

Conservation des préparations microscopiques

Il nous paraît évident, lorsqu'on passe des heures à préparer et colorer des coupes microscopiques, de tenter de les conserver durant une période la plus longue possible, afin de pouvoir éventuellement les observer à nouveau par la suite.

Cela ne sera possible que si la coupe colorée est d'abord placée dans un milieu qui ne subira pas de dégradations avec le temps qui passe, et est ensuite rendue étanche aux influences extérieures et au dessèchement, par une technique qui s'appelle *le lutage*.

Les milieux de conservation et les types de lutage sont nombreux, +/- complexes, et diffèrent selon le type de préparation. Nous allons en envisager quelques-uns !

Préparations microscopiques définitives, en milieu aqueux

En mycologie, nous utiliserons quasi exclusivement ce type de milieu, à cause de la fragilité des structures étudiées, qui ne résistent pas (ou très peu) à la déshydratation générée par le xylol ou l'alcool absolu. Cette remarque ne s'applique cependant pas aux spores....

LE CONSERVATEUR DE HOYER

gomme arabique solide :	30 g
Eau bidistillée :	50 ml
chloral hydraté :	200 g
Glycérine : (20,6 g)	16 ml

Dissoudre d'abord la gomme arabique dans l'eau en remuant de temps en temps (cela peut prendre 2 à 3 jours). Ajouter la glycérine en dernier lieu. La conservation est illimitée.
Après quelques jours, luter (sceller) la préparation avec du vernis à ongles.

LE PVA LACTOPHÉNOLÉ

solution aqueuse de PVA à 15 % :	56 cc
Acide lactique : 26,5 g = 22 cc	22 cc
Phénol en solution aqueuse saturée (84 g/L, à 20°C) :	22 cc

Pour la préparation et les considérations techniques, voir la fiche technique, sur l'Alcool PolyVinyle (PVA)...

Un nouveau venu : L'AQUATEX

C'est un produit de montage pour la microscopie, qui est fourni « prêt à l'emploi ». Il s'agit d'une composition aqueuse de produits organiques qui polymérisent.

C'est un liquide jaunâtre, inodore, de pH neutre, soluble dans l'eau.

Il faut être très précautionneux lors du montage, et éviter les bulles d'air, car il ne supporte pas la chaleur (pas question de chauffer pour tenter d'éliminer les bulles).

En mycologie, nous avons obtenu des résultats remarquables avec ce produit.

Préparations microscopiques semi-définitives, en milieu aqueux

En mycologie, nous utilisons souvent ce type de milieu, à cause de la fragilité des structures étudiées, qui ne résistent pas (ou très peu) à la déshydratation générée par le xylol ou l'alcool absolu. Nous faisons de même pour le montage des grains de pollen. Cette remarque ne s'applique cependant pas aux spores....

LA GLYCÉRINE GÉLATINÉE (notre formule)

Gélatine :	15 g
Eau bidistillée :	50 cc
Glycérine :	50 g
Thymol :	2 g

Couper la feuille de gélatine en petits morceaux et laisser gonfler dans l'eau durant 2 heures
Placer sur l'agitateur magnétique et ajouter la glycérine, ainsi que le thymol
Chauffer durant 15 minutes, puis filtrer sur une compresse

LA GLYCÉRINE DE KAISER

Gélatine :	7 g
Eau bidistillée :	42 cc
Glycérine :	50 g
Phénol en cristaux :	0,5 g

Couper la feuille de gélatine en petits morceaux et laisser gonfler dans l'eau durant 2 heures
Placer sur l'agitateur magnétique et ajouter la glycérine, ainsi que le phénol
Chauffer durant 15 minutes, puis filtrer sur une compresse

Nous conseillons de colorer ces deux produits dans la masse, avec de la fuchsine acide, de la fuchsine basque, du vert de méthyle, de la safranine (ajouter quelques gouttes de la solution de colorant, avant la filtration). Ne pas oublier de dégraisser les éléments à l'alcool (ou encore mieux, à l'éther ou au chloroforme) avant de monter dans la glycérine ; nous pratiquons ce dégraissage directement sur la lame de montage.

Préparations microscopiques définitives, à solvant hydrocarbure

BAUME DU CANADA

Voir la fiche technique adéquate....

NEO-ENTELLAN – EUKITT - HISTOLAQUE

Produits de montage rapide pour la microscopie, commercialisés pour les laboratoires professionnels, contenant diverses résines d'acrylate et du xylène (solvant).

MERCKOGLASS

Ce produit est destiné au montage de frottis sans lame couvre-objet, avec utilisation préalable d'un fixateur approprié (Merckofix en spray).

Le lutage

Divers produits sont utilisés par les monteurs professionnels, dont notamment le bitume de Judée (c'est une résine fossile).

Sa composition est la suivante :

Bitume de Judée 100 g

Huile de lin recuite 10 g

Xylol en quantité suffisante pour obtenir la consistance d'une huile filante, épaisse. Si votre lut s'épaissit, ajouter un peu de xylol. Ce lut s'emploie au pinceau. Pour un lutage impeccable, se servir de la tournette.

Personnellement, nous lutons (sceller) nos préparations avec du vernis à ongles incolore : c'est très facile à mettre en œuvre, avec des résultats remarquables. Ne pas oublier de passer également du vernis sur les étiquettes.

En cas de lutage en série, nous conseillons de travailler sous hotte, à cause des vapeurs d'acétone.

4. DANGERS :

L'Aquatex est non combustible et n'est pas considéré comme dangereux (éviter cependant tout contact avec les yeux).

Le conservateur de HOYER ne présente pas de danger majeur, mais la présence d'hydrate de chloral implique des précautions.

Le PVA lactophénolé est nettement plus dangereux à cause du phénol entrant dans sa composition : donc, PRUDENCE ! Bien se laver les mains après utilisation et travailler dans un endroit bien ventilé ; ne pas fumer !

Le Néo-Entellan et le baume du Canada sont encore plus dangereux à cause du xylène entrant dans leur composition : donc, PRUDENCE ! Bien se laver les mains après utilisation et travailler dans un endroit bien ventilé ; ne pas fumer !



A l'arrière, un flacon spécial destiné à la conservation et l'utilisation du baume du Canada ; nous les utilisons pour tous nos milieux de montage définitif : le bouchon en verre rôdé est parfaitement hermétique, et la tige de verre sert à déposer la goutte de produit (photo Marcel Lecomte)

5. CONSERVATION :

Quasi illimitée en flacon bien fermé !