

# EN 2022, L'ASSOCIATION FRANÇAISE D'HISTOTECHNOLOGIE FÊTE SES 35 ANS

## PETIT TOUR DE LA PLACE ROUGE À LA VISITE D'UNE GALERIE ROUGE RUBIS

Anna Bencsik et Nathalie Accart

En 2022, après deux années de privation de notre congrès annuel, notre association retrouve enfin son rendez-vous avec ses adhérents. Le retour d'un évènement à fêter qui coïncide avec les 35 ans d'existence de notre association. Et 35 ans de vie associative, c'est un peu comme dans les anniversaires de mariage, des noces de rubis en quelque sorte. Une belle couleur qui parle aux histologistes, et d'ailleurs savez-vous quelles sont les colorations histologiques qui offrent une couleur rouge rubis ?

Pour marquer cette occasion, notre éditorial vous propose un retour dans le temps. L'Histoire nous rappelle sans cesse que des évènements marquants resteront à jamais gravés dans nos mémoires. Le coronavirus aura son nom à jamais associé aux années 2020 et 2021, et l'Ukraine restera sans doute dans les annales de l'année 2022. Mais que s'est-il donc passé en 1987 ?

Nous vous invitons également à faire un petit tour dans la « galerie » rubis des colorations histologiques. Une belle façon de célébrer notre discipline particulièrement bien illustrée dans cette édition spéciale qui regroupe deux volumes 33 et 34 des éditions 2021 et 2022.

## Mais que s'est-il donc passé dans le monde en 1987 ?

Pour continuer sur la note rouge du rubis, vous souvenez-vous de Mathias Rust, citoyen de l'Allemagne de l'Ouest qui survola Moscou à bord d'un petit Cessna et atterrit sur la fameuse Place Rouge ?



Place Rouge, 28 mai 1987

Le Président des Etats Unis d'Amérique Ronald Reagan livra son fameux discours sur le mur de Berlin à Berlin Ouest. Dans le même temps, après une longue période de croissance, les US Stock Market s'effondrèrent dans le monde entier le 19 Octobre 1987 avec une chute fulgurante de plus de 22,6 %, atteignant jusqu'à 45,8 % à la bourse de Hong Kong.

Plus tragiquement Terry Waite, l'envoyé spécial de l'Archevêché de Canterbury au Liban, est kidnappé à Beyrouth. Un ferry traversant la Manche chavire en dehors du port de Zeebrugge en Belgique, tuant 193 passagers et membres d'équipage. L'Angleterre subit une des plus fortes tempêtes de l'Histoire quand des vents de la force d'un ouragan touche le Sud du pays. Finalement citons Nikolaus Barbie dit Klaus Barbie, condamné à perpétuité pour crime contre l'humanité à Lyon en 1987.

Mais 1987, ce n'est pas seulement ces événements politiques ou tragiques. Sur une note plus gaie, rappelons la première apparition du dessin animé des Simpsons, dans le Tracey Ullman Show en avril 1987. Citons également l'accord



Ronald Reagan sur le mur de Berlin (Source Wikipédia)

signé entre la France et la Disney Corporation pour créer un parc d'attractions en France. C'est la naissance du parc Disneyland Paris.

## Mais que s'est-il donc passé dans le monde scientifique en 1987 ?

### *L'ADN, ce fil à remonter le temps*

Colin Pitchfork est un nom cité dans les livres d'histoire des sciences criminelles car deux premières mondiales avaient eu lieu lors de l'enquête menant à son arrestation en 1987. Tout débute en 1983. Le corps sans vie d'une adolescente de 15 ans, la jeune Lynda Mann, est alors retrouvé à Narborough, dans le Leicestershire, au centre de l'Angleterre. Lynda a été violée puis étranglée. Trois ans plus tard, le cadavre d'une autre jeune fille de 15 ans, Dawn Ashworth, est retrouvé

à quelques centaines de mètres à peine du premier. Elle a aussi été violée puis étranglée. La similitude entre les deux crimes est évidente et confirmée par la comparaison des deux ADN extraits des échantillons de sperme collectés sur les deux scènes de crime. La police remonte jusqu'à un jeune homme de 17 ans de la région qui passe aux aveux et confesse le second meurtre. Mais les sciences liées à la génétique ont bien évolué en quatre ans et les spécialistes vont déterminer que l'ADN du tueur n'est pas celui du jeune homme. Pour la première fois de l'histoire, l'ADN a innocenté une personne.

