

Protocole n° 93

Kit HistoPerls

(Réf. : 361850-0000)

Kit pour la coloration de Perls en Histologie et Hématologie Technique par recouvrement

Principe :

En milieu acide, les ions ferriques réagissent avec le ferrocyanure de potassium en donnant un précipité de ferrocyanure ferrique (bleu de Prusse) qui met en évidence un pigment pathologique, l'hémossidérine.

Ce pigment est retrouvé au niveau du foie et de la moelle osseuse dans des pathologies telles que la cirrhose, l'hémochromatose et certaines anémies.

Description du kit :

Tampon acide de différenciation + Comprimé de ferrocyanure de potassium	10 x 5 mL
Rouge nucléaire en solution	1 x 100 mL

Le coffret permet de réaliser 50 lames.

Temps de réalisation : 40 minutes (Histologie)
43 minutes (Hématologie)

Produits nécessaires à la coloration :

HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	500 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.

Pour utilisation en Histologie :

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Appuyer sur le bouchon pour libérer le Comprimé de ferrocyanure de potassium dans le Tampon acide de différenciation (flacon ❶).
- Mélanger vigoureusement jusqu'à la dissolution complète du Comprimé de ferrocyanure de potassium dans le Tampon acide de différenciation. Le mélange a un aspect normalement trouble. Réaliser ce mélange extemporanément.
- Recouvrir la lame avec ce mélange durant 30 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Recouvrir la lame avec la solution de Rouge nucléaire (flacon ❷) pendant 10 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Déshydrater successivement 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.

Pour utilisation en Hématologie :

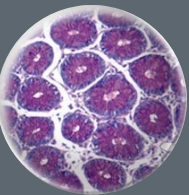
- Recouvrir le frottis de méthanol pendant 3 minutes.
- Sécher à l'air.
- Appuyer sur le bouchon pour libérer le Comprimé de ferrocyanure de potassium dans le Tampon acide de différenciation (flacon ❶).
- Mélanger vigoureusement jusqu'à la dissolution complète du Comprimé de ferrocyanure de potassium dans le Tampon acide de différenciation. Le mélange a un aspect normalement trouble. Réaliser ce mélange extemporanément.
- Recouvrir la lame avec ce mélange durant 30 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Recouvrir la lame avec la solution de Rouge nucléaire (flacon ❷) pendant 10 minutes.
- Rincer à l'eau distillée et Laisser sécher à l'air.

Résultats :

Noyaux : rouge
Sels ferriques : bleu vif

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.



Les temps de coloration peuvent varier en fonction de la nature du tissu.
Le mélange extemporané Tampon acide de différenciation et Comprimé de ferrocyanure de potassium doit être utilisé dans les 30 minutes suivant sa reconstitution. Passé ce délai, la solution vire au bleu clair, puis au bleu-vert et ne doit plus être utilisée.

La solution de Rouge nucléaire doit être conservée à l'abri de la lumière après chaque usage.

Eviter l'emploi d'instruments métalliques lors de la manipulation.

Utiliser de la verrerie soigneusement rincée pour éviter les risques d'artéfacts liés au fer exogène.

Références Bibliographiques :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1672-1673.

LORD-DUBE H., L'ITALIEN R., *Hématologie*, éd. Décarie, 1983, p. 194-196.

Le protocole de coloration pour l'utilisation du kit en Hématologie a été optimisé par RAL DIAGNOSTICS sous la direction des **Drs. S. DULUCQ**, et **V. FLUSTER**, Hôpital Pellegrin, C.H.U. Bordeaux, en 09/2016.