



Cibles, critères d'évaluation et optimisation du trichrome

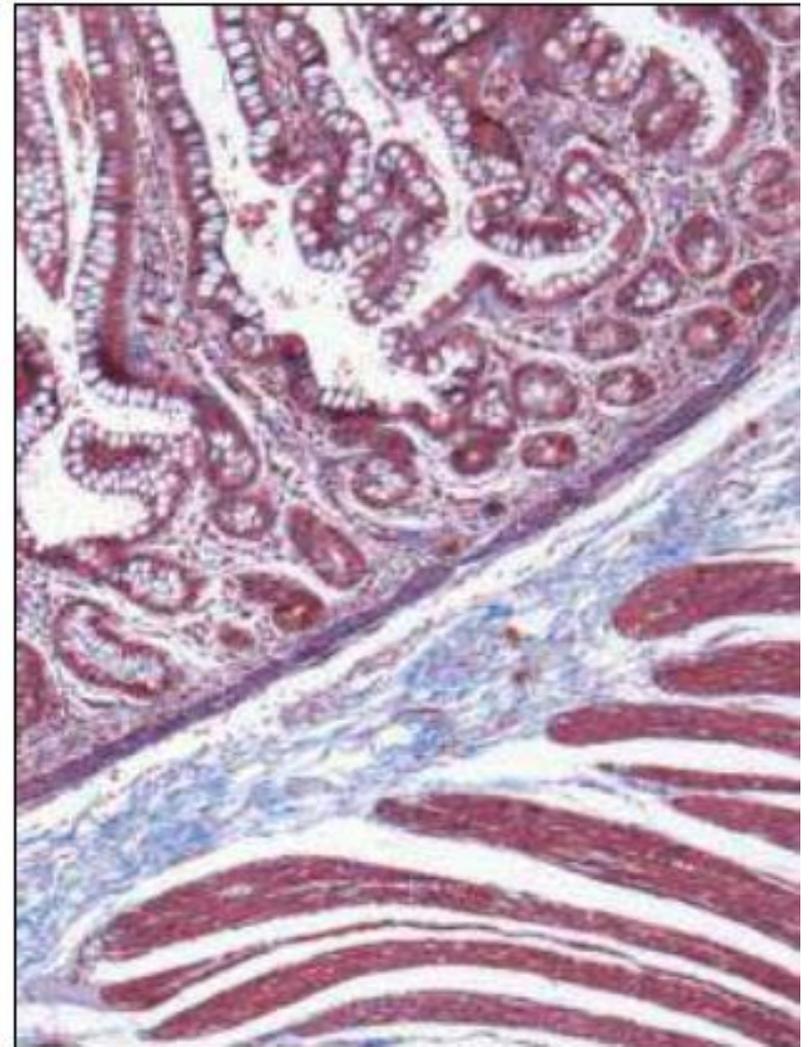
Miriam Blumenkrantz et
Dorothy Chicoine
1^{er} et 12 juin 2012

Plan de présentation

- But de la coloration
- Principe de la coloration
- Choisir les tissus appropriés pour le témoin
- Critères d'évaluation de la qualité
- Résolution de problèmes
- Quiz

Trichrome: But de la coloration

- Mise en évidence des fibres de collagène
- Identifier une augmentation des fibres de collagène ou différencier le collagène des fibres musculaires lisses



Trichrome: Principe de la coloration

Différence de perméabilité des différents constituants acidophiles du tissu

Biebrich scarlet: molécule de petite taille, pénètre bien le cytoplasme très dense

Fushine acide: plus grosse molécule, colore les muscles lisses moins denses

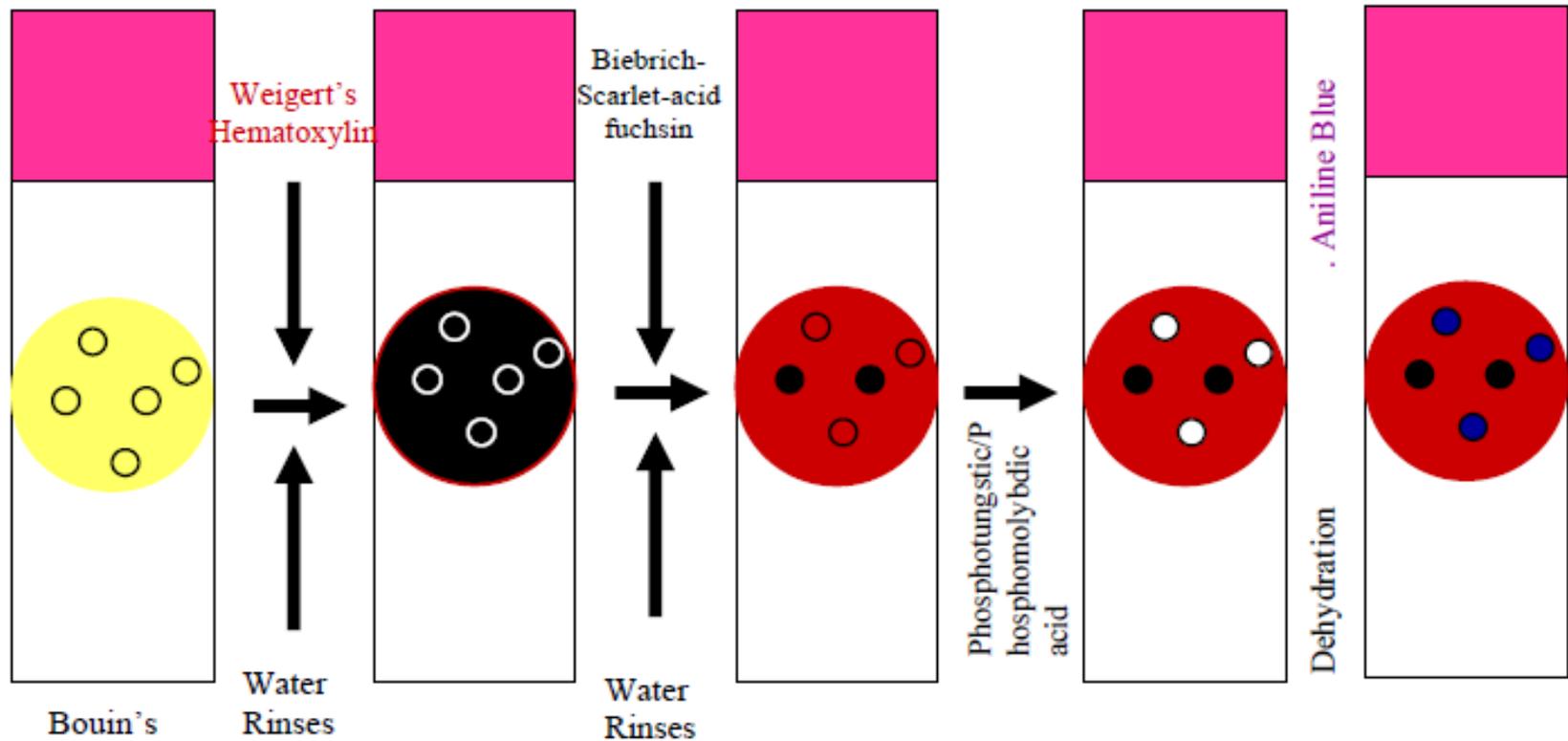
Ces deux colorants infiltrent aussi le collagène, le constituant le plus perméable, mais sont délogés de celui-ci lors de la différenciation pour laisser toute la place à un troisième colorant, le bleu d'aniline ou le vert lumière.

Trichrome: Principe de la coloration

Facteurs affectant l'affinité de la coloration:

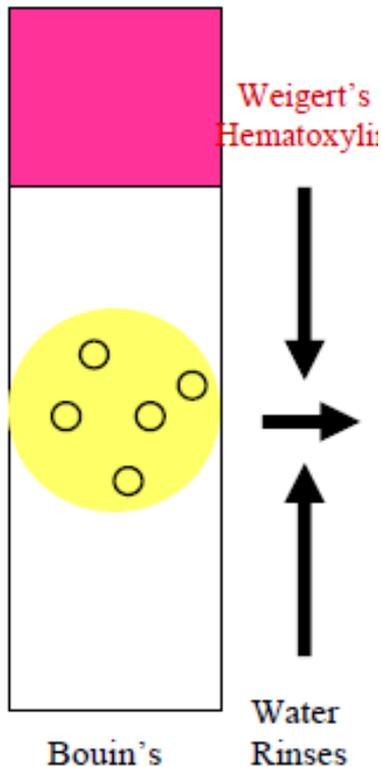
- **Fixation: la post-fixation au Bouin améliore grandement la coloration parce que le formol masque les groupements acides**
- **pH : toutes les techniques de trichrome exigent un pH acide pour exposer les groupements cationiques**
- **Durée de l'exposition aux solutions colorantes**
- **Types de colorants utilisés**

Trichrome: Principe de la coloration



Peu importe la technique utilisée, le principe est généralement le même...

Trichrome: Principe de la coloration



Le tissu est d'abord postfixé dans la solution de Bouin

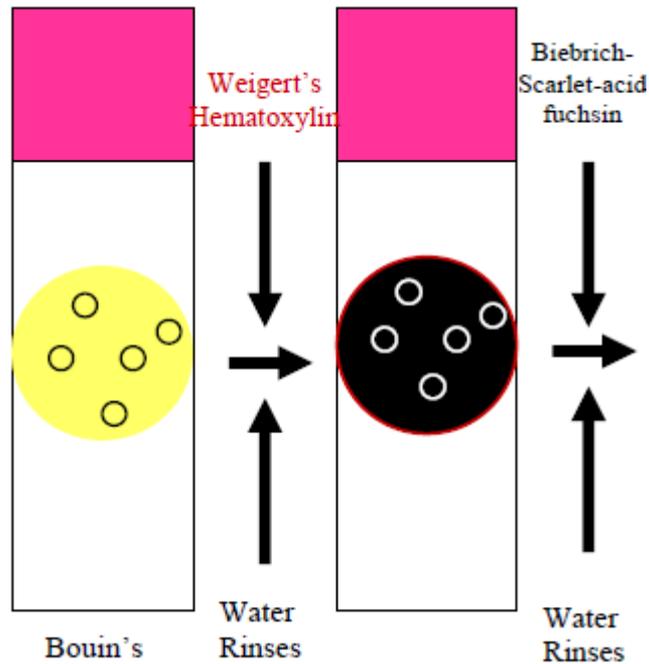
Trichrome: Evaluation de la qualité

L'utilisation d'un pré-traitement (post-fixation)

