



# Préparations tissulaires

---

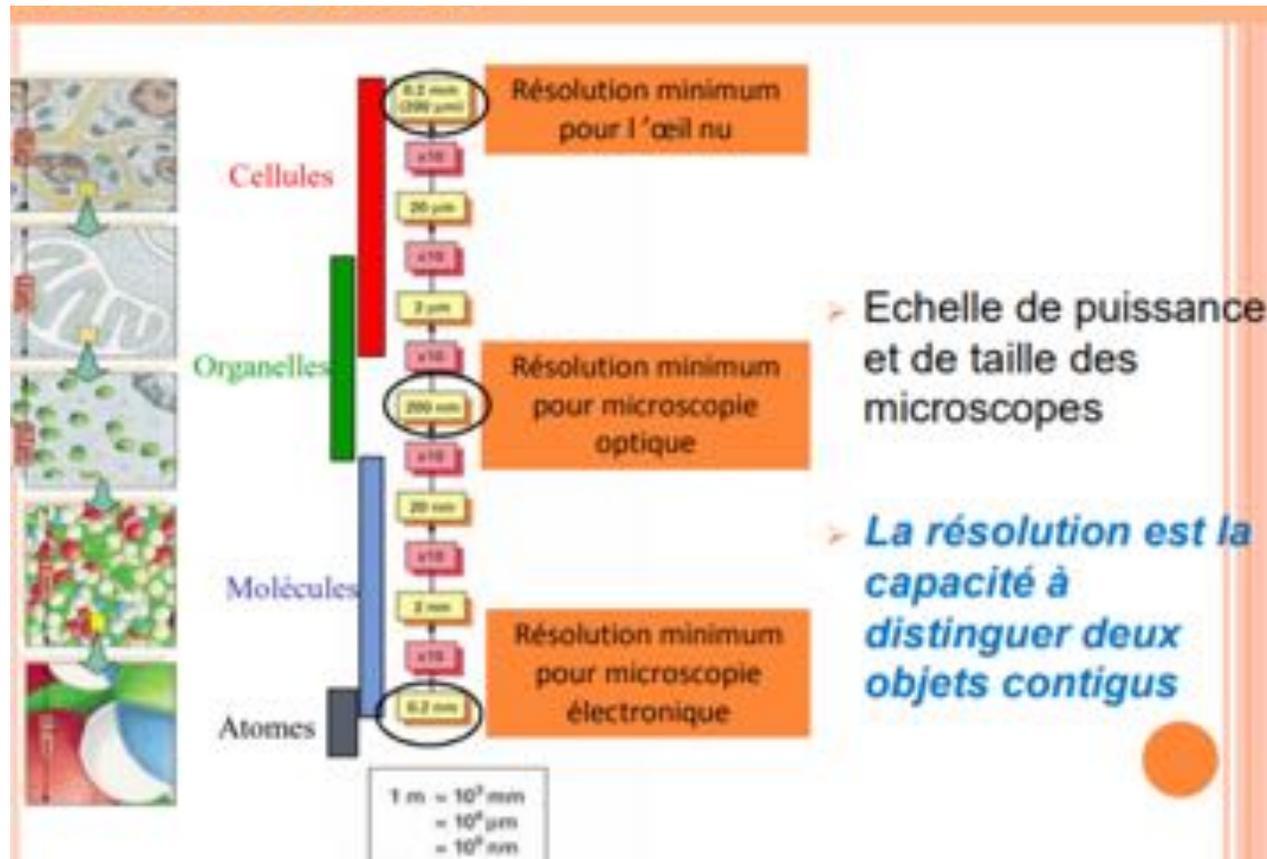
- Problématique principale : les tissus ne sont pas observable à l'œil nu

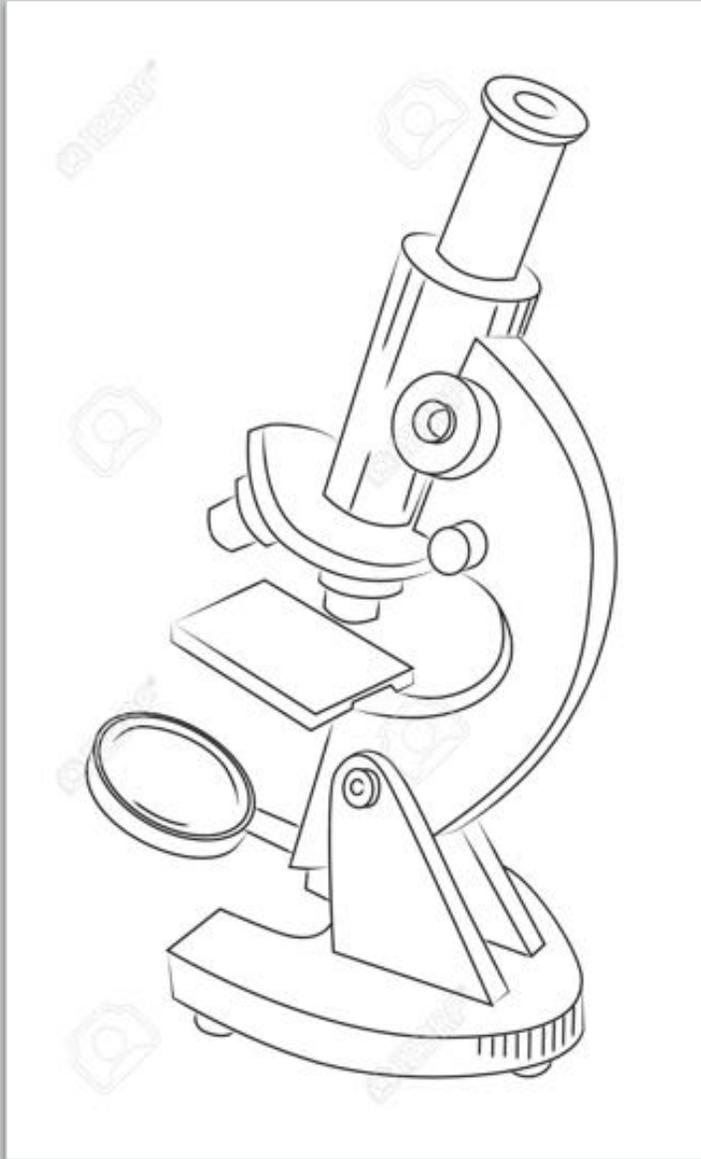
On peut faire une étude à temps t mais pas dynamique

Fixation ; inclusion ; coupe ; coloration ; montage

# Le microscope doit être sensible et l'image contrasté

Œil nu : 0,2 mm  
MO : 0,2 m  
ME : 0,2 nm





## Traitement de l'échantillon

=> Macroscopie

=> L'échantillonnage

=> Le conditionnement:

- La fixation

- La congélation



# Le conditionnement

---

- - **La conservation de l'échantillon** → Les figer dans l'état dans lequel on les a reçus
- - **La préservation de la morphologie cellulaire et tissulaire**
- - **La rigidification du tissu pour faciliter les coupes**
- - **La réalisation des techniques d'histologie**

# La fixation

---

- Le volume de fixateur doit être **10 fois supérieur** au volume de l'échantillon. La durée de fixation comme le volume de fixateur dépendra du **volume** de l'échantillon.
- **Pour le MO** : On fixe au formol 10% (aussi pour immunohistochimie et analyse moléculaire)
- **Pour le ME** : On fixe au glutaraldéhyde

# La congélation

---

- **Examen extemporané** : « en temps réel », pour un diagnostic rapide. Différentes étapes :

1) Echantillonnage  
base d'eau

2) Placement de l'échantillon sur un plot avec un gel à

3) Congélation rapide à  $-30\text{ C}^{\circ}$

4) Coupe fine rapide avec cryomicrotome

5) Coloration bleu de Toluidine

6) Analyse grossière → Architecture du tissu

- **Cryoconservation dans l'azote liquide** à  $-196\text{ C}^{\circ}$  très rapide donc les cellules vont être figées dans leur état d'origine. Conservation de l'échantillon dans une banque de tumeur à  $-80\text{ C}^{\circ}$

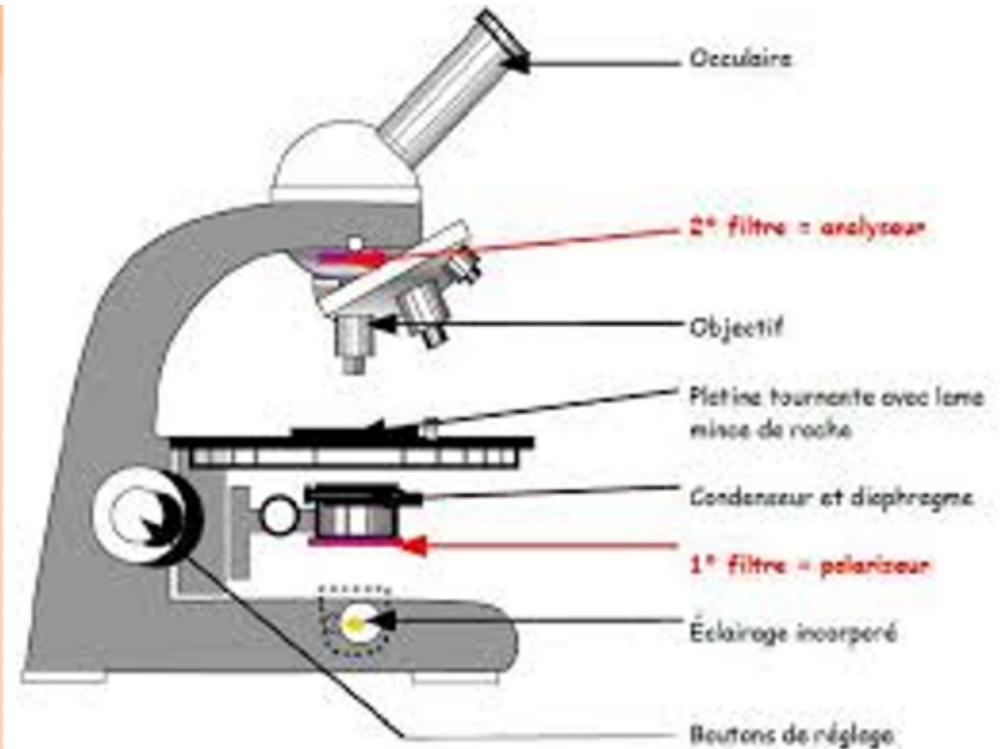
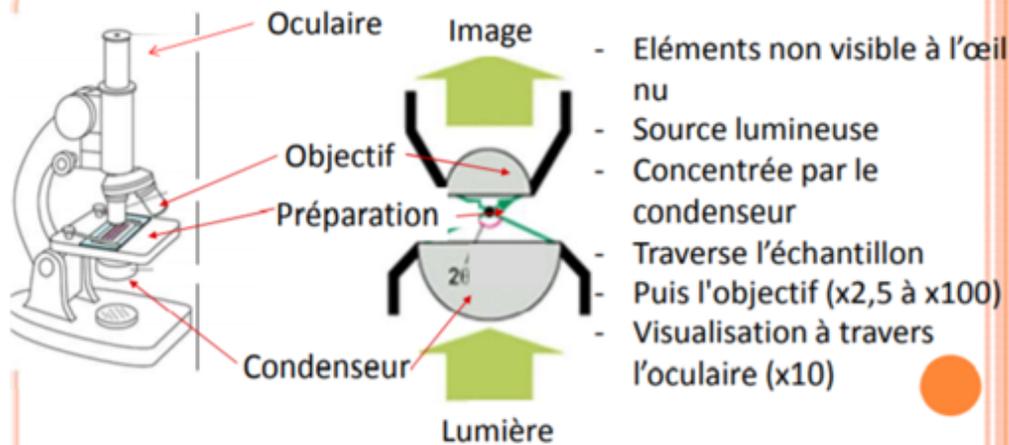
- **Coloration spéciale**

