

Protocole n° 54

Coloration de Baker

Principe :

Mise en évidence d'un certain nombre de phospholipides. Ceux-ci sont insolubilisés par un pré-traitement au bichromate de potassium suivi d'une fixation formolée. Le chrome fixé sur ces lipides est secondairement visualisé par formation d'une laque d'Hématoxyline.

Produits nécessaires à la coloration :

CryoRAL, aérosol pour congélation instantanée de pièces anatomiques Réf. 361405-	0300 ou 0500 g
Hématoxyline pure Réf. 313500-	0025 g

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Formol - Chlorure de calcium - Bichromate de potassium - Iodate de sodium - Acide acétique - Ferricyanure de potassium - Tétraborate de sodium (10 H₂O) - Gélatine - Crésol - Etuve ou Bain-marie - Glycérogel

Préparation des échantillons :

Les échantillons doivent être préparés conformément aux méthodes en vigueur dans le laboratoire, en l'application de l'Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. n°287 du 11 décembre 1999.

Préparation des solutions :

Solution de Formol-Calcium : Mélanger 10 mL de Formaldéhyde à 36-40% et 1 g de Chlorure de calcium (ou 2 g d'acétate de calcium) dans 90 mL d'eau distillée.

Solution de Bichromate-Calcium : Dissoudre 5 g de Bichromate de potassium et 1 g de Chlorure de calcium anhydre dans 100 mL d'eau distillée.

Solution d'Hématéine Acide : Dissoudre 0,5 g d'Hématoxyline pure dans 48 mL d'eau distillée. Ajouter exactement 1 mL d'une solution à 1% d'iodate de sodium. Chauffer jusqu'à ébullition commençante. Refroidir. Ajouter 1 mL d'acide acétique glacial. Utiliser ce réactif le jour même de sa préparation.

Solution de Borax-Ferricyanure : Dissoudre 0,25 g de Ferricyanure de potassium et 0,25 g de Tétraborate de sodium (10 H₂O) dans 100 mL d'eau distillée. Conserver à l'obscurité et au froid.

Solution de Gélatine : Remuer pendant 1 heure 25 g de gélatine dans 100 mL d'une solution aqueuse à 0,25% de Crésol. Puis chauffer jusqu'à dissolution et filtrer la solution encore chaude.

Mode opératoire :

Veillez lire attentivement l'intégralité des informations qui suivent avant d'utiliser le produit.

Pour réussir cette coloration, il faut respecter rigoureusement les temps et les températures indiqués.

- La pièce est fixée dans le Formol-Calcium pendant 6 à 8 heures, puis transférée dans la solution de Bichromate-Calcium pendant 18 heures à la température du laboratoire.
- Transférer dans un autre bain de Bichromate-Calcium à 60°C et laisser agir 24 heures.
- Bien laver à l'eau courante pendant 6 heures puis à l'eau distillée.
- Couper à congélation.
- Mordancer dans la solution de Bichromate-Calcium à 60°C pendant 1 heure.
- Bien laver dans plusieurs bains d'eau distillée pendant 5 minutes.
- Transférer la coupe dans la solution d'Hématéine Acide à 37°C pendant 5 heures.
- Rincer à l'eau distillée.
- Porter dans la solution de Borax-Ferricyanure à 37°C pendant 5 heures.
- Laver à l'eau pendant 10 minutes.
- Monter au glycérogel.

Résultats :

Phospholipides contenant de la choline (sphingomyéline et lécithines) : noir intense.

Certains glycolipides (cérébrosides), les nucléoprotéines et les mucines sont également colorés, mais plus faiblement.

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Produit destiné à un usage exclusivement professionnel pour le Diagnostic in vitro. L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par une entreprise spécialisée et agréée.

Stockage : 15 - 25 °C.

Références Bibliographiques :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1580-1581.

