante (entre 18 et 26 °C), à l'abri de la lumière. Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette.

ALTÉRATION :

Éliminer si le temps de coloration devient trop long ou si la solution vire de la couleur prune au bleu ou au marron.

PRÉPARATION :

Filter la solution d'hématoxyline de Harris avant toute utilisation.

PRÉCAUTIONS :

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour les dernières informations sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Informations sur les risques ou la sécurité (Etats-Unis)

Éviter tout contact avec et inhalation de la solution d'hématoxyline de Harris. Organes cibles : cœur et nerfs.

L'alcool réactif est INFLAMMABLE et IRRITANT. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Conserver le récipient bien fermé. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés. Organes cibles : nerfs et foie.

Substitut d'eau de Scott. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

La solution de différenciation ACCUMATE™ est CORROSIVE et INFLAMMABLE. Provoque des brûlures. Porter des vêtements protecteurs appropriés. Tenir éloignée des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin.

Les solutions d'éosine alcoolique sont INFLAMMABLES et NOCIVES. Nocives par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Nocives : risques d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Tenir éloignées des sources d'ignition – défense de fumer. Porter des vêtements protecteurs et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

Solution d'éosine aqueuse. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Le xylène est INFLAMMABLE et IRRITANT. Risques possibles de diminution de la fertilité. Peut être dangereux pour le fœtus. Nocif par inhalation et en cas de contact avec la peau. Irritation du système respiratoire et de la peau. Risques de lésions oculaires graves. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, ainsi qu'une protection du visage et des yeux adaptés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible). La solution d'acide chlorhydrique est TOXIQUE. Toxique en cas d'inhalation. Provoque des brûlures. Irritation du système respiratoire. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

Informations sur les risques ou la sécurité (Europe)

Solution d'hématoxyline de Harris. Ne pas respirer les vapeurs. Éviter tout contact avec la peau et les yeux.

L'alcool réactif est HAUTEMENT INFLAMMABLE et IRRITANT. Hautement

inflammable. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Conserver le récipient bien fermé. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés.

Substitut d'eau de Scott. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

La solution de différenciation ACCUMATE™ est TOXIQUE. Inflammable. Provoque des brûlures. Tenir éloignée des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

Les solutions d'éosine alcoolique sont HAUTEMENT INFLAMMABLES et NOCIVES. Hautement inflammables. Nocives par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Nocives : risques d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Tenir éloignées des sources d'ignition – défense de fumer. Porter des vêtements protecteurs et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

Solution d'éosine aqueuse. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Le xylène est NOCIF. Inflammable. Nocif par inhalation et en cas de contact avec la peau. Irritation de la peau. Éviter tout contact avec les yeux.

La solution d'acide chlorhydrique est CORROSIVE. Provoque des brûlures. Irritation du système respiratoire. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, et se protéger les yeux et le visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

PROTOCOLE

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément aux directives du Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale M29-A2. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Les textes sur l'histologie standard fournissent les détails nécessaires pour le prélèvement et la conservation des échantillons.^{2,3}

MATÉRIELS SPECIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :

Solution de différenciation ACCUMATE™, référence N° A 3179 ou A 3429

Colorants de contraste à base de solution d'éosine Y :

Alcoolique, référence N° HT110-1

OU

Aqueuse, référence N° HT110-2

OU

Alcoolique avec phloxine, référence N° HT110-3

Alcool réactif OU éthanol, 100%

Substitut concentré d'eau de Scott

Xylène

Acide chlorhydrique, concentré

Microscope, lames de microscope, lamelles et cuves à coloration

REMARQUES :