Tableau 39. Utilisation d'un pré traitement - trichrome

Pré traitement	Nb de labos	% de labos	Moyenne	Médiane	Maximum	Minimum
Aucun	28	55	0.62	0.60	0.87	0.39
10 minutes	8	15	0.78	0.79	0.99	0.46
30 minutes	8	15	0.73	0.74	0.91	0.48
1 hour	8	15	0.93	0.96	1.00	0.78

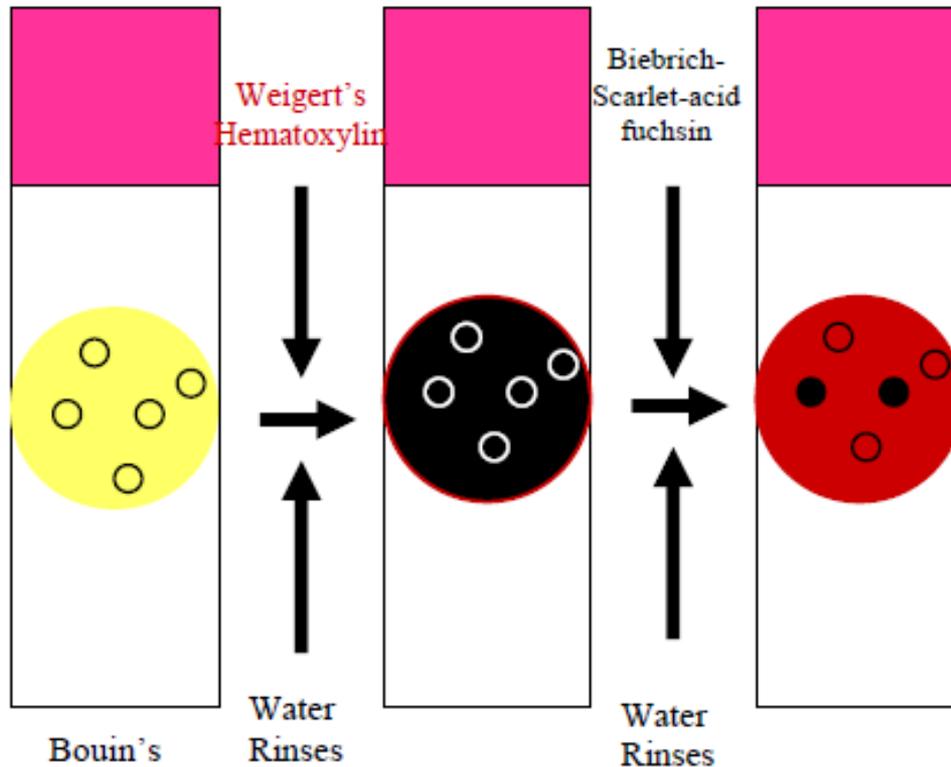
Trichrome: Principe de la coloration



L'hématoxyline de Weigert est ensuite utilisée pour les noyaux

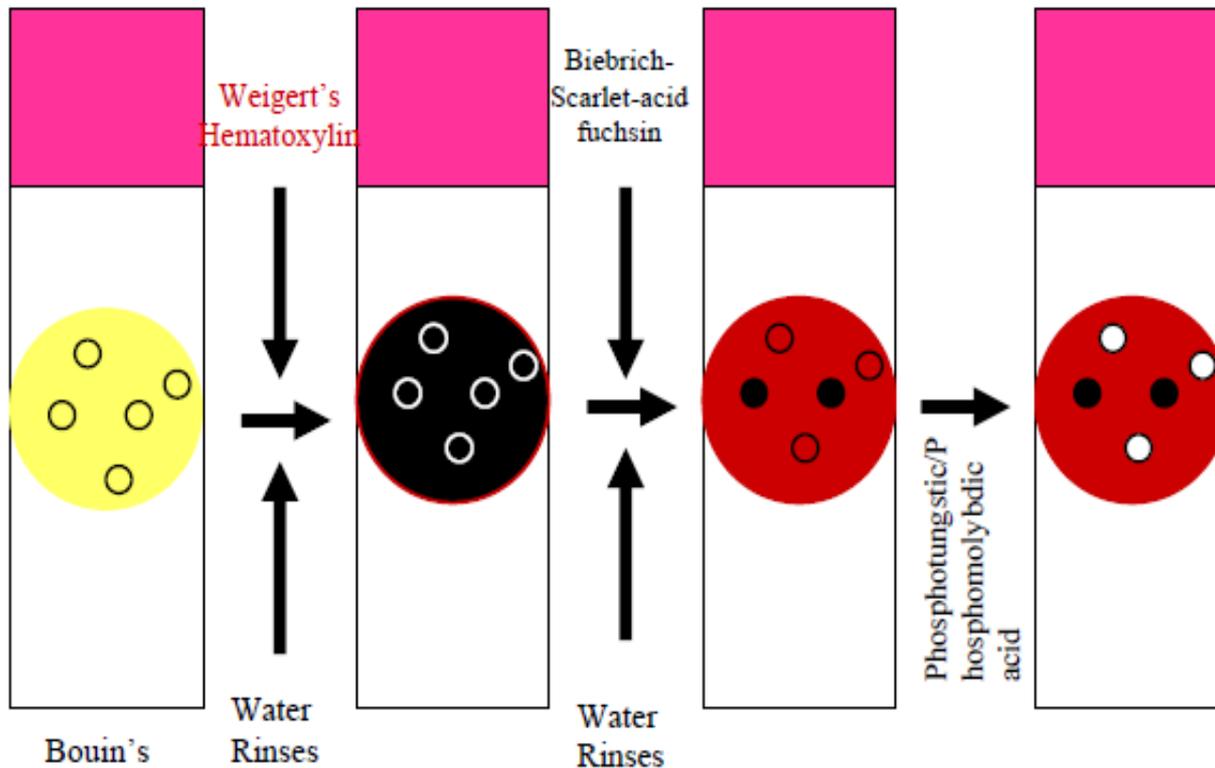
Le chlorure ferrique qu'elle contient lie fermement l'hématoxyline à l'acide nucléique

Trichrome: Principe de la coloration



Les cytoplasmes et les muscles lisses sont colorés par une solution de Biebrich Scarlet - fushine acide.

Trichrome: Principe de la coloration



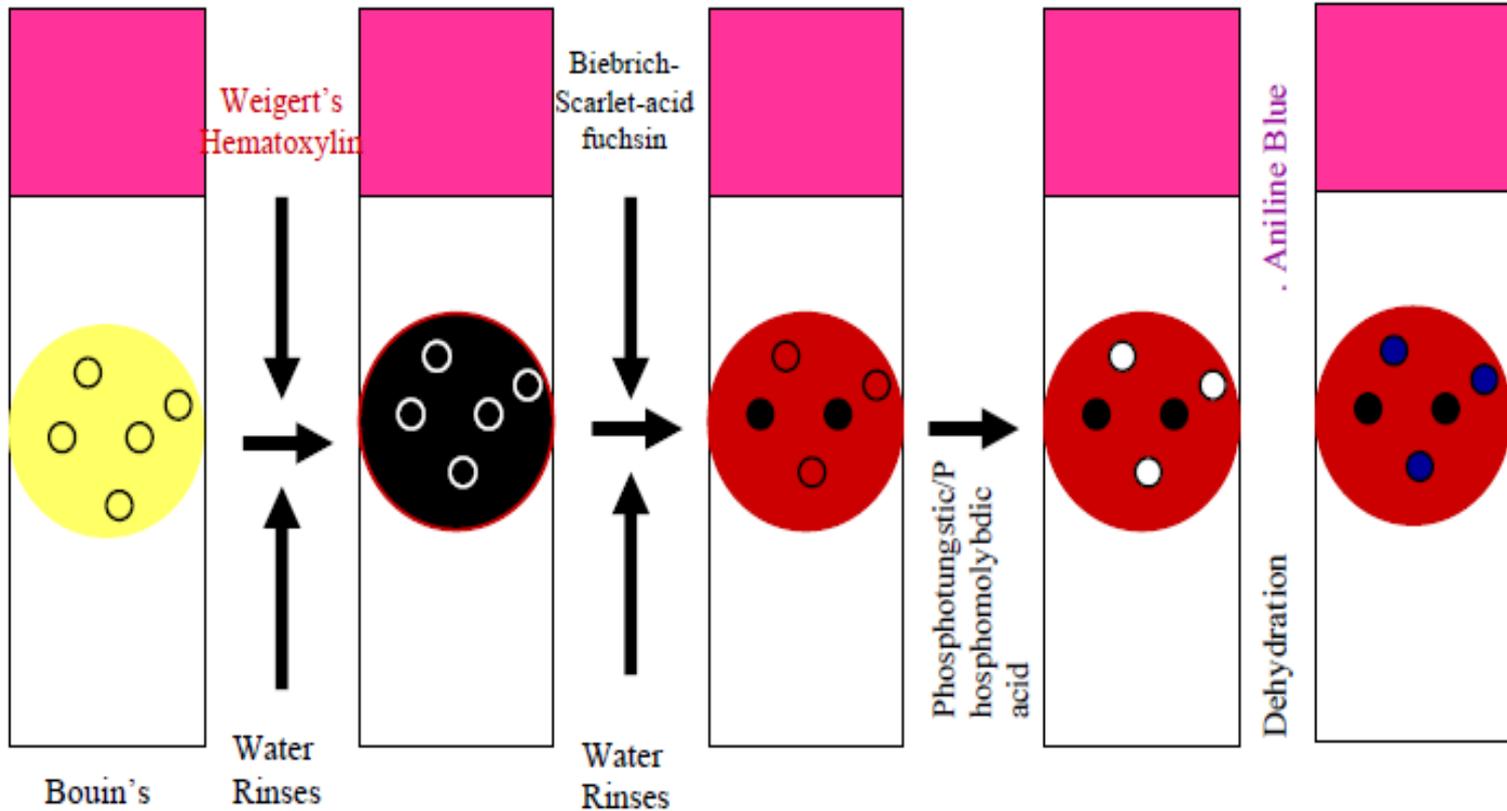
**Différenciation dans une solution d'acide phosphotungstique-phosphomolybdique
APT accentue la coloration cytoplasmique
APM se lie au collagène pour faciliter la prochaine étape**

Trichrome: Comparaison des réactifs

Table 40. Comparaison des réactifs intermédiaires - trichrome

Réactif	Nb de labos	% de labos	Moyenne	Maximum	Minimum
Acide phosphomolybdique (APM)	18	35	0.65	0.91	0.42
Acide phosphotungstique (APT)	7	13	0.74	0.97	0.48
Solution APM/APT	26	50	0.74	1.00	0.39
Autre	1	2	0.64	–	–