# Microscopie

## I- Microscopie Optique Photonique

### A- Le microscope photonique à fond clair

*Ou microscopie optique conventionnel à transmission  
En routine*

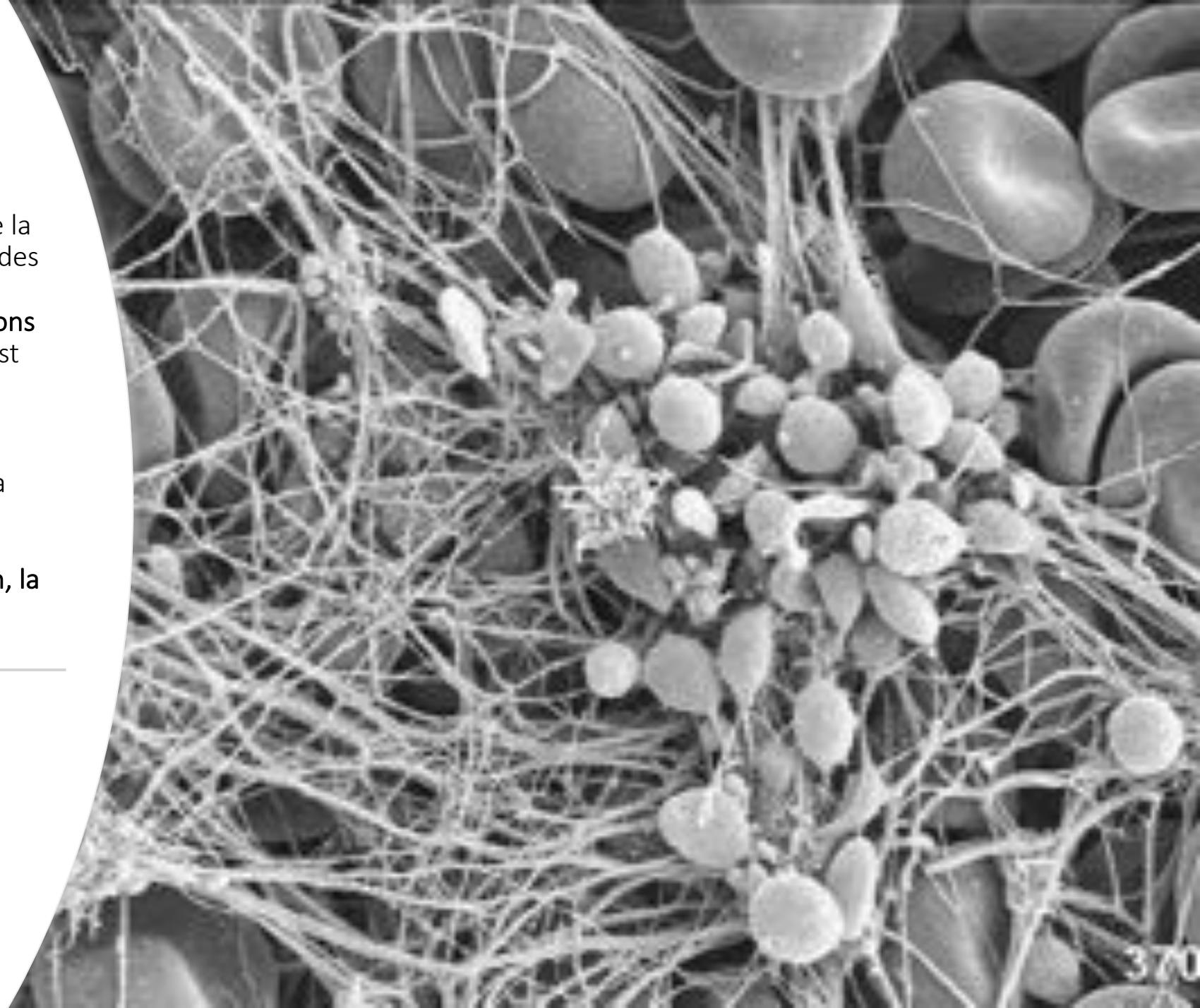


- Il a une **meilleure résolution (0,2 nm)** que la microscopie optique et permet d'observer des organismes intracellulaires.
- C'est une technique qui utilise des **électrons** dont le pouvoir de pénétration des tissus est bien **inférieur** aux photons.

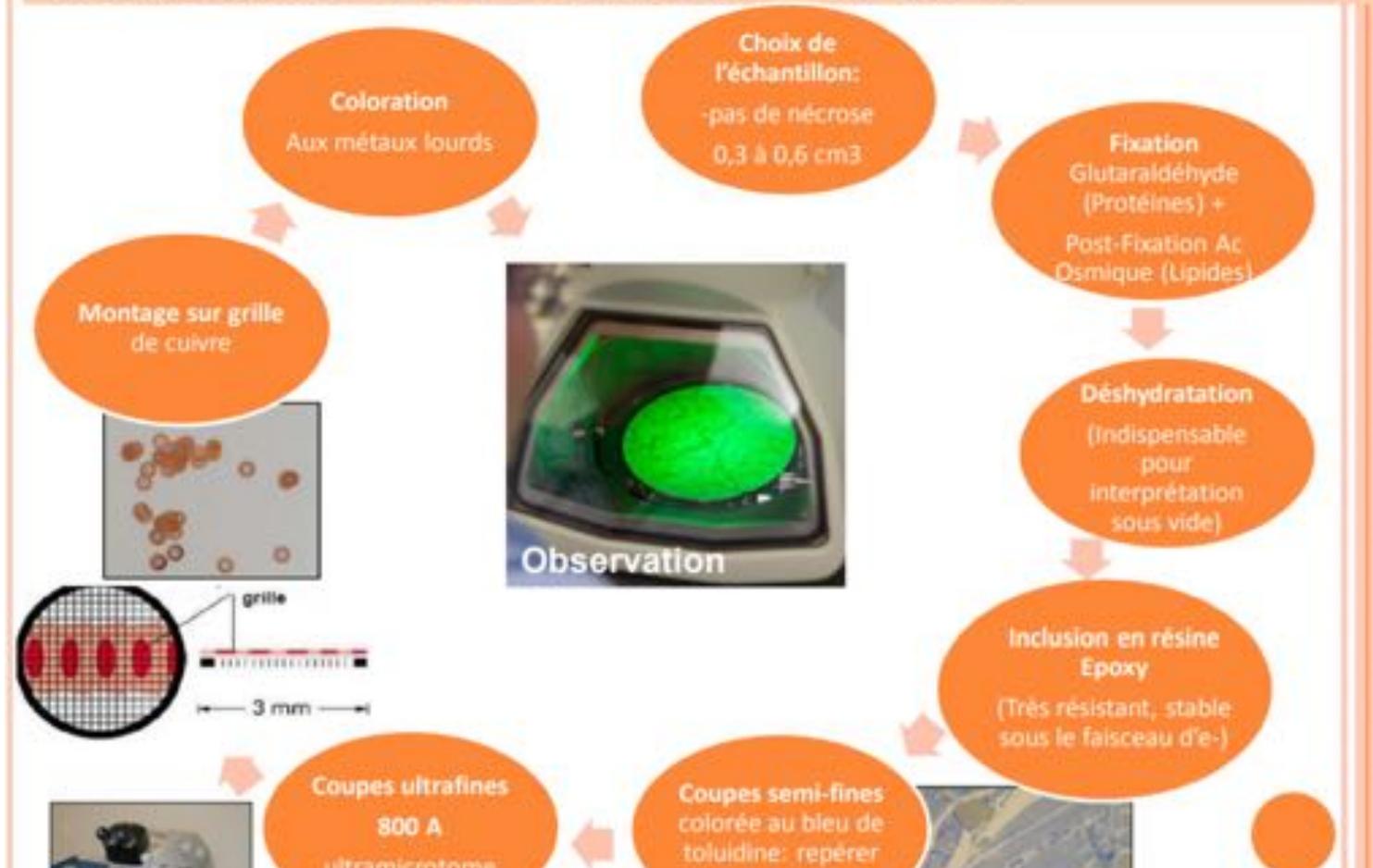
La préparation des échantillons est donc différente de la microscopie électronique.

