

Hématoxyline *Hémalun selon Mayer* *Hémalun selon Carrazi*

1. NATURE DU REACTIF :

l' hémalun est le cheval de bataille des colorations à l'hématoxyline !

Ce produit est une substance cristalline, variant de l'incolore au jaunâtre clair, et qui est extraite du Bois de Campêche (Haematoxylon campechianum) qui est une légumineuse arborescente de l'Amérique Centrale.

Assez curieusement, cette substance en elle-même n'a aucun pouvoir colorant mais elle rentre très facilement dans une chaîne d'oxydation par étapes ; celle qui nous intéresse est l'hématéine ! Celle-ci s'oxyde à son tour et donne des dérivés inexploitablement comme colorants.

Les deux substances qui nous intéressent, et que nous venons de citer, sont solubles dans l'alcool et la glycérine : très peu dans l'eau pour la seconde et nettement plus pour la première.

Tous les procédés de préparation mis au point par divers chercheurs ont eu pour objectif de provoquer cette première oxydation de l'hématoxyline en hématéine (on la laissait « mûrir »), mais malheureusement d'une manière incontrôlée, ce qui fait que le produit obtenu était efficace durant très peu de temps !

Nous savons maintenant que ni l'hématoxyline ni l'hématéine ne disposent d'un pouvoir colorant sans être associées à une base avec laquelle elles forment un sel au sens chimique, qu'on appelle laque. Les bases utilisées seront l'alumine, ou un sel de fer, de cuivre, de chrome, de tungstène, de vanadium....

2. PREPARATION :

1/ Hémalun selon Mayer (1901)

Eau bidistillée :	1.000 ml
Hématoxyline cristallisée :	1 g
Iodate de sodium	0,2 g
Alun de potassium pulvérisé :	50 g

- mélanger eau + hématoxyline et dissoudre à chaud, en plaçant la solution dans une étuve à 37-40 ° C durant 6 à 8 heures : cela va hâter l'oxydation
- la maturation est révélée par une superbe teinte violacée, en quelques heures
- laisser refroidir et ajouter les deux autres composants

Pratiquement, on s'est rendu compte à l'usage qu'il vaut mieux l'acidifier de la manière suivante, en ajoutant par litre :

Hydrate de chloral :	50 g
Acide citrique : (ou acide acétique éventuellement)	1 g

- mélanger le tout et conserver sous bouchon

La coloration nucléaire est ainsi plus précise et la conservation est nettement améliorée encore. En effet, l'acidification générée enrayer la dissociation naturelle de l'alun en acide sulfurique libre et des composés basiques d'alumine insolubles qui précipitent en se combinant avec l'hématoxyline ; ce processus appauvrirait la solution peu à peu.

2/ Hémalun selon Carrazi (1911)

Eau bidistillée :	400 ml
Glycérine :	100 cm ³
Alun de potasse :	25 g
Iodate de potassium	0,1 g
Hématoxyline cristallisée :	0.5 g

- mélanger dans l'ordre rigoureux des composants
- laisser dissoudre SANS chauffer

3/ Hématoxyline de Wiegert (mL60)

alcool à 96°	100 ml
Hématoxyline cristallisée :	1 g

- laisser vieillir cette solution
- préparer en parallèle

eau distillée	100 ml
chlorure ferrique	1,16 g
acide chlorhydrique à 25 %	1 ml

- le colorant se prépare en mélangeant extemporanément ces 2 solutions à 50/50

3. UTILISATION :

Tous ces colorants à base d'hématoxyline servent à colorer les noyaux.

Mayer, en 1901, a fourni cette formule de préparation d'une solution à la fois mûre et stable, ce qui a permis d'oublier toutes les anciennes recettes instables et peu fiables.

Il s'agit donc ici de l'exemple type d'une coloration par mordantage, c'est-à-dire que le colorant ne peut agir qu'en présence de l'agent mordant. L'auteur a porté son dévouement sur l'alumine qui a l'avantage de colorer de manière progressive, contrairement aux autres sels métalliques.

Ce colorant est très rapide puisqu'il agit en 5 à 10 minutes sur des coupes, selon le mode de fixation.

Dans sa préparation première, il donne une coloration bleuâtre tandis que la solution acide donne une couleur rougeâtre.

On obtient une belle couleur bleu noir définitive en plongeant les coupes, après lavage, dans de l'eau de source, durant quelques minutes. Cela est provoqué par le carbonate de calcium dissous dans l'eau naturelle. Si on travaille à l'eau distillée, on plonge les coupes dans une solution à 1 % de bicarbonate de soude.

En cas de surcoloration, régresser avec prudence dans de l'acide chlorhydrique à 0,5 % (quelques secondes).

Le colorant de Carrazi est très stable et très énergique et s'applique dans les mêmes conditions que le précédent (même pratique en cas de surcoloration).

L'hématoxyline de Wiegert : y plonger les pièces durant quelques minutes (3-5), rincer à l'eau courante durant 5 minutes ; en cas de surcoloration, différencier avec de l'acide chlorhydrique à 0,5 % en solution alcoolique.

4. DANGERS : (règle générale)

Tous les colorants sont toxiques par ingestion (ce n'est pas leur destination !) et de manière moindre par contact (laver abondamment dans ce cas). Ils tachent facilement la peau et les vêtements.

Il convient de se laver abondamment les mains après une séance de laboratoire et de porter des gants de chirurgie lors des préparations de produits.

5. CONSERVATION : (règle générale)

Quelques mois à 2 ou 3 ans maximum ; la solution la plus simple consiste à les tester de temps en temps !