

PRO EXPERIMENTIS

Technique de coloration histologique de tissus inclus dans des polyesters

L'étude au microscope optique de coupes colorées est le complément nécessaire de toute recherche en cytologie électronique. Faite sur des coupes colorées provenant des mêmes blocs que les coupes ultra-minces, elle permet, entre autres, d'identifier certains constituants, de déterminer l'orientation des pièces ou d'éliminer des préparations sans intérêt. L'application des colorations histologiques aux tissus inclus aux métacrylates, après dissolution du matériel d'enrobage, est devenue une technique de routine dans de nombreux laboratoires.

Mais, depuis la publication des travaux de KELLENBERGER *et al.*^{1,2} et de REIMER³, l'emploi de polyesters comme matière d'inclusion tend à se généraliser en cytologie électronique. Or, les divers polyesters utilisés: Vinox, Vestopal, etc. présentent l'inconvénient d'être insolubles à l'état polymérisé. Il semblait donc exclu de pouvoir obtenir des coupes colorées de blocs dont provenaient les coupes fines utilisées en microscopie électronique. Certains auteurs ont cependant signalé (notamment MOSES⁴) qu'ils coloraient des coupes de tissus inclus au métacrylate sans l'avoir préalablement dissous. Il nous a paru utile d'adapter cette technique aux polyesters.

Divers essais nous ont montré que les colorations histologiques simples peuvent être pratiquées, sans grandes difficultés, sur des tissus inclus aux polyesters, en prenant toutefois certaines précautions.

Nous procédons actuellement ainsi: les coupes d'une épaisseur d'environ 1 μ , sont faites à l'ultramicrotome équipé de couteaux de verre; elles sont recueillies à l'aide d'un pinceau, directement sur le couteau nu, et déposées sur une lame porte-objet soigneusement nettoyée et dégraissée, puis albuminée. Les coupes sont blanchies à l'eau oxygénée à 3% de 2 à 4 h, lorsque le matériel a été fixé à l'acide osmique; puis elles sont soumises à l'action prolongée des colorants en solution aqueuse ou alcoolique. Les préparations sont différenciées à l'eau distillée ou à l'alcool, séchées à l'air 1 h environ, enfin recouvertes de baume du Canada et d'une lamelle.

La difficulté du procédé réside dans la faible adhésion des coupes au verre, même recouvert d'albumine: l'eau distillée, l'acétone et la chaleur peuvent l'améliorer, comme elles en améliorent également l'étalement.

La pénétration du colorant exigeant un temps assez long, celui-ci doit être déterminé pour chaque cas.

Citons par exemple:

Chromotrope 2R	(sol. alc. à 0,1%)	3 h
Bleu de Toluidine	(sol. aqu. à 1 %)	
Fastgreen	(sol. alc. à 2 %)	20 à 24 h
Fuchsine basique	(sol. alc. à 1 %)	
Soudan III	(sol. alc. à 0,2%)	
Solution de Lugol		
Hémalum-Eosine		20 à 70 h

L'emploi de ces colorants sur des tissus inclus dans une matière plastique ne semblent changer en rien ni leur spécificité ni leur mode d'action. Si l'on traite simultanément des coupes d'épaisseurs diverses, on constate toujours que les plus épaisses sont les plus intensément colorées. Il est donc évident que le colorant pénètre la masse et n'agit pas seulement en surface.

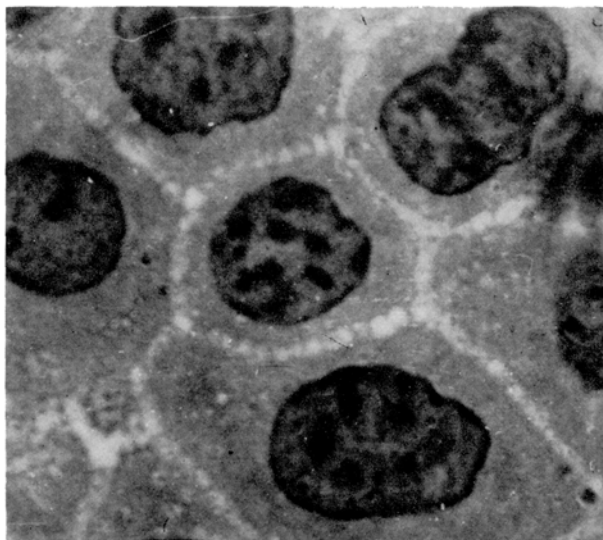


Fig. 1. *Epiderme de triton (Triturus cristatus L.)*. Fixation osmique selon Palade; inclusion au Vestopal W; coloration à l'Hémalum-Eosine (préparation P. A. Pillai)

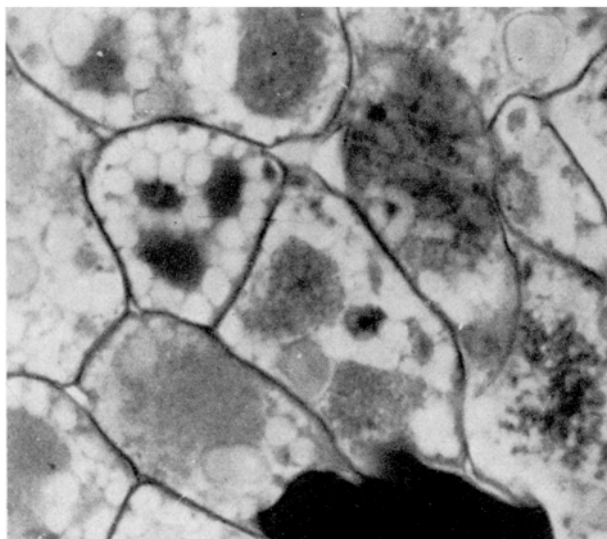


Fig. 2. *Fève de cacao fraîche (Theobroma L.)*. Fixation osmique 2% à 4° C sous léger vide; inclusion au Vestopal W; coloration au Fastgreen (préparation L. Racine, travail effectué en collaboration avec les Laboratoires de Recherches AFICO S.A., La Tour-de-Peilz)

L'observation au microscope optique de coupes colorées de tissus inclus dans des polyesters n'intéresse pas seulement les spécialistes de la microscopie électronique. Elle peut se montrer dans certains cas particulièrement utile, notamment pour l'étude de tissus de duretés très diverses ou de faible cohésion.

A. GAUTIER

(avec la collaboration technique de C. HOLD)

Centre de Microscopie Electronique de l'Université de Lausanne (Suisse), le 14 novembre 1959.

Summary

A simple staining method for sections of tissues embedded in polyester is described. It can easily be performed and is valuable for comparison with ultrathin sections used in electron cytology.

¹ E. KELLENBERGER, W. SCHWAB et A. RYTER, *Exper.* 12, 421 (1956).

² A. RYTER et E. KELLENBERGER, *J. Ultrastructure Res.* 2, 200 (1958).

³ L. REIMER, *Z. Naturforsch.* 14b, 566 (1959).

⁴ M. J. MOSES, *J. biophys. biochem. Cytol.* 2, Suppl. 397 (1956).