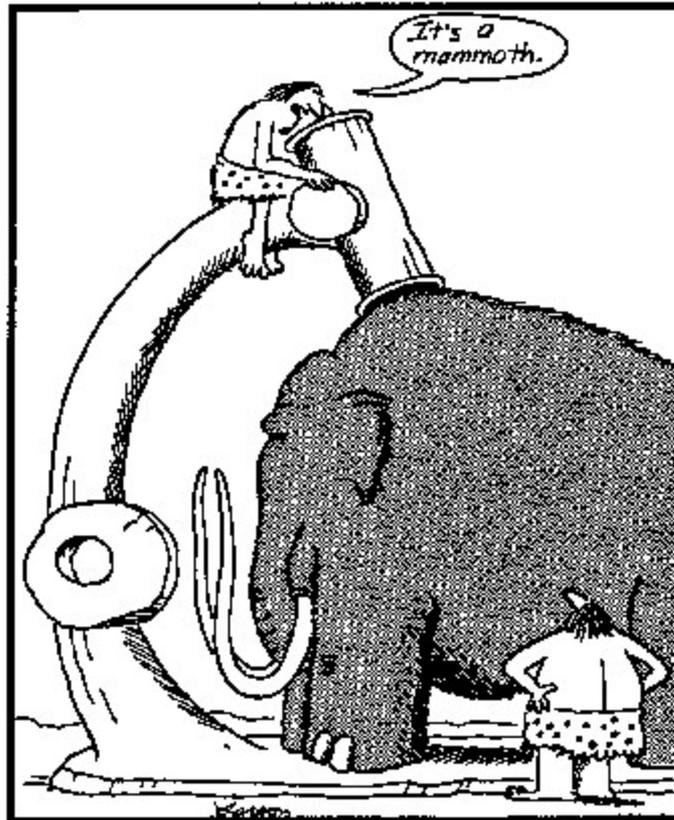
Trichrome: Principe de la coloration



Bleu d'aniline: colore le collagène en se liant à l'APM

Si le vert lumière est utilisé, il expulsera l'APM pour prendre sa place

Quelle est l'étape la plus importante pour effectuer un bon trichrome?



Early microscope

L'étape de contrôle de la qualité, bien sûr!

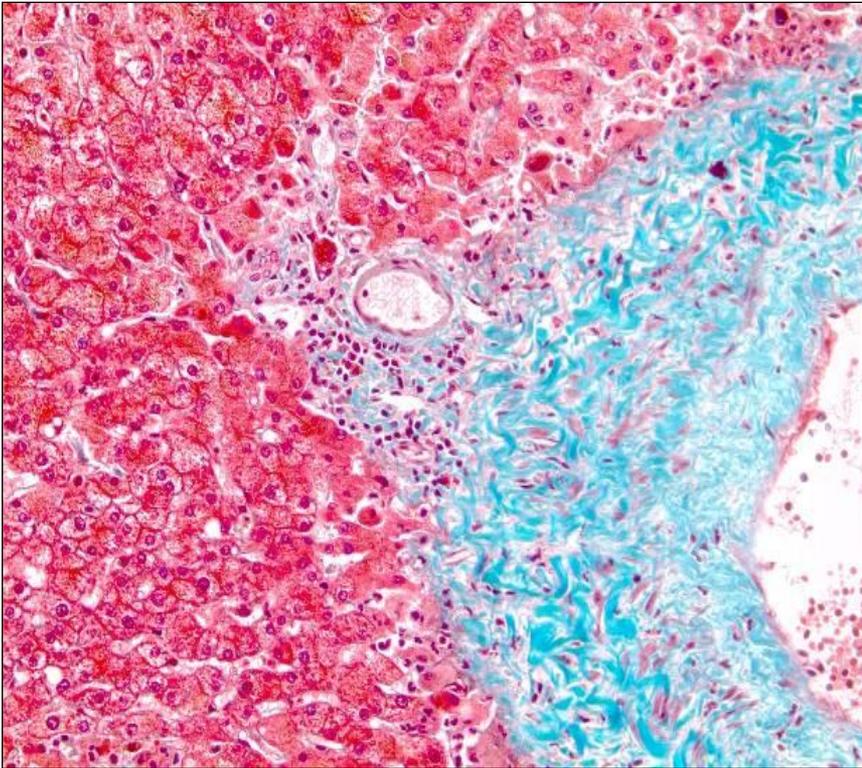
Trichrome: Choisir un tissu témoin approprié

Quel sont les meilleurs tissus à utiliser pour évaluer la qualité du trichrome de Masson?

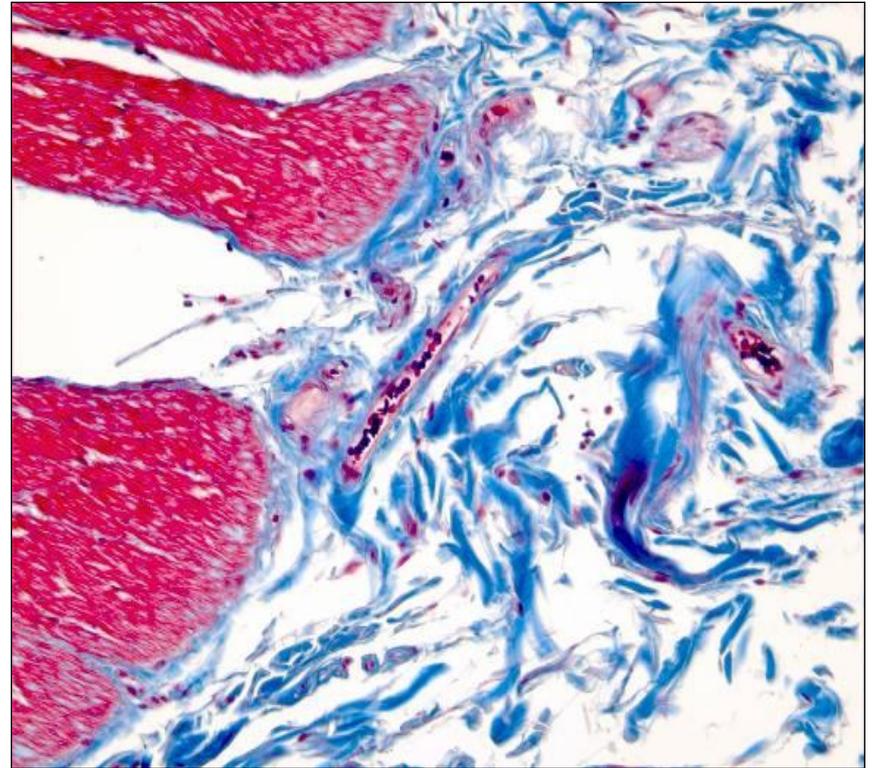
- Le foie seul *n'est pas idéal* car il ne démontre pas les différences d'intensité des colorants
- Un contrôle *multi-tissus*, incluant l'intestin et du placenta, est préférable

