

## INDICATIONS

Les colorants trichromes (Gomori) de Sigma-Aldrich sont destinés à l'étude du tissu conjonctif, des fibres musculaires et collagènes. Les réactifs colorants trichromes sont à « usage diagnostique in vitro ».

Les colorants trichromes sont utilisés principalement pour différencier le collagène des tissus musculaires.<sup>1</sup> Ils se composent de colorants nucléaires, collagéniques et cytoplasmiques dans des mordants tels l'acide phosphotungstique ou l'acide phosphomolybdique. D'un point de vue historique, le premier système trichrome a été attribué à Mallory.<sup>2,3</sup> D'autres modifications ont été introduites par Masson, Foot et Gomori.<sup>3,4</sup> La procédure décrite ici se base sur les travaux de Gomori et constitue un système à une étape combinant le colorant destiné aux cytoplasmes et aux fibres conjonctives dans une solution d'acide phosphotungstique / acide acétique.<sup>4</sup> Les coupes de tissus sont traitées avec la solution de Bouin pour intensifier la coloration finale. Les noyaux sont ensuite colorés avec l'hématoxyline ferrique de Weigert, suivi de chromotrope 2R (qui colore le cytoplasme et les fibres musculaires) et de vert solide FCF ou de bleu d'aniline (qui colore les fibres collagènes). Le rinçage dans de l'acide acétique après la coloration rend les nuances plus délicates et plus transparentes.<sup>4</sup> La technique de coloration trichrome de Gomori permettant une coloration rapide au four à micro-ondes est présentée ci-dessous.<sup>5,8</sup>

## RÉACTIFS

### SOLUTION DE COLORANT TRICHROME LG, référence N° HT10-3-16

Chromotrope 2R, 0,6 % (p/v), vert solide FCF (certifié), 0,1 % (p/v), acide phosphotungstique, 0,8 % (p/v) et acide acétique, 1,0 % (v/v). Le réactif colore le collagène en vert.

### SOLUTION DE COLORANT TRICHROME AB, référence N° HT10-5-16

Chromotrope 2R, 0,6 % (p/v), bleu d'aniline (certifié), 0,3 % (p/v), acide phosphotungstique, 0,8 % (p/v) et acide acétique, 1,0 % (v/v). Le réactif colore le collagène en bleu.

### CONSERVATION ET STABILITÉ :

Les solutions de colorant trichrome, la solution de Bouin, l'hématoxyline ferrique de Weigert, les TISSUE-TROL trichromes, la solution d'acide acétique, ainsi que le concentré et la solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet doivent être conservés à température ambiante (18–26 °C).

Les solutions de colorant trichrome, la solution de Bouin, l'hématoxyline ferrique de Weigert (parties A et B), les TISSUE-TROL trichromes, la solution d'acide acétique, ainsi que le concentré et la solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet sont stables jusqu'à la date de péremption.

Une nouvelle solution d'hématoxyline ferrique de Weigert doit être préparée pour chaque utilisation.

### PRÉPARATION :

Les solutions de colorant trichrome LG, de colorant trichrome AB et de Bouin sont prêtes à l'emploi.

La solution d'hématoxyline ferrique de Weigert se prépare en mélangeant un volume égal de solution A et de solution B.

La solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet se prépare en mélangeant 1 volume de concentré de Scott en remplacement de l'eau du robinet dans 9 volumes d'eau déionisée.

Préparer l'acide acétique à 0,5 % en diluant 4,4 ml d'acide acétique 1N dans 45,6 ml d'eau.

Préparer l'acide acétique à 1 % en diluant 8,8 ml d'acide acétique 1N dans 41,2 ml d'eau.

### PRÉCAUTIONS :

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour des informations actualisées sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Les lames de contrôle TISSUE-TROL trichromes sont des coupes de tissus humains incluses en paraffine contenant du collagène et des tissus musculaires et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

### Informations sur les risques et la sécurité (États-Unis)

Solution de colorant trichrome LG – Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Solution de colorant trichrome AB – Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

L'alcool réactif est INFLAMMABLE et IRRITANT. Irritant pour les yeux, l'appareil respiratoire et la peau. Conserver le récipient bien fermé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié. Organes cibles : nerfs et foie.

