

Protocole n° 55

Coloration de Fontana Masson

Principe :

Il s'agit d'une réaction dite « argentaffine ». Le principe est le suivant : on met seulement au contact la coupe, qui contient une substance réductrice (par exemple, le pigment de mélanine) avec une solution de sels d'argent. Il se forme alors un précipité d'argent métallique, noir, aux dépens de la solution de sels d'argent, sous l'influence de la substance réductrice.

La réaction est surtout utilisée pour la caractérisation du pigment mélanique mais n'est pas spécifique de ce pigment. Elle n'est mise en œuvre pour sa recherche que si l'on a des raisons précises d'en soupçonner la présence, d'après le contexte pathologique.

Produits nécessaires à la coloration :

Liquide de lugol Réf. 367300-	0240, 1000 ou 2500 mL
Rouge nucléaire Réf. 363430-	0005 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Nitrate d'argent – Ammoniaque concentrée – Sulfate d'aluminium – Chlorure d'Or
Hyposulfite de sodium – 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 Ammoniacal (solution de Fontana) : A 20 mL d'une solution aqueuse à 10% de nitrate d'argent, ajouter de l'ammoniaque concentrée, goutte à goutte en remuant constamment, jusqu'à ce que le précipité qui s'est d'abord formé se soit presque complètement redissous (il ne doit rester que quelques très fines granulations). Ajouter alors 20 mL d'eau distillée. Laisser reposer 24 heures. Décanter dans un flacon sombre. La solution ainsi préparée se conserve environ un mois. Filtrer avant chaque usage et ne pas utiliser un flacon de solution pour plus de quelques coupes.

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 de Chlorure d'Or : Préparer une solution aqueuse à 0,1% de chlorure d'or.

Solution 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.

Méthode de Fontana modifiée par Masson :

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Traiter par la solution de Liquide de lugol pendant 10 minutes.
- Laver à fond à l'eau distillée, de 15 minutes à 2 heures.
- Plonger la coupe dans la solution de Nitrate d'Argent Ammoniacal en récipient couvert et à l'obscurité, pendant 18 à 24 heures.
- Rincer à l'eau distillée.
- Virer dans une solution de chlorure d'or pendant 4 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Fixer dans une solution d'hyposulfite de sodium pendant 2 minutes.
- Passer à l'eau puis effectuer une coloration nucléaire par la solution de Rouge nucléaire pendant 5 minutes.
- 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 :

Substances réductrices et pigments (mélanine, lipofuscines, pigments de la maladie de Dubin-Johnson, bilirubine) : noir.



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 :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1632-1634.