

1.02414.0001

## Microscopie

# Kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié

pour la mise en évidence d'*Helicobacter pylori* et Spirochètes sur coupes en paraffine

Réservé à une utilisation professionnelle

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro



### Objectif prévu

Ce « Kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié - pour la mise en évidence d'*Helicobacter pylori* et Spirochètes sur coupes en paraffine » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen histologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics in vitro de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves histologiques humaines, telles que les coupes histologiques d'estomac, p. ex.

Le kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié est destiné à la détection de l'*Helicobacter pylori* et Spirochètes dans des prélèvements de tissu à effectuer en cuves de coloration de Hellendahl de 60 ml.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il peut être nécessaire d'exécuter des examens supplémentaires.

### Principe

Dans le cas de l'argentage selon Warthin-Starry, le nitrate d'argent est réduit à l'aide de l'hydroquinone en argent métallique, dans quel cas l'hydroquinone est oxydée en quinone, le développement de l'argent étant arrêté par un rinçage à l'eau.

Il est également possible de fixer et de stabiliser l'argent qui se forme par une opération supplémentaire à la solution au thiosulfate de sodium.

Dans le cas de l'utilisation au thiosulfate de sodium, la préparation peut être recouverte ensuite de n'importe quel agent de montage au xylène. Si l'on renonce à ce bain colorant supplémentaire, les préparations doivent être montées avec du DPX néo ou du Neo-Mount® pour éviter la décoloration et garantir la stabilité de couleur.

La solution réactive est modifiée de façon à ce que l'argent métallique soit fixé sur les structures cibles en une réaction spécifique, dans le kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié à la surface des bactéries de type *Helicobacter* et de famille de Spirochètes. Au microscope, les bactéries apparaissent alors en brun foncé à noir.

Les bactéries sont trouvées, par exemple, dans les muqueuses de l'épithélium superficiel, dans les glandes gastriques apicales et dans les fovéoles des muqueuses gastriques.

### Matériel des échantillons

Le matériel de base utilisé se compose de coupes de tissu fixé à la formaline et inclus en paraffine (couche de paraffine de 3 - 5 µm d'épaisseur).

### Réactifs

Art. 1.02414.0001

Kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié pour la mise en évidence d'*Helicobacter pylori* et Spirochètes sur coupes en paraffine

### Composition d'emballage :

Le kit de coloration contient

Réactif 1 :	Solution de nitrate d'argent à 6 %	500 ml
Réactif 2 :	Hydroquinone en mélange	2x 14 g
Réactif 3 :	Gélatine en poudre	130 g
Réactif 4 :	Solution d'acide acétique à 1,2%	60 ml
	1 cuiller rouge	
	1 microcuillère orangée (dans le bouchon du flacon de réactif 2)	
	1 pipette	

**Remarque :** Les réactifs 2 et 4 sont fournis en quantité suffisante pour plusieurs manipulations. Conserver le surplus dans le flacon.

### Nécessaire en plus :

Art. 100579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie (pour l'utilisation sans solution au thiosulfate de sodium)	500 ml
-------------	--	--------

ou en alternative

Art. 109147	Sodium thiosulfate en solution c(Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 5 H <sub>2</sub> O) = 0.1 mol/l (0.1 N) Titripur® Reag. Ph Eur, Reag. USP (pour le montage avec d'autres agents de montage contenant du xylène)	1 l, 4 l Titripac®, 10 l Titripac®
-------------	--	------------------------------------

Bain-marie

Spatule en plastique

### Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié.

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés.

Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Déparaffiner et réhydrater les coupes en paraffine de la manière habituelle.

### Préparation du réactif

**Important :** Les récipients en verre ou en plastique utilisés pour la préparation des solutions doivent impérativement être propres.

Aucun objet métallique (par ex. pince porte-lames ou pincette) ne doit entrer en contact avec les solutions.

La réaction d'argentage étant sensible aux températures, un bain-marie est préchauffé à 60 °C.

Pour éviter l'éclatement des cuves de coloration de Hellendahl de 60 ml, celles-ci sont à préchauffer également au bain-marie.

La température des réactifs au bain-marie est vérifiée avec un thermomètre dans une cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml remplie d'eau distillée.

