65065-85
65066-85
65067-75
65067-85
65068-85
65069-85
7052X-75
7052X-85
7052X-86
7054X-85
7054X-86
7058X-75
7058X-85
7062X-75
7062X-85

Procédure de coloration de Papanicolaou

Microscopie

Hématoxyline de Gill I Harleco®
Hématoxyline de Gill II Harleco®
Hématoxyline de Gill III Harleco®
Solution EA de Gill Harleco® (avec éosine et vert n° 2)
Solution d'orange G de Gill Harleco®
OG-6 de Papanicolaou Harleco®
EA-65 de Papanicolaou Harleco®
EA-36 de Papanicolaou Harleco®
EA-50 Papanicolaou Harleco®

IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro

Utilisation prévue

Les réactifs de coloration de Papanicolaou Harleco® sont utilisés en combinaison pour les études cytologiques d'échantillons d'origine humaine.

Principe

La procédure de coloration la plus couramment utilisée pour les échantillons cytologiques est la technique de Papanicolaou[1]. Lors de la première étape de cette procédure, les noyaux cellulaires sont marqués par une solution d'hématoxyline. Ensuite, une étape de bleuissement est réalisée pour rendre la couleur permanente. La 2e étape de la procédure est la coloration du cytoplasme par une solution de coloration orange, qui est utilisée pour mettre en évidence les cellules matures et kératinisées. Les structures cibles sont colorées en orange selon différentes intensités. La 3e étape de coloration fait appel à la solution polychrome, un mélange d'éosine, de vert n° 2 et de brun de Bismarck, pour marquer les cellules épithéliales pavimenteuses différenciées.

Échantillons

Les frottis cytologiques doivent être fixés immédiatement dans l'alcool éthylique à 95 % pendant au moins 15 minutes ou fixés immédiatement avec des fixateurs vendus en bombes aérosol. Ces fixateurs contiennent généralement de l'alcool ou de l'éther alcool et une faible proportion de polyéthylène ou de propylène glycol comme agent de revêtement.

Réactifs

Réf. 65065 — 4 l
Hématoxyline de Gill I Harleco®

Réf. 65066 — 4 l
Hématoxyline de Gill II Harleco®

Réf. 65067 — 1 l, 4 l
Hématoxyline de Gill III Harleco®

Réf. 65068 4 l
Solution EA de Gill Harleco® (avec éosine et vert n° 2)

Réf. 65069 4 l
Solution Orange G de Gill Harleco®

Réf. 7052X 1 l l, 4, 10 l
OG-6 de Papanicolaou Harleco®

Réf. 7054X 4 l, 10 l
EA-65 de Papanicolaou Harleco®

Réf. 7058X 1 l, 4 l
EA-36 de Papanicolaou Harleco®

Réf. 7062X 1 l, 4 l
EA-50 de Papanicolaou Harleco®

Autre matériel requis :

Réf. 65348	Alcool Harleco®, 95 %	4 l
Réf. 65354	Réactif de bleuissement	4 l
Réf. 64969	Milieu de montage Krystalon™ Harleco®	0,05 l, 0,5 l

Préparation des échantillons

Les échantillons doivent être prélevés par un personnel qualifié. Tous les échantillons doivent être clairement marqués. Des instruments adaptés doivent être utilisés pour le prélèvement et la préparation des échantillons. Suivre le mode d'emploi / les instructions d'application du fabricant.

Méthode de coloration de Papanicolaou modifiée

1. Fixation : alcool éthylique à 95 % (Voir Échantillons)
   - **a.** 15 minutes (minimum)
2. Hydratation : Eau du robinet x 2
   - **a.** Tremper 10 fois chacune
3. Marquage de la chromatine : Hématoxyline de Gill I (65065) ou Hématoxyline de Gill II (65066) ou Hématoxyline de Gill III (65067)
   - **a.** 2 minutes
4. Rinçage : Eau du robinet x 2
   - **a.** Tremper 10 fois chacune
5. Bleuissement : substitut d'eau du robinet de Scott ou réactif de bleuissement (65354).
   - **a.** Préparation du substitut d'eau du robinet de Scott : ajouter environ 100 ml d'eau du robinet à une fiole jaugée de 200 ml. Ajouter 0,4 g de bicarbonate de sodium et 2,0 g de sulfate de magnésium anhydre à la fiole. Agiter pour dissoudre et bien mélanger.
   - **b.** 1 minute
6. Rinçage : Eau du robinet x 2
   - **a.** Tremper 10 fois chacune
7. Déshydratation : alcool éthylique à 95 % x 2
   - **a.** Tremper 10 fois chacune
8. Contre-coloration du cytoplasme : OG-6 modifié de Gill (65069) ou OG-6 de Papanicolaou (7052X)
   - **a.** 1 minute
9. Rinçage : alcool éthylique à 95 % x 3
   - **a.** Tremper 10 fois chacune
10. Contre-coloration du cytoplasme : EA modifié de Gill (65068) ou Colorant EA-65 de Papanicolaou (7054X) ou Colorant EA-36 de Papanicolaou (7058X) ou Colorant EA-50 de Papanicolaou (7062X)
    - **a.** 4 à 10 minutes
11. Déshydratation complète : Alcool SDA-3A x 3
    - **a.** Tremper 10 fois chacune
12. Transparisation : Xylène x 3
    - **a.** Tremper 10 fois chacune
13. Monter avec du milieu Krystalon™ (64969) tant que les lames sont encore humides
14. Examiner les lames au microscope.

