

# Protocole n° 65

## Coloration par le Bleu de toluidine

### Principe :

Coloration métachromatique des tissus. Les éléments épithéliaux sont colorés en bleu et le stroma conjonctif est coloré en rose-violacé.

Le Bleu de toluidine est le colorant de référence pour les examens extemporanés.

### Produits nécessaires à la coloration :

CryoRAL, aérosol pour congélation instantanée de pièces anatomiques Réf. 361405-	0300 ou 0500 g
Bleu de toluidine phéniqué Réf. 320130-	0125 ou 1000 mL
Bleu de toluidine pur Réf. 361590-	0025 ou 0100 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Méthanol – Formol – Ultropak ou loupe binoculaire ou microscope à lumière blanche – Cryostat

### 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.

Examen de surface (méthode pour tranches minces) : Utilisation du Bleu de toluidine phéniqué

- Effectuer sur pièce fraîche ou rapidement fixée, une tranche tissulaire aussi mince que possible soit à main levée soit en opérant une congélation rapide et une coupe de la surface de la pièce au moyen d'un cryostat.
- Fixer avec un mélange méthanol-formol (2 parts / 1 part).
- Répandre à la surface de la tranche tissulaire la solution de Bleu de toluidine phéniqué.

- Examiner après quelques secondes à l'ultropak ou à la loupe binoculaire.

Examen par transparence (méthode pour coupes montées) : Utilisation d'une solution aqueuse à 1% de Bleu de toluidine

- Effectuer une coupe mince selon la technique des coupes à congélation et fixer avec un mélange méthanol-formol (2 parts / 1 part).
- Placer la coupe dans l'alcool à 90° puis dans l'alcool absolu pendant 1 à 2 secondes.
- Plonger dans le xylène 2 secondes en agitant.
- Transférer dans l'alcool absolu puis dans l'alcool à 90° pendant 1 à 2 secondes.
- Recouvrir la lame, disposée horizontalement, d'une solution aqueuse à 1% de Bleu de toluidine et laisser agir 30 secondes à 1 minute.
- Rincer rapidement à l'eau et essorer soigneusement sur papier Joseph.
- Plonger 1 minute dans l'alcool absolu et essorer puis 1 minute dans l'alcool à 90° et essorer.
- Plonger dans le xylène et essorer.
- Recommencer cette opération jusqu'à ce que la préparation soit parfaitement claire et monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

### Résultats :

Noyaux : violet.

Lipoïdes : bleu terne.

Cytoplasmes : bleu.

Fibrine : bleu verdâtre.

Mucus : rouge violacé.

Fibres élastiques : vert pâle.

Amyloïde : rouge violacé.

Amidon : bleu pâle verdâtre.

Colloïde : bleu pur.

Hématies : vert.

### 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. 1478-1479.