

NIGROSINE aqueuse à 5 %

1. NATURE DU COLORANT :

La **nigrosine** appartient au groupe des quinone-imides, et au sous-groupe des insulines, dont elle est le seul représentant. On l'appelle également **bleu solide** ou **bleu Coupier**, malgré son aspect franchement noir d'Encre de Chine..

Dictionnaire de chimie "Duval & Duval":

"Nigrosine, n. f.- Nom générique de matières colorantes grises ou gris-bleu se rapprochant des indulines. Substance de formule C₃₈ H₂₇ N₃ utilisée comme colorant en histologie.

= Nigraniline = Noir d'aniline."

Dans le "Römpps" (en allemand) il est dit que dans le processus de fabrication, il est fait usage -entre autres- de Fe & FeCl₃ cela explique peut-être la réaction sidérophile des granulations ? Cela n'est qu'une pure spéculation de ma part (Michel BLAISE).

2. PREPARATION :

en solution aqueuse :

Eau bidistillée :	100 cc
Nigrosine :	5 g

- Faire chauffer au bain-marie bouillant durant 15 minutes.
- Laisser refroidir.
- Placer ensuite sur l'agitateur magnétique durant au moins six heures.
- Ajouter 1,5 cc de formol.
- Filtrer sur papier pas trop fin.

Ce mélange se conserve longtemps (en flacon bien bouché) et est prêt à l'emploi !

en solution alcoolique :

Méthanol de laboratoire à 95 %	80 cc
Eau bidistillée :	20 cc
Nigrosine :	5 g

- Placer sur l'agitateur magnétique durant au moins six heures.
- Ajouter 1,5 cc de formol.
- Ne pas filtrer.

3. UTILISATION :

C'est DEFLANDRE qui a mis en évidence son haut pouvoir de coloration des Infusoires ciliés et de certaines algues, dites " inférieures " !

Voici comment il procède :

- déposer une petite goutte d'eau, riche en Infusoires, sur une lame porte-objet
- juste à côté, déposer une minuscule goutte de nigrosine aqueuse
- avec une minutie, mélanger soigneusement les deux gouttelettes
- réaliser un frottis pour bien étaler la goutte (en utilisant une lame couvre-objet selon la technique classique issue des frottis sanguins)
- le frottis apparaît en gris par transparence
- poser la préparation bien à plat pour éviter les coulées, et faire sécher le plus vite possible par ventilation mécanique (NE PAS chauffer la préparation à la flamme !) : utiliser un éventail ! → On pourrait envisager un sèche-cheveux à chaleur réduite.....
- monter au Baume du Canada, à l'Histolaque, au Conservateur de Hoyer ou tout autre produit qui vous a séduit pour le montage de préparations définitives
- la nécessité du lutage s'impose ou est superflue selon les produits conservateurs utilisés

ATTENTION !

1/ La réussite de la préparation va dépendre de deux facteurs essentiels :

- la quantité de nigrosine utilisée
- la rapidité du séchage

Il suffit de quelques essais et erreurs pour déterminer les bons dosages !

2/ Les Infusoires vont réagir de deux manières :

- certaines espèces vont éclater car elles ne supportent pas la dessiccation
- d'autres se préparent de manière spectaculaire, naturelle, avec possibilité d'observer tous les détails de leur " cuticule ".

Elle peut être également utilisée en remplacement de l'encre de Chine de laboratoire, pour mettre en évidence des bactéries qui résistent à la coloration de GRAM. On reconnaît des bactéries " Gram - " au fait qu'elles présentent un point foncé au milieu des cellules.... Le colorant va surtout mettre en évidence la capsule gélatineuse entourant certains organismes ; il s'agit en réalité d'une coloration négative, qui, en accentuant le fond, met le sujet en évidence !

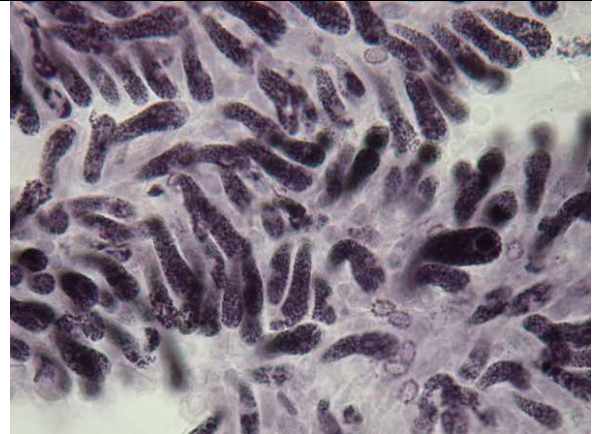
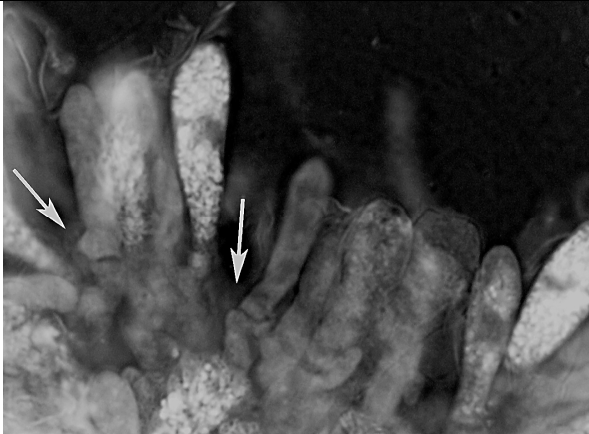
Attention au fait que les liquides acides précipitent la nigrosine par coagulation ; il faut donc les neutraliser avant examen ! Il est évident que le colorant doit être stérilisé avant utilisation, sous peine d'introduire dans la préparation des organismes " parasites ". Nous n'avons pas eu l'occasion d'expérimenter cette technique qui est signalée par LANGERON.

TEMPERE la préconise en solution alcoolique pour rendre visibles les organes internes des Insectes, décolorés par les techniques de fixation (en effet, la nigrosine ne colore pas la chi-

tine). La nigrosine (2/3) en mélange avec la safranine (1/3) donne d'excellents résultats, ... mais pas dans tous les cas !

Après quelques essais, nous avons le sentiment, avec Michel BLAISE (Société Mycologique de Strasbourg), que la nigrosine pourrait servir efficacement pour la mise en évidence des granulations sidérophiles chez les *Lyophyllum* et affines, en remplacement du mélange (carmin acétique bouillant + chlorure de Fe III).

Cela s'avère également très intéressant pour mettre en évidence par contraste des éléments hyalins qu'on souhaite ne pas colorer (basides, cystides).

	
<p><i>Calocybe constricta</i> (basidioles et cystides)</p>	<p>Boucles à la base des basides et basidioles chez <i>Calocybe constricta</i></p>
<p>Photos Michel BLAISE, 2007</p>	

4. DANGERS :

La nigrosine est peu toxique, mais ne doit être en aucun cas utilisée comme colorant alimentaire ou per os. Elle tache facilement la peau et les vêtements.

5. CONSERVATION :

Elle se conserve quasi indéfiniment en flacon bien fermé, si on a pris la précaution d'ajouter 2 gouttes de formol pour 10 cc.