Seconde première : la police décide d'un test de masse et récolte puis analyse l'ADN de quelques 5000 hommes de la région. Les analyses ne donnent rien et aucun suspect n'est trouvé parmi eux. C'est finalement un homme trop bavard qui va permettre de résoudre l'affaire. Ce dernier indique à des amis qu'il a donné un échantillon de son sang à un certain Colin Pitchfork durant la vague de tests. Cette information arrive aux oreilles des policiers qui interpellent cet individu. Et, là, pour la première fois dans le monde, l'ADN permet de confondre le tueur. Colin Pitchfork, alors marié et père de deux enfants, confesse les viols et les meurtres de Lynda Mann et Dawn Ashworth. Il est condamné à la perpétuité avec une peine incompressible de 30 ans. Cette affaire est la première du genre pour laquelle les empreintes génétiques ont permis l'arrestation de l'assassin de ces deux jeunes filles.

## *La découverte de l'ADN*

Mais revenons un peu en arrière [1]. Sans le savoir, Louis XVIII fut le précurseur d'une science médicale par le rapprochement de l'ancienne Société Royale de Médecine et l'Académie de Chirurgie, par la création de l'Académie de Médecine ; et donc précurseur de l'évolution des collaborations scientifiques jusqu'à l'avènement de la génétique moléculaire. Depuis 1820, quatre grandes étapes dans les avancées scientifiques peuvent ainsi être distinguées.

La première étape est celle de la méthode anatomo-clinique, initiée par René Laennec (1781-1826), et son invention du stéthoscope. Elle a conduit à la description des maladies et à leur classification, c'est-à-dire à leur nosologie.

La deuxième étape débute en 1865 avec l'avènement de la médecine expérimentale de Claude Bernard (1813-1878), fondateur de la médecine scientifique et initiateur de la physiologie.

La troisième étape est celle de l'ère pasteurienne. Rappelons que nous avons dédié notre éditorial 2021 à Louis Pasteur (1822-1895) dont nous fêtons les 200 ans cette année. Fondateur de la microbiologie moderne, ses travaux ont conduit à la description des maladies infectieuses, à la sérothérapie, au développement des vaccinations, aux règles d'antiseptie et d'aseptie, avant l'apparition des sulfamides et des antibiotiques.

Puis la quatrième étape est celle de la génétique moléculaire dont l'histoire est assez récente avec la découverte de l'acide désoxyribonucléique (ADN) par Friedrich Miescher (1844-1895) en 1869, et celle des chromosomes en 1879 par Walther Flemming (1843-1905). Hasard du calendrier, l'année de sa mort coïncide avec celle de la découverte du rôle des chromosomes X et Y dans le déterminisme sexuel par les travaux de Nettie Stevens (1861-1912), une généticienne américaine de génie et pourtant méconnue. La génétique commence en 1859 par la publication par Charles Darwin (1809-1882) de sa théorie sur l'évolution et son texte « l'Origine des espèces », et en 1865 par la publication des lois de Mendel. Grégor Mendel (1822-1884), ce moine né la même année que Pasteur et travaillant sur des variétés de pois en raison de leurs caractères phénotypiques, démontre que les facteurs héréditaires existent par paires et qu'ils se comportent de manière indépendante, se réunissant ou se séparant au hasard des générations. Il introduit surtout de façon précise les concepts majeurs de dominance et de récessivité. Ces travaux sont restés inconnus jusqu'au début des années 1900, période au cours de laquelle l'expansion des populations a nécessité d'améliorer l'agriculture et les variétés de plantes pour en créer de nouvelles, plus productives, plus résistantes aux maladies. C'est l'essor de la génétique. Cependant la notion d'hérédité acquise développée par Lamarck (1744-1829) fait perdurer la méfiance vis-à-vis de la génétique mendélienne en France jusque dans les années 1940.

Continuons l'histoire en rappelant ensuite que 1944 voit la démonstration que l'ADN est le support biochimique des caractères héréditairement transmis. Et la publication par James Watson (1928- ) et Francis Crick (1916-2004) de la structure de l'ADN en double hélice, pour la découverte de laquelle rappelons la contribution essentielle de Rosalind Franklin (1920-1958), date de 1953. Les années 60 sont

associées à l'élucidation du mécanisme de réplication de l'ADN, la façon dont une cellule transmet l'intégralité de son patrimoine génétique à ses deux cellules filles, du mécanisme de biosynthèse des protéines, au centre de la biologie moléculaire (ADN-ARN- Protéine), et aux noms de François Jacob (1920-2013), Jacques Monod (1910-1976) et François Gros (1925-2022).

Une autre avancée majeure fut, dans les années 1963/64, le déchiffrement du code génétique (Marshall Nirenberg (1927-2010), Robert Holley (1922-1993) Gobind Khorana (1922-2011) et Severo Ochoa (1905-1993) par la correspondance entre le langage de l'ADN formé des seules quatre lettres A, T, G, C, désignant les quatre désoxyribonucléotides constituant le langage des polypeptides de vingt acides aminés différents, chacun étant programmé au niveau de l'ADN par la succession de trois bases ou codons. Malgré ces progrès spectaculaires, un obstacle technique majeur persistait toujours avec l'impossibilité d'analyser un gène de cellule eucaryote après isolement de ce gène à partir d'un génome entier, formé dans le cas du génome humain, par la succession de plus de 3 milliards de nucléotides. La révolution eut lieu au début des années 70 avec le génie génétique. De nombreuses méthodologies et outils technologiques furent mis au point comme les endonucléases de restriction, la transcriptase inverse, la technique de Southern Blot. La technique de séquençage de l'ADN fut développée en 1975 par Sanger (1918-2013) et Coulson puis revisitée par Maxam et Gilbert en 1977.

C'est également l'apparition d'une nouvelle discipline : la génétique moléculaire médicale, servant aux diagnostics prénataux de drépanocytose, de trisomie 21, permettant également la création de la première banque génomique humaine en phages, c'est-à-dire une bibliothèque de clones représentant *a priori* l'ensemble d'un génome, la découverte des polymorphismes de restriction (maintenant qualifiés de SNP pour « *Single Nucleotide Polymorphism* »), initiant ainsi les travaux de cartographie du génome.

Ce travail de cartographie génétique était également à la base de la stratégie de génétique dite inverse par la caractérisation du gène responsable d'une maladie et seulement ensuite de la protéine. Cette stratégie de clonage positionnel permit en 1987 l'identification de gènes et de protéines impliqués dans des maladies comme le gène RB du rétinoblastome et le gène DMD (*Duchenne Muscular Dystrophin*) de la myopathie de Duchenne, et en 1989 le gène CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Receptor*) de la mucoviscidose. Actuellement, plusieurs

milliers de gènes responsables de maladies sont identifiés. Les progrès techniques ont également concerné les techniques de génie génétique avec l'utilisation de nouveaux vecteurs pour le clonage de grands fragments d'ADN comme les BACs (*Bacterial Artificial Chromosome*) et les YACs (*Yeast Artificial Chromosome*), les marquages par FISH sur les chromosomes, l'inactivation des gènes et création d'animaux dits « Knock Out », la mutagenèse dirigée, l'inactivation génique par interférence d'ARN (RNAi), la synthèse d'oligosondes nucléotidiques, les puces ADN, micro et macro-arrays, etc.

Parmi toutes ces innovations, l'une d'entre elles a eu une importance exceptionnelle : la technique de PCR (« *Polymerase Chain Reaction* »), décrite en 1988 par Kary Mullis (1944-2019) qui reçut le prix Nobel de chimie en 1993, grâce à la découverte et à l'utilisation d'une endonucléase thermostable (75-80 degrés) isolée des bactéries vivant dans les sources chaudes du parc de Yellowstone. Cette technique permet de multiplier le nombre d'exemplaires d'un petit fragment d'ADN jusqu'à l'amplification de plusieurs millions de fois. D'une extrême sensibilité, elle est en particulier à la base des techniques de diagnostic prénatal et préimplantatoire ; elle est également responsable du succès de ce qu'on appelle les « empreintes génétiques » dont les utilisations médico-légales sont multiples. L'évolution contemporaine des techniques de séquençage des ADN a abouti à l'ultraparallélisation des réactions de séquençage qui, associée à un traitement bioinformatique ultraperformant de reconstitution et d'alignement des séquences obtenues, permet un séquençage ultra-rapide en quelques jours voire quelques heures. Cette évolution technologique a des conséquences majeures sur la pratique médicale, comme :