### Eau distillée

Préchauffer deux cuves de coloration de Hellendahl de 60 ml remplies d'eau distillée au bain-marie à 60 °C.

Celles-ci servent aux opérations de rinçage et peuvent également être utilisées pour vérifier la température.

### Eau de vinaigre (réactif 4a)

Mélanger 10 ml d'acide acétique à 1,2 % (réactif 4) avec 1 l d'eau distillée.

La solution préparée en réserve est utilisable durant 3 semaines au maximum.

### Solution d'imprégnation (réactif 1a)

Pour préparer une solution d'environ 60 ml dans une cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml préchauffée, bien mélanger en remuant à l'aide d'une spatule en plastique :

Réactif 4a (eau de vinaigre)	50 ml
Réactif 1 (solution de nitrate d'argent à 6 %)	10 ml

Placer cette solution, après l'avoir recouverte, au bain-marie de 60 °C en même temps que la solution de gélatine préparée (réactif 3a) et réchauffer. Vérifier la température (consigne : 60 °C).

### Solution de gélatine (réactif 3a)

Pour préparer une solution d'environ 60 ml dans une cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml préchauffée, bien mélanger en remuant à l'aide d'une spatule en plastique :

Réactif 4a (eau de vinaigre)	60 ml
Réactif 3 (gélatine en poudre)	2 cuillers rouges

Placer cette solution, après l'avoir recouverte, au bain-marie de 60 °C en même temps que la solution d'imprégnation préparée (réactif 1a) et réchauffer.

Vérifier la température (consigne : 60 °C).

### Solution révélatrice (réactif 2a)

Du fait que la réaction du révélateur démarre immédiatement, la solution ne doit être préparée que **juste** avant l'incubation des lames porte-objet dans cette solution.

Durant l'étape de rinçage (cf. « Mode opératoire », étape 3) bien mélanger dans une cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml en remuant à l'aide d'une spatule :

Réactif 3a (solution de gélatine)	quantité totale dans la cuve de Hellendahl de 60 ml
Réactif 2 (hydroquinone en mélange)	2 microcuillers orangées (dans le bouchon du flacon de réactif)

Juste avant l'immersion des lames porte-objet (cf. « Mode opératoire », étapes 3 et 4), ajouter à cette préparation :

Réactif 1a (solution d'imprégnation)	3 ml (avec pipette ci-joint)
--------------------------------------	------------------------------

et bien mélanger dans une cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml en remuant à l'aide d'une spatule en plastique.

La solution révélatrice d'encre 60 °C est ainsi **immédiatement prête à l'emploi**. Les lames porte-objet doivent **immédiatement** être immergés dans cette solution (cf. « Mode opératoire », étape 4), alors que l'incubation peut avoir lieu hors du bain-marie de 60 °C.

**Remarque :** Les solutions de travail (solution d'imprégnation, solution de gélatine et solution révélatrice) ne sont utilisées que pour une utilisation et sont à éliminer correctement après usage.

### Mode opératoire

Utiliser la cuve de Hellendahl de coloration de 60 ml.

Déparaffiner les préparations histologiques de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante.

Ne pas utiliser de pincettes en métal ni mettre d'autres objets métalliques en contact avec les lames.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

### sans solution au thiosulfate de sodium

Porte-objet avec coupe en parafine		
1	Eau distillée	10 secondes
2	Réactif 1a (solution d'imprégnation)	à 60 °C 30 minutes
3	Eau de robinet courante abondamment	bien rincer durant 5 minutes
4	Réactif 2a (solution révélatrice)	à 60 °C 30 - 120 secondes (au juger)
5	Eau distillée (préchauffée)	à 60 °C 10 secondes
6	Eau distillée (préchauffée)	à 60 °C 2 minutes
	Ethanol 70 %	30 secondes
	Ethanol 70 %	30 secondes
	Ethanol 96 %	30 secondes
	Ethanol 96 %	30 secondes
	Ethanol 100 %	30 secondes
	Ethanol 100 %	2 minutes
	Xylène ou Neo-Clear®	5 minutes
	Xylène ou Neo-Clear®	5 minutes

Monter les préparations humides de Neo-Clear® avec le Neo-Mount® ou les préparations humides de xylène avec le DPX néo et couvre-objet.