1. Les temps de coloration peuvent varier selon les préférences de couleurs personnelles.
2. D'autres solutions alcalines diluées peuvent être utilisées à la place du Substitut d'eau de Scott.
3. Une solution d'alcool acide à 0,25 % peut être utilisée à la place de la Solution de différenciation ACCUMATE™. Préparer en ajoutant 0,25 ml d'acide chlorhydrique concentré à 100 ml d'alcool à 70 %.
4. Les temps indiqués dans cette notice sont approximatifs. Les préférences personnelles peuvent varier et les temps peuvent être ajustés en fonction des préférences personnelles. Les solutions de coloration très utilisées perdront leur pouvoir de coloration et les temps de colorations devront être prolongés ou de nouvelles solutions devront être utilisées.⁴
5. Certaines ressources d'eau du robinet sont acides et ne peuvent être utilisées dans la partie « bleuissement » de ce protocole. Si l'eau du robinet est acide, utiliser une solution alcaline diluée.
6. Des noyaux de couleur pourpre ou rouge marron sont le signe d'un « bleuissement » inadéquat.
7. Si la coloration à l'éosine est excessive, la coloration nucléaire peut être masquée. Une coloration à l'éosine adéquate doit démontrer un effet à trois tons. Pour accroître la différenciation de l'éosine, prolonger le temps de réaction aux alcools ou utiliser un premier alcool plus riche en eau. Les temps de réaction aux alcools peuvent être ajustés pour obtenir le degré de coloration à l'éosine recherché.
8. Des lames au contrôle positif doivent être incluses dans chaque test.
9. Les données obtenues avec cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement avec d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

PROTOCOLE :

1. Préparer une solution d'alcool à 95 % en ajoutant 5 ml d'eau déminéralisée à 95 ml d'alcool réactif, N° 8382, ou d'éthanol (100 %).
2. Préparer une solution de Substitut d'eau de Scott comme indiqué sur l'étiquette du flacon.
3. Déparaffiner à l'eau ou fixer et déshydrater les parties congelées.
4. Colorer dans une solution d'hématoxyline de Harris.....2,0 à 2,5 min.
5. Rincer la lame sous l'eau du robinet.
6. Solution de différenciation ACCUMATE™ 1 à 2 bains.
7. Rincer la lame sous l'eau du robinet.
8. Bleuir dans un Substitut d'eau de Scott.....5 à 60 secs.
9. Alcool réactif, 95%30 sec.
10. Colorant de contraste à base de solution d'éosine Y :
Alcoolique, N° HT110-1
OU
Alcoolique avec phloxine, N° HT110-330 à 60 secs.
11. Déshydrater, nettoyer et monter.

PERFORMANCE

RÉSULTATS ATTENDUS :

La chromatine nucléaire doit être bleue. Les noyaux doivent être bien visibles et leur contour doit être bien démarqué. Le cytoplasme présentera plusieurs teintes allant du rose au rose orangé selon le colorant de contraste utilisé et les globules rouges seront rouges.

Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le Service Technique d'Assistance Sigma-Aldrich.

RÉFÉRENCES

1. Natural Dyes, IN J Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens Co., Baltimore, MD, 1977, pp 468, 472
2. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., DC Sheehan, BB Hrapchak, Editors, CV Mosby Co., St. Louis, MO, 1980
3. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., LG Luna, Editor, McGraw Hill, New York, 1968
4. Theory and Practice of Histological Techniques, Edited by Bancroft JD and Gamble, M, Churchill Livingstone, New York, 2002, p129

Sigma-Aldrich, Inc. garantit la conformité de ses produits aux informations contenues dans cette notice et dans les autres notices Sigma-Aldrich. L'utilisateur doit s'assurer que le(s) produit(s) est/sont adapté(s) à l'utilisation qu'il souhaite en faire. D'autres conditions générales peuvent s'appliquer. Voir au verso de la facture ou du bordereau de commande les conditions de vente et autres informations.

Protocole N° HHS
Révision précédente : 2003-03
Révision : 2003-09



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham, TW20 9BD Royaume-Uni

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 Etats-Unis +1 314 771 5765

Assistance technique : appeler en PCV au +1 314 771 3122

ou adresser un email à clintech@sial.com

Pour commander : appeler en PCV au +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Allemagne 49-7329-970