Le xylène est INFLAMMABLE et NOCIF. Risque possible d'altération de la fertilité. Risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. Nocif par inhalation et par contact avec la peau. Irritant pour les voies respiratoires et la peau. Risques de lésions oculaires graves. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

La solution de Bouin est NOCIVE. Explosif à l'état sec. Nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Effet cancérigène suspecté – preuves insuffisantes. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. Utiliser seulement dans des zones bien ventilées. Conserver sous clé et hors de portée des enfants.

La solution d'hématoxyline ferrique de Weigert, partie A, est INFLAMMABLE et IRRITANTE. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié. Organes cibles : nerfs et foie.

La solution d'hématoxyline ferrique de Weigert, partie B, est TOXIQUE. Toxique par inhalation. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Les solutions d'hématoxyline Gill sont NOCIVES. Nocif en cas d'ingestion. Irritant pour les voies respiratoires et la peau. Risques de lésions oculaires graves. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié. Organes cibles : foie et reins.

Solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Les solutions d'acide acétique 1N sont CORROSIVES. Provoque de graves brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Organes cibles : reins et dents.

### Informations sur les risques et la sécurité (Europe)

Solution de colorant trichrome LG – Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Solution de colorant trichrome AB – Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

L'alcool réactif est FACILEMENT INFLAMMABLE et IRRITANT. Facilement inflammable. Irritant pour les yeux, l'appareil respiratoire et la peau. Conserver le récipient bien fermé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié.

Le xylène est NOCIF. Inflammable. Nocif par inhalation et par contact avec la peau. Irritant pour la peau. Éviter tout contact avec les yeux.

La solution de Bouin est NOCIVE. Explosif à l'état sec. Nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Effet cancérigène suspecté – preuves insuffisantes. Risque de sensibilisation par contact avec la peau. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes les précautions d'usage. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

La solution d'hématoxyline ferrique de Weigert, partie A, est FACILEMENT INFLAMMABLE et IRRITANTE. Facilement inflammable. Irritant pour les yeux, l'appareil respiratoire et la peau. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié.

Les solutions d'hématoxyline Gill sont NOCIVES. Nocif en cas d'ingestion. Irritant pour les yeux. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste.

Solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Solutions d'acide acétique 1N. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. Ne pas respirer les vapeurs.

## PROCOLE

### PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément au document M29-A2 du NCCLS. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Toute coupe bien incluse en paraffine et d'une épaisseur de 5 microns maximum peut être utilisée.

### MATÉRIELS SPÉCIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :

Des lames de contrôle positif, telles les TISSUE-TROL trichromes de Sigma, référence N° T 8800, doivent être incluses dans chaque essai.

Solution d'acide acétique 1N

Solution de Bouin, référence N° HT10-1-32 ou HT10-1-128, acide picrique aqueux saturé à 71 %, formaldéhyde à 24 % et acide acétique à 5 %.

## POUR LA PROCÉDURE STANDARD UNIQUEMENT :

Kit d'hématoxyline ferrique de Weigert, référence N° HT10-79

Solution d'hématoxyline ferrique de Weigert, partie A, référence N° HT10-7, hématoxyline à 1 % (certifiée) dans de l'éthanol

Solution d'hématoxyline ferrique de Weigert, partie B, référence N° HT10-9, chlorure ferrique à 1,2 % (p/v) et acide chlorhydrique à 1 % (p/v)

## POUR LA PROCÉDURE AU FOUR À MICRO-ONDES UNIQUEMENT :

Solution d'hématoxyline, Gill N° 3, référence N°GHS-3

Concentré de solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet, référence N°S 5134  
Four à micro-ondes ACCUMATE™ H2100, référence N° A 9084 (110 V) ou A 9209 (220 V)

### REMARQUES :

En cas d'utilisation du micro-ondes H2100 de Sigma-Aldrich, consulter le manuel d'utilisation du fabricant.