1. - La capacité de rechercher simultanément les mutations dans un grand nombre de gènes qui offre en définitive, un bénéfice considérable en termes de temps et de coût pour le diagnostic des maladies mendéliennes.
2. - La possibilité de séquençage de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel dès la cinquième ou sixième semaine d'aménorrhée et donc réalisé de façon non invasive, sans ponction de liquide amniotique et donc sans prendre le risque de provoquer un avortement et c'est également une avancée pour le dépistage des maladies mendéliennes.
3. - Pour finir, la caractérisation des spectres mutationnels tumoraux dans les affections cancéreuses héréditaires ou non, susceptibles de conduire à des traitements reposant sur un ou une combinaison de médicaments moléculairement

ciblés. Le premier exemple de ce type de traitement a été l'Imatinib, inhibant spécifiquement l'activité tyrosine/kinase de la protéine de fusion bcr/abl dans la leucémie myéloïde chronique. Espérons que cette discipline aura encore de nombreux secrets à nous révéler et permettra d'améliorer le traitement de nombreux patients. Ainsi, l'histoire nous montre l'évolution exponentielle de nos connaissances scientifiques et médicales, des potentialités thérapeutiques qui en découlent, comme récemment avec la caractérisation du système CRISPR-cas9.

Que de chemin parcouru depuis cette année 1987. Les travaux fondamentaux réalisés par toutes les équipes scientifiques mondiales ont permis la découverte du VIH et son traitement. Après de nombreuses années de recherche sur le SIDA et la possibilité d'améliorer le traitement de cette maladie, une nouvelle substance active a été développée et utilisée. C'est l'azidothymidine (AZT). Et 1987 vit la première publication résumant les premiers essais cliniques de cette molécule [2].

### ***L'Histotechnologie en 1987***

Il y a 35 ans se tenait donc le premier congrès de l'AFH, à Amboise. Il donna naissance à la première édition de notre Revue, parue en 1988 et disponible en ligne sur notre site <https://www.afhisto.fr/revue-avant-2018>. Le sommaire nous permet déjà d'apprécier la diversité des sujets traités abordant des techniques de pointe de l'époque : - La cytométrie en flux, - La cardiotoxicité de la doxorubicine, - Une étude immuno-cytochimique du facteur natriurétique atrial chez le rat, - L'hybridation moléculaire *in situ*, - La coloration argyrophile des organisateurs nucléolaires, - Technique et quantification morphométrique de l'index d'aneuploidie des tumeurs solides, - Etude de soixante dix cas de cancer du sein, - L'histopharmacologie : des techniques histologiques au service de la pharmacologie, ou une approche originale de la recherche pharmacologique, - Coloration des graisses : une méthode d'obtention d'un témoin positif.

En dehors de cela, si vous tapez les mots clés Histotechnology et 1987 dans le moteur de recherche PubMed, vous tomberez sur cette unique publication du journal *Staining Technology* [3], dont le titre « *Glycol methacrylate embedding in histotechnology: the hematoxylin-eosin stain as a method for assessing the stability of glycol methacrylate sections* » nous permet de parler de cette méthode d'enrobage qui est de nos jours peu décrite.



