

Protocole n° 14

Kit Fluo-Color

(Réf. : 361460-0000)

Coloration de Degommier pour la détection des mycobactéries

Principe :

Le kit Fluo-Color permet une détection rapide par fluorescence des mycobactéries ou Bacilles Acido-Alcool-Résistants (B.A.A.R.) dont la structure très particulière de la paroi rend difficile la pénétration d'agents décolorants. Cette propriété permet aux B.A.A.R. de conserver la coloration à l'auramine après décoloration par l'acide et l'alcool. Les bactéries non acido-alcool-résistantes et les éléments cellulaires sont contre-colorés par le rouge thiazine.

Description du kit :

Auramine phéniquée	1 x 250 mL
Décolorant de Degommier	1 x 250 mL
Rouge thiazine en solution concentrée	1 x 125 mL
Solution phéniquée	1 x 125 mL

Le coffret permet de réaliser entre 150 et 200 lames.
Temps de réalisation : 38 minutes.

Recharges disponibles :

Auramine phéniquée Réf. 361430-	0500 ou 1000 mL
Décolorant de Degommier Réf. 320800-	1000 mL
Rouge thiazine en solution concentrée Réf. 320780-	0500 mL
Solution phéniquée Réf. 320790-	0500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Microscope à fluorescence avec un jeu de filtre pour l'Auramine

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.

Il est nécessaire de réaliser une fixation préalable. Se reporter à la note 01 : Fixation des frottis bactériens pour la détection des mycobactéries.

Mode opératoire :

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

Préparer la solution de Rouge thiazine phéniqué comme suit :

Mélanger extemporanément en quantités égales et selon vos besoins* le Rouge thiazine en solution concentrée (flacon ③) et la Solution phéniquée (flacon ④).

- Fixer le frottis avec de l'alcool méthylique 10 minutes
- Rincer à l'eau distillée.
- Colorer avec l'Auramine phéniquée (flacon ①) : 20 minutes
- Rincer à l'eau distillée.
- Décolorer avec le Décolorant de Degommier (flacon ②). 3 minutes
- Rincer à l'eau distillée.
- Contre-colorer avec la solution de Rouge thiazine phéniqué. 5 minutes
- Rincer à l'eau distillée.
- Laisser sécher à l'abri de la lumière.

Résultats :

B.A.A.R. : jaune-vert fluorescent.
Fond de la préparation : rouge.

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 à l'abri de la lumière.

L'examen microscopique s'effectue avec des objectifs, généralement x20 et x40, sans huile à immersion et sans lamelle couvre-objet.

Chaque fois que des organismes fluorescents sont décelés, il est recommandé de confirmer la présence de Bacilles Acido-Alcool-Résistants par une coloration de Ziehl à chaud (RAL ZN Staining kit,) ou à froid (Kit Cold ZN).

* la solution de Rouge thiazine phéniqué se conserve 1 semaine après reconstitution, à 22 °C ± 5 °C et à l'abri de la lumière.

Références Bibliographiques :

GROSSET J., CATALAN F., LEVENTIS S., *Le problème actuel des mycobactéries,* Biologiste et Praticien, n° 39, 1979, p. 1-22.

PACAUD G., *Coloration en mycobactériologie,* Réactifs RAL, 1977, p. 7-10.

PACAUD G., *Les colorations dans la pratique quotidienne en mycobactériologie,* ATEB, Journée Technique Parisienne, mars 1977.