

INDICATION

Les solutions d'hématoxyline de Gill sont des colorants nucléaires destinés à être utilisés en histologie et en cytologie. Les solutions d'hématoxyline, Gill Nos 1, 2 et 3 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.

En général, les hématoxylines sont classées comme progressives ou régressives en fonction de leur concentration en colorant. Les colorants progressifs (par ex : l'hématoxyline de Mayer) ont une concentration en colorant plus faible et colorent sélectivement la chromatine nucléaire. L'intensité désirée est fonction du temps. Les colorants régressifs (par ex : l'hématoxyline de Harris) colorent intensément toutes les structures nucléaires et cytoplasmiques. Pour obtenir une réponse chromatique correcte, le colorant excessif doit être retiré par un traitement à base d'acide dilué (différenciation).

La formulation de Gill N° 1 est utilisée comme un colorant cytologique progressif, les formulations de Gill N° 2 et N° 3 peuvent être utilisées comme des colorants progressifs ou régressifs selon la durée du temps de coloration. Ces solutions d'hématoxyline sont fabriquées comme de l'hématoxyline semi-oxydée ; mordancées avec de l'aluminium et stabilisées avec des glycoles. Le composé d'hémateïne d'aluminium à charge positive se combine avec les groupes de phosphate à charge négative de l'ADN nucléaire, formant la couleur bleue violette caractéristique des colorations à l'hématoxyline.

RÉACTIFS

SOLUTION D'HÉMATOXYLINE, GILL N° 1, référence N°GHS-1

Hématoxyline certifiée, 2 g/l, iodate de sodium, 0,2 g/l, sulfate d'aluminium, 17,6 g/l et stabilisants.

SOLUTION D'HÉMATOXYLINE, GILL N° 2, référence N°GHS-2

Hématoxyline certifiée, 4 g/l, iodate de sodium, 0,4 g/l, sulfate d'aluminium, 35,2 g/l et stabilisants.

SOLUTION D'HÉMATOXYLINE, GILL N° 3, référence N°GHS-3

Hématoxyline certifiée, 6 g/l, iodate de sodium, 0,6 g/l, sulfate d'aluminium, 52,8 g/l et stabilisants.

CONSERVATION ET STABILITÉ :

Conservé les réactifs à température ambiante (entre 18 et 26°C), à l'abri de la lumière. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette.

ALTÉRATION :

Éliminer si les solutions virent au brun (trop oxydées par l'air) ou au pourpre (perte d'acidité).

PRÉPARATION :

Les solutions d'hématoxyline, Gill Nos 1, 2 et 3 sont prêtes à l'emploi.

Le Substitut d'eau de Scott se prépare en diluant 1 volume de concentré de Substitut d'eau de Scott dans 9 volumes d'eau déminéralisée.

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 et la sécurité (Etats-Unis)

Les solutions d'hématoxyline de Gill sont NOCIVES. Nocives en cas d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. 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 : foie et reins.

L'alcool réactif est INFLAMMABLE et IRRITANT. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Conservé 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 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. Organes cibles : yeux et reins.

Les solutions d'éosine alcooliques, le colorant de Papanicolaou OG 6, les solutions de coloration Papanicolaou (modifiées EA, EA50 et EA65) sont INFLAMMABLES et NOCIFS. Hautement inflammables. Nocifs par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Nocifs : risques d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Tenir éloignés 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.

La solution de Gill modifiée EA est INFLAMMABLE et IRRITANTE. Nocive par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Toxique : risques d'effets irréversibles très graves en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Tenir éloignée des sources d'ignition – défense de fumer. Éviter tout contact avec la peau. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible). Organes cibles : nerfs et yeux.

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).

Le substitut de xylène est INFLAMMABLE et IRRITANT. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. 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, et se protéger les yeux et le visage. Organes cibles : nerfs et reins.

Informations sur les risques ou la sécurité (Europe)

Les solutions d'hématoxyline sont NOCIVES. Nocives en cas d'ingestion. Irritation des yeux. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés.

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 alcooliques, le colorant de Papanicolaou OG 6, les solutions de coloration Papanicolaou (modifiées EA, EA50 et EA65) sont HAUTEMENT INFLAMMABLES et NOCIFS. Hautement inflammables. Nocifs par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Nocifs : risques d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Tenir éloignés 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.

La solution Gill modifiée EA est HAUTEMENT INFLAMMABLE et TOXIQUE. Hautement inflammable. Nocive par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Toxique : risques d'effets irréversibles très graves en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. 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. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

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

Le substitut de xylène est HAUTEMENT INFLAMMABLE et IRRITANT. Hautement inflammable. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. 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, et se protéger les yeux et le visage.