Le glycol méthacrylate (GMA) est une résine qui est devenue très populaire dans les années 1980, utilisée comme milieu d'enrobage en histologie et histochimie. Le rétrécissement et la distorsion des tissus causés par l'utilisation de la paraffine chaude comme milieu d'inclusion, sont évités et des sections de 1 à 2  $\mu\text{m}$  d'épaisseur peuvent être générées à partir de ces blocs de résine. Cela résulte en une meilleure préservation de la morphologie tissulaire et cellulaire. Cependant un problème persistant est l'absence d'une bonne coloration histologique de base. La coloration Hématoxyline-Eosine (HE) a été décrite comme satisfaisante par Bennett *et al.* [4] mais l'Hématoxyline présente parfois des précipités granulaires fins et l'Eosine alcoolique tend à distendre les sections de tissus inclus en GMA, les détachant des lames. Les colorants basiques comme le Bleu de Toluidine ou de Méthylène, conseillés également par Bennett, ont tendance à avoir une affinité pour le plastique et donc à générer un certain bruit de fond. Troyer et Babich en 1981 [5], décrivent une méthode alternative qui ne colore pas la résine d'enrobage ni ne détache les coupes des lames. Cette coloration est basée sur le colorant basique Bleu de Célestine préparée en dissolvant 1 gramme de poudre dans 0,5 mL d'acide sulfurique concentré, puis de dissoudre ce mélange dans une solution composée de 14 mL de glycérine ajoutés à 100 mL de sulfate d'ammonium ferrique à 2,5 %, puis chauffée à 50°C, pour un pH ajusté finalement à 0,8-0,9. Ensuite une solution de coloration acide consistant en 0,075 % de Ponceau de Xylidine et de 0,025 % de fuchsine acide diluées dans 10 % d'acide acétique. Les lames sont immergées dans le bleu de Célestine pendant 5 minutes puis après rinçage à l'eau, pendant 10 minutes dans la solution de Ponceau-Fuchsine. Après un lavage final, les sections sont séchées et montées en milieu permanent. Le résultat est décrit comme étant similaire à celui obtenu par coloration HE, avec une coloration cytoplasmique du jaune-orangé au rose-rouge et une coloration nucléaire donnée par le Bleu de Célestine. Le pH très acide de la solution ne donnant aucun bruit de fond sur la résine plastique. Il est à noter que des glycosaminoglycanes très sulfatés du cartilage par exemple ainsi que les granules des mastocytes sont aussi fortement marqués par le Bleu de Célestine.

La publication « *Glycol methacrylate embedding in histotechnology: the hematoxylin-eosin stain as a method for assessing the stability of glycol methacrylate sections* » a donc attiré toute notre attention. Les auteurs P.O. Gerrits et M.B. van Leeuwen décrivent comment l'acidité du GMA par la présence

d'acide méthacrylique (MA), ou la quantité d'impuretés comme l'éthylène glycol méthacrylate (EDMA) peuvent influencer l'efficacité des colorations histochimiques. Ils utilisent alors la coloration HE pour valider la meilleure qualité du GMA pour un résultat de coloration optimal. La combinaison de plus de 2 % d'EDMA ou un autre *cross-linker* comme le triéthylène glycol diméthacrylate (TEDMA) et l'absence de MA permettent d'améliorer les résultats de coloration HE par l'absence de bruit de fond et l'attachement optimal des coupes sur les lames.

Ce sujet a été revisité en 2003 par Cerri *et al.* [6], décrivant la faisabilité ou les limitations de cette technique d'inclusion en GMA pour l'utilisation de colorations histochimiques. Des échantillons de langue, de glandes submandibulaires et sublinguales, de cartilage, de portions de conduits respiratoires et de ganglions nerveux ont été utilisés pour cette comparaison. Les coupes de langue et de ganglions nerveux colorées par HE ont démontré un bon contraste entre les structures basophiles et acidophiles. La méthode de coloration Picrosirius (PS) a été appliquée pour l'identification des fibres de collagène dans les glandes submandibulaires, les glycosaminoglycanes sulfatés chargés négativement ont été révélés par le Bleu de Toluidine dans le cartilage (métachromasie) et les lipides comme la myéline préservée et révélée par le Noir Soudan B dans les ganglions nerveux. L'Acide Périodique Schiff (PAS) a été utilisé pour la détection de glycoconjugués dans les glandes submandibulaires et le cartilage, démontrant dans les chondrocytes, des granules de glycogène fortement positifs. La combinaison des méthodes Bleu Alcian (AB) / PAS a été appliquée pour la détection des mucines dans le tractus respiratoire, démontrant dans les cellules épithéliales la présence de mucines acides (détectées par l'AB) ou neutres (PAS). De plus, les granules contenant les mucines acides et neutres apparaissent pourpres avec cette coloration AB/PAS. La combinaison AB/PS a aussi été testée sur les coupes de glandes sublinguales et a montré une haute affinité des mucines acides par l'AB et les fibres de collagène par le PS. Les glycoprotéines extracellulaires sont PAS positives dans la membrane basale et dans la région occupée par la *lamina externa* et les fibres réticulaires entourant chaque cellule musculaire lisse des vaisseaux sanguins. Les coupes de tissus inclus en GMA ont démontré une intégrité morphologique optimale et sont favorables aux méthodes histochimiques employées dans cette étude. Pour cela une adaptation des protocoles de coloration est nécessaire pour une application en GMA.

## La Galerie du Rouge en histologie

Le propre de l'histologie est de rendre visible la structure des tissus, à l'aide de colorants naturels ou synthétiques aux noms plus ou moins évocateurs de leur propre couleur ou de leurs capacités colorantes, Fuchsine, Violet de gentiane, Safran... ayant certaines affinités pour des composants cellulaires comme décrit dans le paragraphe précédent. Toute la palette de « l'arc en ciel » est représentée, du Crézyl Violet, en passant par le Bleu Alcian, le Vert de Méthyl, le Jaune Safran, l'Acridine Orange, le Rouge Congo, le Noir Soudan... Et c'est encore plus vrai pour les immunomarquages révélés en fluorescence. Ainsi il est possible d'identifier tel ou tel composé typique d'une cellule ou d'un organe donné, par le contraste produit par les affinités plus ou moins spécifiques de ces substances. Ces colorations sont la base de notre activité et aident les histologistes depuis des générations, à analyser les tissus pour identifier les états physiologiques ou pathologiques de l'organisme étudié.

Ce 35<sup>ème</sup> anniversaire de l'AFH, à l'image des noces de rubis de notre association, nous donne l'occasion d'évoquer les principales colorations rouges que nous pouvons rencontrer dans nos pratiques.

En commençant par la plus symbolique de toute, la coloration de routine de l'hématoxyline-éosine (HE), qui permet grâce à l'éosine de colorer le cytoplasme des cellules en rose et les fibres en rose plus ou moins vif, selon l'acidophilie des éléments présents. Ainsi le collagène sera coloré en rose pâle, les muscles en rose foncé, le cytoplasme acidophile sera rouge et les érythrocytes se pareront d'un rouge cerise.

Une autre coloration de routine, utilisée pour mettre en évidence les fibres conjonctives, le Trichrome de Masson, qui bien que comportant plusieurs recettes, permet en général de colorer en rouge la kératine, les fibres musculaires, ainsi que les érythrocytes, et en rouge clair/rose le cytoplasme.

Le rouge neutre (Neutral Red) est un indicateur coloré de pH. En effet, pour un pH acide il est de couleur rouge puis à partir d'un pH de 6,8 (légèrement acide) sa couleur passe progressivement par une teinte orange pour virer au jaune quand le pH devient plus basique (8,0). En histologie, il peut être utilisé seul ou combiné à d'autres colorants, et marque ainsi les lysosomes en rouge, conformément au pH très acide (pH 4,5 - 5) qui caractérise l'intérieur de cet organe cellulaire.

Citons également quelques colorations spéciales comme le MOVAT, du nom du pathologiste canadien-hongrois de Toronto, Henry Zoltan Movat (1923-1995), qui mit au point en 1955 [8], cette coloration pentachrome développée à l'origine pour mettre en évidence les différents constituants du tissu conjonctif, en particulier le tissu cardiovasculaire, à l'aide de cinq couleurs sur une seule lame colorée. Un ancêtre du multiplexing en quelque sorte! Appliquée en pathologie cardiovasculaire pour mettre en évidence les fibres de collagène, le cytoplasme et le tissu musculaire sont rouges, tandis que la fibrine apparaît rouge intense.

La mise en évidence des glucides par la coloration PAS (Periodic Acid Schiff) s'appuie sur l'oxydation de certains polysaccharides par l'acide périodique, révélée par une coloration rouge qui correspond à la fixation de la leucofuschine de Schiff. Ainsi le PAS permet de révéler le glycogène, les membranes basales, les mucines (Galerie du Rouge A), mais aussi les filaments et spores mycéliens.

La coloration Oil Red O permet la mise en évidence des lipides, qui se fait sur des coupes congelées uniquement. Ainsi des vacuoles graisseuses peuvent être révélées, qu'elles contiennent des lipides liquides ou semi-liquides qui seront alors teintés d'un rouge vif (Galerie du Rouge B).

Dans les colorations spéciales, les dépôts de calcium peuvent entre autres, être mis en évidence avec la coloration au Rouge d'Alizarine, les sels de calcium apparaissent alors en orange-rouge.