Trichrome: Choisir un tissu témoin approprié

Foie

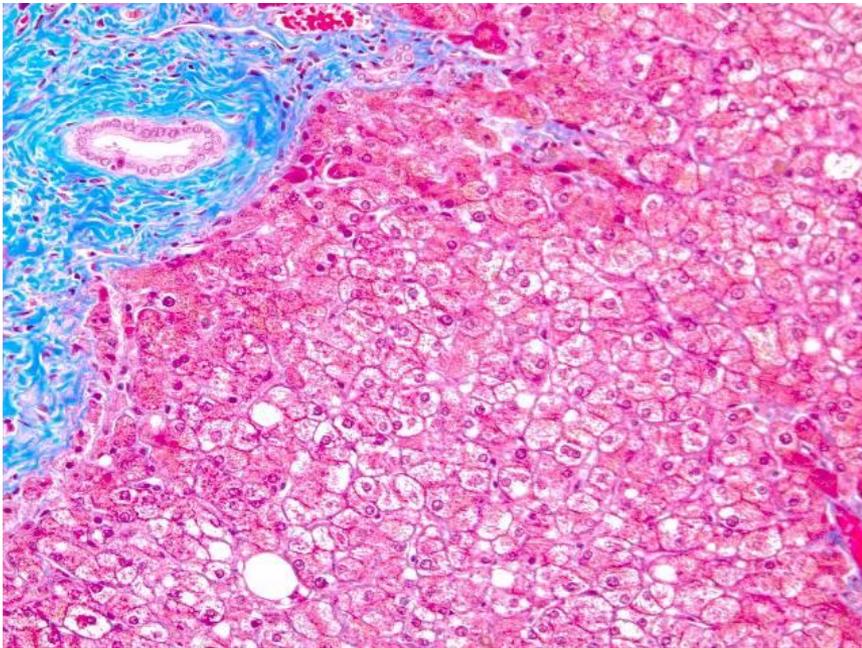


Intestin

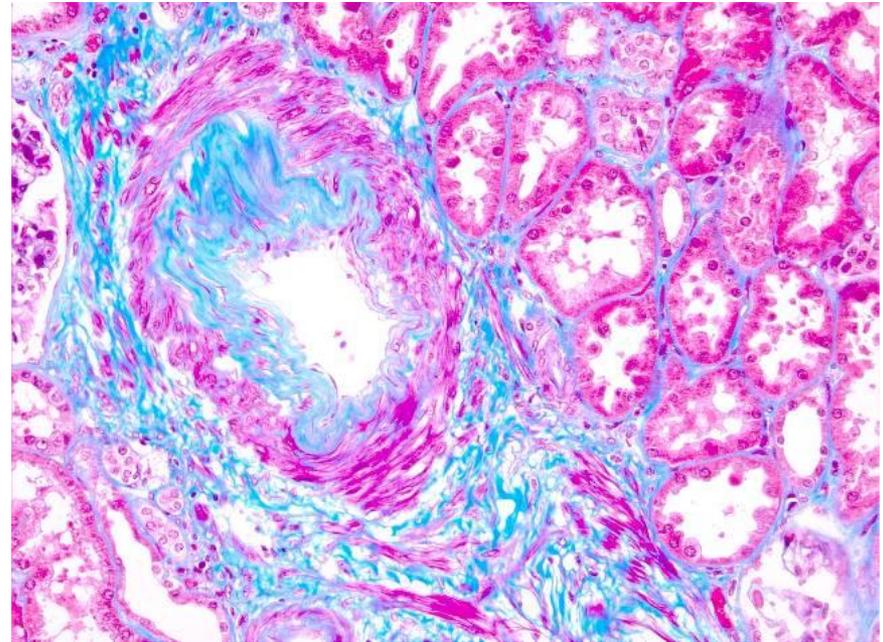


Trichrome: Choisir un tissu témoin approprié

Foie

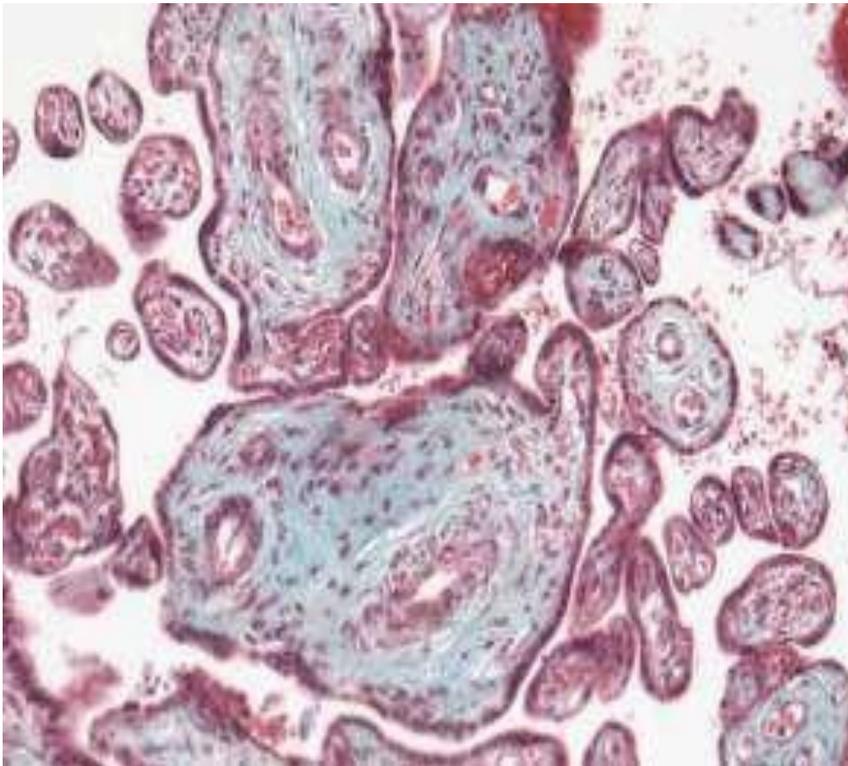


Rein

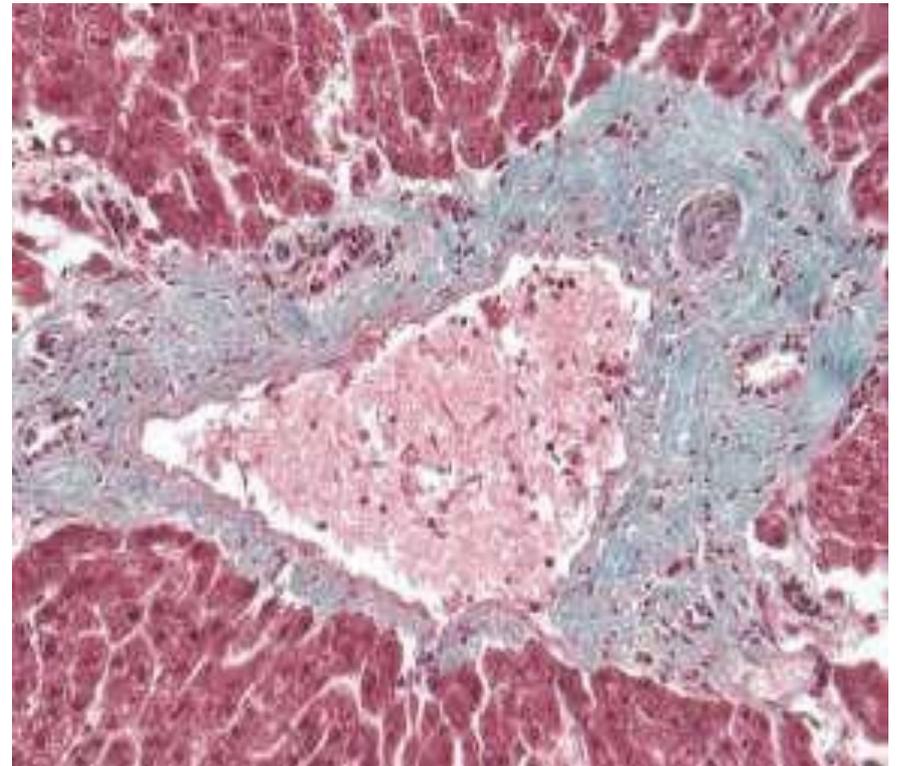


Trichrome: Choisir un tissu témoin approprié

Placenta

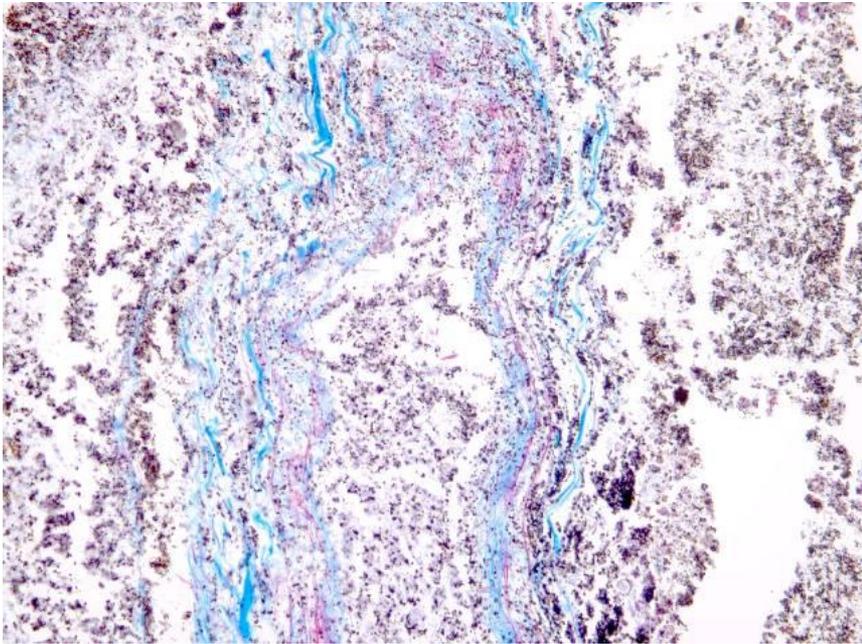


Foie

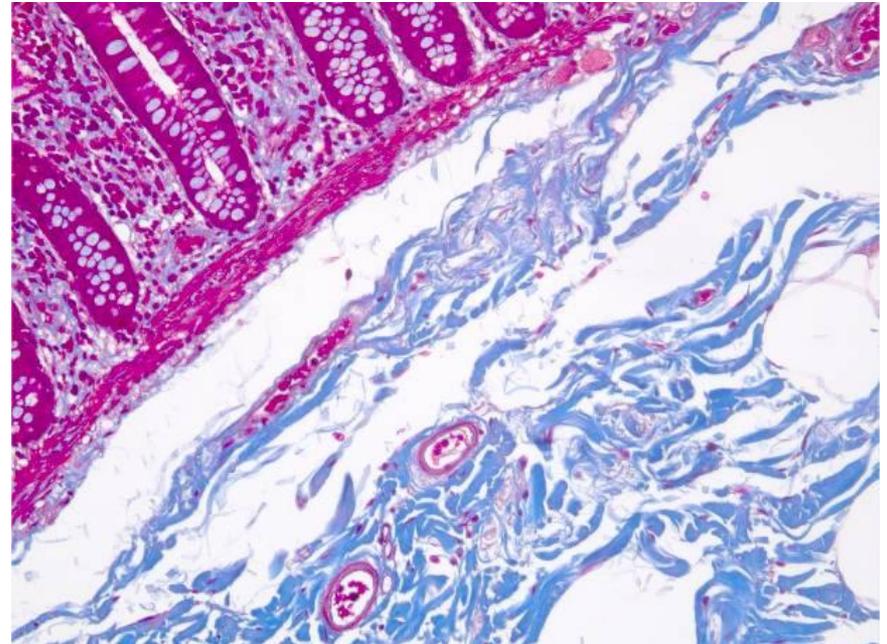


Trichrome: Choisir un tissu témoin approprié

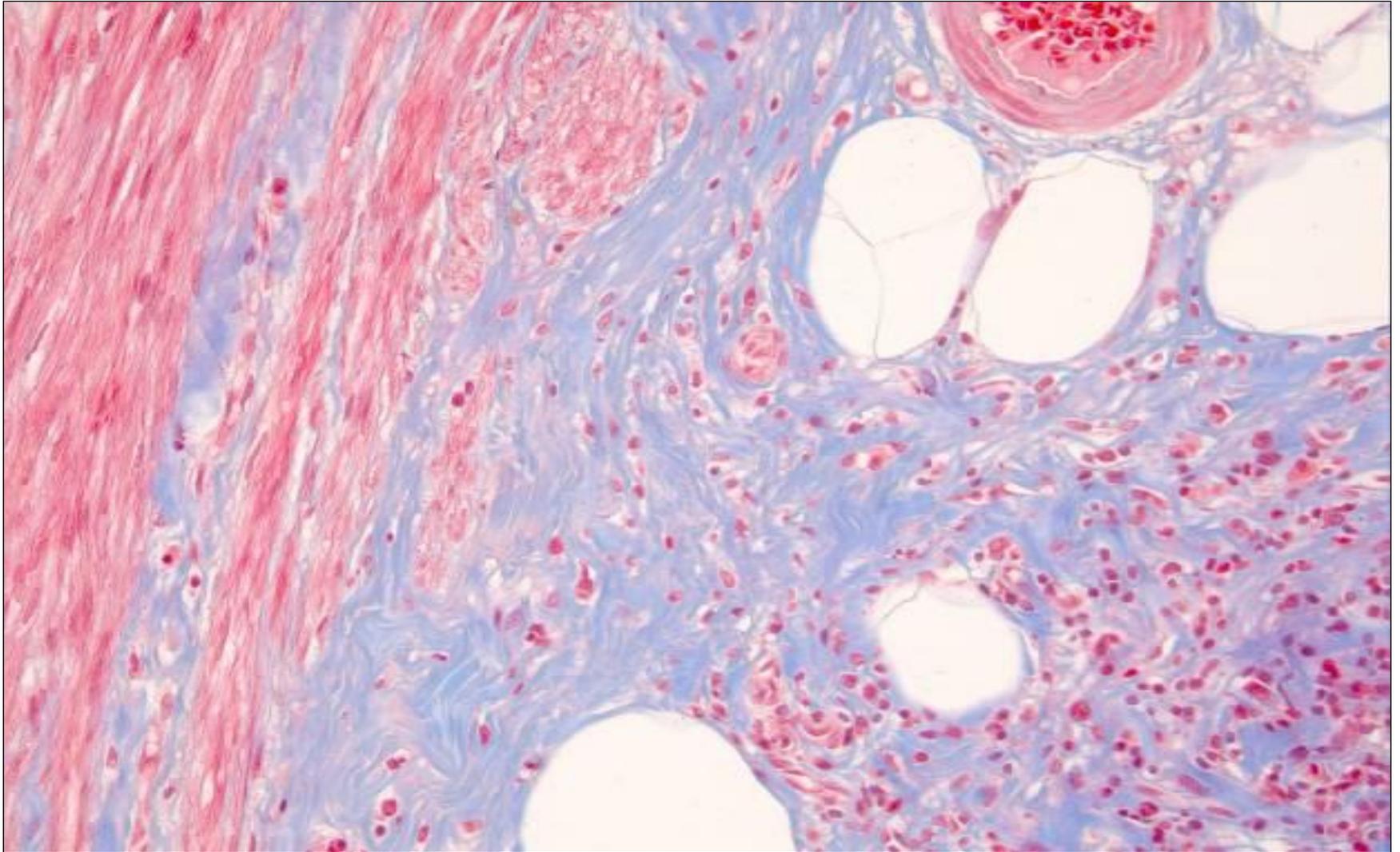
Poumon



Intestin



Trichrome: Choisir un tissu témoin approprié



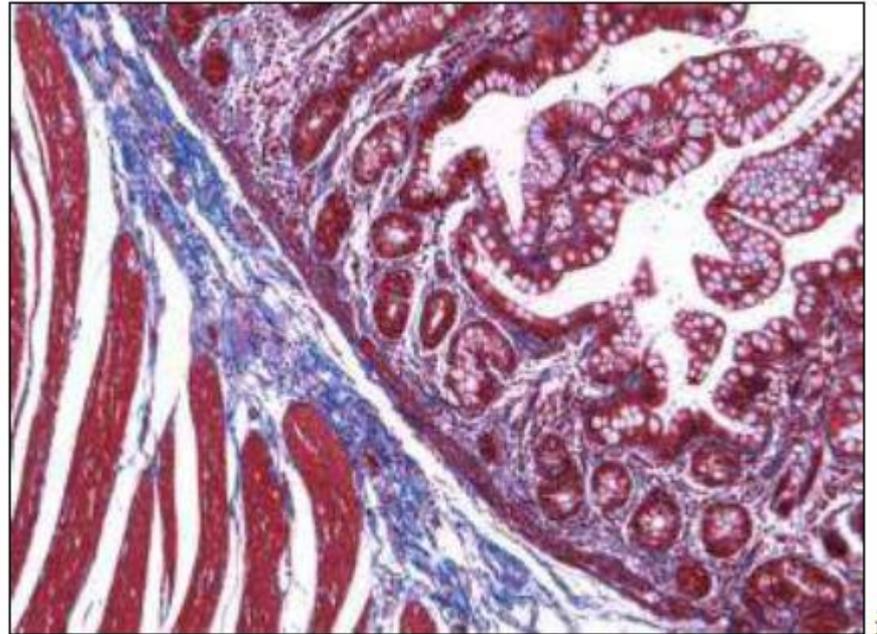
Critères d'évaluation de QMP-LS

- Cible clairement démontrée
- Degré d'intensité
- Visualisation de la cible
- Distribution attendue
