

# Protocole n° 47

## Coloration de Feulgen

### Principe :

La réaction nucléale de Feulgen est destinée à mettre en évidence l'acide désoxyribonucléique (ADN). Elle comporte deux temps :

- une hydrolyse acide modérée par l'HCl qui sépare les deux bases, adénine et guanine, de façon spécifique.
- une coloration de l'acide apurinique restant par le Réactif de Schiff.

Pour pouvoir affirmer qu'une réaction est positive, il faut obtenir une coloration par le Réactif de Schiff après hydrolyse et ne pas en obtenir sur la même préparation non soumise à l'hydrolyse.

### Produits nécessaires à la coloration :

|   |                       |
|---|-----------------------|
| ClARAL<br>Réf. 320640-                      | 5000 mL               |
| Réactif de Schiff<br>Réf. 320680-           | 0250, 0500 ou 1000 mL |
| HistoRAL, milieu de montage<br>Réf. 361210- | 0500 mL               |

### Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide chlorhydrique – Métabisulfite de potassium

### 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 sulfureuse : Préparer extemporanément 5 mL d'HCl N + 5 mL de métabisulfite de potassium à 10% + 100 mL d'eau distillée.

### Mode opératoire :

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

Les pièces sont fixées de préférence dans le Zenker, le Helly, le Baker, le Carnoy, le formol sublimé ou l'alcool sublimé.

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Rincer à l'HCl N pendant 1 minute (facultatif).
- Hydrolyser par l'HCl N, à 60°C pendant 5 à 20 minutes suivant le fixateur utilisé (cf. tableau ci-dessous).
- Arrêter l'hydrolyse par rinçage brusque à l'eau distillée froide.
- Colorer dans le Réactif de Schiff pendant 90 minutes à 2 heures.
- Sécher. Passer dans trois bains successifs de solution sulfureuse fraîchement préparée pendant 5 minutes chacun.
- Rincer à l'eau distillée.
- Déshydrater successivement la coupe 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.

Tableau des temps d'hydrolyse par l'HCl N à 60°C :

| Fixateur               | Temps en min. | Fixateur | Temps en min. |
|------------------------|---------------|----------|---------------|
| Bouin-Allen            | 22            | Helly    | 8             |
| Bouin-Allen sublimé    | 14            | Stowell  | 20            |
| Carnoy                 | 8             | Flemming | 16            |
| Formol                 | 8             | Champy   | 25            |
| Formol sublimé         | 8             | Susa     | 18            |
| Alcool absolu          | 5             | Regaud   | 14            |
| Alcool formol acétique | 7             | Newcomer | 20            |
| Zenker                 | 5             |          |               |

### Résultats :

ADN : rose-rouge.

Contrôle de spécificité : Pratiquer la même réaction sur une autre coupe en supprimant l'hydrolyse (étapes 2 à 4) : l'ADN ne doit pas être coloré.



### 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.  
Stockage : 15 – 25 °C.

### Références Bibliographiques :

**GANTER P., JOLLES G.,** *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1526-1527.