

# Protocole n° 56

## Coloration de Perls

Solution de Rouge nucléaire : Dissoudre en chauffant 0,2 g de Rouge nucléaire et 5 g de sulfate d'aluminium dans 100 mL d'eau distillée. Laisser refroidir, filtrer. Ajouter un cristal de thymol. Filtrer avant usage, rejeter le colorant lorsqu'il commence à déposer.

### Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Recouvrir la coupe avec la solution de Lison durant 30 minutes.
- Rincer la lame à l'eau.
- Colorer la coupe dans la solution de Rouge nucléaire pendant 10 minutes.
- Rincer la lame à l'eau.
- Déshydrater successivement la coupe 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.

### Résultats :

Noyaux : rouge.  
Sels ferriques : bleu vif.

### 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.

Les temps de coloration peuvent varier en fonction de la nature du tissu.

La solution de Lison doit être utilisée dans les 30 minutes suivant sa reconstitution. Passé ce délai, la solution vire au bleu clair, puis au bleu-vert et ne doit plus être utilisée.

La solution de Rouge nucléaire doit être conservée à l'abri de la lumière après chaque usage.

Eviter l'emploi d'instruments métalliques lors de la manipulation.

Utiliser de la verrerie soigneusement rincée pour éviter les risques d'artefacts liés au fer exogène.

### 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.

### Principe :

En milieu acide, les ions ferriques réagissent avec le ferrocyanure de potassium en donnant un précipité de ferrocyanure ferrique (bleu de Prusse) qui met en évidence un pigment pathologique, l'hémosidérine.

Ce pigment est retrouvé au niveau du foie et de la moelle osseuse dans des pathologies telles que la cirrhose, l'hémochromatose et certaines anémies.

### Produits nécessaires à la coloration :

Rouge nucléaire Réf. 363430-	0005 g
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Ferrocyanure de potassium – Sulfate d'aluminium – Acide chlorhydrique – Thymol  
Eau distillée

### 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 de Lison : Mélanger juste avant l'emploi, à parties égales :

- solution aqueuse à 2% de ferrocyanure de potassium fraîchement préparée.
- solution aqueuse à 2% d'acide chlorhydrique.

