

## Protocole n° 43

### Coloration par l'Orcéine

#### Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Colorer dans la solution d'Orcéine pendant 30 à 60 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Egoutter l'excédent et plonger dans l'alcool à 95° pour enlever l'excès de colorant.
- Passer dans l'alcool absolu pendant 5 à 30 minutes, jusqu'à ce que la coupe soit brun pâle (on peut vérifier au microscope si les fibres élastiques sont bien noires).
- Décolorer le fond dans la solution d'acide-alcool jusqu'à ce que la coupe soit presque incolore, en surveillant au microscope. La décoloration est obtenue en 2 à 10 minutes.
- Rincer à l'eau courante pendant au moins 5 minutes.
- Coloration nucléaire par l'Hémalun de Mayer pendant 3 à 5 minutes.
- Rincer la lame dans un bain d'eau courante et laisser en contact pendant 3 à 5 minutes (indispensable pour différencier l'Hémalun de Mayer).
- 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.

#### Principe :

Coloration des fibres et lames élastiques par un colorant acide faible, l'Orcéine, qui se fixe avec une grande électivité (mais non une spécificité absolue) sur ces éléments.

#### Produits nécessaires à la coloration :

Hémalun de Mayer Réf. 320550-	1000 ou 2500 mL
Orcéine synthétique Réf. 315520-	0005 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

#### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide Chlorhydrique

#### 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 :

Solution d'Orcéine : Dissoudre 1 g d'Orcéine dans 100 mL d'alcool à 70° et 0,6 mL d'HCl concentré.

Solution d'acide-alcool : Ajouter 1 mL d'HCl concentré dans 100 mL d'alcool à 70°.

#### Résultats :

Noyaux : noir

Fibres et lames élastiques : brun noir

#### 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.

Pour obtenir une coloration de fond, on peut associer la coloration par l'Orcéine à une coloration de Van-Gieson (Protocole 40) après l'étape 7.

#### Références Bibliographiques :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1431-1432.

