

Protocole n°38

Coloration par l'Hémalun-Eosine-Safran et variantes

Principe :

Cette coloration trichromique de routine associe un colorant nucléaire, l'Hémalun de Mayer, un colorant xanthénique, l'Eosine ou la phloxine B ou l'érythrosine 239, et un colorant électif du collagène du tissu conjonctif, le Safran.

La coloration nucléaire est dite « progressive » : on l'arrête au moment où les structures nucléaires sont colorées de façon optimale. La contre-coloration est réalisée avec deux colorants. Le premier est un colorant xanthénique, l'Eosine ou la Phloxine B ou l'Erythrosine 239. Il colore le cytoplasme, les lames élastiques et les hématies. Le second est un colorant naturel, le Safran. Il colore de façon élective le collagène des tissus conjonctifs.

Produits nécessaires à la coloration :

Hémalun de Mayer Réf. 320550-	1000 ou 2500 mL
Eosine en solution aqueuse à 1% Réf. 312740-	0125, 1000 ou 2500 mL
Phloxine B en solution aqueuse à 3% Réf. 350750-	1000 mL
Erythrosine 239 en solution aqueuse à 1% Réf. 361820-	1000 mL
Safran en solution alcoolique Réf. 369200-	0250, 0500 ou 1000 mL
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	500 mL

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.

Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Coloration nucléaire par l'Hémalun de Mayer pendant 3 à 5 minutes.
- Rincer la lame dans un bain d'eau courante et laisser en contact pendant 3 à 5 minutes (indispensable pour différencier l'Hémalun de Mayer).
- Coloration cytoplasmique :
 - soit par l'Eosine en solution aqueuse à 1% pendant 5 à 7 minutes
 - soit par la Phloxine B en solution aqueuse à 3% pendant 2 minutes environ
 - soit par l'Erythrosine 239 en solution aqueuse à 1% pendant 5 minutes
- Rincer à l'eau courante.
- Déshydrater successivement dans les alcools de degré croissant jusqu'à l'alcool absolu.
- Coloration du collagène par le Safran en solution alcoolique pendant 5 à 8 minutes.
- Rincer brièvement dans un bain d'alcool absolu.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

Résultats :

Noyaux : bleu à bleu noir

Collagène : jaune d'or à ocre (le mucus, la substance fondamentale du cartilage ou de l'os sont également colorés en jaune)

Cytoplasmes: rose

Lames élastiques : rose

Hématies : rose vif.

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 à l'abri de la lumière.

Les temps de coloration peuvent varier en fonction de la nature du tissu et de l'épaisseur de la coupe.

Références Bibliographiques :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1419-1420.