

588X-75**588X-86****592-75****R03040-74****Microscopie****Harleco®****Solution alcoolique d'éosine Y****Solution aqueuse d'éosine Y****Solution aqueuse de coloration à l'éosine à 5 %****IVD**Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Utilisation prévue

Les solutions alcoolique et aqueuse d'éosine Y Harleco® sont prévues pour la contre-coloration d'usage général. Les solutions d'éosine Y sont prévues pour le diagnostic *in vitro* uniquement.

L'éosine Y est le colorant cytoplasmique le plus couramment utilisé¹. Elle est utilisée en association avec des colorants basiques bleus, et lorsqu'il s'agit de l'hématoxyline, on parle de coloration HE (hématoxyline-éosine).

L'éosine Y est un colorant acide qui interagit avec les protéines cellulaires riches en acides aminés basiques. Un complexe colorant-protéine se forme, de couleur rose vif caractéristique.

Principe

La procédure de coloration la plus couramment utilisée pour l'évaluation générale de la morphologie tissulaire est la méthode à l'hématoxyline et à l'éosine (coloration HE ou H&E)². Elle s'utilise principalement pour différencier le noyau du cytoplasme cellulaire et pour faire la distinction entre divers types de tissus. La modification de Harris pour l'hématoxyline consiste à utiliser le sulfate d'aluminium et de potassium comme mordant³.

Lors de la première étape, le colorant nucléaire, de charge positive (hématoxyline), se lie aux groupes phosphate, de charge négative, présents dans les acides nucléiques du noyau. Le noyau est coloré en bleu foncé à violet foncé. La deuxième étape consiste à contre-colorer à l'aide de colorants anioniques xanthènes de charge négative (éosine Y, éosine B ou érythrosine B). Ces derniers se lient aux protéines plasmatiques de charge positive. Le cytoplasme et les substances intercellulaires prennent une couleur rouge à rose, alors que les érythrocytes sont colorés en jaune à orange. Cela produit la coloration caractéristique, avec le noyau en bleu-violet et le cytoplasme en rose, permettant la différenciation des cellules.

Échantillons

Coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (de 3-4 µm d'épaisseur) ou coupes congelées, et échantillons cytologiques cliniques.

Réactifs

Réf. 588X	1 l ; 10 l
Solution alcoolique d'éosine Y Harleco®	
Réf. 592	1 l
Solution aqueuse d'éosine Y Harleco®	
Réf. R03040	500 ml
Solution aqueuse de coloration à l'éosine à 5 %	

Autre matériel requis :

Réf. GHS316	500 ml
Solution d'hématoxyline de Gill n° 3	
Réf. 534056	500 ml, 4 l, 18 l, 4x4 l
Xylènes	
Réf. R8382	1 gallon (3,8 l)
Alcool, de qualité réactif	
Réf. 1.00063	0,5 l, 1 l, 2,5 l, 25 l
Acide acétique glacial	
Réf. S5134	100 ml
Concentré de substitut d'eau du robinet de Scott	
Réf. A3179	1 l
Solution d'alcool acide pour la différenciation	

Préparation des échantillons

La solution alcoolique d'éosine Y, la solution aqueuse d'éosine Y, la solution aqueuse de coloration à l'éosine à 5 % et la solution d'hématoxyline modifiée de Harris doivent être filtrées avant utilisation. Les solutions d'hématoxyline de Gill 1, 2 et 3 sont prêtes à l'emploi.

Les préparations acidifiées de solution aqueuse d'éosine Y ou de solution aqueuse de coloration à l'éosine à 5 % sont effectuées en ajoutant lentement un volume maximal de 0,5 ml d'acide acétique glacial par 100 ml de colorant.

Procédures de marquage

SOLUTION ALCOOLIQUE D'ÉOSINE Y

1. Déparaffiner les coupes en présence d'eau ou fixer et hydrater les coupes congelées.
2. Colorer à l'hématoxyline.
3. Rincer les lames à l'eau du robinet.
4. Procéder à la différenciation si une hématoxyline régressive est utilisée. Rincer les lames sous un filet d'eau du robinet.
5. Faire bleuir les lames dans le substitut d'eau du robinet de Scott.
6. Rincer les lames sous un filet d'eau du robinet.
7. Rincer les lames dans du méthanol à 95 % ou de l'alcool de qualité réactif pendant 30 secondes.
8. Réaliser la contre-coloration avec la solution alcoolique d'éosine Y (30 secondes à 3 minutes).
9. Déshydrater, clarifier et monter.