- Sélectivité du contre-colorant

Critère d'évaluation

Cible clairement démontrée

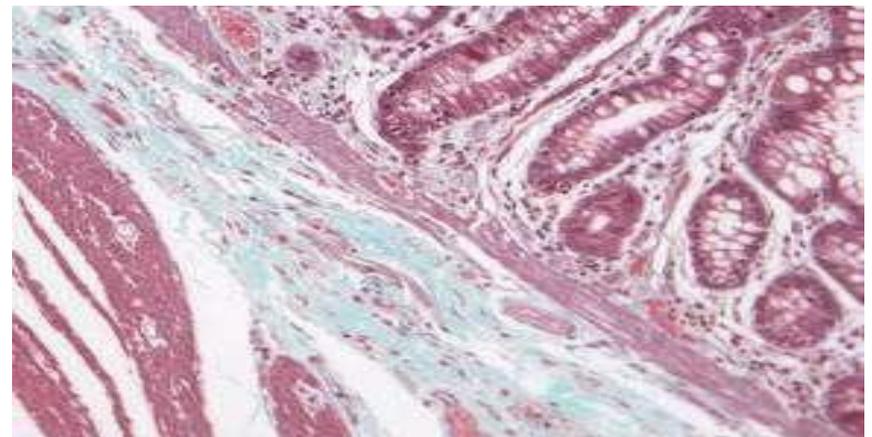
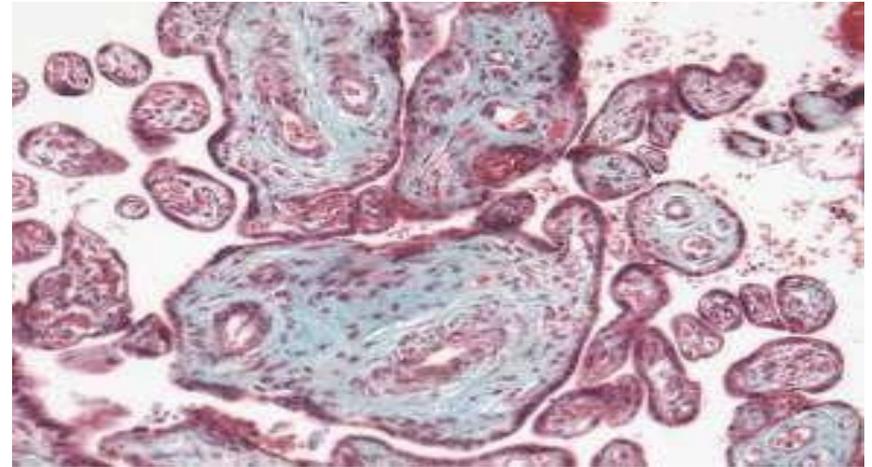
- **Muscle et collagène clairement visibles**
- **Fort contraste avec morphologie sous-jacente**



Critère d'évaluation

Degré d'intensité

- **Collagène**: varie selon épaisseur et densité des fibres,
- **Muscle**: différentes bandes musculaires = différents degrés d'intensité

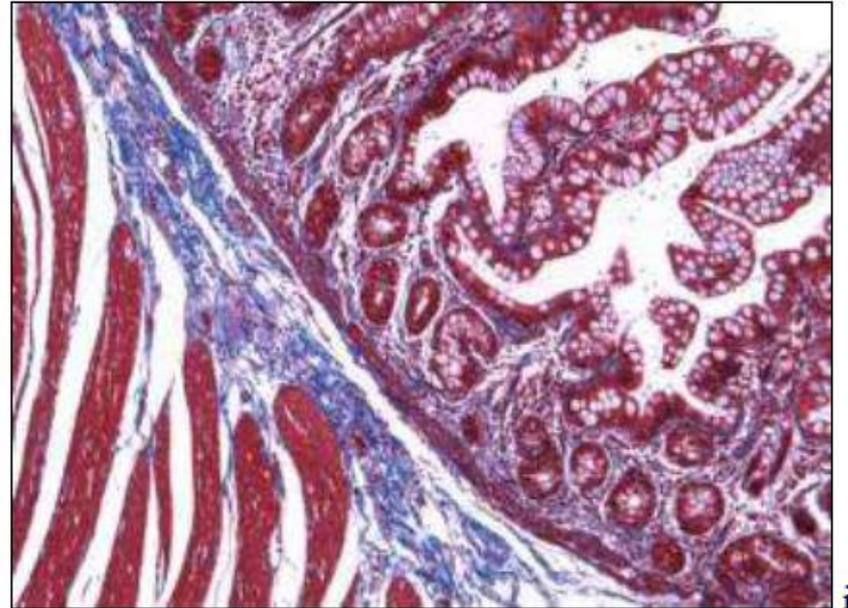


Critère d'évaluation

Visualisation de la cible

Noyaux:

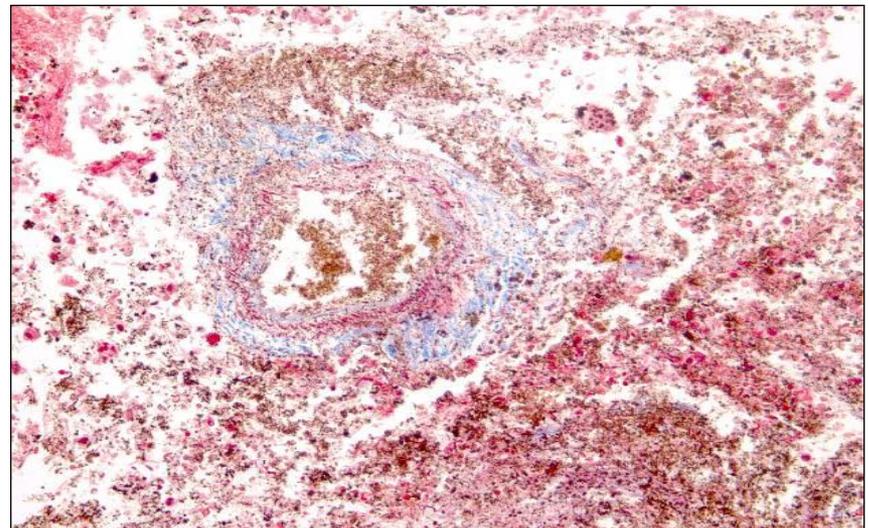
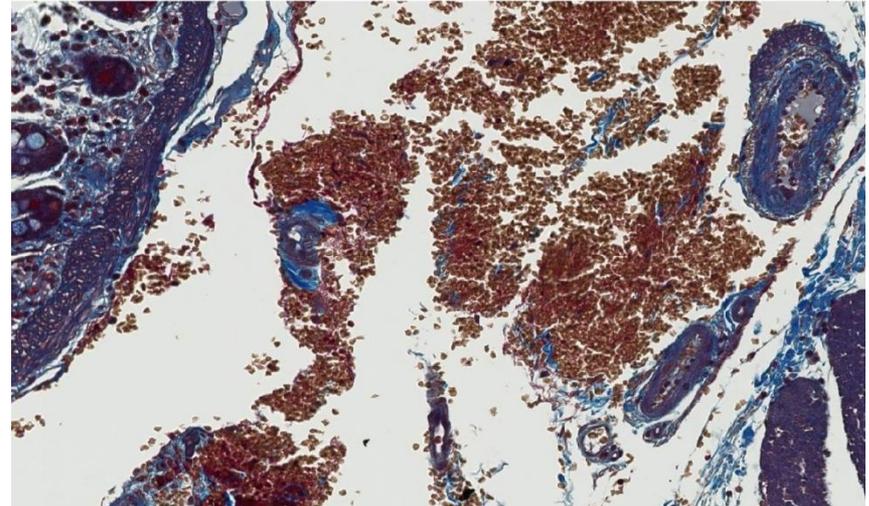
- **bleu noir**
- **bien différenciés**
- **chromatine clairement visible**
- **pas d'interférence avec cytoplasme**



