

Protocole n° 68

Coloration de Grimelius

Principe :

Il s'agit d'une méthode d'imprégnation argentique. Le principe est le suivant : on met seulement au contact la coupe, qui contient une substance réductrice (par exemple les granulations des cellules argyrophiles) avec une solution de sels d'argent. Il se forme alors un précipité noir d'argent métallique. Cette méthode est particulièrement utile pour la mise en évidence de granulations des cellules argyrophiles du tube digestif et des tumeurs carcinoïdes.

Produits nécessaires à la coloration :

Liquide de Bouin aqueux Réf. 320700-	1000, 2500 ou 5000 mL
Rouge nucléaire Réf. 363430-	0005 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Nitrate d'argent - Acide acétique - Acétate de sodium - Sulfite de sodium
Hydroquinone - Etuve - Sulfate d'aluminium - Thymol - Eau distillée

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 nitrate d'argent : Préparer une solution tampon en mélangeant 8 mL d'acide acétique (à 0,2 M) dans 42 mL d'acétate de sodium (à 0,2 M). Mélanger 0,05 g de nitrate d'argent + 90 mL d'eau distillée + 10 mL de solution tampon précédemment préparée. Le pH de cette solution doit être de 5,4.

Mélange réducteur : Dissoudre 1 g d'hydroquinone et 5 g de sulfite de sodium dans 100 mL d'eau distillée. Préparer juste avant l'emploi.

Solution de Kernechtrot : Dissoudre en chauffant 0,1 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.

Mode opératoire :

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

Les meilleurs résultats sont obtenus sur des pièces fixées par le Liquide de Bouin aqueux.

- Déparaffiner et hydrater la coupe.
- Plonger la lame dans la solution de nitrate d'argent préalablement chauffée dans une étuve à 60°C, pendant 3 heures.
- Egoutter l'excédent et Plonger la lame directement dans le mélange réducteur, également mis préalablement dans l'étuve à 60°C ; l'y laisser pendant 5 minutes environ. Le temps idéal de réduction se vérifie par la tonalité d'ensemble de la coupe (brun presque noir) ou mieux, sur une coupe témoin riche en granulations de cellules argyrophiles (coupe de carcinoïde appendiculaire par exemple).
- Rincer à l'eau distillée.
- Colorer les noyaux par la solution de Kernechtrot pendant 10 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Déshydrater successivement la coupe dans les alcools de degré croissant jusqu'à l'alcool absolu.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

Résultats :

Granulations des cellules argyrophiles, autres substances argyrophiles : noir (à brun foncé)

Noyaux : rouge

Fond : jaune clair à brun 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.
- Eviter 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 :

HOULD R., *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*, éd. Maloine - Décarie, 1984, p. 371.