

Protocole n°79

Coloration de Papanicolaou, pour spermocytogramme

Principe :

La coloration de Papanicolaou associe un colorant nucléaire, l'Hématoxyline de Harris à deux colorants cytoplasmiques, les Colorants de Papanicolaou OG6 et EA50. Elle permet 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 Papanicolaou OG6 Réf. 361630-	0500, 1000 ou 2500 mL
Colorant de Papanicolaou EA50 Réf. 367600-	0500, 1000 ou 2500 mL
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide chlorhydrique 37% - Bicarbonate de sodium (NaHCO_3) - Sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$)

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 :

Solution acide-alcool : Mélanger 300 mL d'alcool absolu avec 2 mL d'acide chlorhydrique concentré et 100 mL d'eau distillée.

Solution de Scott : Dissoudre 3,5 g de bicarbonate de sodium et 20 g de sulfate de magnésium dans 1 L d'eau distillée.

Mode opératoire :

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

- Fixer à l'alcool-éther pendant 5 à 15 minutes.
- Sécher le frottis à l'air.
- Bain d'alcool à 80°, 10 fois 1 seconde
- Bain d'alcool à 70°, 10 fois 1 seconde
- Bain d'alcool à 50°, 10 fois 1 seconde
- Bain d'eau distillée, 10 fois 1 seconde
- Bain d'Hématoxyline de Harris pendant 3 minutes
- Bain d'eau courante pendant 3 à 5 minutes
- Immerger dans la Solution acide-alcool en plongeant 3 fois 1 seconde
- Bain d'eau courante pendant 3 à 5 minutes
- Immerger dans la Solution de Scott pendant 4 minutes
- Bain d'eau distillée, 1 seconde
- Bain d'alcool à 50°, 10 fois 1 seconde
- Bain d'alcool à 70°, 10 fois 1 seconde
- Bain d'alcool à 80°, 10 fois 1 seconde
- Bain d'alcool à 95°, 10 fois 1 seconde
- Bain de Colorant de Papanicolaou OG6 pendant 2 minutes
- Passage dans 2 Bains d'alcool à 95°, 10 fois 1 seconde dans chaque bain
- Bain de Colorant de Papanicolaou EA50 pendant 5 minutes
- Passage dans 2 Bains d'alcool à 95°, 5 fois 1 seconde dans chaque bain
- Bain d'alcool absolu pendant 2 minutes
- Bain d'alcool absolu/toluène (1 part/1part) pendant 1 minute
- Passer dans le toluène ou xylène pendant 5 minutes
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène

Résultats :

Tête
noyau : violet.
acrosome : bleu-vert.

Flagelle
pièce principale : vert.
pièce terminale : vert.

Pièce intermédiaire : vert pâle.

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.

Il faut changer la Solution de Scott lorsqu'elle devient laiteuse.

La coloration de Papanicolaou convient bien à l'examen de la chromatine du noyau et peut être utilisée en particulier pour différencier les cellules immatures de la spermatogenèse.

Références Bibliographiques :

DUBOST R., *Technique du spermocytogramme*, Pharm. Biol., vol. 13, 1979, p. 133-134.

LIENARD G., *Techniques d'investigation du sperme, spermogramme et spermocytogramme* (service du Professeur Salesse, Hôpital Cochin), UNATEB, « Thème et Débat » du 11 mars 1980.