→ Il y a **2 types** de ME : à **transmission** et à **balayage**

A noter que l'échantillon subit les mêmes étapes que pour la MO sauf pour la **fixation, la coupe et la coloration**



# TRAITEMENT DE L'ÉCHANTILLON, MET

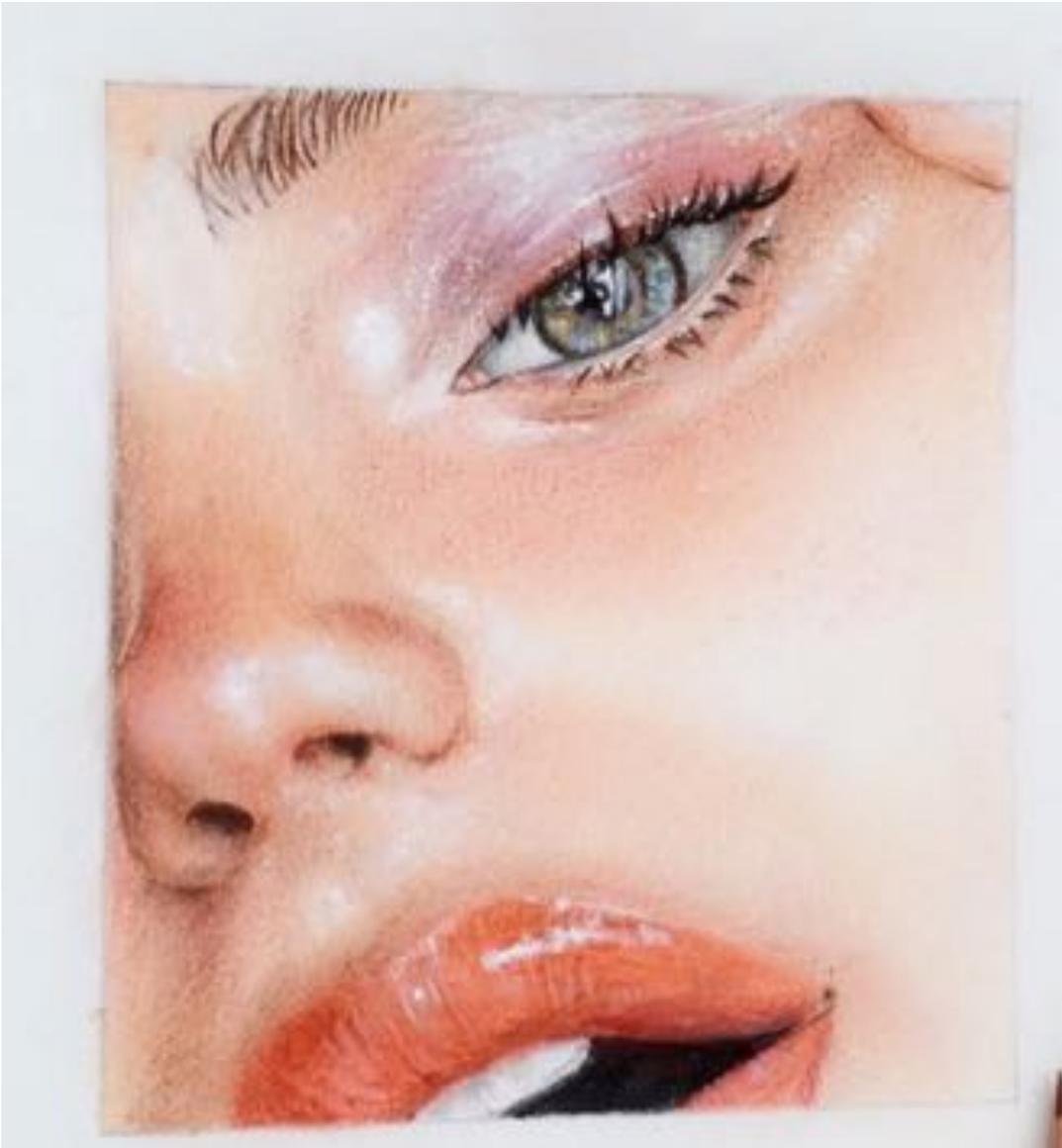


Différente étapes

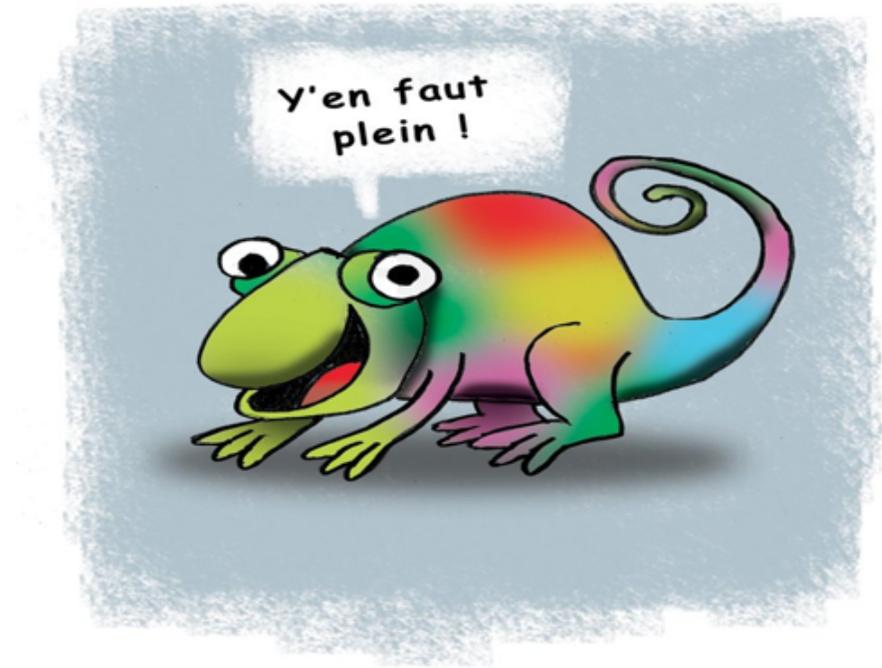
# Un petit qcm

- A propos de la cytologie et de l'histologie
  - a) Les tissus observés sont visible à l'oeil nu
  - b) Les étapes sont dans l'ordre : la fixation, l'exclusion, la coupe, la coloration, le montage
  - c) Le but des traitement est de tuer les cellules
  - d) Contrairement à l'histologie, la biocell n'est pas une étude dynamique
  - e) Tout est faux





# Le traitement des échantillons





# L'inclusion

---

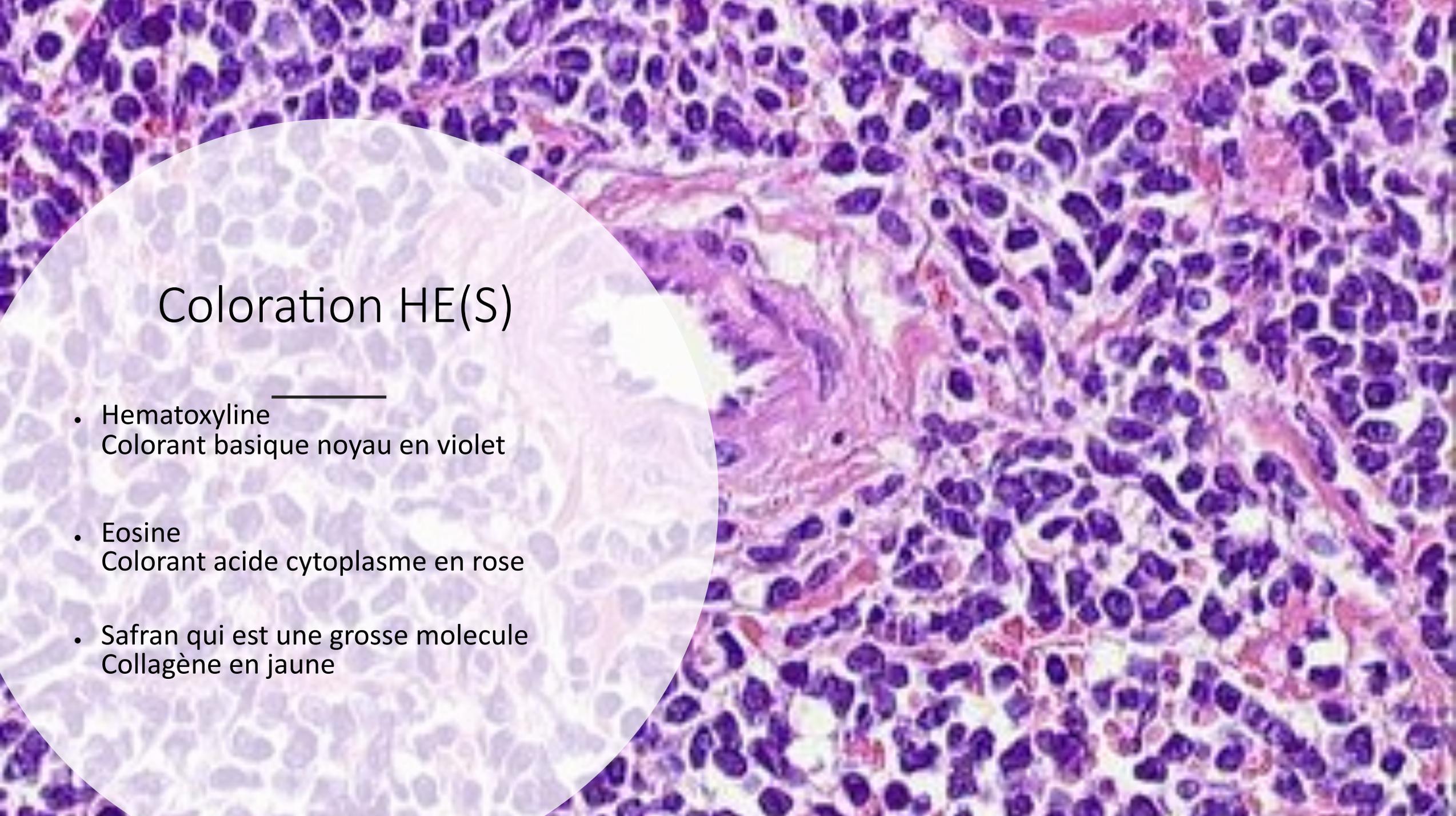
- A noter que la paraffine est chauffée à **58°** maximum pour ne pas altérer l'échantillon
- L'inclusion a deux objectifs :
- Réaliser des coupes tissulaire
- Archivages des tissus à 25°

