

Protocole n° 82

Coloration de May-Grünwald Giemsa pour coupes histologiques

Principe :

La coloration selon Pappenheim fait agir successivement deux colorants neutres : le May-Grünwald et le Giemsa. Sur des préparations bien fixées et fines, la coloration associée colore les cellules de façon très nuancée, mettant particulièrement bien en évidence le caractère basique ou acide des cytoplasmes et les granulations des leucocytes.

Produits nécessaires à la coloration :

Liquide de lugol Réf. 367300-	0240, 1000 ou 2500 mL
Liquide de lugol stabilisé PVP Réf. 367400-	0240, 1000 ou 2500 mL
May-Grünwald en solution Réf. 320070-	0125, 0500, 1000 ou 2500 mL
Colorant de Giemsa L en solution Réf. 320300-	0125 ou 1000 mL
HistoRAL, milieu de montage Réf. 361210-	0500 mL

Matériel spécifique nécessaire non fourni :

Acide acétique – Hyposulfite de sodium – Etuve

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 :

Eau acétique : Diluer 5 gouttes d'acide acétique dans 100 mL d'eau distillée.

Solution d'hyposulfite de sodium : Mélanger 5g d'hyposulfite de sodium dans 100 mL d'eau distillée.

Mode opératoire :

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

- Déparaffiner puis hydrater la coupe.
- Passer dans un bain de Liquide de lugol pendant 5 minutes.
- Puis passer dans la solution d'hyposulfite de sodium pendant 5 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Placer dans le May-Grünwald dilué extemporanément (1 mL pour 4 mL d'eau distillée) pendant 15 minutes à l'étuve à 37 °C.
- Sans rincer, placer dans le Colorant de Giemsa L dilué extemporanément (3 gouttes pour 2 mL d'eau distillée) pendant 40 minutes à l'étuve à 37 °C.
- Rincer à l'eau distillée.
- Différencier dans l'eau acétique.
- Rincer de nouveau à l'eau distillée. Essorer sur papier filtre.
- Déshydrater dans un mélange à parties égales éthanol absolu / acétone.
- Passer dans le toluène ou xylène.
- Monter avec un milieu de montage adapté à base de toluène/xylène.

Résultats :

Noyaux : rouge-violet et rose si la coloration est parfaitement réussie (en fait ils sont souvent violet tirant sur le bleu).

Cytoplasmes

basophiles : bleu ciel à bleu foncé.

acidophiles : rouge clair à rosé.

polychromatophiles : grisâtre ou violacé.

Granulations des leucocytes

acidophiles : orangé.

neutrophiles : marron-rose sale.

basophiles : violet foncé.

azurophiles : pourpre ou violet-pourpre.

Granulations basophiles des érythrocytes : bleu cobalt.

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 :

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER-VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1435-1436.