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 tissu ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissu doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Les textes sur l'histologie standard fournissent les détails nécessaires.^{2,3}

MATÉRIELS SPÉCIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :

SOLUTION DE DIFFÉRENCIATION ACCUMATE™, références Nos A 3179, A 3304 et A 3429

COLORANTS DE CONTRASTE

(le choix dépend de l'échantillon et de la préférence individuelle) :

SOLUTION D'ÉOSINE, ALCOOLIQUE, référence N° HT110-1

SOLUTION D'ÉOSINE, AQUEUSE, référence N° HT110-2

SOLUTION D'ÉOSINE, ALCOOLIQUE AVEC PHLOXINE, référence N° HT110-3

COLORANT DE PAPANICOLAOU OG 6, référence N° HT40-1

COLORANT DE PAPANICOLAOU, modifié EA, référence N° HT40-2

COLORANT DE PAPANICOLAOU EA 50, référence N° HT40-3

COLORANT DE PAPANICOLAOU EA 65, référence N° HT40-4

SOLUTION DE GILL MODIFIÉE EA, référence N° 391-5

ALCOOL RÉACTIF, référence N° 8382

OU

ÉTHANOL à 100 %

REMARQUE : Une dilution (95 %) d'alcool réactif ou d'éthanol est également nécessaire.

SUBSTITUT CONCENTRÉ D'EAU DE SCOTT, référence N° S 5134

XYLÈNE, référence N° 24,764-2

SUBSTITUT DE XYLÈNE, référence N° A 5597

REMARQUES :

1. 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
2. Certaines sources 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.
3. Des noyaux de couleur pourpre ou rouge marron sont le signe d'un « bleuissement » inadéquat.
4. 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.
5. Des lames au contrôle positif doivent être incluses dans chaque test.
6. 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 :

(Préparations cytologiques exfoliatrices colorantes utilisant une Solution d'hématoxyline, Gill N° 1 ou Gill N° 2)

1. Fixer les frottis cytologiques dans de l'éthanol à 95%.....15 minutes
2. Rincer sous un filet d'eau du robinet.30 secondes
3. Colorer dans la solution d'hématoxyline, Gill N° 1 ou Gill N° 2.....1,5 à 3 minutes
4. Rincer sous l'eau du robinet.
5. Substitut d'eau de Scott.....15 à 60 secondes
6. Rincer sous l'eau du robinet.
7. Alcool réactif, 95%10 bains
8. Contre-colorer dans le colorant de Papanicolaou OG 6, référence N° HT40-11,5 minutes
9. Alcool réactif, 95%10 bains
10. Colorant de Papanicolaou EA 50, référence N° HT40-3. **Ou**
Colorant de Papanicolaou EA 65, référence N° HT40-4. **Ou**
Colorant de Papanicolaou modifié EA, référence N° HT40-2. **Ou**
Gill modifié EA, référence N° 391-52,5 à 3 minutes
11. Alcool réactif, 95%, deux changements10 bains chacun
12. Alcool réactif, 100%, deux changements.....1 minute chacun
13. Xylène, deux changements.....2 minutes chacun
14. Recouvrir d'une lamelle et examiner au microscope.

PROTOCOLE 2 :

(Coloration histologique et/ou cytologique à l'aide d'une Solution d'hématoxyline, Gill N° 2 ou Gill N° 3)

1. Déparaffiner à l'eau ou fixer et déshydrater les parties congelées.
2. Colorer dans la solution d'hématoxyline, Gill N° 2 ou Gill N° 3.....1,5 à 3 minutes
3. Laver sous l'eau du robinet.
4. Solution de différenciation ACCUMATE™20 à 60 secondes
5. Laver sous l'eau du robinet.
6. Bleuier dans un Substitut d'eau de Scott5 à 60 secondes
7. Laver sous l'eau du robinet.
8. Contre-colorer :
A usage histologique
Solution d'éosine Y, alcoolique, référence N° HT110-1. **Ou**
Solution d'éosine Y acidifiée, aqueuse, référence N° HT110-2. **Ou**
Solution d'éosine Y, alcoolique, avec phloxine,
référence N° HT110-3.....30 à 60 secondes
A usage cytologique
Colorant de Papanicolaou OG 6, référence N° HT40-3. **Et**
Colorant de Papanicolaou EA 50, référence N° HT40-3. **Ou**
Colorant de Papanicolaou EA 65, référence N° HT40-4. **Ou**
Colorant de Papanicolaou modifié EA, référence N° HT40-2. **Ou**
Solution Gill modifiée EA, référence N° 391-51 à 3 minutes
9. Déshydrater, nettoyer et monter.

PERFORMANCE

RÉSULTATS ATTENDUS :

La chromatine apparaît bleue à bleue noire et les noyaux doivent être bien visibles. La coloration cytoplasmique avec les solutions d'hématoxyline Gill N° 1 et N° 2 doit être pâle ou absente ; la différenciation acide peut donc ne pas être nécessaire. La solution d'hématoxyline de Gill N° 3 doit être considérée comme un colorant régressif.

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

RÉFÉRENCES

1. Natural Dyes. IN HJ Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkins 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° GHS
Révision précédente : 2003-04
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