Les données obtenues par cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement à d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

### PROTOCOLE :

#### PROCÉDURE STANDARD

1. Préparer la solution d'hématoxyline ferrique de Weigert conformément aux instructions figurant sur l'étiquette.
2. Déparaffiner les lames et les hydrater avec de l'eau déionisée.
3. Placer les lames dans la solution de Bouin préchauffée à 56 °C pendant **15 minutes** ou à **température ambiante** pendant **toute la nuit**.
4. Refroidir les lames à l'eau du robinet (**18–26 °C**) contenue dans une jarre de Coplin.
5. Laver sous l'eau du robinet pour retirer la couleur jaune des coupes.
6. Colorer dans la solution d'hématoxyline ferrique de Weigert pendant **5 minutes**.
7. Laver sous l'eau du robinet pendant **5 minutes**.
8. Colorer dans la solution de colorant trichrome (LG ou AB) pendant **5 minutes**.
9. Placer dans de l'acide acétique à 0,5 % pendant **1 minute**.
10. Rincer les lames, déshydrater avec de l'alcool, nettoyer dans du xylène et monter.

#### PROCÉDURE AU FOUR À MICRO-ONDES ACCUMATE™ H2100

1. Déparaffiner les lames et les hydrater à l'eau déionisée.
2. Placer les lames dans **40 ml** de solution de Bouin dans une jarre de Coplin en plastique. Couvrir la jarre avec un couvercle non serré, ou utiliser des couvercles à événements.
3. Passer au four à micro-ondes **600 W** pendant **25 secondes**. Agiter la solution avec une pipette Béral ou un applicateur puis incubé pendant **5 minutes** sous une hotte ou dans une zone bien ventilée.
4. Rincer sous l'eau du robinet jusqu'à ce que la couleur jaune disparaisse.
5. Placer les lames dans **40 ml** de solution d'hématoxyline, Gill N° 3, contenue dans une jarre de Coplin en plastique.
6. Passer au four à micro-ondes **800 W** pendant **5 secondes**.
7. Bien rincer à l'eau du robinet pendant **30 secondes à 1 minute**.
8. Bleuir dans de la solution de Scott en remplacement de l'eau du robinet à température ambiante.
9. Bien rincer sous l'eau du robinet.
10. Placer les lames dans **40 ml** de solution de colorant trichrome (LG ou AB) contenue dans une jarre de Coplin en plastique.
11. Passer au four à micro-ondes **800 W** pendant **15 secondes**. Agiter doucement la solution avec une pipette Béral ou un applicateur. Incuber les lames pendant **1 minute**.
12. Rincer rapidement sous l'eau du robinet.
13. Placer les lames dans de l'acide acétique à 1 % pendant **30 secondes à 1 minute** à **température ambiante**.
14. Rincer les lames, déshydrater avec de l'alcool, nettoyer dans du xylène et monter.

## PERFORMANCE

Noyaux	– Bleu à noir
Collagène	– Vert (LG) ou bleu (AB)
Cytoplasme, muscle	– Rouge

Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le service technique Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

## RÉFÉRENCES

1. HJ Conn's Biological Stains, Edited by RD Lillie, 9th ed, Williams and Wilkins, Baltimore (MD), 1977
2. Theory and Practice of Histotechnology, Edited by DC Sheehan and BB Hrapchak, 2nd ed, Mosby, St. Louis, (MO), 1980
3. Lillie RD: Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain. Stain Technol 15:17, 1940
4. Gomori G: A rapid one-step trichrome stain. Am J Clin Pathol 20:661, 1950
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
8. Histotechnology: A Self Instructional Text. Carson, ASCP Press, Chicago, 1990
9. Kok and Boon: Microwave Cookbook for Microscopists. Couloomb Press, Leyden. Leyden 1992
10. Davis Mary: The Joy of Microwaving, NSH 1995 Symposium, Buffalo, NY

Sigma-Aldrich, Inc. garantit la conformité de ses produits avec les informations contenues dans la présente notice et dans les autres notices Sigma-Aldrich. L'utilisateur doit s'assurer que le(s) produit(s) est/sont adapté(s) à l'utilisation qu'il souhaite en faire. D'autres conditions générales peuvent s'appliquer. Voir au verso de la facture ou du bordereau de commande les conditions générales de vente et autres informations.

Protocole N° HT10  
Révision précédente : 2003-03  
Révision : 2003-09



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse  
Egham, TW20 9BD Royaume-Uni

SIGMA-ALDRICH, INC

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 États-Unis +1 314 771 5765

Service technique : en PCV au +1 314 771 3122

ou adresser un email à [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Pour commander : en PCV au +1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Allemagne 49-7329-970