Avant cette étape il y a une étape de déshydratation



# Coloration

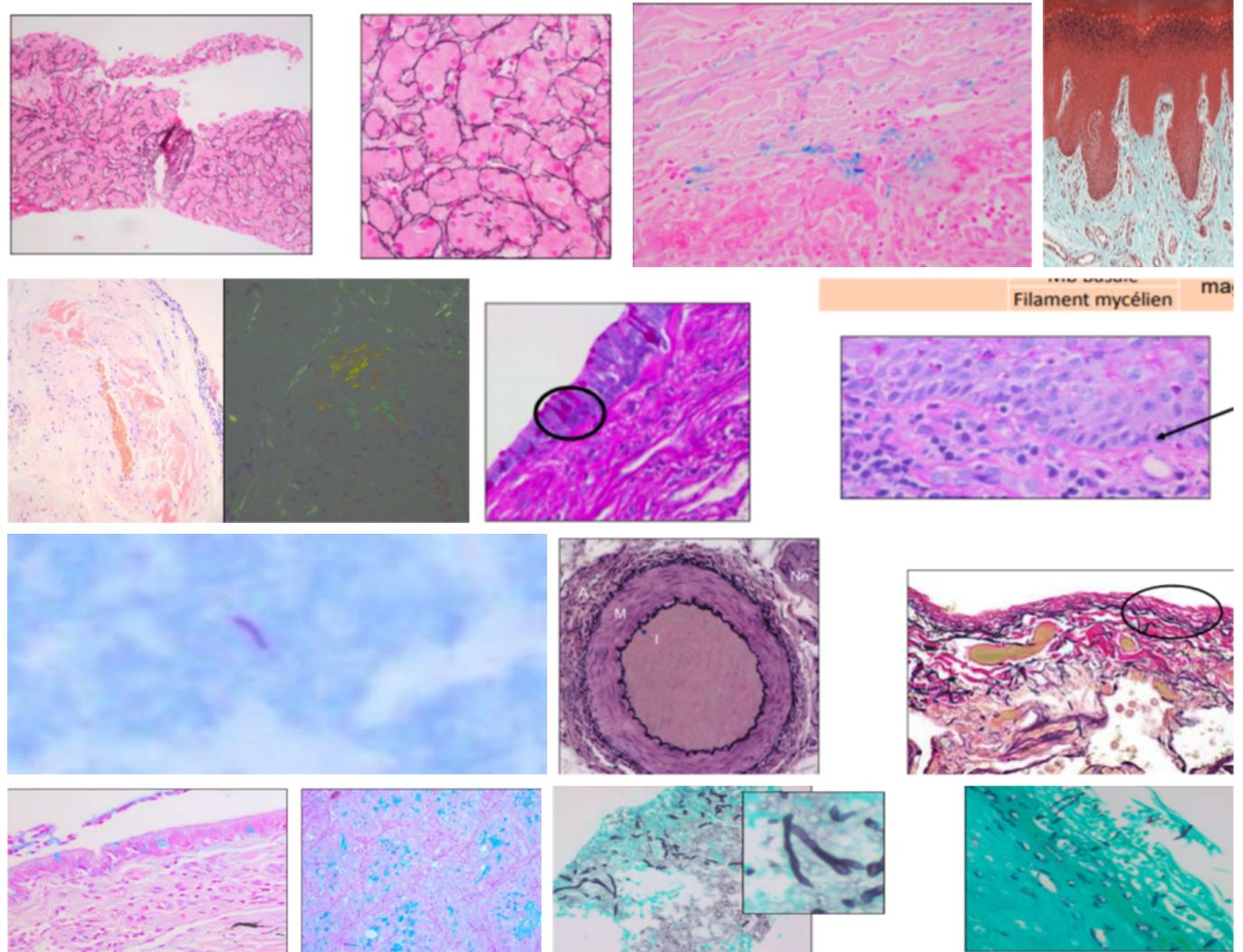
- Avant cette étape il faut déparaffiner et réhydrater
- Les colorants acides colorent les composés basique et inversement
- Il existe des colorations topographique = de routine et des colorations spéciales



## Coloration HE(S)

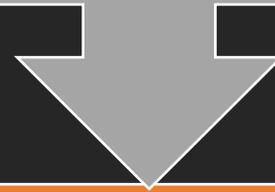
- Hematoxyline  
Colorant basique noyau en violet
- Eosine  
Colorant acide cytoplasme en rose
- Safran qui est une grosse molecule  
Collagène en jaune

# Colorations spéciales





Affiner analyse morphologique



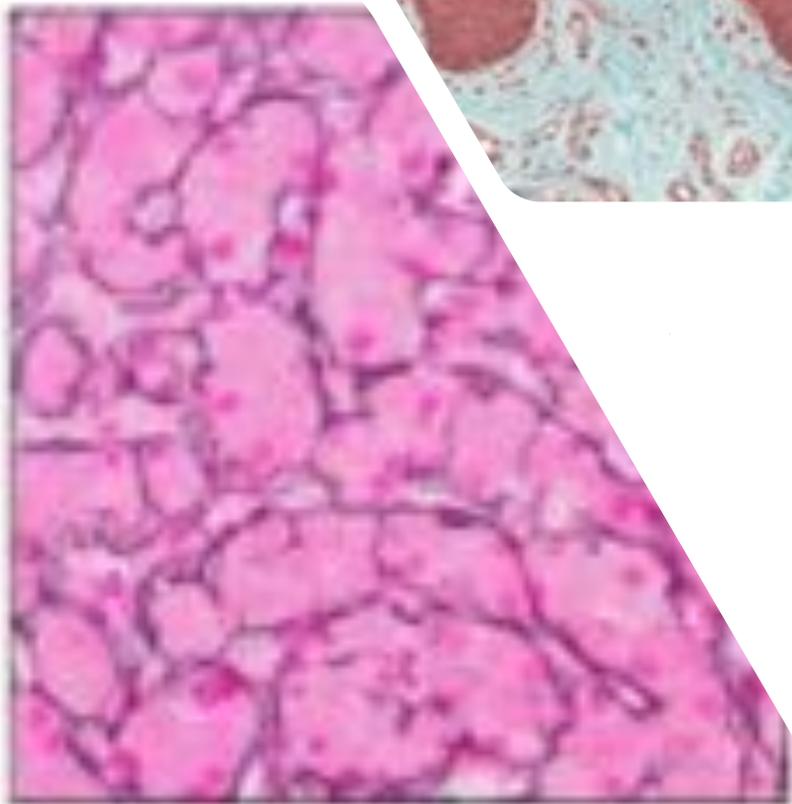
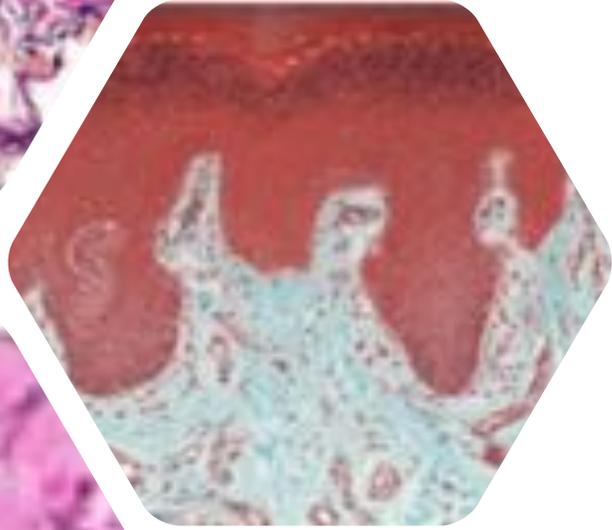
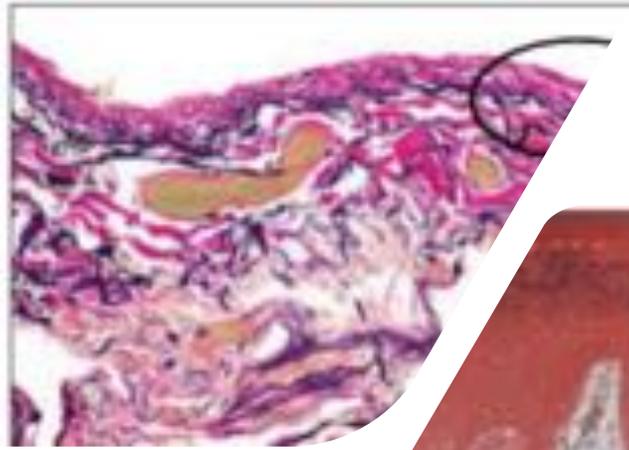
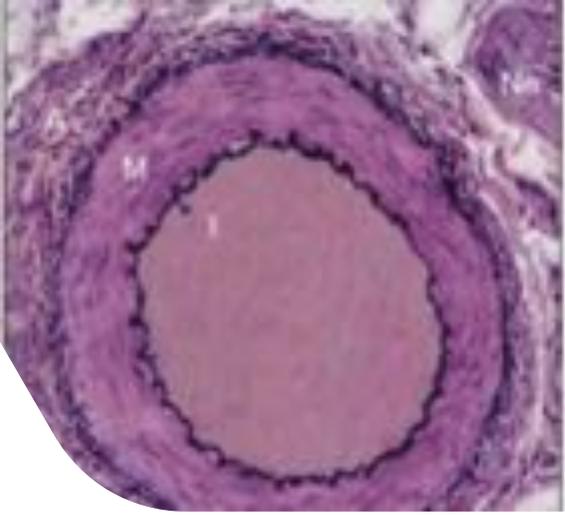
Mise en évidence des **composants** de certains tissus :

MEC (élastine,  
collagène)

Sécrétions  
intracellulaires  
(mucus, glycogène..)

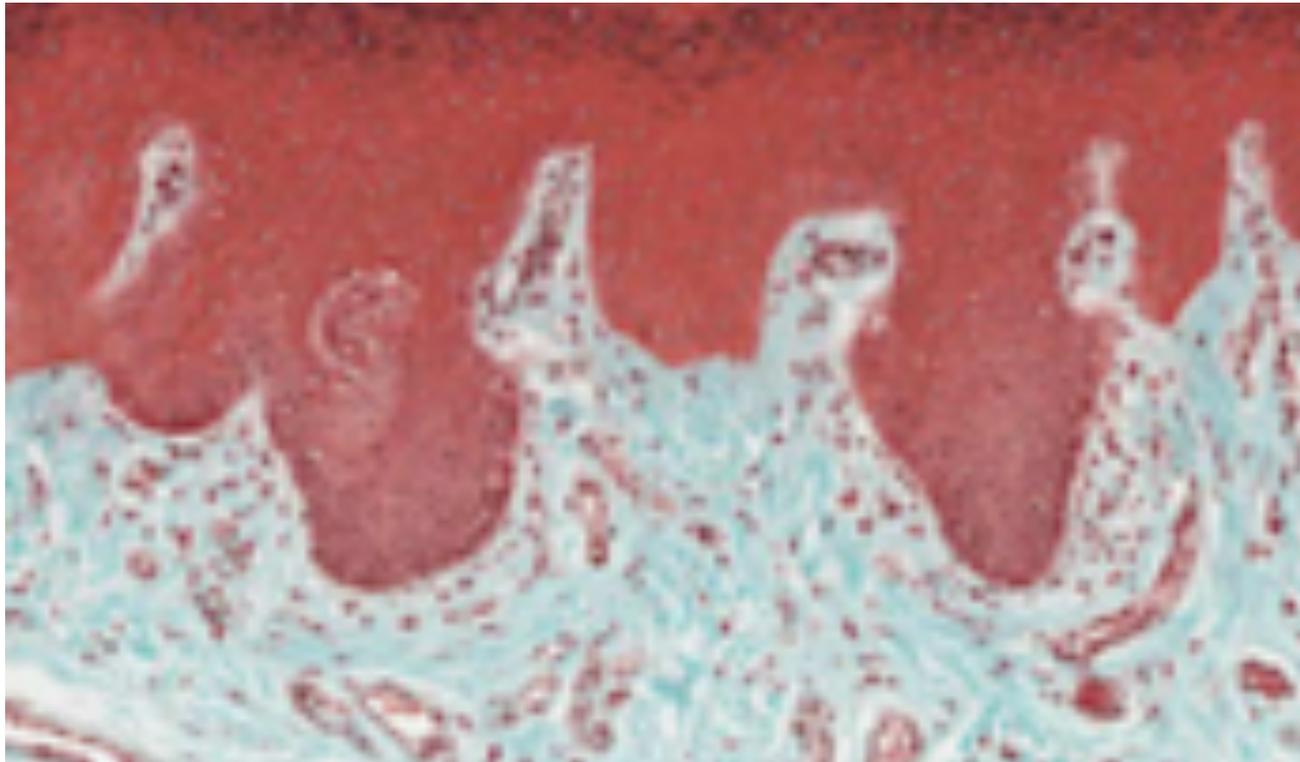
Dépôts/surcharges  
(amylose, fer)

