

Protocole n° 28

Coloration de Papanicolaou, variante progressive

Principe :

Cette coloration de routine associe un colorant nucléaire, l'Hématoxyline stabilisée, et deux colorants cytoplasmiques, les colorants de Papanicolaou OG6 et EA50. Dans la méthode progressive (par opposition à la méthode régressive), l'Hématoxyline stabilisée est déposée en quantité suffisante pendant un temps assez court (1 minute et 30 secondes) La coloration de Papanicolaou, assez longue, est la technique la plus utilisée pour le diagnostic des cellules cancéreuses.

Produits nécessaires à la coloration :

CytoRAL aérosol Réf. 361400-	0075 ou 0150 mL
CytoRAL vaporisateur Réf. 361415-	0100 mL
Hématoxyline stabilisée selon Gill II Réf. 362850-	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 :

Ammoniaque à 20%

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 : Prélever 3 mL d'Ammoniaque à 20% qsp 100 mL d'alcool à 70°.

Mode opératoire :

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

Si le frottis a été fixé par un cytofixateur, éliminer préalablement le cytofixateur en immergeant la lame dans l'alcool à 50° pendant 20 à 30 minutes.

- Bain d'alcool à 80° pendant 30 secondes à 1 minute
- Bain d'alcool à 70° pendant 30 secondes à 1 minute
- Bain d'alcool à 50° pendant 30 secondes à 1 minute
- Bain d'eau distillée pendant 30 secondes à 1 minute
- Bain d'Hématoxyline stabilisée pendant 1 minute et 30 secondes
- Bain d'eau distillée pendant 1 minute
- Bain d'eau courante pendant 2 minutes et 30 secondes
- Bain d'eau distillée pendant 1 minute
- Bain d'alcool à 70° pendant 30 secondes
- Différencier l'Hématoxyline stabilisée fixée sur le frottis dans un Bain d'alcool ammoniacal pendant 1 minute
- Passage dans 2 Bains d'alcool à 70°, 30 secondes dans chaque bain
- Bain d'alcool à 95° pendant 30 secondes à 1 minute
- Bain de Colorant de Papanicolaou OG6 pendant 1 minute et 30 secondes
- Passage dans 2 Bains d'alcool à 95°, 1 minute dans chaque bain
- Bain de Colorant de Papanicolaou EA50 pendant 1 minute
- Passage dans 3 Bains d'alcool à 95°, 1 minute dans chaque bain
- Bain d'alcool absolu pendant 1 minute
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

Résultats :

Noyaux : bleu-violet plus ou moins foncé

Cytoplasmes

cellules éosinophiles : rose, parfois rose-rouge ou orange

cellules cyanophiles : bleu, parfois verdâtre

cellules orangéophiles : orangé brillant

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.

Les temps de coloration peuvent varier en fonction de la nature du frottis. Selon la fréquence d'utilisation des bains, l'intensité de coloration désirée et le matériel de coloration employé, les temps peuvent être également modifiés.

Références Bibliographiques :

BOON M.E., DRIJVER J.S., *Routine Cytological Staining Techniques*, éd. MACMILLAN EDUCATION LTD, 1986, p. 47-48, p. 61-63 et p. 71-79.

HOULD R., *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*, éd. Maloine - Décarie, 1984, p. 312-313.