

Protocole n° 22

Coloration de Ziehl-Neelsen, modifiée pour micro-organismes semi-acido-résistants

Principe :

Cette modification de la coloration de Ziehl-Neelsen permet la détection des micro-organismes semi-acido-résistants. En effet, ils sont colorés en rose peu intense par la Fuchsine de Ziehl et retiennent ce colorant après décoloration par l'acide et l'alcool. Ainsi, le genre *Nocardia* (semi-acido-résistant) peut être rapidement distingué d'*Actinomyces*, d'*Actinomadura* et de *Streptomyces* (bactéries filamenteuses apparentées non semi-acido-résistantes). Les bactéries non acido-alcoolo-résistantes et les éléments cellulaires sont contre-colorés par le Bleu de Méthylène phéniqué.

Produits nécessaires à la coloration :

Fuchsine de Ziehl Réf. 320490-	0125, 0500, 1000 ou 2500 mL
Bleu de méthylène phéniqué Réf. 310100-	0125, 1000 ou 2500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Platine chauffante – Acide sulfurique – Alcool à 90°

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.

Mode opératoire :

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

- Fixer le frottis à la chaleur douce et le laisser refroidir.
- Placer le frottis fixé sur une platine chauffante et recouvrir le frottis avec la Fuchsine de Ziehl.
- Laisser en contact 5 minutes en chauffant doucement et en ajoutant de temps en temps de la Fuchsine de Ziehl pour éviter la dessiccation.
- Rejeter le colorant et Rincer à l'eau courante.
- Décolorer la lame par une solution aqueuse à 1% d'acide sulfurique jusqu'à la teinte rose pâle
- Rincer à l'eau courante.
- Recouvrir la lame d'alcool à 90° pendant 5 minutes.
- Rincer à l'eau courante.
- Recouvrir la lame avec la solution de Bleu de méthylène phéniqué pendant 10 à 30 secondes.
- Rincer à l'eau courante et laisser sécher le frottis.
- Lecture au microscope, objectif x100 à immersion.

Résultats :

Filaments de *Nocardia* : rose peu intense (semi-acido-résistantes).
Filaments d'*Actinomyces*, d'*Actinomadura* et de *Streptomyces* : non colorés (non semi-acido-résistantes)
Fond de la préparation : bleu.

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.
Température de stockage : 15 – 25 °C.
En fonction de l'épaisseur du frottis, il peut être nécessaire d'augmenter le temps de la Fuchsine de Ziehl.

Références Bibliographiques :

COLLINS C.H., LYNE P.M., GRANGE J.M., *Microbiological Methods*, Butterworths, 6^{ème} éd., 1989, p. 368-372.
PILET C., BOURDON J.L., TOMA B., MARCHAL N., BALBASTRE C., PERSON J.M., *Bactériologie médicale et vétérinaire*, Systématique bactérienne, éd. Doin, 1987, p. 260-266.