Agents infectieux  
(bactéries ou  
champignons)

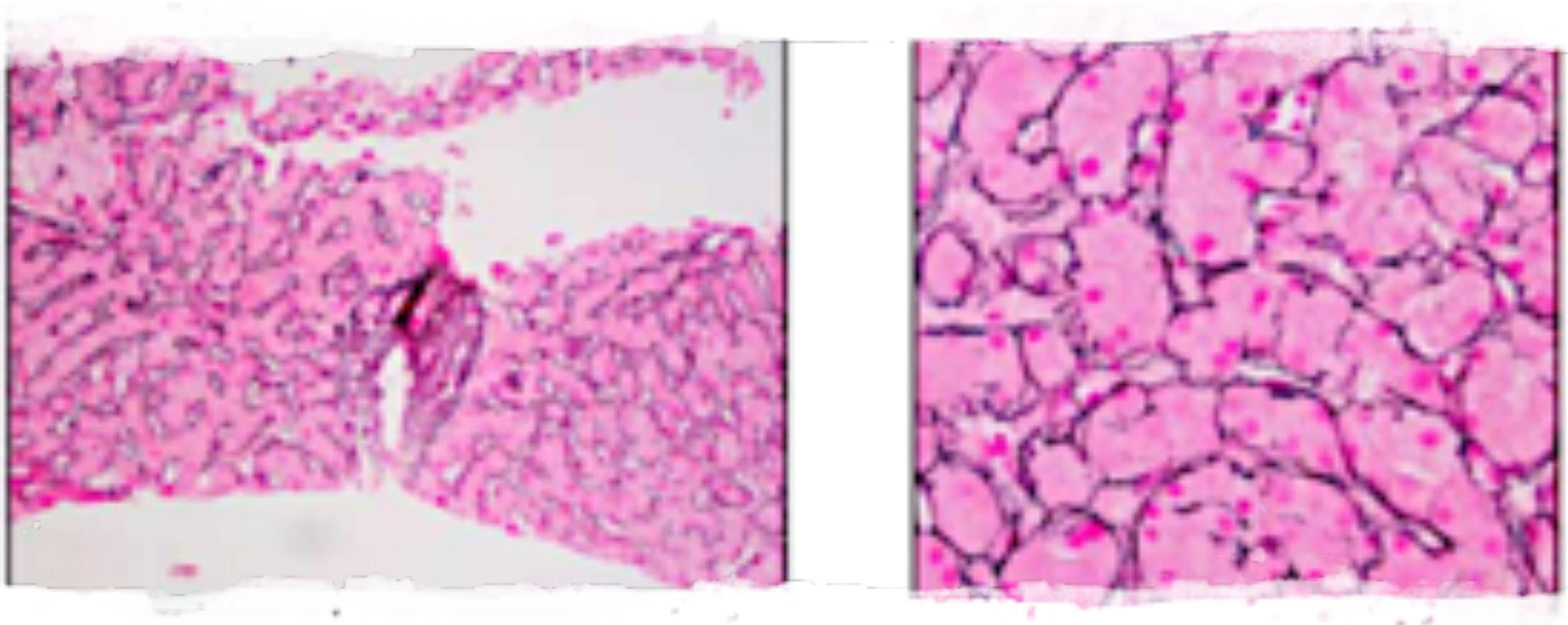


Colorations  
des fibres  
conjonctives

# Le trichrome de Masson

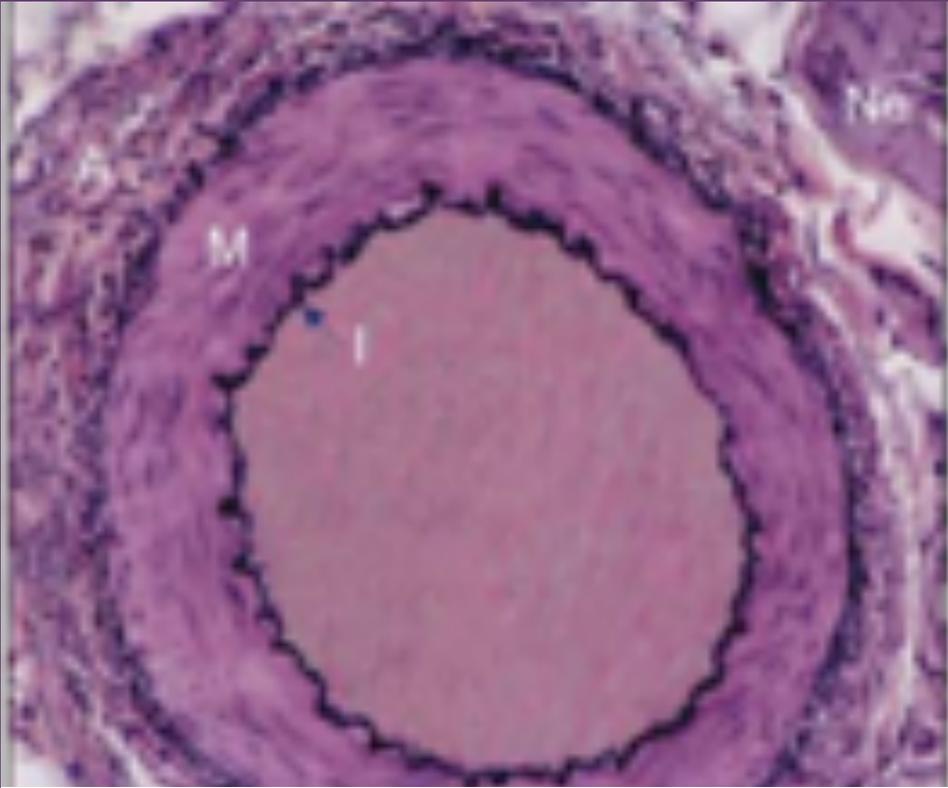


- **Collagène I** en vert ou bleu
- **Épithélium** en rouge
- **Noyaux** en noir



Fibres de **rétiline** en noir

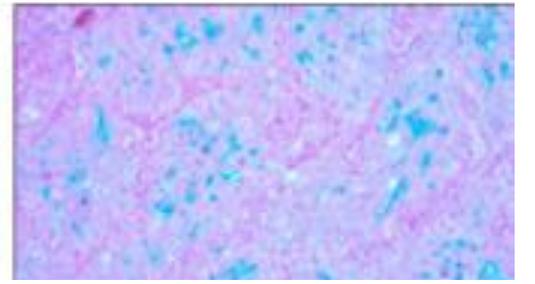
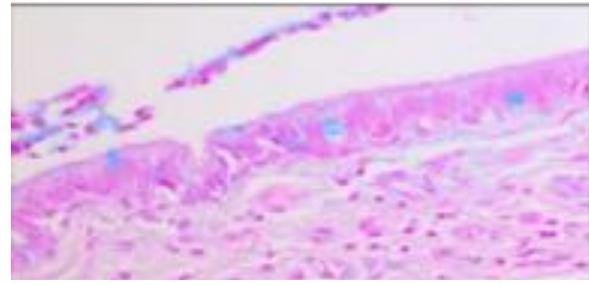
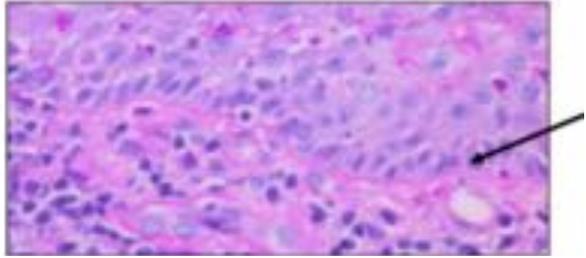
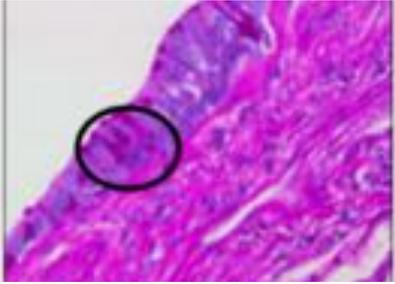
Le Gordon Sweet