Critère d'évaluation

Distribution attendue

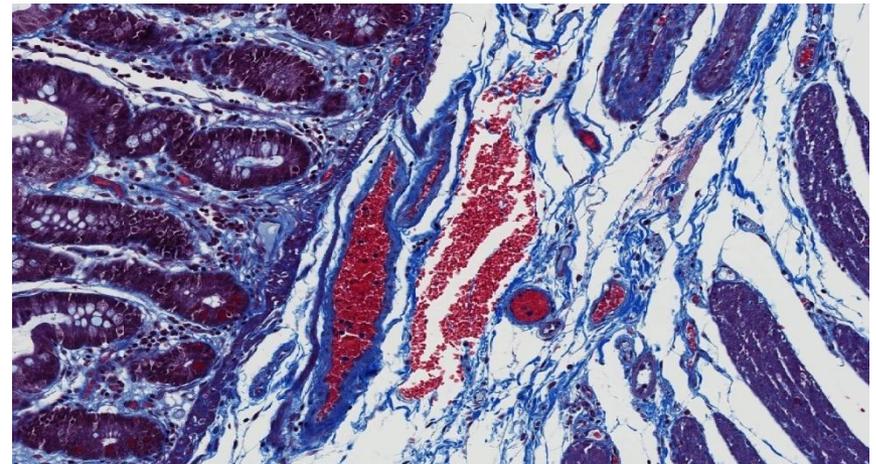
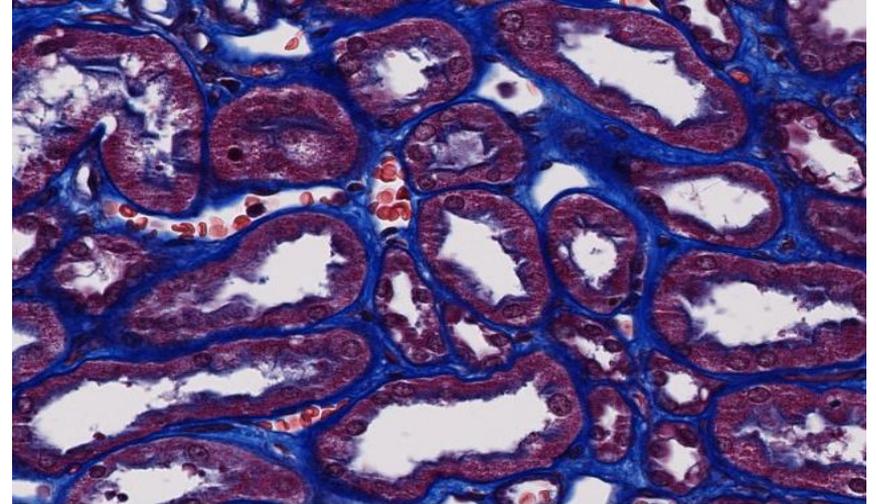
- Aucun précipité, dépôt de colorant ou réaction croisée
- Élimination totale du Bouin



Critère d'évaluation

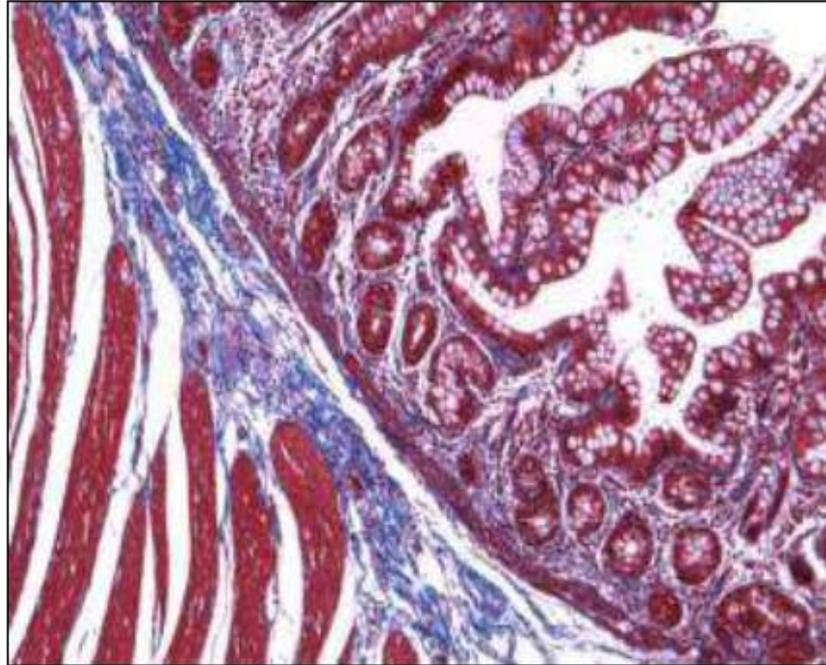
Sélectivité des contre-colorants

- Identifier les composantes tissulaires sans masquer noyaux
- Ne doivent pas interférer entre eux
- Démontrer gamme complète d'intensité



Trichrome: Evaluation de la qualité

- Le collagène et le muscle lisse sont-ils de la bonne couleur?
- Les couleurs sont-elles d'égales intensités?
- Le cytoplasme est-il de la bonne couleur, de la bonne intensité?
- Y a-t-il un bon contraste entre les différentes couleurs?



- Les noyaux sont-ils bleu-noir?
- Voit-on bien la chromatine?
- Y a-t-il des précipités ou des dépôts de colorant?
- Le Bouin a-t-il été bien enlevé?

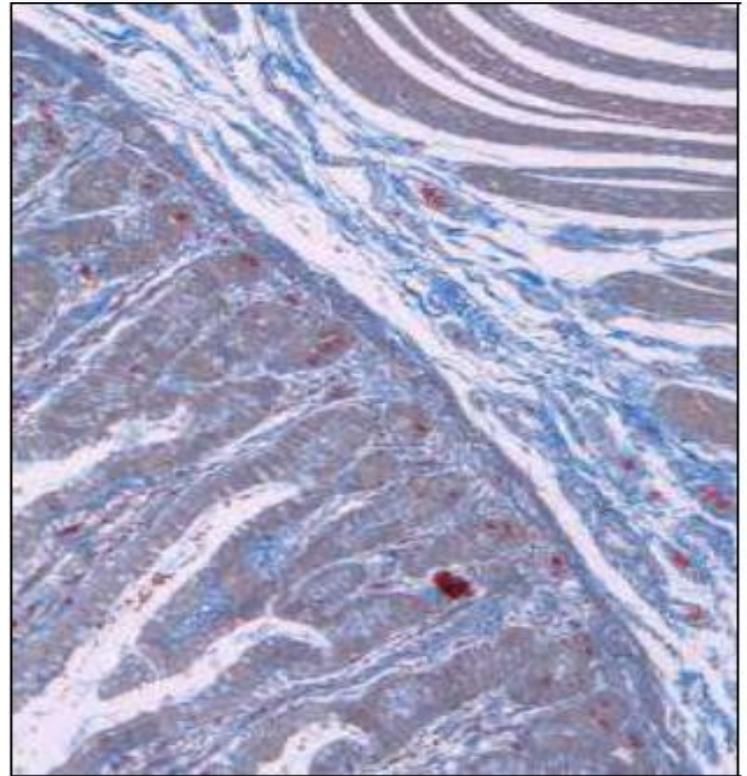
La spécificité: Les structures visées sont-elles les bonnes?

La sensibilité: Les structures visées sont-elles suffisamment visibles?

Résolution de problèmes

Collagène violet ou non coloré

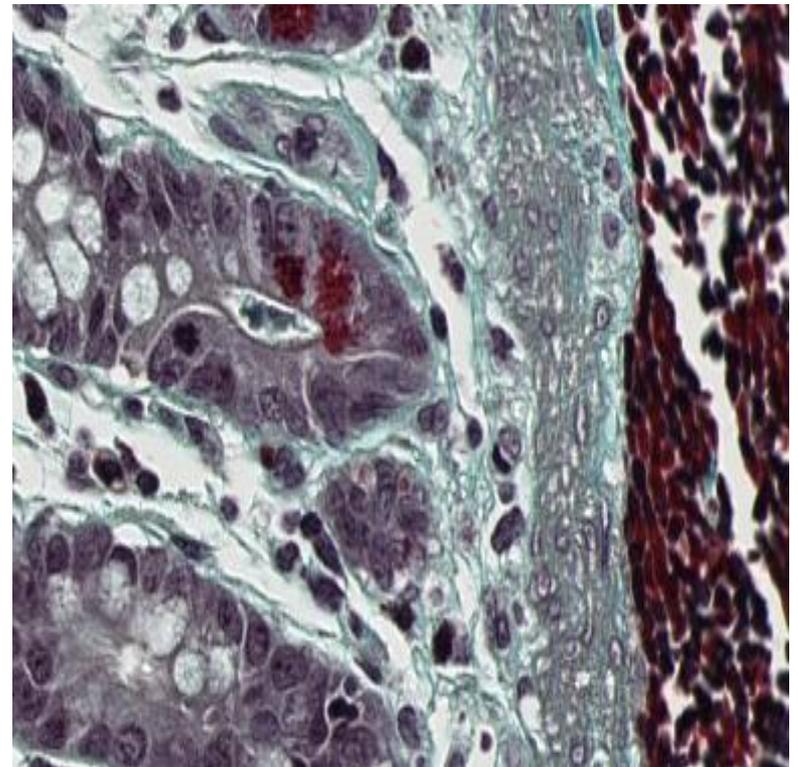
- Différenciation insuffisante
- pH des solutions acides $> 2,5$
- Dernier passage dans acide acétique trop long
- Absence de post-fixation



Résolution de problèmes

Muscle gris ou non coloré

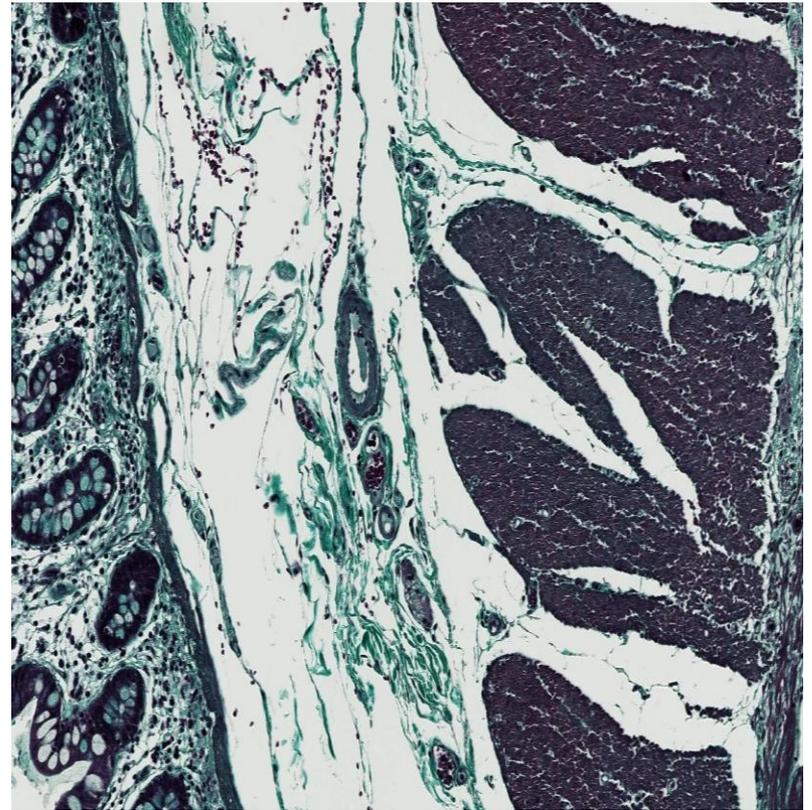
- Trop longtemps dans Hx ou rinçage inadéquat
- Colorants expirés
- Absence de post-fixation



Résolution de problèmes

Noyaux trop foncés

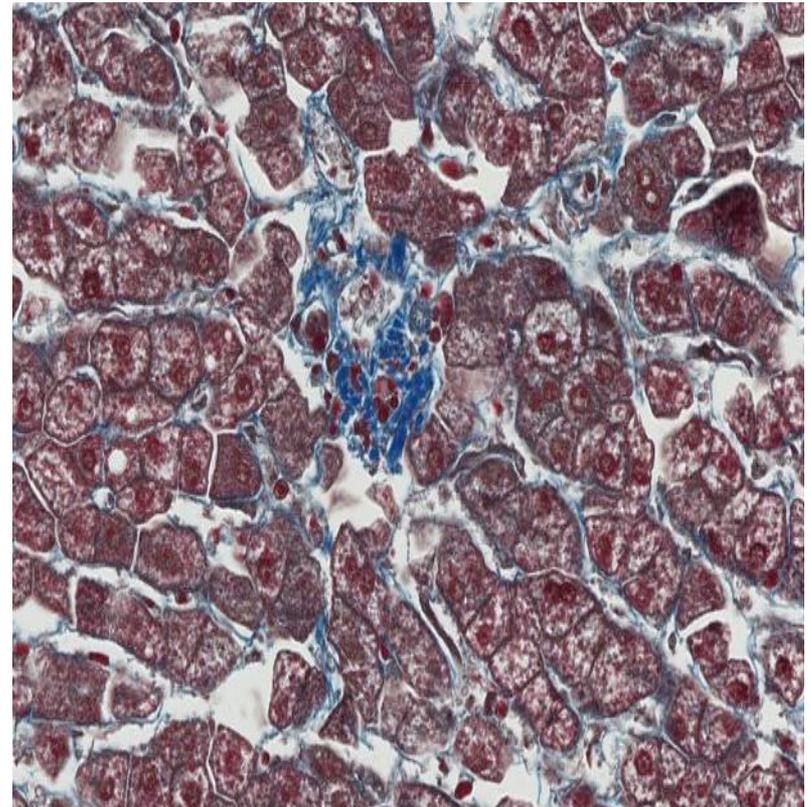
- Trop longtemps dans l'hématoxyline
- Rinçage inadéquat



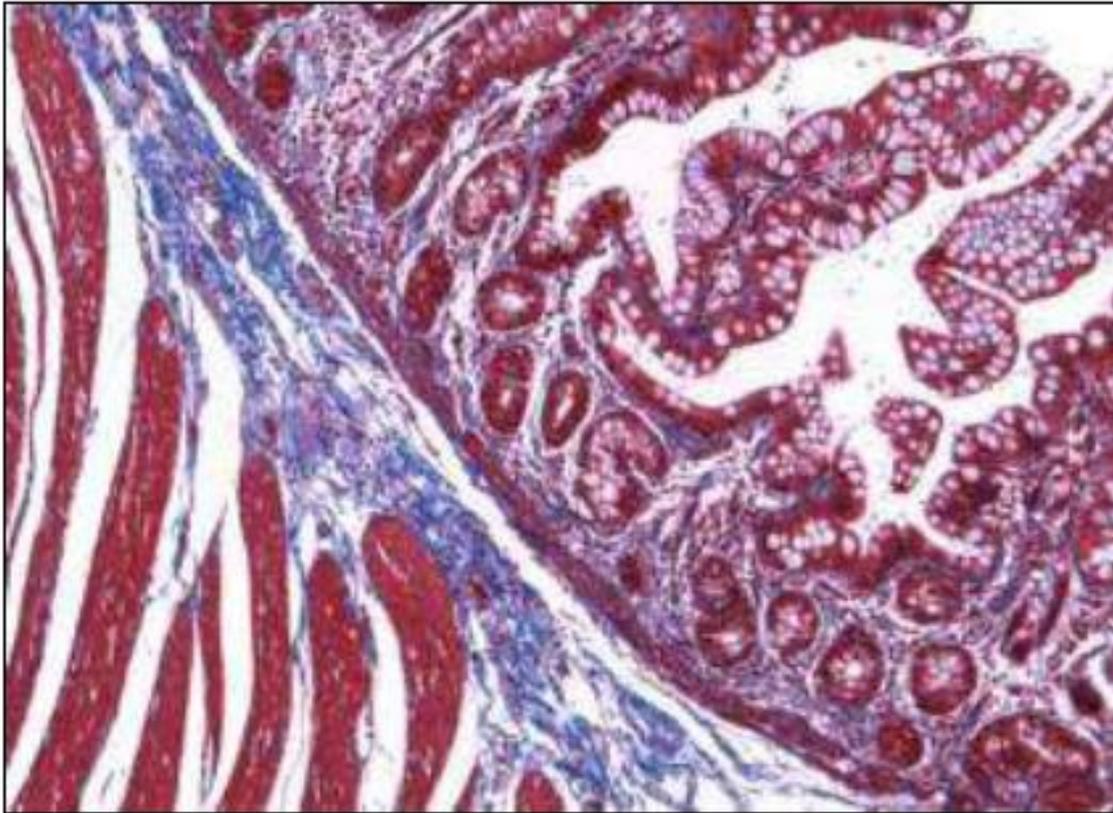
Résolution de problèmes

Noyaux pâles ou rouges

- Hx non ferrique utilisée
- Hx sur-oxydée
- Temps de coloration Hx insuffisant



Quiz: cible bien démontrée ?

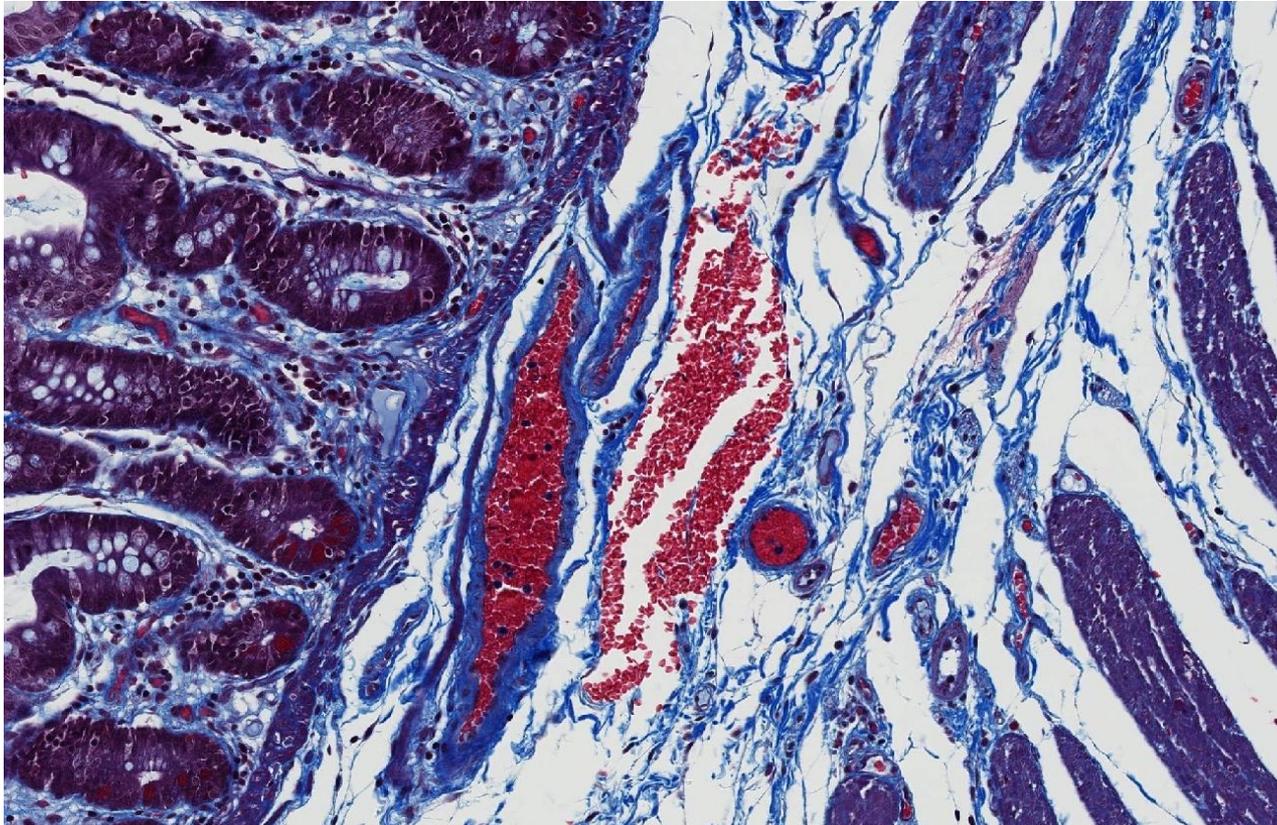


excellent

acceptable

unacceptable

Quiz: couleurs bien séparées?

