

PROTOCOLE DE COLORATION

Protocole n°78

Coloration de May–Grünwald Giemsa en Hématologie

Principe :

La coloration selon Pappenheim permet de réaliser la formule sanguine et médullaire. Elle associe deux colorants : le May-Grünwald et le Giemsa.
Ce sont des mélanges neutres aux propriétés bien distinctes. Ils ne sont pas actifs en milieu alcoolique et n'agissent de façon sélective qu'au moment de leur libération en solution aqueuse tamponnée. Cette libération provoque la précipitation des colorants neutres sur les structures cellulaires.
Le May-Grünwald colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles des leucocytes.
Le Giemsa colore le cytoplasme des monocytes, des lymphocytes et la chromatine des noyaux.

Produits nécessaires à la coloration :

May-Grünwald en solution
Réf. 320070- 0125, 0500, 1000 ou 2500 mL

Colorant de Giemsa R en solution
Réf. 320310- 0125, 0500, 1000 ou 2500 mL

Colorant de Giemsa L en solution
Réf. 320300- 0125 ou 1000 mL

Produits spécifiques à l'Hématologie, solutions prêtes à l'emploi

Tampon pH = 6.8 en solution pour Hématologie
Réf. 330368- 1000 ou 5000 mL

Tampon pH = 7.0 en solution pour Hématologie
Réf. 330370- 1000 ou 5000 mL

Tampon pH = 7.2 en solution pour Hématologie
Réf. 330372- 1000 ou 5000 mL

Produits non spécifiques à l'Hématologie, disponibles aux mêmes valeurs de pH, poudres à dissoudre

Tampon pH = 6.8 (6 doses)
Réf. 363568- 6 doses pour 6 x 1L

Tampon pH = 7.0 (6 doses)
Réf. 361600- 6 doses pour 6 x 1L

Tampon pH = 7.2 (6 doses)
Réf. 363572- 6 doses pour 6 x 1L

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.

Mode opératoire :

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

Technique de Coloration par recouvrement
Temps de réalisation : 14 minutes

- Couvrir le frottis avec 1 mL de May-Grünwald en solution pendant 3 minutes.
- Ajouter avec précautions 1 mL de Tampon en solution pour Hématologie et réaliser le mélange sans débordement. Laisser le mélange en contact 1 minute.
- Rejeter l'excès de colorant par égouttage ou rinçage rapide.
- Couvrir le frottis avec le Colorant de Giemsa R diluée au 1/30 dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10 secondes.

Technique de Coloration par bain
Temps de réalisation : 14 minutes

- Bain de May-Grünwald en solution pendant 3 minutes.
- Bain de Tampon en solution pour Hématologie pendant 1 minute.
- Bain de Colorant de Giemsa R dilué au 1/20 dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 10 secondes.

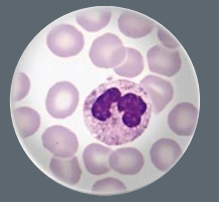
Résultats :

Noyaux / chromatine : pourpre +/- dense

Granulocytes
cytoplasme sans ARN : rose violacé léger
granulations éosinophiles : rose orangé
granulations basophiles : bleu foncé
granulations neutrophiles : rose violet +/- intense

Lymphocytes
cytoplasme avec ARN : bleu franc
cytoplasme sans ARN : bleu clair
granulations azurophiles : rouge

Révision du
25/05/16



PROTOCOLE DE COLORATION

Monocytes
cytoplasme : bleu violacé

Hématies : beige-rosé à gris-beige (selon le choix du tampon)

Plaquettes
granulomère : rouge violacé
hyalomère : bleuté

Parasites sanguins (paludisme)
noyau : rouge
cytoplasme : bleu

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Produits destinés 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 agrée.
Température de stockage : 15 – 25 °C.
Il existe deux colorants de Giemsa : le Giemsa rapide (Colorant de Giemsa R) et le Giemsa lent (Colorant de Giemsa L). Le Colorant de Giemsa R est préparé de façon à permettre une action colorante en 10 minutes. Il est utilisé pour les frottis secs et les gouttes épaisses. Le Colorant de Giemsa L est préparé de façon à permettre une action colorante en 20 minutes. Il est utilisé pour les frottis humides et les coupes.
En raison de la complexité du mode d'action des colorants, il est nécessaire d'établir des conditions standards de coloration pour assurer une bonne qualité de coloration et une bonne reproductibilité. En effet, l'emploi de l'eau de ville ou de mélanges d'eaux crée des variations imprévisibles et incontrôlables qui compromettent le résultat de la coloration. La qualité et la reproductibilité sont obtenues en utilisant des solutions Tampon spécifiquement formulées pour l'Hématologie. Le choix du pH varie en fonction des habitudes des laboratoires. Trois valeurs de pH sont disponibles (6.8, 7.0 et 7.2), en solution prête à l'emploi de 1 et 5 litres. Sans danger pour l'utilisateur, les Tampons en solution pour Hématologie sont formulés à base de phosphates, sont spécifiquement développés pour l'Hématologie, et permettent de garantir une meilleur stabilité et rinçabilité des produits. Les mêmes valeurs de pH sont disponibles aussi en pack de 6 fois 1 dose de poudres, chacune permettant de reconstituer 1 litre de solution Tampon non spécifique à l'Hématologie.

Références Bibliographiques :

DUHAMEL G., DUHAMEL E., *Cytologie hématologique, Les cellules pathologiques I et II, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL*, Biologiste et Praticien et Réactifs RAL, 1984 et 1989.
Ecole Nationale de Chimie, *Coloration de Pappenheim, Présentation théorique des mécanismes cytochimiques des colorants neutres avec applications techniques détaillées*, Journée du technicien biologiste, mars 1980, p. 1-9.
GENTILHOMME O., TREILLE–RITOUET D., BRYON P-A., *Cytologie hématologique, Les cellules normales, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL*, Réactifs R.A.L, 1989.
LANGERON M., *Précis de microscopie*, Masson & Cie, 6ème éd., 1942, p. 566-585.
MATHIOT C., *Cytologie en hématologie, Quelques aspects de la pathologie*, Biologiste et Praticien et Réactifs R.A.L, 1979.

Humeau
Expert du laboratoire

Distribué par **Humeau**
Z.A. Hauts de Couëron - 11 rue des Imprimeurs
CS 24220 - 44220 Couëron - France
t. : +33 (0)2 40 93 53 53
info@humeau.com - www.humeau.com

VOIR LA GAMME
Découvrez **tous nos produits**