

Etat des Révisions : *les modifications apparaissent en bleu italique*

Date	Version	Origine de la révision	Ecrit par
04/12/23	04	Logo ImaFlow	A. Bataille

1. OBJET et CHAMP D'APPLICATION

BUT : Prélever de manière convenable les échantillons en vue d'une analyse histologique avec le matériel adapté au type de fixation souhaité et en fonction de l'analyse histologique attendue.

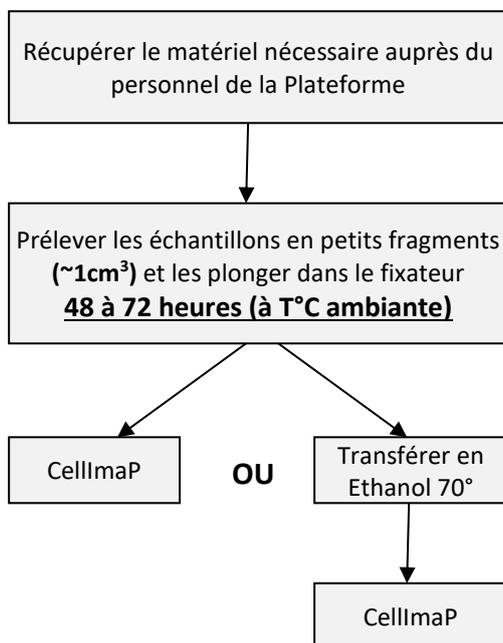
RAPPEL :

	Paraffine	Congélation directe	Congélation Sucrose-OCT
Conservation de la structure	+++	+	-
Immuno-marquages	Selon la fiche technique de l'anticorps primaire		

2. POUR LES ECHANTILLONS A FIXER

→ INCLUSION ENVISAGEE : Bloc de paraffine ou Congélation Sucrose-OCT

Actions



Détails

A récupérer :

- Crachouillettes de **formaldéhyde 4% tamponné**
- Une fiche de demande de travail

- Annoter lisiblement la crachouillette au marqueur indélébile
- **Respecter 1 volume d'échantillon pour 10 volumes de fixateur**
- **Respecter le temps de fixation !**



Apporter au service d'histologie :

- Les échantillons (en fixateur ou en Ethanol 70°)
- La fiche de demande de travail remplie et signée



Dans le cas où une analyse des **lipides** par coloration Oil Red O est souhaitée :

Ne pas transférer les échantillons en Ethanol 70°. Les amener directement dans le fixateur ou si cela est impossible, les transférer dans une solution de PBS et les stocker à 4°C.

3. POUR LES ECHANTILLONS SANS FIXATION

→ INCLUSION ENVISAGEE : Congélation directe en OCT

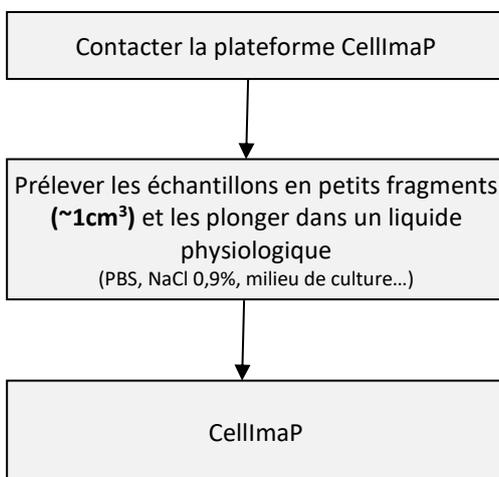


L'inclusion *par congélation réalisée par CellmaP* est à privilégier.
Nous consulter avant les périodes de fermeture pour les consignes d'inclusions.



Pour des cas particuliers comme la conservation des radicaux libres dans les échantillons qui ont un temps de vie très court :
2 autres méthodes de congélation plus rapides sont disponibles en Annexe.

Actions



Détails

- Prévenir du jour et du créneau horaire arrêtés pour le prélèvement

- Annoter lisiblement les pots de prélèvements au marqueur indélébile
- Attente à 4°C

Apporter **au plus vite** au service d'histologie :

- Les échantillons dans leur milieu physiologique
- La fiche de demande de travail remplie et signée

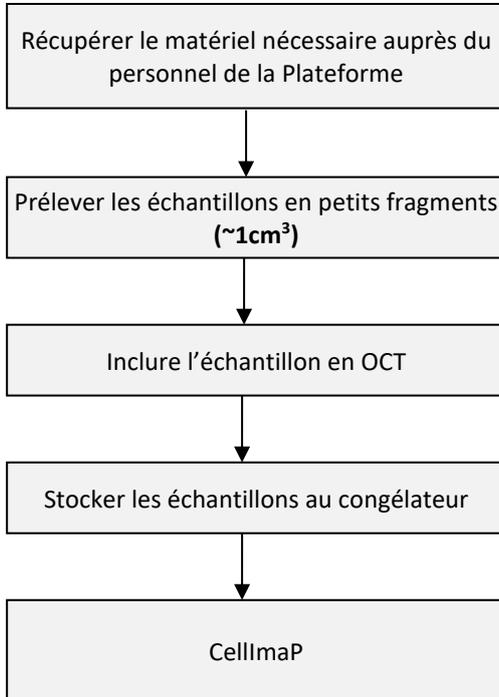
ANNEXE : Inclusion sur Carboglace ou en Isopentane refroidi en azote liquide



→ La température optimale de congélation des échantillons est -40°C

→ L'utilisation de carboglace est préférable à l'utilisation d'isopentane refroidi en azote

Actions



Détails

A récupérer :

- Moules d'inclusion, Flacon d'OCT liquide.
- Fiche de demande de travail.

- Annoter lisiblement au marqueur indélébile le moule
- Se munir d'une boîte en polystyrène contenant de la carboglace ou un fond d'azote liquide qui refroidit l'isopentane contenu dans un récipient métallique

→ Suivre le schéma ci-dessous

Stocker les échantillons ainsi inclus dans leurs moules dans un sachet :
Au congélateur -20°C (conservation à court terme)
ou -80°C (conservation à long terme)

Apporter au service d'histologie :

- Les échantillons
- La fiche de demande remplie et signée

Schéma résumé :

- Recouvrir préalablement le fond du moule d'inclusion par une fine couche d'OCT (a)
- **Sécher rapidement l'échantillon** sur papier essuie-tout (afin d'éliminer au maximum le liquide),
- Déposer l'échantillon sur la fine couche d'OCT (b),
- Recouvrir entièrement l'échantillon d'OCT (c),
- Déposer le moule ainsi rempli sur la carboglace. Attendre que l'OCT devienne totalement blanc (d1),
OU Avec une pince, déposer le moule sur l'isopentane préalablement refroidi par l'azote liquide. Attendre que l'OCT devienne totalement blanc (environ 30 secondes) (d2),
- Stocker le moule contenant l'échantillon ainsi inclus.