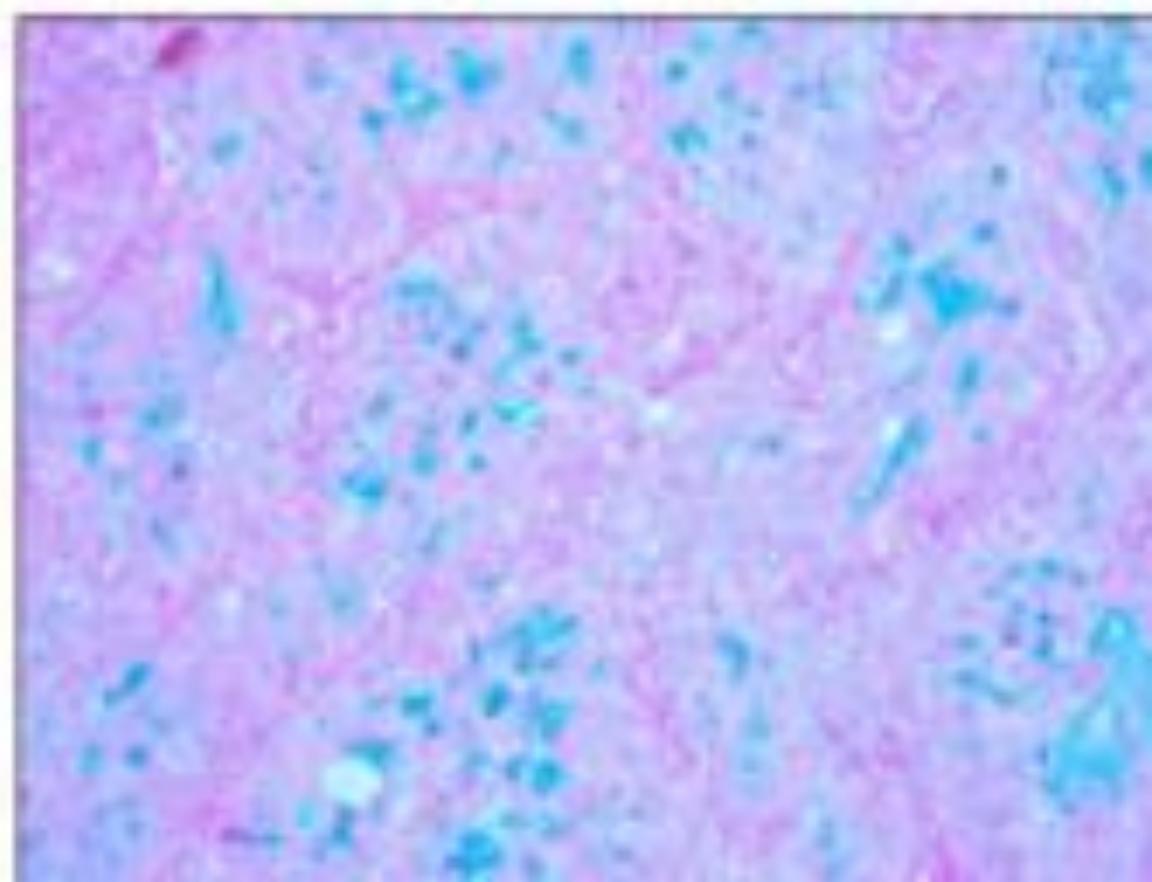
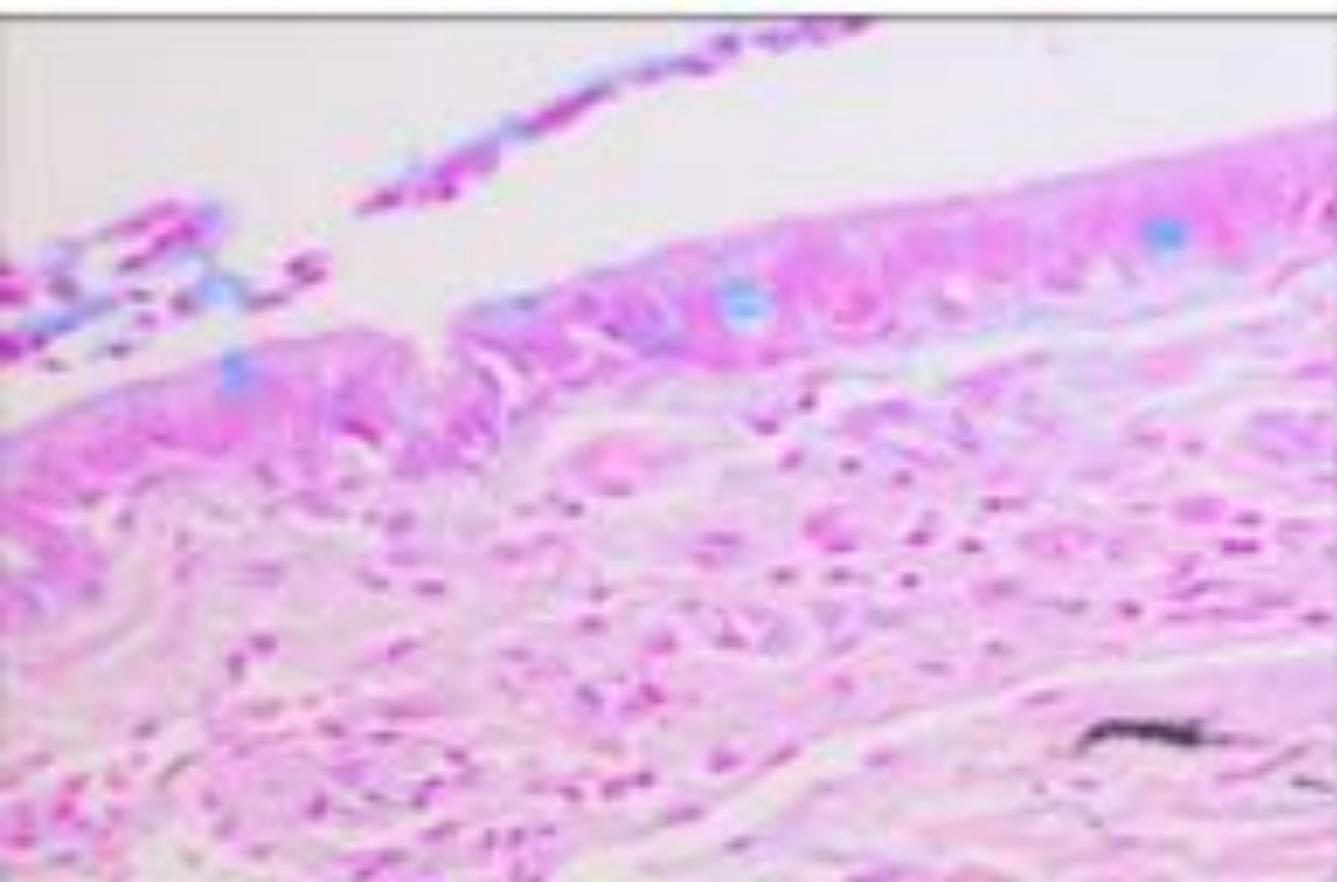
# Verhoeff

---

Fibres élastiques en noir

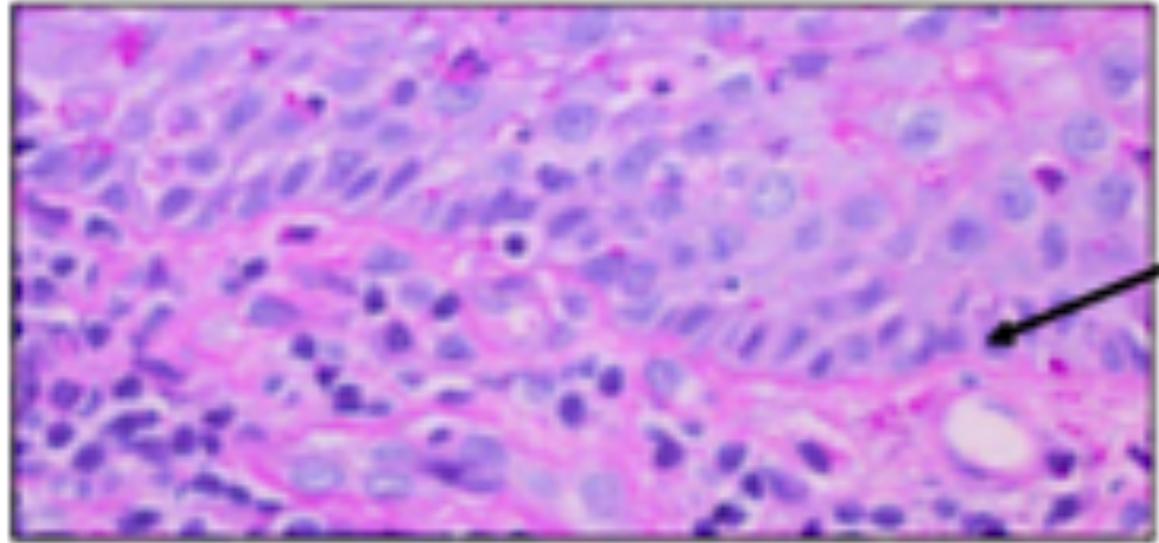
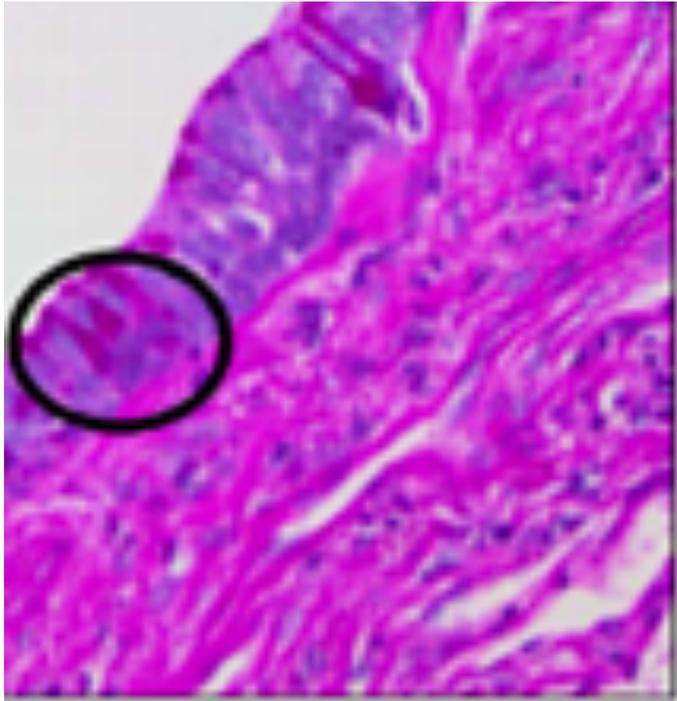


