

TRAITEMENT HISTOLOGIQUE: CLARIFICATION

Principe

Si la substance choisie pour inclure l'échantillon est la paraffine, le traitement comporte trois étapes: la déshydratation, la clarification et l'infiltration (ou imprégnation), des étapes séquentielles visant à éliminer toute l'eau qui peut être extraite du tissu.

Pour l'étape de déshydratation, les alcools sont préférés, les agents tels que le Xylène et/ou ses substitués tels que le Citrosol et l'Isoparaffine H (mélange d'hydrocarbures aromatiques) sont utilisés pour l'étape de clarification.

Si l'Isoparaffine H est utilisée à la place du Xylène, aucun changement de méthode n'est nécessaire, il est également possible de travailler avec les mêmes temps pour les différentes étapes du travail. En outre, l'isoparaffine H réagit avec l'eau ou des traces d'eau, et se trouble plus nettement que le xylène, ce qui est lié à la structure de l'isoparaffine H. Il faut donc veiller à ne pas utiliser de solvants de qualité technique en même temps que l'isoparaffine H.

Matériau

Échantillons histologiques

Réactifs

- Réactifs de clarification:

Code	Description
251769	Xylène, mélange d'isomères pour le diagnostic clinique (*)
255069	Isoparaffine H (substitut du xylène) pour le diagnostic clinique (*)
253139	Citrosol (substitut du xylène) pour le diagnostic clinique (*)

- Autres réactifs :

Code	Description
253211	Pastilles de paraffine M.P. 56-58°C pour le diagnostic clinique (*)
256993	Paraffine M.P. 55-58°C plastifiée + DMSO pour diagnostic clinique (*)
252931	Formaldéhyde 3,7-4,0% p/v tamponné à pH=7 et stabilisé avec du méthanol 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 (*)

Préparation de l'échantillon

Les échantillons sont fixés dans une solution de formaldéhyde à 4 %, en fonction de leur taille et de leurs caractéristiques. Ils sont ensuite lavés soigneusement à l'eau courante.

Technique

Traitement histologique : Les échantillons, une fois fixés, sont soigneusement déshydratés à l'alcool. L'alcool est éliminé par traitement avec des intermédiaires solubles dans l'alcool et de la paraffine. Le tissu est ainsi complètement imprégné de paraffine et, après inclusion dans un bloc, peut être mieux découpé.

Temps de solution

Stade	Bains	Temps de traitement
Fixation	Formol	
Déshydratation	Éthanol 70 %	2 heures
	Éthanol 96 %	2 heures
	Éthanol absolu	2 heures
	Éthanol absolu	1 heure
	Éthanol absolu	1 heure
Clarification	Xylène/Citrosol/Isoparaffine H	1 heure
	Xylène/Citrosol/Isoparaffine H	1 heure
	Xylène/Citrosol/Isoparaffine H	1 heure
Inclusion	Paraffine	1 heure
	Paraffine	1 heure
	Paraffine	2 heures

Les temps de traitement dans chaque bain dépendent du type et de la taille de l'échantillon. Une fois la paraffine solidifiée, le moule est séparé, produisant un bloc de paraffine prêt à être découpé en fines sections dans un microtome. Les échantillons inclus dans la paraffine (blocs) sont conservés dans un endroit réfrigéré, car cela améliore la capacité de coupe. Le chauffage de la lame améliore la capacité de coupe.

Résultats

À partir des échantillons ainsi préparés, de fines coupes sont réalisées au microtome, appelées coupes en paraffine. Les coupes sont déparaffinées, réhydratées puis colorées, selon la procédure histologique appropriée à chaque cas.

Note technique

Le mode d'utilisation du processeur histologique et les SOP internes du laboratoire doivent être respectés pour chaque changement de bain. Respecter le mode d'emploi des appareils et les instructions d'entretien. Contrôler régulièrement les bains. Les changer régulièrement ; leur opacification ou la perception de l'odeur d'un liquide de clarification dans le dernier bain de paraffine indique la nécessité de les changer. Veiller à maintenir la température optimale de fonctionnement des bains de paraffine (4°C au-dessus du point de solidification). Maintenir la qualité minimale adéquate des solvants. Ne pas trop remplir les cassettes de paraffine.

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

Le produit doit être conservé à température ambiante.

Expiration

Le produit conservé à température ambiante 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 technique doit être effectuée par du personnel qualifié. Réserve à un usage professionnel. Les directives nationales en matière de sécurité du travail et d'assurance qualité doivent être respectées. Avant utilisation, consulter la fiche de données de sécurité.

Conseils sur l'élimination des déchets

Les solutions utilisées et périmées doivent être éliminées comme des déchets dangereux conformément aux réglementations locales en matière d'élimination des déchets. Si vous avez d'autres questions concernant l'élimination ou la procédure, veuillez nous contacter par e-mail : info.es@itwreagents.com. Au sein de l'UE, les réglementations basées sur le règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE, et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006 relatif à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des substances dangereuses, dans sa version actuelle, s'appliquent.

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.

