

Mélange de Giemsa

Il es aussi appelé colorant de Giemsa.

C'est un colorant qui se vend tout préparé et qui existe sous 2 formes :

- le Giemsa rapide qui donne des colorations intenses en peu de temps
- le Giemsa lent qui précipite moins rapidement que le précédent.

Ce dernier existe aussi en poudre pour une préparation personnelle (avec alcool méthylique et glycérine). Voir Langeron p.569 pour une autre préparation avec des produits Merck (Azur-éosine-bleu de méthylène)...

Dans la moelle osseuse, les noyaux sont bleu noir à violet, le cytoplasme bleu pâle et les érythrocytes rose pâle.

Robert Kühner l'utilise pour colorer les noyaux, selon une technique sophistiquée et assez longue, mais sans grande difficulté. Elle met remarquablement les noyaux en évidence.

- la fixation à l'alcool absolu ou très titré n'est pas obligatoire
- immerger le fragment dans de l'acide chlorhydrique à 8 % (8,25 ml d'HCl fumant avec 100 ml d'eau bidistillée), chauffé à 55-60° C durant 8-10 minutes en moyenne (de 5 à 15 minutes selon la taille du fragment).
- éliminer la solution acide et remplacer par de l'eau froide qu'on change de 3 à 5 fois en 15 minutes
- vider l'eau et la remplacer deux fois par de l'éthanol ou du méthanol absolus
- vider l'alcool et déposer sur le morceau de sporophore 4 à 6 gouttes de Giemsa lent
- laisser agir le colorant durant au moins une heure
- ensuite, verser 5 ml d'eau bidistillée dans le tube et rendre homogène en inclinant et redressant doucement le tube (ne pas mélanger)
- laisser agir encore une heure
- placer le fragment coloré sur une lame de verre et le rincer à l'eau avec le jet d'une seringue (bloquer le fragment avec une aiguille montée) durant 2 à 3 secondes
- effectuer une coupe s'il s'agit d'un gros fragment
- placer sous lamelle avec de l'eau bidistillée, ou mieux encore de l'ammoniaque diluée 2x
- dissocier éventuellement par percussion, si c'est nécessaire

En 1972, Robert KUHNER l'utilise pour colorer de manière élective l'endospore (mince feuillet interne de la paroi sporique) des *Lepiota*. Il perfectionne une double coloration Giemsa – iode qui permet de distinguer très nettement, en dehors de l'endospore, deux feuillets (couches) supplémentaires qui avaient déjà été proposés par Locquin ; l'endospore qui a été colorée en rouge pourpre par le Giemsa noircit après traitement à l'eau iodo-acétifiée, ce qui met les deux couches en évidence.

En colorant des lames de *Galerina marginata* au Giemsa, on remarque que la paroi des basides prend une coloration rouge vif au niveau de la partie ventrue (R.K.)

DANGERS :

Plus ou moins toxique per os (par voie orale) et de manière moindre par contact (laver abondamment dans ce cas). Il tache facilement la peau et les vêtements.

CONSERVATION :

1 à 2 ans maximum ; ne jamais stocker en grande quantité !