Colorations des mucines



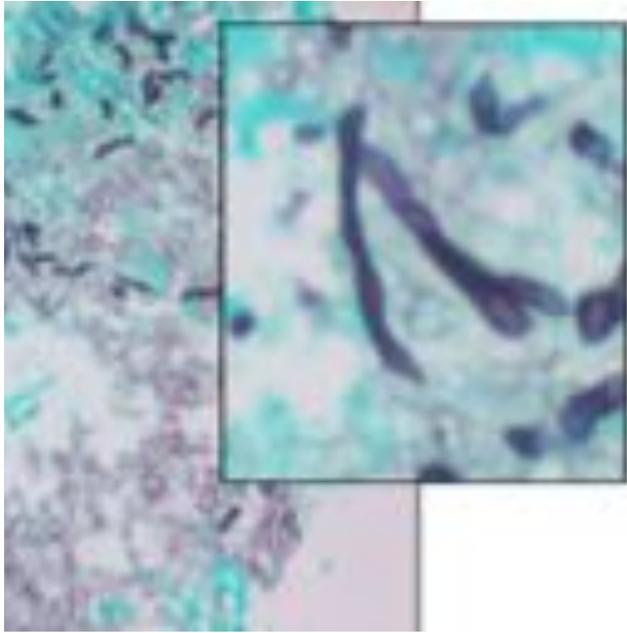
# Bleu alcian

Mucus en bleu ciel



## Periodic Acide Schiff (PAS)

- Mucus
- Glycoprotéines
- Certains champignons

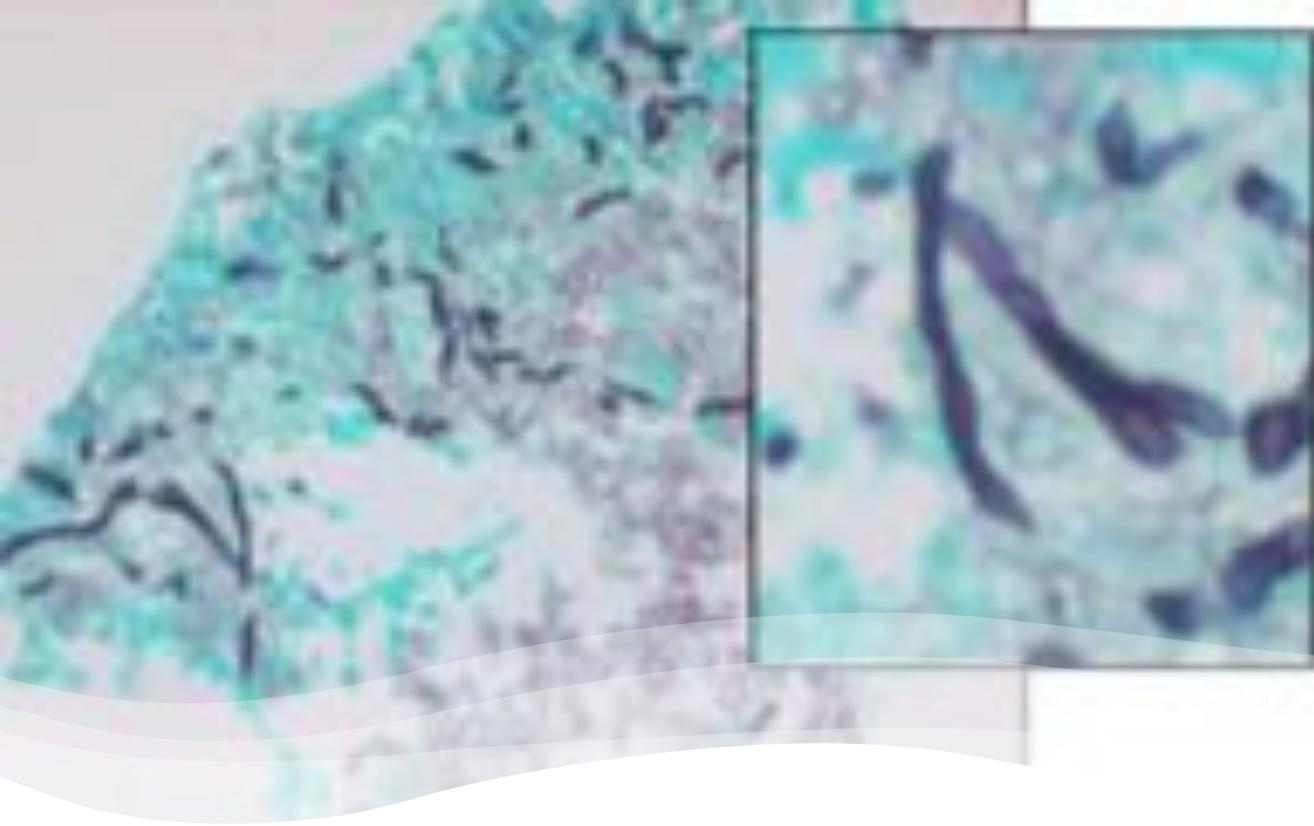


# Colorations des micro-organismes



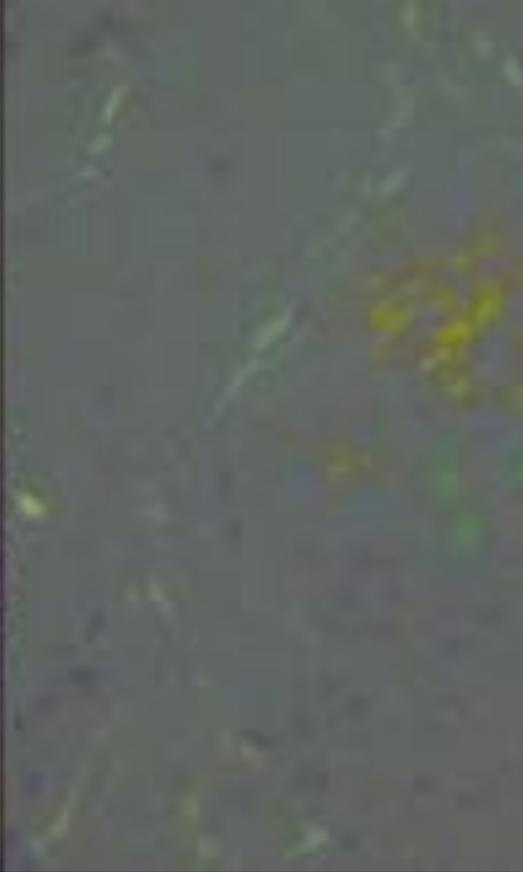
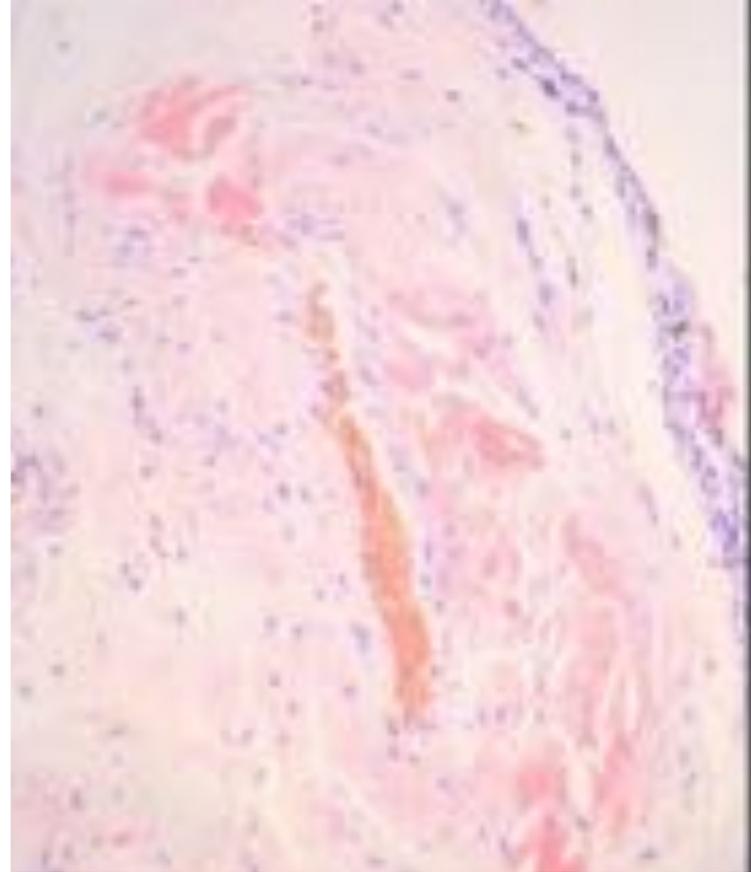
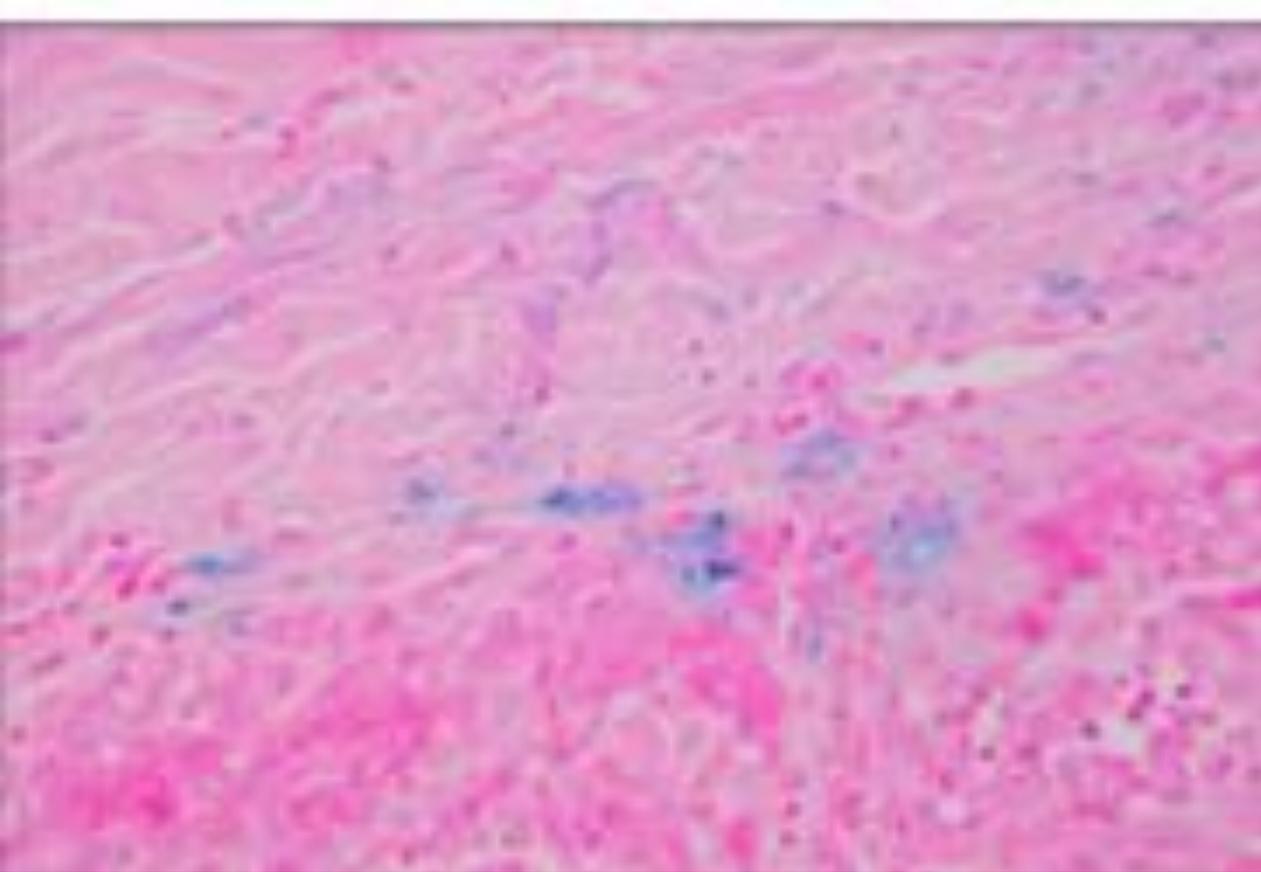
# Le ziehl

