

Protocole n°97

Coloration rapide pour la mise en évidence de *Helicobacter pylori* sur coupe histologique par le kit RAL 555 (Réf. : 361660-0000)

Principe :

L'infestation gastrique par *Helicobacter pylori* est très fréquente et son rôle a été démontré dans l'apparition de gastrites chroniques, d'ulcères duodénaux, de carcinomes ou de lymphomes gastriques. Son accessibilité à un traitement éradicateur par antibiotiques fait que sa détection sur coupes histologiques est devenue indispensable dans l'analyse des biopsies gastriques. Cet agent pathogène peut être mis en évidence par une coloration usuelle (HES) mais les colorations spéciales (Giemsa, Warthin-Starry, Violet de crésyle,...) permettent une meilleure détection en particulier dans les cas où les germes sont rares. Afin d'obtenir une coloration satisfaisante dans les plus brefs délais, il est conseillé d'utiliser le kit RAL 555, initialement mis au point pour le diagnostic cytologique rapide sur coupes de tissus fixés et inclus dans la paraffine. Le kit RAL 555 permet une coloration empirique d'*Helicobacter pylori* par le BLEU-RAL 555, associée à une coloration de fond par l'EOSINE-RAL 555.

Description du kit :

FIX-RAL 555	1 x 100 mL
EOSINE-RAL 555	1 x 100 mL
BLEU-RAL 555	1 x 100 mL

Recharges disponibles :

FIX-RAL 555 Réf. 362870-	0100, 1000 ou 2500 mL
EOSINE-RAL 555 Réf. 361640-	0100, 1000 ou 2500 mL
BLEU-RAL 555 Réf. 361650-	0100, 1000 ou 2500 mL

Produits nécessaires à la coloration :

ClaRAL Réf. 320640-	5000 mL
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

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.

Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe
- Plonger la lame et agiter pendant 7 secondes dans la solution ②
- Plonger la lame et agiter pendant 5 secondes dans la solution ③
- Rincer à l'eau courante et sécher sur du papier Joseph
- Agiter la lame pendant 10 secondes dans l'alcool à 90°
- Arrêter la différenciation par immersion de la lame dans l'alcool absolu
- Plonger les lames dans deux bains de xylène ou de toluène
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

Autres applications

- Protocole n°02 : Coloration rapide en hématologie. Cytologie des frottis sanguins et médullaires.
- Protocole n°26 : Coloration rapide en parasitologie et mycologie. Coloration des : protozoaires tissulaires (*Leishmania*, *Toxoplasma*, *Microsporidies*), *Cryptosporidium*, *Pneumocystis carinii*, champignons responsables de mycoses profondes, parasitologie vétérinaire (Piroplasmes, *M. pachydermatis*), *Plasmodium*, *Trichomonas*, Microfilaires.
- Protocole n°42bis : Coloration rapide en histo-cytologie. Cytologie des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine.
- Protocole n°75 : Coloration rapide en cyto-bactériologie. Cytologie des urines, des liquides, du LCR.

Résultats :

Helicobacter pylori : bleu foncé.

Noyaux : bleu.

Cytoplastes : rose à rouge.

Collagène : rose très pâle.

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.

Cette coloration permet d'une part de visualiser *Helicobacter pylori* (bacilles incurvés et allongés) au pôle apical des cellules muco-sécrétantes infundibulaires ou dans le mucus et d'autre part d'analyser les divers éléments infiltrant la lamina propria.

Les temps de coloration peuvent varier en fonction de l'épaisseur du tissu.

L'emploi de flacons à large ouverture permet l'introduction directe des lames. Cela réduit les risques d'évaporation et d'oxydation à l'air car il n'y a pas de transvasement de solutions à effectuer.

Le degré d'oxydation du BLEU-RAL 555 est normalisé lors de sa fabrication. Celui-ci évolue au cours du temps et lors du transfert de petites quantités d'éosine. Il est donc très important d'égoutter l'excédent de solution ② avant de plonger la lame dans la solution ③. La solution ② peut présenter une couleur plus ou moins sombre, mais cela n'entraîne aucune modification dans le résultat de la coloration. La solution ③ a une stabilité de 2 mois après ouverture du flacon.

Références Bibliographiques :

BROULAND J. P., PRAT J. J., CASTAGNET P., *Méthode rapide de coloration pour la mise en évidence de Helicobacter pylori* (Service Anatomie et Cytologie Pathologiques – Hôpital Lariboisière), Assises d'Anatomie Pathologique, 23-24 mars 1995, p. 211.

