

Protocole n°39

Coloration trichromique de Masson

Principe :

Cette coloration trichromique associe un colorant nucléaire, l'Hémalun de Mayer (ou la Trioxyhématéine ferrique), une coloration cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fuchsine-Ponceau) et une coloration élective du collagène par un autre colorant acide (le Bleu d'aniline ou le Vert lumière).

Produits nécessaires à la coloration :

Hémalun de Mayer Réf. 320550-	1000 ou 2500 mL
Hématoxyline pure Réf. 313500-	0025 g
Fuchsine acide S Réf. 313200-	0025 g
Ponceau de xylidine Réf. 316150-	0025 g
Bleu d'aniline (bleu de méthyle) Réf. 320390-	0100 g
Vert lumière haute pureté Réf. 320770-	0025 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Alun de fer et d'ammonium – Eau distillée – Sulfate d'ammonium – Acide acétique
– Acide phosphomolybdique

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 de Trioxyhématéine ferrique :

- Solution A : dissoudre à chaud 1,6 g d'Hématoxyline pure dans 75 mL d'eau distillée. Refroidir.
- Solution B : mélanger 10 g d'alun de fer et d'ammonium avec 1,4 g de sulfate d'ammonium dans 150 mL d'eau distillée.
- Verser la solution A dans la solution B. Faire bouillir 30 secondes. Refroidir brusquement (très important). Filtrer avant usage.

Solution de Fuchsine-Ponceau :

- Solution aqueuse à 1% de Fuchsine acide S: 1 part.
- Solution aqueuse à 1% de Ponceau de xylidine : 2 parts.

Solution de Bleu d'aniline : Faire bouillir 100 mL d'eau distillée. Y ajouter 2 à 3 g de Bleu d'aniline. Retirer du feu et ajouter 2,5 mL d'acide acétique. Boucher par du coton, refroidir, filtrer.

Solution de Vert lumière : Mélanger 1 g de Vert lumière haute pureté et 1 mL d'acide acétique glacial dans 100 mL d'eau distillée.

Solution d'Acide phosphomolybdique : Mélanger 1 g d'acide phosphomolybdique dans 100 mL d'eau distillée.

Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Coloration nucléaire :
 - Soit par l'Hémalun de Mayer pendant 10 minutes ou plus.
 - Soit par la solution de Trioxyhématéine ferrique pendant 1 à 3 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 ou la solution de Trioxyhématéine ferrique).
- Coloration cytoplasmique par la solution de Fuchsine-Ponceau pendant 5 minutes.
- Sans rincer, Mordancer la coloration de la coupe en plongeant la lame dans la solution d'Acide phosphomolybdique pendant 5 minutes.
- Sans rincer, Coloration du collagène par la solution de Bleu d'aniline ou la Solution de Vert lumière pendant 5 minutes.
- Passer dans une solution aqueuse d'acide acétique à 1% pendant 5 minutes.
- Déshydrater directement dans 2 bains d'alcool absolu.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.



Résultats :

Noyaux : bleu-noir ou brun suivant le colorant nucléaire utilisé
Collagène : bleu ou vert suivant le colorant utilisé
Cytoplasmes: rose à rouge
Lames élastiques : rose
Hématies et kératine : rouge 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.
La solution de Trioxyhématéine ferrique se conserve 1 an en flacon bien bouché.

Références Bibliographiques :

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