

## Protocole n°45

### Coloration de Gordon et Sweets

#### Principe :

Il s'agit d'une méthode d'imprégnation argentique : procédé habituel de mise en évidence des fibres de réticuline. Elle est basée sur l'emploi d'un sel d'argent instable (nitrate d'argent ammoniacal) et d'un réducteur (formol) : celui-ci réduit le sel d'argent en argent métallique noir qui se dépose avec une grande électivité sur les fibres réticulaires. Cette méthode caractérise donc « l'argyrophilie » de ces fibres.

#### Produits nécessaires à la coloration :

ClaRAL Réf. 320640-	5000 mL
Formol à 10% tamponné Réf. 320720-	2500 ou 5000 mL
Rouge nucléaire Réf. 363430-	0005 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

#### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Collodion - Ethanol Absolu - Ether - Permanganate de potassium - Nitrate d'argent - Ammoniaque - Sulfate d'aluminium - Thymol - Alun de fer - Chlorure d'or - Hyposulfite de sodium - Soude

#### 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 Collodion : Solution à 1% de Collodion dans un mélange à parties égales d'éthanol absolu et d'éther.

Solution de permanganate sulfurique : Mélanger 47,5 mL d'une solution aqueuse à 0,5% de permanganate de potassium avec 2,5 mL d'une solution aqueuse à 3% d'acide sulfurique.

Solution de nitrate d'argent ammoniacal : A 5 mL d'une solution aqueuse à 10,2% de nitrate d'argent, ajouter goutte à goutte une solution concentrée d'ammoniaque jusqu'à ce que le précipité formé soit juste formé. Ajouter alors 5 mL d'une solution aqueuse à 3% de soude. Redissoudre le précipité avec quelques gouttes d'ammoniaque. Diluer dans 50 mL d'eau bidistillée. Cette solution ne se conserve pas plus de 10 jours. La mettre à l'abri de la lumière.

Solution de Rouge nucléaire : Dissoudre en chauffant 0,2 g de Rouge nucléaire et 5 g de sulfate d'aluminium dans 100 mL d'eau distillée. Laisser refroidir, filtrer. Ajouter un cristal de thymol. Filtrer avant usage, rejeter le colorant lorsqu'il commence à déposer.

Solution aqueuse d'acide oxalique : Préparer une solution aqueuse à 1% d'acide oxalique.

Solution aqueuse d'alun de fer : Préparer une solution aqueuse à 2,5% d'alun de fer.

Solution aqueuse de chlorure d'or : Préparer une solution aqueuse à 0,2% de chlorure d'or.

Solution aqueuse d'hyposulfite de sodium : Préparer une solution aqueuse à 5% d'hyposulfite de sodium.

#### Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis amener la coupe à l'alcool à 100°.
- Plonger la lame dans la solution de Collodion pendant 1 minute.
- Plonger la lame dans l'alcool à 70° pendant 1 minute.
- Oxyder la coupe dans la solution de permanganate sulfurique pendant 5 à 10 minutes.
- Rincer la lame à l'eau courante.
- Blanchir la coupe dans la solution aqueuse d'acide oxalique : le blanchiment est presque instantané ; il doit être complet.
- Rincer la lame à l'eau courante puis dans deux bains successifs d'eau distillée.
- Mordancer la coupe dans la solution aqueuse d'alun de fer pendant 15 à 30 minutes.
- Rincer la lame dans 2 ou 3 bains d'eau distillée.
- Imprégner la coupe dans la solution de nitrate d'argent ammoniacal pendant 30 secondes.
- Rincer la lame rapidement dans l'eau distillée.





- Réduire la coupe dans la solution de Formol à 10% tamponné (instantané). Rincer la lame à l'eau courante
- Faire virer la coupe dans la solution aqueuse de chlorure d'or pendant 1 à 3 minutes.
- Rincer la lame à l'eau courante.
- Fixer la coloration de la coupe dans la solution aqueuse d'hyposulfite de sodium pendant 5 minutes.
- Bien rincer la lame à l'eau courante pendant 15 minutes.
- Colorer les noyaux par la solution de Rouge nucléaire pendant 5 à 10 minutes.
- Rincer la lame à l'eau courante.
- Déshydrater successivement dans les alcools de degré croissant jusqu'à l'alcool absolu. Laisser quelques minutes dans l'alcool absolu pour éliminer le Collodion.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

## Résultats :

Noyaux : rouge

Fibres de réticuline : noir intense

Fibres de collagène : brun-pourpre léger

## 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.

La réussite de l'imprégnation argentique nécessite le respect scrupuleux d'un certain nombre de règles :

- N'employer que des produits chimiquement purs.
- Utiliser de l'eau bidistillée, et non simplement distillée.
- Éviter les poussières, qui altèrent les solutions.
- Se servir d'une verrerie d'une très rigoureuse propreté.
- Ne jamais mettre un objet métallique au contact des solutions.

## Références Bibliographiques :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1425-1427.