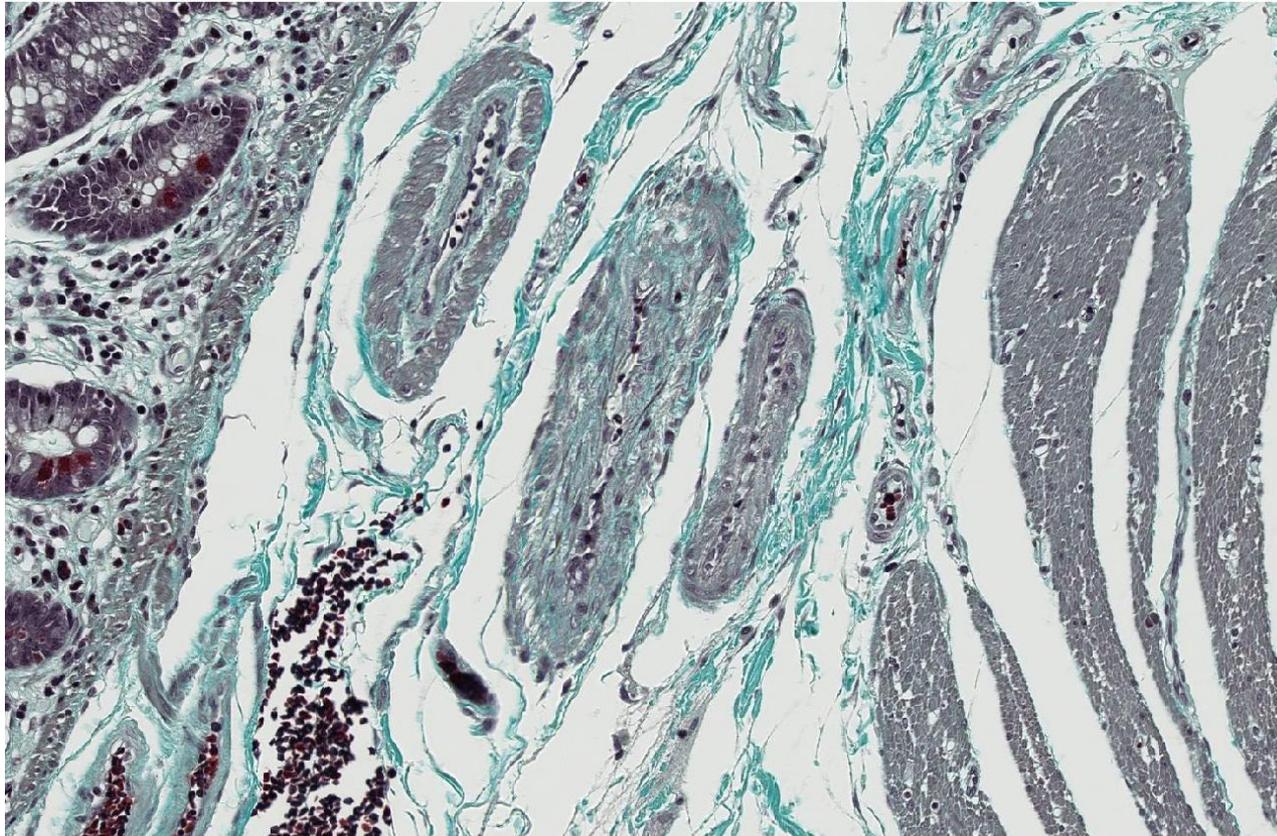


excellent

acceptable

unacceptable

Quiz: Que pensez-vous de l'intensité des couleurs?

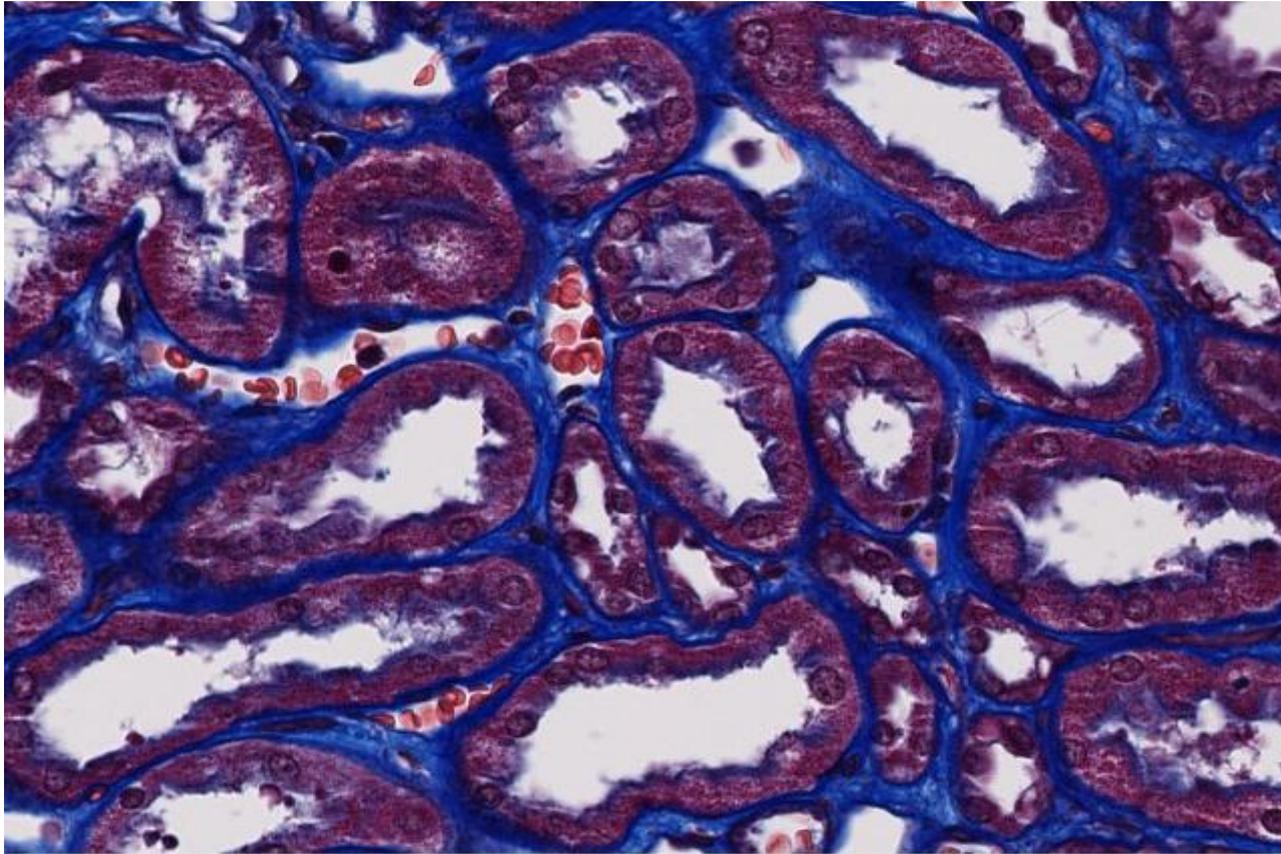


excellent

acceptable

unacceptable

Quiz: La coloration des noyaux est-elle adéquate?

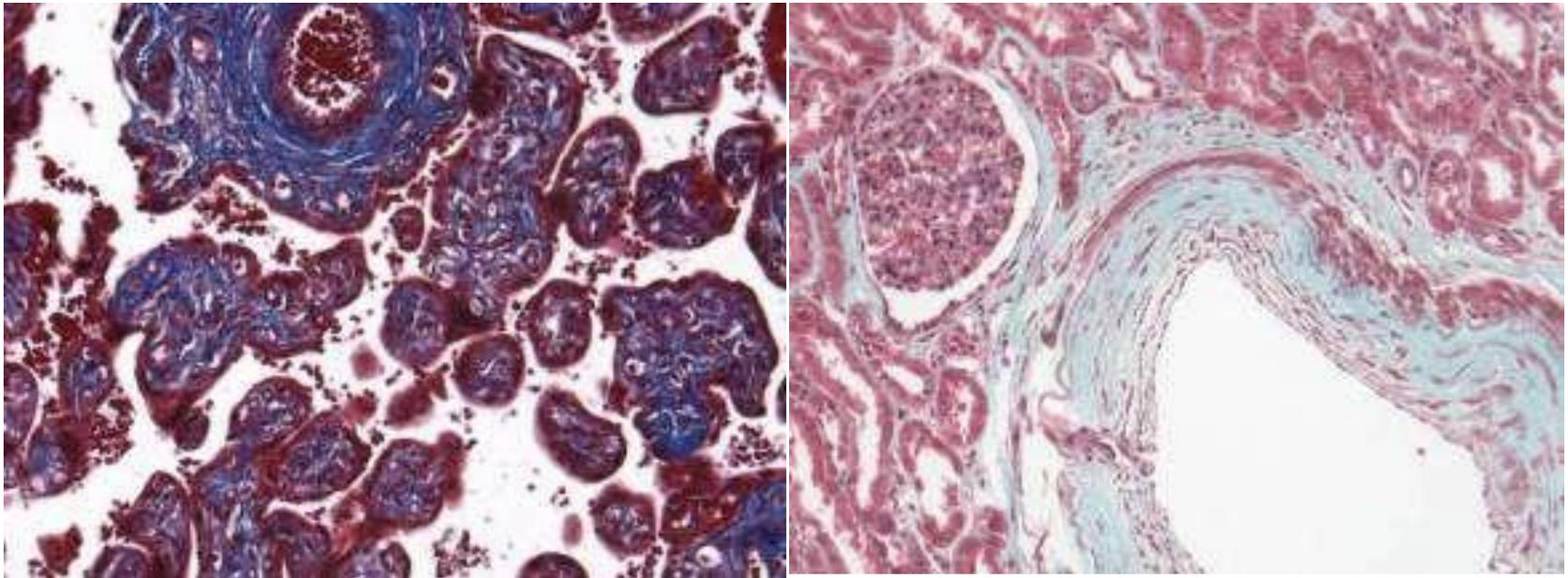


excellent

acceptable

unacceptable

Quiz: Ces trichromes sont-ils acceptables?



 excellent

 acceptable

 unacceptable

Quality Management Program – Laboratory Services (QMP-LS)

Les critères de qualité pour l'évaluation technique des colorations histologiques ont été développés par le *Quality Management Program-Laboratory Services* (QMP-LS) qui seul en détient la propriété intellectuelle et les droits d'auteur. Leur logo et le matériel protégé ne peuvent être reproduits sans la permission écrite du QMP-LS.

Marque déposée © 2011 *Quality Management Program-Laboratory Services*, un département de l'*Ontario Medical Association*.

Tous droits réservés.

Merci

