

Protocole n°31

Coloration Hémalun-Shorr pour spermocytogramme

Principe :

Cette coloration associe un colorant nucléaire, l'Hémalun de Mayer à un colorant cytoplasmique, le Colorant de Shorr. Elle permet de réaliser l'étude morphologique des spermatozoïdes (spermocytogramme).

Produits nécessaires à la coloration :

Hémalun de Mayer Réf. 320550-	1000 ou 2500 mL
Colorant de Shorr Réf. 361100-	0500, 1000 ou 2500 mL
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide acétique – Ethanol – Carbonate de lithium

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 :

Fixateur de Clarke : 75 mL d'éthanol à 95° + 25 mL d'acide acétique glacial.

Eau alcaline : solution très faible de carbonate de lithium

Mode opératoire :

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

- Réaliser un frottis
- Fixer le frottis avec le Fixateur de Clarke pendant 15 secondes
- Bain d'Hémalun de Mayer pendant 8 minutes
- Rincer la lame dans un bain d'eau alcaline ou d'eau courante et laisser en contact pendant 5 minutes (indispensable pour différencier l'Hémalun de Mayer).
- Egoutter la lame sur papier filtre.
- Passage dans un Bain d'alcool à 70°
- Bain de Colorant de Shorr pendant 10 minutes
- Passage dans un Bain d'alcool à 95°
- Passage dans 2 Bains d'alcool absolu
- Passer dans le toluène ou xylène
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène

Résultats :

Tête
noyaux : violet
acrosome : bleu-vert
Flagelle
pièce principale : vert
pièce terminale : vert
Pièce intermédiaire : vert pâle

Lors de la lecture, 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.

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.