

620G-75**Microscopie****Solution de coloration de Giemsa, mélange azuré d'origine Harleco®**

Dispositif médical de diagnostic in vitro

Utilisation prévue

La solution de coloration de Giemsa, mélange azuré d'origine, est spécialement formulée pour être utilisée dans les procédures de coloration des chromosomes en bandes G. Elle peut également être utilisée avec la coloration de Wright pour marquer les cellules sanguines et la moelle osseuse.

Principe

Le colorant Giemsa est couramment employé en histologie en raison de sa polyvalence pour la coloration de tissus et de frottis cellulaires. La coloration en bandes Giemsa, souvent appelées bandes G, est une méthode qui permet de marquer les chromosomes en métaphase.

Les chromosomes en métaphase sont tout d'abord traités à la trypsine pour éliminer les protéines chromosomiques. Un rinçage double avec la Solution saline équilibrée de Hanks (HBSS) permet d'éviter la contamination de la solution de Giemsa et de rétablir les cellules à un pH équilibré. Les lames sont alors placées dans la solution de Giemsa pendant un temps suffisamment long pour que les régions riches en AT soient adéquatement marquées. Lorsque cette procédure est réalisée correctement, les régions riches en GC sont moins foncées, créant ainsi l'effet de marquage en bandes caractéristique de cette coloration.

Échantillons

Des frottis cellulaires sont utilisés comme matériel de départ.

Réactifs

Réf. 620G-75

1 l

Solution de coloration de Giemsa, mélange azuré d'origine Harleco®

Autre matériel requis :

Réf. H6648

100 ml, 500 ml, 1 l

Solution saline équilibrée de Hanks

Réf. S9763100 g, 500 g

 Na_2HPO_4

Réf. P0662

25 g, 5 g, 1 kg

 KH_2PO_4

Trypsine (2,5 %)

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.

Préparation des réactifs

La solution est prête à l'emploi.

Procédure de marquage²

1. Laisser maturer la lame séchée à l'air pendant 2 h à 85 °C.
2. Immerger la lame dans la solution saline équilibrée de Hanks (HBSS) pH 7,2 (sans Ca^{+2} ni Mg^{+2}) pendant une minute.
3. Retirer la lame du HBSS et l'immerger dans la solution de trypsine contenant 49,5 ml de HBSS et 2,5 ml de trypsine fraîchement préparée. Les échantillons de liquide amniotique et de sang doivent être incubés pendant environ 2 minutes.

4. Retirer rapidement la lame de la trypsine et la rincer dans du tampon phosphate à 0,005 M, pH 7,2 (0,417 g/ml de Na₂HPO₄, 0,278 g/l de KH₂PO₄).

5. Répéter l'étape 4 dans une seconde jarre de Coplin contenant du tampon phosphate.

6. Placer la lame dans la solution tamponnée de Giemsa pendant environ 3 minutes (la durée d'incubation peut varier). La solution tamponnée de Giemsa doit être préparée juste avant utilisation ; mélanger 2 ml de solution de coloration de Giemsa Harleco (620G-75) dans 48 ml de tampon phosphate à 0,005 M, pH 6,8 (0,355 g/l de Na₂HPO₄, 0,341 g/l de KH₂PO₄).

6. Rincer la lame à l'eau distillée. (Si la lame est laissée dans l'eau trop longtemps, la coloration se dissiperait).

7. Laisser sécher la lame à l'air. Pour examiner la lame avec un objectif sec, il n'est pas nécessaire de la monter ; pour l'examiner avec un objectif à immersion d'huile, utiliser du milieu Krystalon™ ou DPX et une lamelle.

Résultats

Les régions d'hétérochromatine/riches en AT des chromosomes en métaphase devraient être plus foncées avec le colorant de Giemsa, tandis que les régions d'euchromatine/riches en GC devraient être sensiblement plus claires, ce qui crée des bandes observables. Si les résultats observés sont différents de ceux attendus, veuillez contacter le service technique.

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

Durée de conservation

La solution de coloration de Giemsa, mélange azuré d'origine, peut être utilisée 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. 64969	Milieu de montage Krystalon™ Harleco®	50 ml, 500 ml
Réf. 06522	Milieu de montage DPX pour l'histologie	100 ml, 500 ml
Réf. 104699	Huile à immersion pour la microscopie	100 ml, 500 ml

Classification des risques

Réf. 620G-75

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 le site Internet et sur demande.

Bibliographie

1. Barcia JJ. The Giemsa stain: its history and applications. Int J Surg Pathol 2007;15(3):292-6.
2. Journal of Cytogenic Cell Genetics, Vol. 45, Pgs. 118-120, 1987 S.W. Cheung, et al.
3. Proc. Soc Exp Biol Med 1949; 71:196 Modification-National Institutes of Health.

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

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

Statut : 16-02-2021

20550271



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



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation