

## Fuchsine de ZIEHL

### 1. NATURE DU COLORANT :

Il existe dans le commerce, toute une série de colorants qu'on peut ranger sous le nom de fuchsine basique : rubine, fuchsine, magenta, solferino, fuchsine diamant...



Cystide métuloïde chez *Inocybe umbrina* observée dans la fuchsine basique à 0,5 % (photo Marcel Lecomte)

Les fuchsines basiques sont des mélanges de chlorhydrates et d'acétates de rosaniline ou de pararosaniline. Les sels de cette dernière sont intéressants à cause de leur plus grande solubilité.

La fuchsine de Ziehl est aussi connue sous les noms de fuchsine phéniquée de Ziehl, rouge de Ziehl, ou karbolfuchsin.

On trouve également nombre de recettes de préparation qui sont des solutions à 1 % voire 0,5 %, destinées à des colorations directes. Nous préférons personnellement utiliser une solution « mère » à 10 %, nécessaire pour les incrustations acido-résistantes, et puis diluer à volonté selon la destination.

Ce nom évoque aussi la couleur proche de celle des fleurs de fuchsia.

### 2. PREPARATION :

#### Préparation classique (solution mère) :

Fuchsine basique :	10 g
Alcool à 90° :	100 ml
eau bidistillée :	25 ml
acide phénique cristallisé :	50 g

Triturer dans un mortier

Mélanger longuement et filtrer.

Le matériel destiné à la préparation est difficile à nettoyer car ce colorant est très actif ; aussi, nous conseillons de le garder en réserve et ne le destiner qu'à cet usage !

Cette solution est très concentrée, et se conserve indéfiniment ; la coloration ne doit durer que 30 secondes à une minute ... nous conseillons de la diluer 1x1 (1 g. de FZ pour 1 g. d'eau) ou 1x2 (1 g. de FZ pour 2 g. d'eau) pour l'utilisation : cela permet d'allonger le temps de coloration à 1 ou 2 minutes.

#### Notre préparation, pour les incrustations A.R. (solution mère) :

Fuchsine basique :	10 g
Alcool à 90° :	100 ml
eau bidistillée :	25 ml
acide phénique cristallisé :	5 g

La quantité de phénol (très toxique) est beaucoup moindre, ce qui réduit le durée de vie du produit à quelques années (entre 5 et 10).

**Notre préparation pour la coloration directe :**

Fuchsine basique :	1 g
Alcool à 90° :	10 ml
eau bidistillée :	100 cc
acide phénique cristallisé :	5 g
C'est la même recette que pour la solution mère, mais avec une concentration 10x moindre, ce qui va imposer de laisser colorer plus longtemps (4 à 5 minutes)	

**Préparation selon la firme JEULIN :**

Fuchsine basique :	10 g
Alcool à 90° :	10 ml
eau bidistillée :	90 ml
acide phénique cristallisé :	5 g

**Préparation de la fuchsine de Kinyoum :**

Fuchsine basique :	4 g
Alcool à 90° :	17ml
eau bidistillée :	100 cc
acide phénique cristallisé :	6,5 g

**Préparation selon H. Cléménçon (il l'appelle carbol fuchsin) :**

**Etape 1 : (A)**

eau bidistillée :	90 ml
acide phénique cristallisé :	5 g

**Etape 2 : (B)**

Fuchsine basique :	5 g
Alcool à 96° :	100 ml

**Etape 3 :**

Prendre toute la solution A	90 cc
Prendre 10 cc de la solution B	10 cc
Bien mélanger le tout (cette solution va former un précipité au fil du temps et se dégrader petit à petit, mais elle peut être utilisée durant 2 à 3 ans)	

Jerry Thorn, un ami russulologue, a eu l'occasion d'utiliser la méthode de Cléménçon, lors d'une réunion en Allemagne, et annonce de très bons résultats ; nous allons la tester prochainement.

**3. UTILISATION :**

La fuchsine phéniquée de Ziehl est utilisée en histologie pour des colorations combinées avec le vert lumière et le micro-indigo carmin.

Elle s'utilise dans le cadre d'une technique opératoire appelée **coloration régressive** et nécessite des coupes très minces et bien uniformes. En pratique, on surcolore l'objet à examiner et on le décolore ensuite petit à petit par un décolorant approprié, appelé différenciateur. Le but final à atteindre est d'obtenir une préparation où les parties que l'on désire mettre en évidence s'affichent nettement colorées sur un fond uniformément décoloré. La différenciation s'effectue généralement avec de l'alcool absolu ou de l'acide chlorhydrique ; la grosse difficulté de cette régression réside dans le dosage de la décoloration qui, si elle n'est pas arrêtée à temps, se termine par une décoloration totale. Si on souhaite obtenir une coloration nette et automatique des noyaux, sans causer de surcoloration (et ne nécessitant donc pas l'application d'une régression), on peut utiliser avec un succès certain la liqueur ou mélange de Giemsa.

**Dermatocystides chez *Russula luteotacta* observées dans la fuchsine de Ziehl** (photo Marcel Lecomte)

Chez nombre d'espèces de russules, certaines hyphes de la cuticule (dites hyphes primordiales) présentent des incrustations dites acidorésistantes. Cette acidorésistance peut être mise en évidence selon le modus operandi suivant :

- effectuer une coupe ou un scalp mince et uniforme (très important) et placer dans la fuchsine de Ziehl durant 10 à 15 minutes (voir la fiche technique qui explique dans le détail cette pratique)
- laver ensuite la préparation à l'eau distillée ou ordinaire (à défaut de la première)
- plonger ensuite la coupe durant une minute dans une solution diluée à 5 ou 10 % d'acide chlorhydrique afin d'effectuer une régression de coloration
- laver à nouveau à l'eau et observer dans l'eau



**Hyphes primordiales avec incrustations acidorésistantes chez *Russula pseudointegraa* observées dans la fuchsine de Ziehl, après régression à l'acide chlorhydrique** (photo Marcel Lecomte)

Le résultat est le suivant :

la coupe qui avait été uniformément colorée par la fuchsine de Ziehl a subi une décoloration plus ou moins forte évidente sous le microscope, et seules les incrustations acidorésistantes restent colorées en rouge pourpre foncé, nuancé de mauve.

Cette technique demande un peu d'habileté mais est facilement maîtrisée après quelques essais ; la grosse difficulté réside à mes yeux, dans la préparation de la coupe.

- H. Cléménçon propose de régresser avec du lactoglycérol ; le matériel frais peut être directement « squashé » dans le lactoglycérol, qui peut servir de milieu de montage.

Eau bidistillée	70 cc
Acide lactique concentré	8 cc (= 10 g)
Glycérol concentré	16 cc (= 20 g)

Personnellement, nous n'avons pas encore expérimenté cette dernière technique, mais il nous semble curieux de ne pas bloquer la régression par l'acide lactique, qui devrait, après un certain temps, décolorer tous les éléments.

#### **MODUS OPERANDI complet de Cléménçon :**

- **Placer la cuticule fraîche dans une grosse goutte de carbol fuchsin (verre de montre) durant 4 à 5 minutes**
- **Rincer 2 fois à l'eau**
- **Transférer dans une goutte de lactoglycérol**
- **Changer le lactoglycérol jusqu'au moment où il n'y a plus de régression (cela demande en général 3 gouttes successives)**
- **Ecraser le fragment dans la dernière goutte**

#### **4. DANGERS :**

Elle est toxique per os (par ingestion) et par contact avec la peau. Elle provoque des brûlures. Conserver à l'écart de toute source d'ignition. Ne pas fumer en l'utilisant. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement et abondamment à l'eau.

#### **5. CONSERVATION :**

Elle se conserve plusieurs années en flacon bien fermé, et quasi sans limite de temps en solution à 10 %.