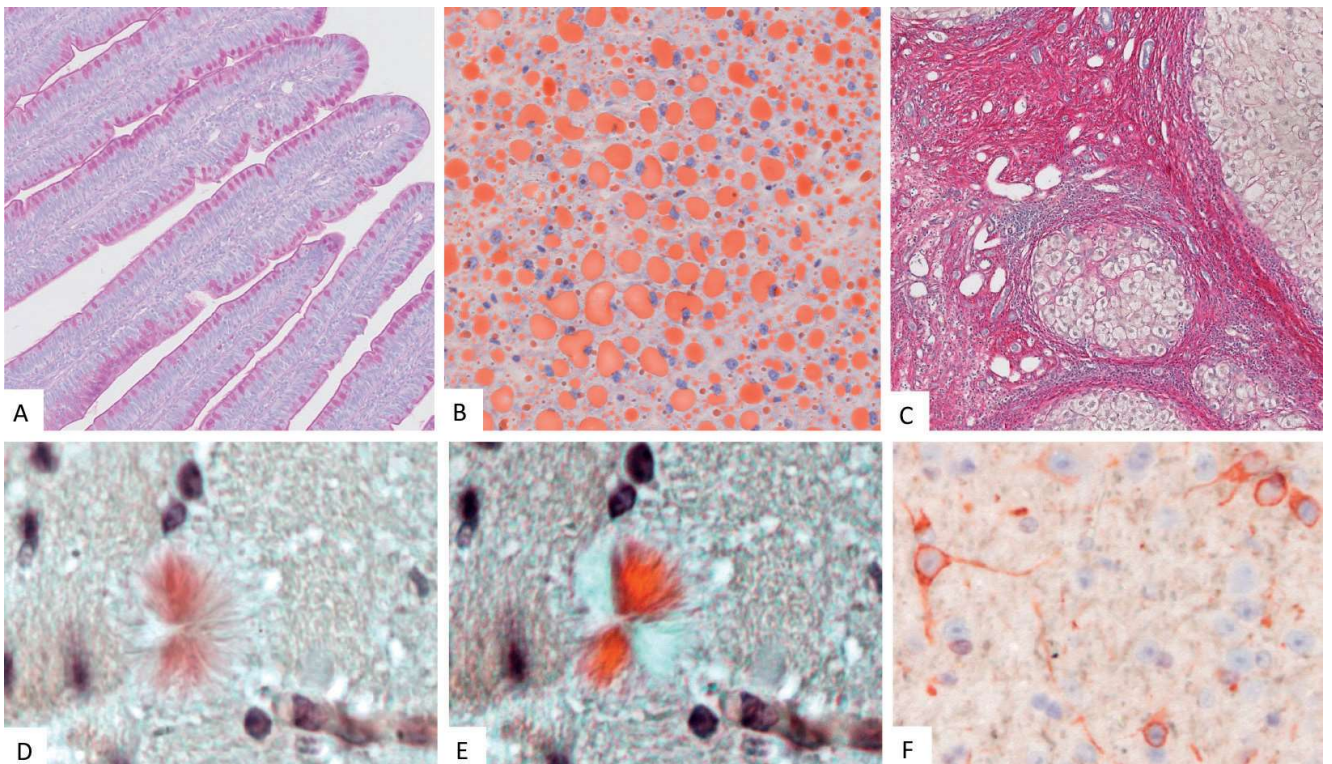
Le collagène peut être identifié à l'aide du Rouge Sirius, un colorant acide hydrophile qui se fixe le long des fibres de collagène, qui seront alors teintés en rouge (Galerie du Rouge C). Sous lumière polarisée, le rouge Sirius permettra par la biréfringence des fibres de distinguer les plus épaisses qui apparaîtront jaune / orange / rouge alors que les plus fines (incluant les fibres de réticuline) seront vertes.

Les dépôts d'amylose, constitué de substances amyloïdes, peuvent être révélés à l'aide du Rouge Congo. La substance amyloïde apparaît alors colorée d'une teinte allant du rose au rouge (Galerie du Rouge D). Il est aussi possible d'observer, sous lumière polarisée, une biréfringence rouge-orangé-verte des amas amyloïdes de type fibrillaire (Galerie du Rouge E).

Et pour mettre en évidence des microorganismes, la coloration Gram très utilisée en bactériologie permet de colorer et de distinguer les bactéries selon qu'elles ont

l'aptitude à fixer le violet Gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram -). Les bactéries Gram + sont colorées en violet ou mauve. Une contre-coloration en safranine ou en carbol fuchsine permet de visualiser les noyaux en rouge ou les corps cellulaires en rose des Gram -.

