

# Protocole n°50

## Coloration par le Bleu Alcian

### Principe :

Le Bleu Alcian se fixe sur les groupements acides des mucopolysaccharides, vraisemblablement par liaisons salines. La coloration ne possède de relative spécificité pour les mucopolysaccharides acides que dans la mesure où le colorant est utilisé à pH bas (pH=2,6).

A un pH plus bas (pH=0,2), le Bleu Alcian colore l'héparine des mastocytes et une fraction glucidique (et peut-être protéique) du substrat non chromotrope de leur cytoplasme. On peut associer à cette coloration une réaction métachromatique par la Safranine O.

### Produits nécessaires à la coloration :

Bleu Alcian 8 GX Réf. 361180-	0005 ou 0025 g
Rouge nucléaire Réf. 363430-	0005 g
Safranine O Réf. 317030-	0100 g
HistoRAL Réf. 361210-	500 mL

### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide acétique – Sulfate d'aluminium – Acide sulfurique

### 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 :

Solutions pour la Coloration des mucopolysaccharides acides (Mode opératoire 1)

Solution ❶ de Bleu Alcian (pH= 2,6) : Préparer une solution de Bleu Alcian à 0,1% dans l'acide acétique glacial dilué à 3% (pH 2,4 à 2,6). Filtrer avant usage.

Solution de Rouge nucléaire : Dissoudre 2 g de Rouge nucléaire dans 50 g de sulfate d'aluminium et 1 L d'eau. Porter à ébullition. Laisser refroidir et filtrer.

Solutions pour la Coloration des mastocytes (Mode opératoire 2)

Solution ❷ de Bleu Alcian (pH=0,2) : En chauffant doucement (aux alentours de 70°), dissoudre 3 g de Bleu Alcian dans 100 mL d'acide sulfurique 2 N. Laisser refroidir et filtrer.

Solution de Safranine O : Préparer une solution aqueuse à 0,1% de Safranine O.

### Mode opératoire :

Veillez lire attentivement l'intégralité des informations qui suivent avant d'utiliser le produit.

Mode opératoire 1 : Coloration des mucopolysaccharides acides selon la Méthode de Wagner & Shapiro (1957)

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Colorer dans la solution ❶ de Bleu Alcian (pH= 2,6) pendant 20 minutes.
- Rincer à l'eau courante.
- Colorer les noyaux par la solution de Rouge nucléaire pendant 5 à 10 minutes.
- Rincer à l'eau courante.
- Déshydrater successivement 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.

Mode opératoire 2 : Coloration des mastocytes selon la Méthode de Worthington & Bailey (1962)

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Colorer dans la solution ❷ de Bleu Alcian (pH= 0,2) pendant 1 heure.
- Rincer à l'eau courante pendant 5 minutes.
- Colorer éventuellement dans la solution de Safranine O pendant 4 à 6 minutes.
- Déshydrater successivement dans trois bains d'alcool absolu.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

### Résultats :

Mode opératoire 1 :

Noyaux : rouge

Mucopolysaccharides acides : bleu



Mode opératoire 2 :

Noyaux : rouge

Mastocytes : granulations du cytoplasme : bleu.

Certaines granulations safranophiles : rouge orangé.

### 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.

### Références Bibliographiques :

**CASTELAIN G.**, *Technique du Cytodiagnostic*, Réactifs RAL, p. 14.

**GANTER P., JOLLES G.**, *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1540-1541 et p. 1699-1700.