

SOLUTION D'HÉMATOXYLINE DE MAYER

Principe

L'hématoxyline de Mayer est l'un des types d'hématoxyline normalement utilisés dans les colorations à l'hématoxyline-éosine. Son mode de coloration est progressif, c'est-à-dire que plus elle reste longtemps dans la solution de coloration, plus la coloration du tissu est importante.

En particulier, l'hématoxyline de Mayer a une action très spécifique sur le noyau lorsqu'un processus progressif est utilisé, notamment dans les situations où une coloration nucléaire est nécessaire pour mettre en évidence un composant cytoplasmique, qui a été démontré par une coloration spéciale et où la différenciation acide/alcool peut détruire ou décolorer le composant cytoplasmique coloré. Il est utilisé comme coloration nucléaire dans la mise en évidence du glycogène dans diverses techniques enzymatiques histochimiques.

L'hématoxyline de Mayer est généralement utilisée progressivement, bien qu'elle puisse également être utilisée rétroactivement. Dans une coloration progressive, l'échantillon est coloré jusqu'au point qui intéresse l'opérateur, en le vérifiant au microscope ou, une fois qu'il a été normalisé, simplement par le temps de coloration.

Après la coloration, la couleur obtenue est rouge bordeaux, au lieu du bleu-violet classique et attendu des préparations colorées à l'hématéine. À un pH acide, l'hématéine est rouge, mais à un pH légèrement basique, sa couleur passe au bleu-violet. Ce phénomène est appelé "bleuissement" et peut être obtenu en recouvrant la préparation avec des solutions légèrement alcalines ou, plus couramment, avec de l'eau du robinet bon marché et pratique.

À ce stade, la préparation présente, grosso modo, un grand nombre de noyaux cellulaires et il est très difficile de distinguer les cellules auxquelles ils appartiennent. Il devient nécessaire d'utiliser un colorant de contraste pour colorer les structures non marquées par l'hématéine. L'éosine est le colorant le plus courant, car il colore les cytoplasmes, les matrices cellulaires et les érythrocytes, entre autres, en offrant toute une gamme de tons roses et rouges.

Matériau

Coupes paraffiniques, coupes congelées, matériel cytologique Clinique

Réactifs

Code	Description
251299	Eosin Jaunâtre (C.I. 45380) pour le diagnostic clinique (*)
256879	Eosin Yellowish solution alcoolique 1% pour le diagnostic clinique (*)
251301	Eosin Jaunâtre solution hydroalcoolique 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	Ethanol absolu pour le diagnostic clinique (*)
253681	Eukitt [®] , milieu de montage pour le diagnostic clinique

Procédure

1. Solution 1: Dissolve 1.0 g of yellowish eosin in water and dilute to 100.0 ml with distilled water.
2. Solution 2: dissolve 1.0 g of Floxin in water and dilute to 100.0 ml with water.

Décirage des échantillons :

3. Tremper la préparation dans le récipient 1 de xylène pendant 5 minutes.
4. Tremper la préparation dans le Xylène Contendor 2 pendant 5 minutes.
5. Tremper la préparation dans le Xylène Contendor 3 pendant 5 minutes.

Préparation à l'hydratation

6. Tremper la préparation dans le récipient 1 d'éthanol absolu pendant 7 minutes.
7. Tremper la préparation dans de l'éthanol à 90 % pendant 7 minutes.
8. Tremper la préparation dans de l'éthanol à 70 % pendant 7 minutes.
9. Tremper la préparation dans de l'eau distillée pendant 7 minutes.

Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine [1][3]

10. À l'aide du compte-gouttes, doser la quantité d'échantillon nécessaire pour couvrir la préparation (4-5 gouttes) et laisser agir pendant 10 à 15 minutes, en fonction de la taille de l'échantillon.
11. Immerger la préparation dans de l'éthanol à 70 % pendant 10 secondes.
12. Immerger la préparation dans de l'éthanol à 70 % pendant 10 secondes.
13. Tremper dans l'eau du robinet jusqu'à ce qu'il devienne bleu pendant 10 à 15 minutes.
14. Laisser égoutter quelques secondes et immerger la préparation dans le réactif éosine-floxine pendant 10 minutes.
15. Laver à l'eau du robinet pendant 1 à 5 minutes

Déshydratation de la préparation, rinçage et assemblage

16. Plonger la préparation dans de l'éthanol à 70 % pendant 5 secondes.
17. Tremper la préparation dans de l'éthanol à 90 % pendant 5 secondes.
18. Plonger la préparation dans le récipient 2 d'éthanol absolu pendant 1 minute.

19. Tremper la préparation dans le récipient 1 d'éthanol absolu pendant 5 minutes,
20. Immerger la préparation dans le récipient 3 de xylène pendant 5 secondes.
21. Laisser sécher pendant 5 minutes.
22. Tremper la préparation dans le récipient de xylène 2 pendant 5 minutes.
23. Tremper la préparation dans le récipient de xylène 1 pendant 5 minutes.
24. Laisser sécher quelques minutes.
25. Assembler avec une lamelle couvre-objet et un milieu de montage. Laisser sécher pendant un certain temps pour s'assurer que le milieu de montage est complètement solidifié et que la lamelle couvre-objet est fermement fixée à la lame.
26. Observer la coloration réalisée au microscope. Les objectifs utilisés doivent être 10x et 40x.

Résultats

Nuclei (Noyaux)	Bleu
Cytoplasme et matrice extracellulaire	Différentes nuances de rose à rouge

Note technique

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 conformément à l'état de la technique. 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. Réservé 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.

