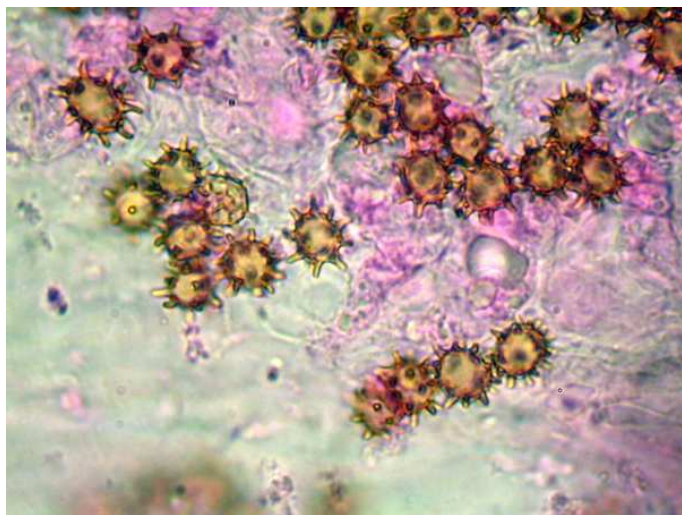


## Violet de Gentiane

### 1. NATURE DU RÉACTIF :

**Le Violet de Gentiane** (ou méthylrosaniline), **fait partie des Violet de méthyle**, qui constituent un groupe de colorants basiques. C'est un mélange de chlorhydrates de violets pentaméthylés (violet de méthyle et violet de Paris - pentaméthylpararosaniline) et hexaméthylé (violet cristal ou Cristal violet).



Spores d' *Inocybe calospora* (photo Marcel Lecomte)

Nous sommes ici dans le groupe des Rosanilines, qui font partie des Triphénylméthanés. Il est soluble dans l'eau, et dans l'alcool. On l'utilise le plus souvent en solution hydro-alcoolique.

L'expérience a montré qu'il est avantageux d'ajouter de l'aniline ou du phénol à la solution réalisée ; ces deux produits vont jouer un rôle d'accentuateur de coloration et permettre une conservation de très longue durée.

Dans le même groupe, on trouve le VIOLET CRISTAL, le VIOLET dahlia et le VIOLET HOFFMANN.

Certains auteurs préconisent de n'utiliser que le cristal violet qui est plus pur et donne des colorations plus précises ... à vérifier !

### 2. PRÉPARATION :

#### 1. Violet aniliné de Sterling :

Violet de Gentiane :	5 g
Ethanol à 95° :	10 cc
Aniline :	2 cc
eau bidistillée :	88 cc

Verser les ingrédients dans l'ordre indiqué !

Utiliser l'agitateur magnétique et filtrer !

#### 2. Violet phéniqué :

Violet de Gentiane :	1 g
Ethanol à 95° :	10 cc
Phénol cristallisé :	2 g

Pour obtenir un bon colorant, qui va se conserver très longtemps :

- il faut le triturer au mortier en dissolvant d'abord le colorant dans l'alcool
- ajouter au fur et à mesure le phénol, jusqu'à obtention d'un mélange homogène

- Utiliser ensuite 100 cc d'eau bidistillée pour rincer petit à petit le mortier, et verser la solution de rinçage dans un vase Erlenmeyer
- passer une ½ heure à l'agitateur magnétique
- laisser reposer 24 heures
- filtrer

Pour LANGERON, il n'existe qu'une seule manière de préparer tous les colorants phéniqués : c'est la trituration au mortier, telle qu'elle est décrite ci-dessus !

### 3. UTILISATION :

Les solutions anilénées ou phéniquées sont très utilisées en bactériologie et en histologie. Nous pensons qu'elles peuvent réserver d'énormes surprises si on les applique à la mycologie. La coloration générée est très intense, du même ordre que celle provoquée par la Fuchsine de Ziehl. On peut pratiquer éventuellement la différenciation à l'aide d'éthanol absolu (ou à 95°...) additionné de 1 % d'acétone ou d'acide chlorhydrique.

Conidies d' *Helicosporium* sp. (photo Marcel Lecomte)

Le mordantage par le liquide de Lugol (solution iodo-iodurée de Nicolle) est utilisé en bactériologie et provoque une réaction particulière connue sous le nom de "Méthode de GRAM". Celle-ci repose sur le principe simple que tous les dérivés de la Pararosaniline forment avec l'iode une combinaison que l'alcool est incapable de dissocier.

Il faut aussi savoir que cette méthode ne s'applique qu'à des frottis desséchés. Selon le résultat, on parlera de GRAM + ou de GRAM -.



**Voici un dérivé personnel d'une technique** (méthode de Gram-Weigert) qui pourrait être appliquée à des coupes en mycologie. Une seule obligation : travailler sur des coupes collées !

- colorer légèrement les noyaux à l'hémalum durant 2 minutes
- laver à l'eau ordinaire afin de provoquer un virage vers le bleu violet
- différencier avec HCl à 5% pour ne conserver que la coloration nucléaire
- colorer dans l'éosine aqueuse à 2 % durant 2-3 minutes
- laver à l'eau ordinaire
- colorer au violet phéniqué durant 5-10 minutes
- laver rapidement à l'eau ordinaire
- mordancer au Lugol de Nicolle durant 5 minutes
- laver rapidement à l'eau ordinaire
- enlever l'excès d'eau avec un papier buvard ou cellulosique
- différencier éventuellement à l'acide chlorhydrique à 5 %
- bloquer la différenciation à l'eau

Créateur du projet : Didier BAAR ( \* )      Auteurs de la fiche technique : Marcel LECOMTE

Responsable : Marcel LECOMTE (Cercle Mycologique de Namur & Cercle des M.L.B.)

Cercle des Mycologues du Luxembourg belge asbl (M.L.B.), Président : Paul PIROT, rue des Peupliers, 10, B-6840 NEUFCHATEAU

Pour vos commandes : voir la feuille du Catalogue

- après un tel travail, on peut envisager de conserver les préparations de manière semi-définitive à définitive, en les montant à la glycérine gélatinée, au conservateur de Hoyer ou à l'alcool polyvinylique iodé (non phénolé). Utiliser pour cela des lames couvre-objet rondes, qui permettent une bien meilleure répartition du conservateur, en quantité beaucoup moindre, ce qui est toujours un avantage pour l'épaisseur de la préparation.

#### **4. DANGERS :**

Considérons ces colorants avec prudence ! L'ingestion sous forme pure est très toxique, et la préparation en solution aqueuse ou alcoolique est toxique per os, vu la présence d'aniline ou de phénol.

#### **5. CONSERVATION :**

Il convient de les conserver dans un flacon bien fermé. Ce sont des solutions très stables, à longue durée.