Mise en évidence du **BAAR** spécifique de la **tuberculose**

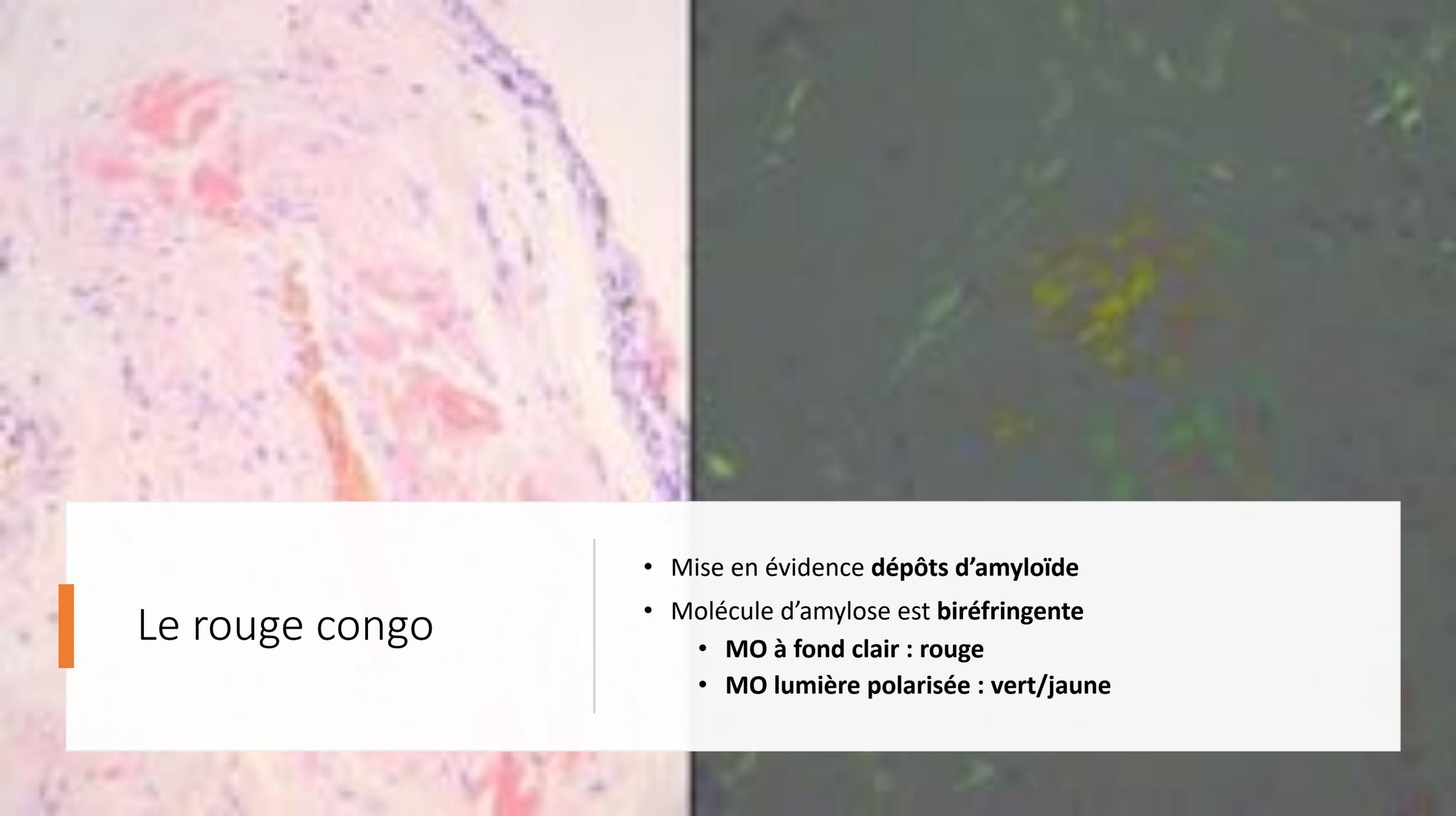


Infections fongiques

Le Gomori Grocott



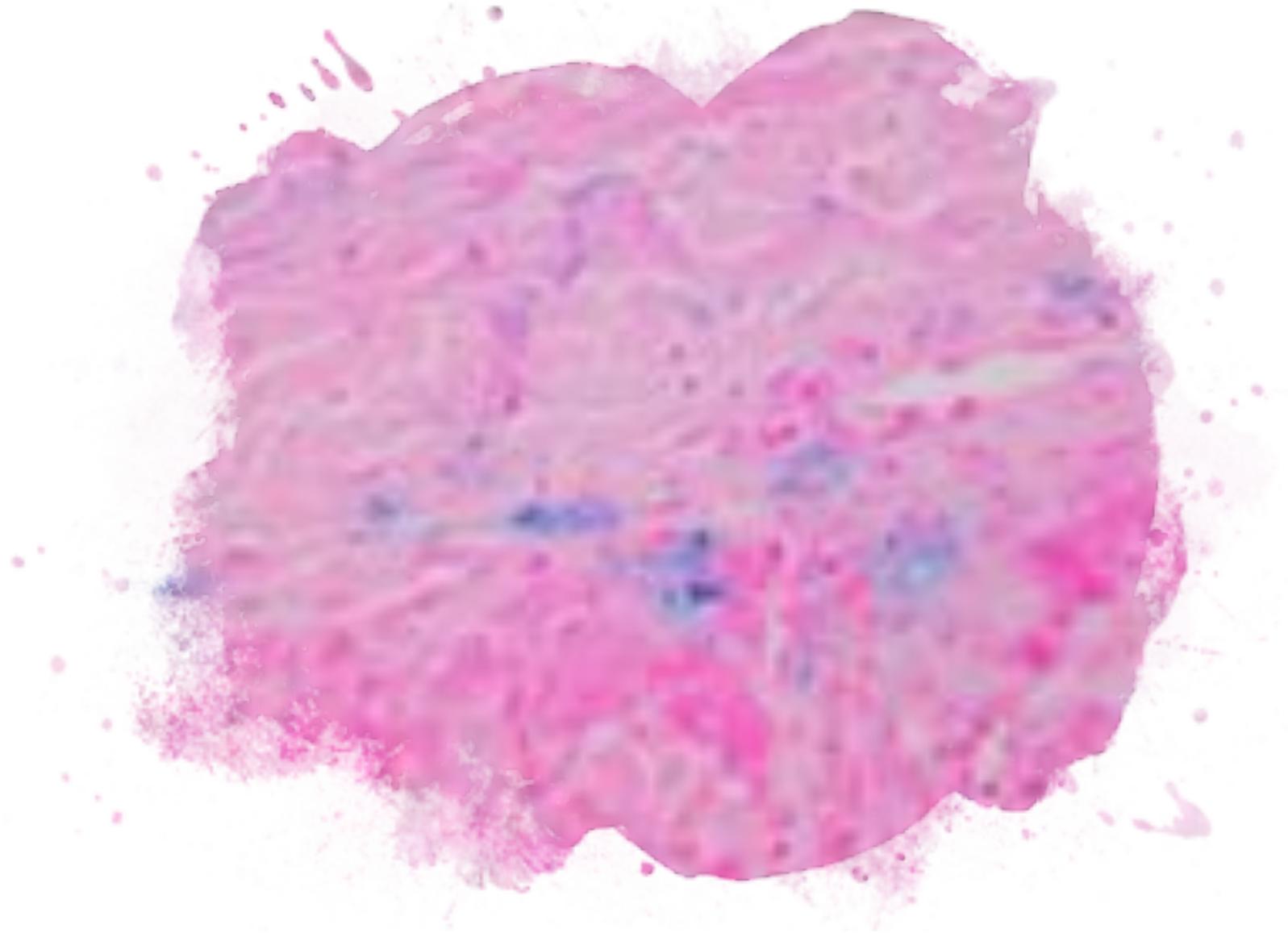
Colorations des surcharges



## Le rouge congo

- Mise en évidence **dépôts d'amyloïde**
- Molécule d'amylose est **biréfringente**
  - **MO à fond clair : rouge**
  - **MO lumière polarisée : vert/jaune**

Dépôts ferriques  
Le perls



# Immunohistochimie

| Ac           | Monoclonaux  | Polyclonaux   |
|--------------|--|---|
| Production   | Par culture cellulaire = <b>criblage d'hybridome</b>   | Par <b>immunisation</b> d'un animal   |
| Avantage     | <b>Plus spécifique de l'antigène</b> , donc moins de bruit de fond   | Facilité de production, Peu coûteux/ <b>Très bonne avidité</b> - Plusieurs épitopes sont reconnus |
| Inconvénient | <b>Technique longue, complexe et coûteuse</b> , Manque d'avidité, si les antigènes sont altérés, il y a un risque de non reconnaissance, <b>Technique moins sensible</b> | L'anticorps se fixe facilement et il y a un <b>bruit de fond important</b>                        |

# Conclusion

- L'observation et l'interprétation en histologie dépend de différentes étapes qui sont indispensables et qui garantissent la qualité des étapes analytiques
  - **La préparation tissulaire**
  - **L'inclusion**
  - **La coupe**

The background of the slide is a reproduction of Sandro Botticelli's painting 'The Birth of Venus'. It depicts the goddess Venus emerging from a seashell on the left, with two winged figures (Zephyrus and Chloro) blowing her towards the shore. On the right, a woman in a white dress with a red and black patterned shawl (Cypriote) stands near a tree, holding a mirror. The scene is set on a grassy shore with a blue sky and a sea with small waves.

**QCM 1 : À propos des colorations, donnez la(les) vraie(s) :**

- A) Le Rouge Congo met en évidence les dépôts amyloïdes
- B) Le Perls met en évidence les dépôts ferriques
- C) Le Ziehl met en évidence les infections fongiques
- D) Le Verhoeff colore en vert les fibres élastiques
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

# RÉPONSES A et B !!

**QCM 1 : À propos des colorations, donnez la(les) vraie(s) :**

- A) Le Rouge Congo met en évidence les dépôts amyloïdes
- B) Le Perls met en évidence les dépôts ferriques
- C) Le Ziehl met en évidence les infections fongiques
- D) Le Verhoeff colore en vert les fibres élastiques
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