SOLUTION AQUEUSE D'ÉOSINE Y ET SOLUTION AQUEUSE DE COLORATION À L'ÉOSINE À 5 %

1. Déparaffiner les coupes en présence d'eau ou fixer et hydrater les coupes congelées.
2. Colorer à l'hématoxyline.
3. Rincer les lames à l'eau du robinet.

4. Procéder à la différenciation si une hématoxyline régressive est utilisée. Rincer les lames sous un filet d'eau du robinet.

5. Faire bleuir les lames dans le substitut d'eau du robinet de Scott.

6. Rincer les lames sous un filet d'eau du robinet.

7. Les solutions aqueuses d'éosine Y ou de coloration à l'éosine à 5 % peuvent être acidifiées en ajoutant un volume maximal de 0,5 ml d'acide acétique glacial par 100 ml de colorant.

8. Réaliser la contre-coloration avec la solution aqueuse d'éosine Y acidifiée ou avec la solution aqueuse de coloration à l'éosine à 5 % acidifiée (30 secondes à 3 minutes).

9. Déshydrater, clarifier et monter.

Résultats

Le cytoplasme doit être de couleur rose à rouge. Les noyaux doivent être de couleur bleue à bleue noirâtre, selon l'hématoxyline utilisée.

Si les résultats observés sont différents de ceux attendus, veuillez contacter le service technique de Sigma-Aldrich.

Diagnostic

Le diagnostic doit être effectué exclusivement par un personnel formé et agréé. Une nomenclature valide doit être utilisée. Des tests complémentaires doivent être sélectionnés et réalisés selon des méthodes reconnues. Des témoins adéquats doivent être effectués pour chaque application.

Stockage

15-30 °C

Durée de conservation

Les solutions d'éosine peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.

À partir du moment où le flacon est ouvert pour la première fois, son contenu peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée s'il est conservé entre 15 et 30 °C.

Les flacons doivent toujours être fermés hermétiquement.

Instructions supplémentaires

À usage professionnel uniquement.

La procédure doit être réalisée par un personnel qualifié uniquement.

Les directives nationales de sécurité sur le lieu de travail et d'assurance qualité doivent être suivies.

Des microscopes équipés selon les normes en vigueur doivent être utilisés.

Protection contre les infections

Des mesures efficaces doivent être prises pour éviter les infections dans le cadre des directives de laboratoire.

Instructions d'élimination

L'emballage doit être éliminé selon les directives en vigueur. Les solutions usagées et celles qui ont dépassé la durée de conservation doivent être éliminées en tant que déchets spéciaux conformément aux directives locales.

Réactifs auxiliaires

Réf. 64969	Milieu de montage Krystalon™ Harleco®	50 ml, 500 ml
Réf. 104699	Huile à immersion pour la microscopie	100 ml, 500 ml

Classification des risques

Réf. 588X, 592, R03040

Veuillez respecter la classification des risques imprimée sur l'étiquette et les informations contenues dans la fiche de données de sécurité. La fiche de données de sécurité est disponible sur le site Internet et sur demande.

Bibliographie

1. Natural Dyes, In HJ Conn's Biological Stains, 9th ed., RD Lillie, Editor, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1977, p 342
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W., and Kiernan, J.A.) BIOS, 2002
3. Harris, H. F. (1900). "On the rapid conversion of haematoxylin into haematein in staining reactions". Journal of Applied Microscopic Laboratory Methods. **3** (3): 777.

Marques commerciales

Harleco® est une marque déposée de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

Krystalon™ est une marque de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Statut : 17/09/2020

20522344



EMD Millipore Corporation
400 Summit Drive
Burlington, MA 01821, USA
Tel. +1-978-715-4321

Millipore
Sigma