

## Protocole n° 84

### Coloration de Ziehl-Neelsen pour coupes histologiques

#### Principe :

La coloration de Ziehl-Neelsen permet une détection des mycobactéries ou Bacilles Acido-Alcool-Résistants (B.A.A.R.) dont la structure de la paroi rend difficile la pénétration d'agents décolorants. Cette propriété permet aux B.A.A.R. de conserver la coloration rose de la Fuchsine de Ziehl après décoloration par l'acide et l'alcool. Les bactéries non acido-alcool-résistantes et les éléments cellulaires sont contre-colorés par le Bleu de Méthylène ou le Vert Janus.

#### Produits nécessaires à la coloration :

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| Fuchsine de Ziehl<br>Réf. 320490-                    | 0125, 0500, 1000 ou 2500 mL |
| Bleu de méthylène pour bactériologie<br>Réf. 311010- | 0025 ou 0100 g              |
| Vert janus B<br>Réf. 315410-                         | 0025 g                      |
| HistoRAL, milieu de montage<br>Réf. 361210-          | 0500 mL                     |

#### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide acétique – Acide chlorhydrique 37 %

#### 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.

#### Préparation des solutions :

Solution de Bleu de méthylène : Préparer une solution aqueuse avec 1 g de Bleu de méthylène pour bactériologie dans une solution d'acide acétique à 0.5 %.

Solution de Vert janus B : Préparer une solution aqueuse avec 0.1 g de Vert janus B dans une solution d'acide acétique à 1%.

Solution d'alcool-acide : Diluer 1 mL d'acide chlorhydrique concentré dans 99 mL d'éthanol à 70°.

#### Mode opératoire :

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

- Déparaffiner et hydrater la coupe.
- Colorer dans la Fuchsine de Ziehl (filtrée immédiatement avant usage) pendant 10 minutes.
- Bien rincer à l'eau courante.
- Passer dans une solution d'alcool-acide jusqu'à ce que la coupe prenne une teinte rose-pâle.
- Rincer soigneusement à l'eau courante pendant 8 minutes.
- Colorer le fond, pendant 3 minutes, par une solution de Bleu de méthylène ou une solution de Vert janus B.
- Rincer à l'eau courante puis à l'eau distillée.
- Déshydrater successivement dans les alcools de degré croissant jusqu'à l'alcool absolu.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

#### Résultats :

B.A.A.R. : rose-rouge.

Fond de la préparation : bleu ou vert pâle

Noyaux : bleu foncé ou bleu-vert.

#### 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.

#### Références Bibliographiques :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1469-1470.

