

Protocole n°99

Coloration de Harris-Shorr simplifiée pour spermocytogramme

Principe :

Cette coloration associe un colorant nucléaire, l'Hématoxyline de Harris, et un colorant cytoplasmique formé d'un mélange de produits, le Colorant de Shorr. Cette technique de réaliser l'étude morphologique des spermatozoïdes (spermocytogramme).

Produits nécessaires à la coloration :

Hématoxyline de Harris Réf. 361070-	0500, 1000 ou 2500 mL
Colorant de Shorr Réf. 361100-	0500, 1000 ou 2500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Ammoniaque à 25%

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 :

Alcool ammoniacal : Mélanger 5 mL d'ammoniaque à 25% avec 95 mL d'éthanol à 75°.

Mode opératoire :

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

- Effectuer un frottis et le laisser sécher à l'air.
- Fixer le frottis dans un bain d'alcool à 70° au minimum 5 minutes.
- Plonger la lame 12 à 15 fois 1 seconde dans l'eau courante.

- Colorer le frottis dans un bain d'Hématoxyline de Harris pendant 3 minutes.
- Plonger la lame 12 à 15 fois 1 seconde dans l'eau courante.
- Différencier l'Hématoxyline de Harris fixée sur le frottis, en plongeant la lame 1 minute dans un Bain d'alcool ammoniacal
- Plonger la lame 12 à 15 fois 1 seconde dans l'eau courante.
- Bain d'alcool à 70° pendant 1 minute.
- Bain d'alcool à 95° pendant 1 minute.
- Colorer le frottis dans un bain de Colorant de Shorr pendant 5 minutes.
- Bain d'alcool à 95° pendant 1 minute.
- Bain d'alcool absolu pendant 1 minute.
- Enlever l'excédent de colorant en essuyant délicatement la lame avec une compresse, laisser sécher à l'air.
- Examiner à l'objectif x100 à immersion

Résultats :

Tête

noyaux : violet foncé

région post acrosomale /acrosome : violet clair

Flagelle : bleu gris

Pièce intermédiaire : violet

Reste cytoplasmique : rouge

Noter en pourcentage :

- les anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire et du flagelle.
- les agglutinats.
- les leucocytes, les hématies, les cellules.

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.

Pour éviter le décollement de certains frottis :

- Réaliser un étalement de façon à ce qu'il soit ni trop épais ni trop fin.
- Bien sécher le frottis : pendant plusieurs heures à l'air ou sur une platine chauffante.

En fonction de l'épaisseur du frottis, il peut être nécessaire d'augmenter le temps de fixation dans le bain d'alcool à 70° jusqu'à 1 heure.

Références Bibliographiques :

WHO Laboratory Manual, For the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 4^{ème} éd., World Health Organization, 1999, p. 75.
Protocole modifié par le Service de Biologie de la Reproduction à l'hôpital Pellegrin (Bordeaux).