

INDICATIONS

La solution d'hématoxyline de Mayer est généralement utilisée après une coloration immunohistochimique ou cytochimique comme colorant de contraste nucléaire. Elle peut être également utilisée pour les colorations à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E) standard, mais elle est plus généralement utilisée lorsqu'une différenciation à l'alcool acide, ou une exposition à l'alcool, risque de détruire le composant cytoplasmique.³ La solution d'hématoxyline de Mayer est formulée sans alcool, et ne dissoudra donc pas l'AEC (3-amino-9-éthylcarbazole), la phosphatase alcaline / chromogène Fast Red ni les autres produits colorés solubles. Les solutions d'hématoxyline de Mayer 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 (Haematoxilin campechianum).¹ La première application biologique d'hématoxyline réussie a été décrite par Bohmer¹ en 1865. Mayer introduisit sa préparation en 1903. Depuis, de nombreuses formulations 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 solutions d'hématoxyline 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 de colorant plus faible et colorent sélectivement la chromatine nucléaire sans colorer les structures cytoplasmiques. L'intensité désirée est fonction du temps. Si les temps de coloration sont trop longs, une coloration progressive peut agir de la même manière qu'une solution de coloration régressive. Une coloration effectuée avec des colorants progressifs nécessite généralement plus de temps qu'une coloration effectuée avec des colorants régressifs. Les colorants régressifs (par ex : l'hématoxyline de Harris) colorent intensément tous les composants chromatophiles (nucléaires et cytoplasmiques). Pour obtenir la réponse de coloration correcte, le colorant excessif doit être retiré de la coupe de tissus. Après une différenciation suffisante, une coupe correctement décolorée présente une coloration nucléaire, mais aucune autre structure cytoplasmique ne sera colorée.

L'étape finale de la coloration à l'hématoxyline est le « bleuissement » de la coupe de tissus. Les coupes de tissus sont d'abord colorées en pourpre ou en pourpre rougeâtre. Après une exposition aux solutions alcalines (eau chaude du robinet [si légèrement alcaline], ammoniacale diluée, Substitut d'eau de Scott ou carbonate de lithium), la coupe de tissus prend une couleur bleue caractéristique de la lame colorée à l'hématoxyline.

RÉACTIF

SOLUTION D'HÉMATOXYLINE DE MAYER, référence N° MHS

Hématoxyline certifiée (1,0 g/l), iodate de sodium (0,2 g/l), sulfate double d'aluminium et d'ammonium, 12 H₂O (50 g/l), hydrate de chloral (50 g/l) et acide citrique (1 g/l).

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. Ne pas remettre la solution dans son flacon de conservation après l'avoir utilisée.

ALTÉRATION :

Éliminer si les temps de coloration deviennent trop longs ou si la solution vire au brun.

PRÉPARATION :

Filter la solution d'hématoxyline de Mayer avant toute utilisation. La solution est alors prête à l'emploi.

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)

La solution d'hématoxyline de Mayer est TOXIQUE. Toxique 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 et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible). Organes cibles : nerfs et foie.

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.

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

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 NOCIVE. 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).

Informations sur les risques ou la sécurité (Europe)

La solution d'hématoxyline de Mayer est NOCIVE. Nocive en cas d'ingestion.

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.

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.

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.^{4,5}

MATÉRIELS SPECIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :

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

Alcoolique, référence HT110-1, aqueuse, référence N° HT110-2 ou alcoolique avec phloxine, référence N° HT110-3

Alcool réactif OU éthanol, 100 %

Substitut concentré d'eau de Scott, référence N° S 5134

Xylène ou substitut de xylène.

Microscope, lames de microscope, lamelles et cuves à coloration

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.⁶
2. Des solutions alcalines diluées peuvent être utilisées à la place de l'eau chaude du robinet. Cela diminuera le temps nécessaire à la procédure de coloration. En cas d'utilisation d'une solution alcaline diluée, s'assurer que les lames sont lavées 2 à 3 minutes de plus sous l'eau du robinet avant de procéder à la coloration à l'éosine.
3. 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.
4. Des noyaux de couleur pourpre ou rouge marron sont le signe d'un « bleuissement » inadéquat.
5. 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.
6. Filtrer la solution de coloration de travail tous les jours. Remuer les alcools et le xylène / substitut de xylène tous les jours.
7. Il est déconseillé d'ajouter une nouvelle matière aux solutions de travail appauvries de l'hématoxyline ou de l'éosine de Mayer.
8. Éviter de transférer trop d'eau dans l'hématoxyline de Mayer.
9. Des lames au contrôle positif doivent être incluses dans chaque test.
10. 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 : COLORATION A L'HÉMATOXYLINE ET A L'EOSINE

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. Déparaffiner à l'eau ou fixer et hydrater les parties congelées.
3. Colorer dans une solution d'hématoxyline de Mayer.....15 minutes
4. Rincer sous l'eau chaude du robinet15 minutes

5. Placer dans de l'eau distillée30 secondes
6. Si de l'éosine alcoolique doit être utilisée :
Placer dans de l'alcool réactif, 95 %30 secondes
7. Placer dans un colorant de contraste à base de solution d'éosine Y :
Alcoolique, N° HT110-1,
Aqueuse, N° HT110-2
ou Alcoolique avec phloxine, N° HT110-330-60 secondes
8. Déshydrater et nettoyer avec 2 changements, chacun de
95 % Alcool réactif, alcool réactif absolu, et xylène2 minutes chacun
9. Monter avec un milieu de montage résineux.

PROTOCOLE 2 : COLORANT DE CONTRASTE NUCLEAIRE POUR COLORANTS SPECIAUX

1. Compléter la procédure de coloration individuelle.
2. Rincer dans de l'eau déminéralisée.
3. Colorer dans une solution d'hématoxyline de Mayer pendant 1 à 5 minutes.
4. Rincer sous l'eau du robinet ou dans une solution alcaline diluée jusqu'à ce que les noyaux soient bleus.
5. Rincer dans de l'eau déminéralisée.
6. Si une partie du colorant est soluble dans l'alcool, monter dans un milieu de montage aqueux. Si le colorant est insoluble dans l'alcool, déshydrater dans l'alcool, nettoyer dans du xylène ou du substitut de xylène et monter dans un milieu de montage résineux.

PERFORMANCE

RÉSULTATS ATTENDUS

La chromatine nucléaire doit être bleue. Les noyaux doivent être visibles. Le cytoplasme montrera 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. Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams and Wilkens Co., Baltimore (MD), pp 468, 472, 1977
2. Mayer P, (1903) Notiz über Hämatein und Hämalan. Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, 20, 409
3. Theory and Practice of Histological Techniques, 2nd ed., Bancroft JD and Stevens A, Editors, Churchill Livingstone, New York (NY), page 111, 1982
4. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., Sheehan DC, Hrapchak BB, Editors, CV Mosby Co, St Louis (MO) 1980
5. Laboratory Methods in Histotechnology of the Armed Forces Institute of Pathology, 4th ed., Prophet EB, Mills B, Arrington JB and Sobin LH, Editors, American Registry of Pathology, Washington DC 1992
6. 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° MHS
Révision précédente : 2003-05



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