### avec solution au thiosulfate de sodium

Porte-objet avec coupe en parafine		
1	Eau distillée	10 secondes
2	Réactif 1a (solution d'imprégnation)	à 60 °C 30 minutes
3	Eau de robinet courante abondamment	bien rincer durant 5 minutes
4	Réactif 2a (solution révélatrice)	à 60 °C 30 - 120 secondes (au juger)
5	Eau distillée (préchauffée)	à 60 °C 10 secondes
6	Eau distillée (préchauffée)	à 60 °C 2 minutes
7	Solution au thiosulfate de sodium	3 minutes
8	Eau distillée	10 secondes
	Ethanol 70 %	30 secondes
	Ethanol 70 %	30 secondes
	Ethanol 96 %	30 secondes
	Ethanol 96 %	30 secondes
	Ethanol 100 %	30 secondes
	Ethanol 100 %	2 minutes
	Xylène ou Neo-Clear®	5 minutes
	Xylène ou Neo-Clear®	5 minutes

Monter les préparations humides de Neo-Clear® avec le Neo-Mount® ou les préparations humides de xylène avec p.ex. l'Entellan® néo, DPX néo et couvre-objet.

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear®, les préparations histologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p.ex. Entellan® néo, Neo-Mount®) et une lamelle couvre-objets

et être conservée, si l'argent qui s'est formé a été fixé et stabilisé dans une étape d'incubation supplémentaire à la solution au thiosulfate de sodium.

En alternative, les préparations peuvent être montées seulement au DPX néo ou au Neo-Mount® sans être fixées au thiosulfate de sodium.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

### Résultat

#### sans solution au thiosulfate de sodium:

Helicobacter pylori	brun foncé à noir
Spirochètes	brun foncé à noir
Fond	jaune à jaune doré

#### avec solution au thiosulfate de sodium:

Helicobacter pylori	brun foncé à noir
Spirochètes	brun foncé à noir
Fond	brunâtre

### Diagnostic d'erreurs

Les techniques argentiques peuvent s'avérer difficiles et nécessitent d'être réalisées avec le plus grand soin.

#### Coloration de fond malpropre du porte-objet

Si le verre du porte-objet paraît pollué, l'argent est précipité sur la surface du verre et n'a pas été éliminé totalement durant l'étape de rinçage (cf. « Mode opératoire », étape 3). C'est pourquoi il faut veiller à ce que le rinçage à l'eau de robinet soit effectué d'une manière intensive pour 5 minutes.

#### Décoloration des préparations

Il peut se produire une décoloration lente des structures argentées si la préparation a été recouverte d'un agent de montage incorrect. C'est pourquoi il convient de respecter les instructions décrites dans le protocole concernant la compatibilité de l'agent de montage au xylène avec ou sans fixation au thiosulfate de sodium.

#### Coloration trop intense des préparations

Si les structures argentées apparaissent trop noires et trop colorées au microscope, le temps d'incubation au réactif 2a (solution révélatrice) devrait être raccourci. La durée indiquée (30 à 120 sec, cf. « Mode opératoire », étape 4) est à considérer au juger et peut être influencée, p.ex., par l'épaisseur de coupe de la préparation.

#### Coloration trop faible

- La réaction d'argentage est sensible aux températures et devrait donc être effectuée à 60 °C au bain-marie. Si la température des réactifs est trop faible, les résultats peuvent être mauvais. N'oubliez pas que l'affichage de température du bain-marie n'est souvent pas suffisante. C'est pourquoi la température des réactifs au bain-marie devrait être vérifiée, comme indiqué, avec un thermomètre dans une cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml remplie d'eau distillée. (**Ne pas mesurer directement dans les solutions d'imprégnation / de gélatine / révélatrice !**)
- Les opérations de rinçage à l'eau distillée (cf. « Mode opératoire », étapes 5 et 6) devraient être effectuées avec de l'eau distillée de 60 °C, sinon la gélatine contenue dans le réactif 2a (solution révélatrice) durcit sur la préparation et peut nuire ainsi à la déshydratation consécutive.

### Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux. En cas d'utilisation d'un processeur d'histologie et d'un automate de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel. Éliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

### Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées. Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées. Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire. Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

Chaque étape doit être effectuée sous contrôle (p.ex. ISOSLIDE® Warthin-Starry, art. 1.02472.0001), afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.

### Stockage

Stocker le Kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié - pour la mise en évidence d'Helicobacter pylori et Spirochètes sur coupes en parafine entre +15 °C et +25 °C.

### Stabilité

Le Kit de coloration argentique de Warthin-Starry modifié - pour la mise en évidence d'Helicobacter pylori et Spirochètes sur coupes en parafine peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Les solutions de travail (solution d'imprégnation, solution de gélatine et solution révélatrice) ne sont utilisées que pour une utilisation et sont à éliminer correctement après usage.

Réactif 4a (eau de vinaigre) est utilisable durant 3 semaines au maximum.

## Capacité

L'emballage suffit jusqu'à 500 applications.

## Remarques sur l'utilisation

### Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié. Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

## Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

## Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur. Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur [www.microscopy-products.com](http://www.microscopy-products.com). Au sein de l'UE s'applique le règlement CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

## Réactifs auxiliaires

Art. 100496	Formaldéhyde en solution à 4%, tamponnée, pH 6,9 (formaline en solution à env. 10%), pour l'histologie	350 ml et 700 ml (en flacon à col large), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art. 100579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 102472	ISOSLIDE® Warthin-Starry Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de Helicobacter pylori et Spirochètes dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 103699	Huile pour immersion Type N selon ISO 8036 pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml
Art. 103999	Formaldéhyde en solution au moins 37% non acide calcium stabilisé avec env. 10% de méthanol et carbonate pour l'histologie	1 l, 2,5 l, 25 l
Art. 100974	Ethanol dénaturé avec env. 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 104699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 107164	Paraffine en pastilles P.S. 56-58°C coulante pour l'histologie	10 kg (4x 2,5 kg)
Art. 107961	Entellan® néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 108298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art. 109016	Neo-Mount® agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 109147	Sodium thiosulfate en solution c(Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 5 H <sub>2</sub> O) = 0.1 mol/l (0.1 N) Titripur® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 4 l Titripac®, 10 l Titripac®
Art. 109843	Neo-Clear® (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 111609	Histosec® en pastilles P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art. 115161	Histosec® en pastilles (sans DMSO) P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

## Classification des matières dangereuses

Art. 1.02414.0001

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

## Composants principaux des produits

Art. 1.02414.0001

Réactif 1	
AgNO <sub>3</sub>	60 g/l
1 l = 1,05 kg	
Réactif 2	
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	42,7 % en poids

Réactif 3  
Gélatine 100,0 % en poids

Réactif 4  
C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> ~12,6 g/l  
1 l = 1,0 kg

## Autres produits d'IVD

Art. 100361	ISOSLIDE® Réticuline Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de fibres réticulaires en histologie	25 tests
Art. 100380	ISOSLIDE® Fer Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection du fer libre dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 100408	ISOSLIDE® PAS Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de polysaccharides dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 100425	ISOSLIDE® Alcian bleu, pH 2,5 Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de mucosubstances acides dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 102439	Eosine J - Solution à 0,5%, d'alcool pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art. 102473	ISOSLIDE® Méthénamine Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection des structures argentaffines dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 102560	ISOSLIDE® AFB Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de bactéries acido-résistantes dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 102561	ISOSLIDE® Rouge Congo Lames de contrôle avec tissu de référence pour la détection de structures de l'amyloïdes dans les tissus histologiques	25 tests
Art. 105174	Hématoxyline en solution modifiée selon Gill III pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109149	Hémalun en solution selon Mayer pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109204	Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109844	Eosine J-solution aqueuse à 0,5% pour la microscopie	1 l, 2,5 l

## Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

## Littérature

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



Respectez les consignes d'utilisation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la documentation complémentaire



Utilisable jusqu'au AAAA-MM-JJ



Limitation de température

Status: 2021-Jan-18

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,  
Tel. +49(0)6151 72-2440  
[www.microscopy-products.com](http://www.microscopy-products.com)

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive  
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321  
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.  
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8  
Phone: +1 800-565-1400

