

Protocole n° 59

Coloration par le Rouge congo

Principe :

Coloration très élective, sinon absolument spécifique, de la substance amyloïde par un colorant très utilisé dans l'industrie textile, le Rouge congo.

Le mécanisme de la fixation de ce colorant sur les fibrilles de la substance amyloïde est complexe et ne saurait être exposé dans le cadre de ce protocole de coloration. Disons seulement que le Rouge congo se fixe sur la fraction glucidique de cette substance par interaction entre les groupements -OH des alcools primaires de cette fraction glucidique et les groupes -NH₂ du colorant.

Si la coloration en elle-même n'est pas absolument spécifique, en revanche elle le devient si on la fait suivre d'un examen en lumière polarisée (cf. résultats).

Produits nécessaires à la coloration :

CryoRAL, aérosol pour congélation instantanée de pièces anatomiques Réf. 361405-	0300 ou 0500 g
Hémalun de Mayer Réf. 320550-	1000 ou 2500 mL
Rouge congo pur Réf. 363410-	0005 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Chlorure de sodium – Soude – Microscope à Fluorescence et/ou polarisant

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 d'Ethanol alcalin : Dans 50 mL d'éthanol à 80° saturé de chlorure de sodium, ajouter 0,5 mL d'une solution aqueuse à 1% de soude. Filtrer et utiliser immédiatement avant usage (moins de 15 minutes après la préparation).

Solution de Rouge congo alcalin : Dans 50 mL d'éthanol à 80° saturé de Rouge congo et de chlorure de sodium, ajouter 0,5 mL d'une solution aqueuse à 1% de soude. Filtrer et utiliser immédiatement avant usage (moins de 15 minutes après la préparation).

Mode opératoire :

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

Le mode opératoire s'applique à des pièces fixées de préférence dans le formol à 10% neutralisé, l'éthanol absolu ou le fixateur de Carnoy, et coupées à congélation ou après inclusion à la paraffine. Les coupes à congélation sont recommandées car elles donnent des résultats plus intenses et contrastés.

La coupe, déparaffinée, s'il y a lieu, est amenée à l'eau.

Nous indiquons le procédé considéré comme le plus électif : celui au Rouge congo alcalin, méthode de Puchtler, Sweat et Levine (1962)

- Colorer dans l'Hémalun de Mayer pendant 10 minutes.
- Rincer dans trois bains successifs d'eau distillée.
- Transférer dans une solution d'Ethanol alcalin pendant 20 minutes.
- Colorer dans la solution de Rouge congo alcalin pendant 20 minutes.
- Déshydrater rapidement dans 3 bains successifs d'éthanol absolu.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

Résultats :

Noyaux cellulaires : bleu.

Substance amyloïde : rose vif à rouge. Sont également colorées (mais la confusion morphologique n'est pas possible) la cellulose, les fibres élastiques (faiblement) et les corps amyloïdes de la prostate.

La coloration devient spécifique de la substance amyloïde si on examine la coupe :

- au microscope polarisant : le complexe Rouge congo-substance amyloïde présente une forte biréfringence verte accompagnée d'un dichroïsme (coloration jaune et verte) absolument spécifiques.
- au microscope à Fluorescence : le complexe a une fluorescence rouge.

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. 1724-1725.

