

La COLORATION des coupes : limites et réalités ! GENERALITES

Il suffit de consulter un manuel de technique microscopique pour se rendre compte que la théorie de la coloration joue un très grand rôle en histologie ou en cytologie. Mais comme l'abondance est aussi néfaste que la disette, le débutant se trouve submergé par une quantité incroyable de recettes, où il devient bien difficile d'effectuer un choix.

Il ne faut quand même pas oublier que nombre de découvertes essentielles ont été réalisées par nos prédécesseurs, sans l'usage de colorants et en utilisant des techniques rudimentaires. L'examen de cellules fraîches et vivantes reste essentiel.

Voici tout un éventail d'appellations que vous rencontrez dans les livres que vous serez amenés à consulter tôt ou tard !

- A. **la NON COLORATION** : elle consiste à observer l'organisme vivant ou la coupe de tissu, animal ou végétal, simplement dans de l'eau : on perçoit les couleurs naturelles et les manifestations vitales.

- B. **la COLORATION VITALE** : elle consiste à soumettre l'organisme vivant qu'on veut étudier à l'action d'un colorant spécifique à très faible dose, qui va se fixer sur les cellules à observer, sans altérer les fonctions vitales, ... du moins, durant un certain temps. Un colorant vital sera donc une substance peu ou pas toxique, utilisée à dilution très importante.

- C. **la COLORATION LETALE** : la plupart des colorants agissent sur des cellules mortes, tout simplement parce qu'ils nécessitent une fixation préalable. C'est dans ce groupe que notre action va se situer essentiellement.
 - 1. On parlera de **COLORATION DIRECTE** lorsque celle-ci se produit par simple immersion dans un bain de colorant, qui agit directement sur les composants cellulaires.

 - 2. On parlera de **COLORATION INDIRECTE** lorsque celle-ci ne peut se produire sans l'intervention d'un agent mordant ; avant la coloration, il est impératif de « mordancer », c'est-à-dire pratiquer le mordantage (faire agir une autre substance qui va « préparer le terrain » au colorant et lui permettre de se fixer sur les éléments à colorer. Sans l'agent de mordantage, la coloration est impossible, ou difficile à réaliser.

3. Lors d'une **COLORATION PROGRESSIVE**, on va utiliser des colorants en faible solution qu'on va laisser agir longtemps sur les coupes, jusqu'à obtention de la couleur souhaitée et définitive. L'opérateur doit donc surveiller régulièrement sa coloration et l'arrêter au moment choisi, par lavage.
4. Lors d'une **COLORATION REGRESSIVE**, on va colorer les sujets de manière excessive, pour ensuite les décolorer à l'aide d'un agent chimique approprié, appelé « différenciateur ». Il est fortement déconseillé d'utiliser des colorants trop concentrés. Il faut prendre le temps et se dépêcher lentement.
5. La **COLORATION SIMPLE** est obtenue avec une seule couleur simple (acide ou basique) ; elle sera nucléaire ou plasmatique, selon le pH du colorant (retons que les noyaux sont sensibles très souvent aux colorants basiques).
 - elle sera **monochromatique** lorsque tous les éléments à colorer prennent le ton du bain colorant.
 - elle sera **métachromatique** lorsque certains éléments à colorer font virer la couleur vers un ton tout à fait différent du bain colorant.
6. On parlera de **COLORATIONS COMBINÉES** lorsqu'on fera agir plusieurs colorants, de manière simultanée ou successive. Ces colorants seront toujours acides ou basiques.
 - dans les **COLORATIONS SIMULTANÉES**, chaque colorant agit pour son propre compte.
 - dans les **COLORATIONS SUCCESSIVES**, chaque colorant peut agir pour son propre compte, ou bien se comporter en différenciateur pour un des autres colorants.
7. Pour des **COLORATIONS PANOPTIQUES**, nous allons utiliser des colorants neutres. Elles permettent de valoriser un grand nombre d'éléments, avec une grande variété de tonalité chromatique.
8. La **COLORATION DE MASSE** a été beaucoup utilisée par nos prédécesseurs et est quelque peu tombée en désuétude. Elle consistait à colorer des animaux ou des végétaux entiers. Elle nécessite évidemment des colorants très pénétrants, comme le carmin ou l'hématéine (un dérivé de l'hématoxyline) ; elle permet d'effectuer directement des coupes et de les monter sans fixation. Cependant, on peut considérer que ces colorations manquent de finesse dans le résultat final.