On peut aussi citer les substrats des enzymes utilisées pour l'étape de révélation des immunohistochimies faisant appel classiquement soit à la peroxydase du raifort (*Horse Radish Peroxydase* ou *HRP*) ou à la phosphatase alcaline (AP). Ainsi l'AEC (3-amino-9-éthylcarbazole) est un chromogène substrat de la HRP, qui produit un précipité de couleur rouge vif (Galerie du Rouge F). Il peut être combiné avec d'autres chromogènes il faut juste veiller à penser que les produits de réaction de l'AEC sont solubles dans les solvants organiques et que par conséquent, les lames colorées doivent être montées sous lamelles dans une solution aqueuse. Pour révéler la présence de l'AP, un chromogène à base de Fast red ou de New fuchsine, pour ne citer que deux exemples, permettent également d'obtenir un beau marquage rouge.



**Galerie du Rouge.** A) Iléon PAS, B) Foie Oil Red O, C) Fibrose Rouge Sirius, D) plaque amyloïde Rouge Congo, E) Plaque amyloïde Rouge Congo sous lumière polarisée, F) Oligodendrocytes révélés en AEC. Clichés A,B,C, courtoisie d'Alain Fautrel.

## Une édition spéciale pour les 35 ans de l'AFH

Dans ce volume spécial qui regroupe les éditions 2021 et 2022, vous trouverez de nombreuses illustrations de ces colorations, dont certaines rouges, à travers les articles qui nous ont été proposés mais aussi, de façon nouvelle, par la publication de toutes les images soumises à notre premier concours photo.

Comme dans le tout premier volume de notre Revue, vous y découvrirez aussi des articles faisant référence à des technologies nouvelles à appliquer en histologie telles que les marquages multiplex, la transcriptomique spatiale, la spectroscopie Raman... Vous y découvrirez une autre nouveauté, celle de la publication des actes de congrès avec les résumés de nos conférenciers du congrès numérique de 2021.

Nous vous souhaitons une bonne lecture de cette édition spéciale, ainsi que beaucoup de réussites dans vos travaux histologiques en espérant que vous pourrez les valoriser et pourquoi pas aussi à travers la Revue française d'histotechnologie, par un article ou une participation à notre concours photo devenu annuel.

N'hésitez pas à partager vos meilleures découvertes, votre passion pour cette belle discipline qui nous unit et qui nous émerveille par ses côtés artistiques indéniables.

Pour notre plus grand plaisir à tous, réunis à nouveau à Marseille en 2022, nous célébrerons les 35 ans de l'AFH, et nous vous souhaitons, chers adhérents qui faites vivre l'AFH, un bon anniversaire à tous !

Longue vie à l'AFH

Anna et Nathalie

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. LE GALL J.Y. La génétique : une brève histoire en pleine expansion. *Bull. Acad. Natle Méd.*, 2015, **199**, nos 8-9, 1485-1492, séance du 15 décembre 2015
2. FISCHL M. A. *et al.* The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *New England Journal of Medicine* 1987 Jul 23, **317**(4):185-91.
3. GERRITS P.O. and VAN LEEUWEN M.B. Glycol methacrylate embedding in histotechnology: the hematoxylin-eosin stain as a method for assessing the stability of glycol methacrylate sections. *Staining Technology* 1987, **62**(3) : 181-90
4. BENNETT *et al.* Science and art in preparing tissue embedded in plastic for light microscopy, with special reference to glycol methacrylate, glass knives and simple stains. *Stain Technology* 1976, **51** : 71-97.
5. TROYER H. and BABICH E. A Hematoxylin and Eosin-like stain for glycol methacrylate embedded tissue sections. *Stain Technology* **56** : 39-43
6. CERRI P.S. and SASSO-CERRI E. Staining methods applied to glycol methacrylate embedded tissue sections. *Micron* 2003, **34**(8):365-72.
7. PERINI G., *et al.* Unravelling the Potential of Graphene Quantum Dots in Biomedicine and Neuroscience. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, **21** (10): 3712 <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/10/3712>
8. MOVAT H.Z. Demonstration of all connective tissue elements in a single section; pentachrome stains. *AMA Arch Pathol*, 1955,**60** (3): 289-295