

# Protocole n° 57

## Coloration de Von Kossa

### Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Placer la coupe dans une solution aqueuse à 1% ou 5% de nitrate d'argent, à l'obscurité, pendant 30 minutes.
- Rincer soigneusement à l'eau distillée.
- Placer dans l'eau distillée et exposer soit à la lumière solaire (s'il y a un bon ensoleillement), soit sous une source de rayons ultra-violet, pendant 1 heure.
- Colorer les noyaux par la solution de Rouge nucléaire pendant 10 minutes.
- Rincer 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 :

Sites contenant des sels de calcium : recouverts par un précipité noir intense d'argent.

Noyaux : rouge.

### 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.

La réussite de l'imprégnation argentique nécessite le respect scrupuleux d'un certain nombre de règles :

- N'employer que des produits chimiquement purs.
- Utiliser de l'eau bidistillée, et non simplement distillée.
- Eviter les poussières, qui altèrent les solutions.
- Se servir d'une verrerie d'une très rigoureuse propreté.
- Ne jamais mettre un objet métallique au contact des solutions.

### Références Bibliographiques :

**GANTER P., JOLLES G.,** *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1660-1661.

### Principe :

Il s'agit d'une méthode dite de substitution qui met en évidence des dépôts pathologiques de sels de calcium (phosphates et carbonates). Le principe est le suivant : la coupe est traitée par une solution de nitrate d'argent qui contient un cation métallique lourd ; celui-ci se substitue au calcium et il ne reste plus, dans un second temps, qu'à révéler le sel d'argent ainsi obtenu en le réduisant en argent métallique.

### Produits nécessaires à la coloration :

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

### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Nitrate d'argent – Sulfate d'aluminium – 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 Nitrate d'Argent : Préparer une solution aqueuse à 1% ou 5% de nitrate d'argent.

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.

