

ITH 12 F3: PARTIE I : HISTOLOGIE ET HISTOPATHOLOGIE DES POISSONS

CHAPITRE I : SOUMISSION DES ECHANTILLONS ET TRAITEMENT DES TISSUS

I- TRANSFORMATION DES TISSUS BRUTS EN SECTIONS HISTOLOGIQUES

A/ COLLECTION

- Des échantillons devraient être rassemblés sur les poissons fraîchement morts, non congelés.
- Le volume témoin ne devrait pas excéder le 1/10 du volume du fixateur.
- Des échantillons devraient être placés dans un fixateur approprié.
- Faire frire soit en entier et fixer de préférence dans Davidson
- Poissons jeunes et plus petits :
 - Découper l'opercule de la branchie
 - Faire une coupe longitudinale
 - Retirer les viscères
- Grands poissons :
 - Les échantillons ne devraient pas être plus épais de 3 mm.

B/ FIXATION

- C'est l'étape la plus importante qui permet de produire de bonnes coupes histologiques

1- Fixation avec le formol

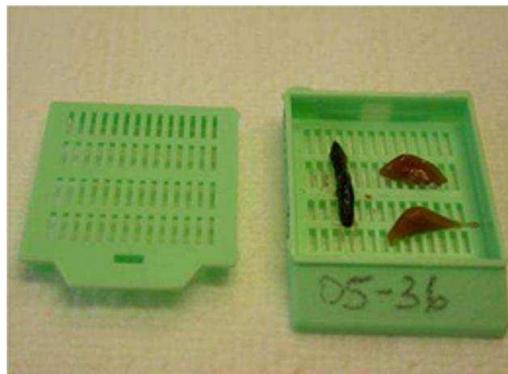
- Fixateur le plus largement répandu :
 - Doit être tamponné (le pH est aussi bas que 3 sans tampon), empêche le pigment formol
 - Pénètre de 2 mm en 4 heures, 10 mm en 24 heures
 - Epaisseur de tissu < 3 mm d'épaisseur pour la bonne fixation
 - Ne produit pas de fixation excessive
- Les tissus ne durcissent pas de manière imprévisible

2- Fixation à l'aide du liquide fixateur de Davidson

- Ce fixateur contient l'acide acétique.
 - Ce qui peut causer le gonflement de tissu
 - Donne des résultats dans une certaine décalcification
 - Ne doit pas être utilisé si la morphologie des globules rouges est nécessaire (détruit les cellules)
- Des tissus devraient être ensuite transférés à l'EtOH 70% après 12-24 heures :
 - Pour empêcher les tissus superficiels de durcir.
 - Pour une conservation et un transport plus facile.

C/ Section du tissu et placement des tissus dans des cassettes

- Couper délicatement les tissus
- Ne pas bourrer les cassettes



II- TRAITEMENT DES TISSUS

- Déshydratation et infiltration du tissu :
 - Les morceaux doivent être pris par une série de mélanges d'eau/alcool et puis par un clarificateur. Exemple : le xylène ou un produit de remplacement et la paraffine finalement fondue.
- Enfoncer le tissu dans des blocs de paraffine :
 - On doit être orienté dans le bloc de paraffine et permettre à des morceaux de durcir.



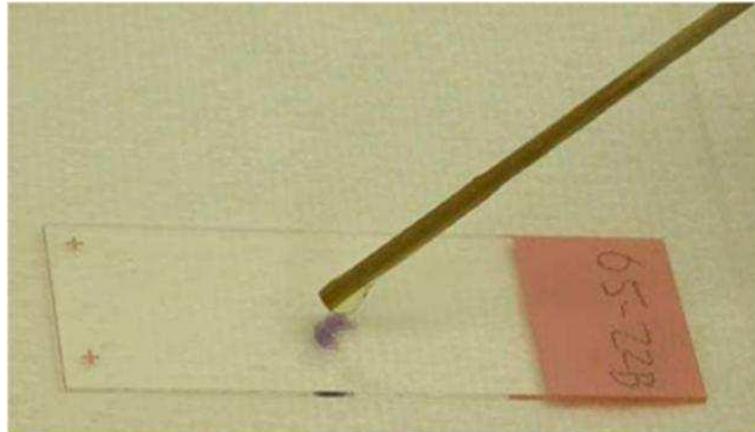
But du traitement

- Fournir une matrice qui peut soutenir les tissus pendant le sectionnement
- Si la cire est incompatible avec de l'eau :
 - Déshydrater les tissus avec des alcools
 - Alcools incompatibles avec de la cire
 - Utiliser un clarificateur compatible avec la cire et l'alcool
- Le clarificateur: est une solution qui permet que les tissus deviennent translucides : Xylène et solutions de rechange

III- SECTION DU TISSU



IV- PLACEMENT DES SECTIONS SUR LES LAMES



Traitement des lames

- Déparaffiner
- Réhydrater

Coloration



- Utiliser un protocole de coloration:
 - Hématoxyline et Eosine ou
 - Giemsa(Colorant le plus généralement utilisé en histologie)

V- COUVERTURE DE LA PREPARATION AVEC UNE LAMELLE