Résultats

Cellules épithéliales

- Les noyaux doivent être marqués en bleu et les détails doivent être clairs et nets.
- Le cytoplasme doit être marqué en diverses teintes de rose, bleu, jaune, vert et gris.

Notes techniques pour les procédures de marquage manuelles

1. Il peut être nécessaire d'expérimenter et d'ajuster les durées d'incubation pour obtenir des résultats optimaux et une nette différenciation entre les cellules.
2. Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque :
   a. Les lames sont propres, sans corps gras ni débris.
   b. Les frottis cytologiques sont fixés encore humides immédiatement après le prélèvement.
   c. Pour une coloration et une visualisation optimale, un frottis mince à une seule couche cellulaire est préférable.
   d. Les frottis plus épais peuvent fixer plus de colorant et être difficiles à examiner au microscope.

Diagnostic

Le diagnostic doit être effectué exclusivement par un personnel formé et agréé. Une nomenclature valide doit être utilisée. Des tests complémentaires doivent être sélectionnés et réalisés selon des méthodes reconnues.

Des témoins adéquats doivent être effectués pour chaque application.

Stockage

15-30 °C

La durée de conservation

Les réactifs de coloration de Papanicolaou pour la microscopie peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.

À partir du moment où le flacon est ouvert pour la première fois, son contenu peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée, s'il est conservé entre 15 et 30 °C.

Les flacons doivent toujours être fermés hermétiquement.

Instructions supplémentaires

À usage professionnel uniquement.

La procédure doit être réalisée par un personnel qualifié uniquement.

Les directives nationales de sécurité sur le lieu de travail et d'assurance qualité doivent être suivies.

Des microscopes équipés selon les normes en vigueur doivent être utilisés.

Protection contre les infections

Des mesures efficaces doivent être prises pour éviter les infections dans le cadre des directives de laboratoire.

Instructions d'élimination

L'emballage doit être éliminé selon les directives en vigueur. Les solutions usagées et celles qui ont dépassé la durée de conservation doivent être éliminées en tant que déchets spéciaux conformément aux directives locales.

Réactifs auxiliaires

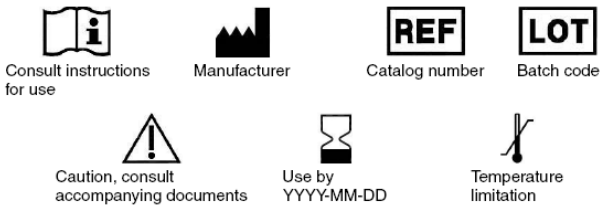
Réf. 65348	Alcool Harleco®, 95 %	4 l
Réf. 65354	Réactif de bleuissement	4 l
Réf. 64969	Milieu de montage Harleco® Krystalon™	50 ml, 500 ml
Réf. 104699	Huile à immersion pour la microscopie	100 ml, 500 ml

Classification des risques

Veuillez respecter la classification des risques imprimée sur l'étiquette et les informations contenues dans la fiche de données de sécurité. La fiche de données de sécurité est disponible sur notre site Internet et sur demande.

Documentation

1. The Pap Smear, 1st Edition, Boon M.E., and Suurmeijer A.J.H. Coulomb Press Leyden 1991
2. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W., and Kiernan, J.A.) Bios, 2002



Harleco® est une marque déposée de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

Krystalon™ est une marque de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

Statut : 2019-10-18 20486218

EMD Millipore Corporation
400 Summit Drive
Burlington, MA 01821, USA
Tel. +1-978-715-4321

MilliporeSigma et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne, ou d'une société affiliée.
Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.
© 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés.