

660-75**660-85****Microscopie****Solution de May-Grünwald
Harleco®**

Coloration pour cellules sanguines donnant des résultats comparables à la coloration de Wright. Peut être utilisée en combinaison avec la coloration de Giemsa pour les préparations de moelle osseuse.

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro

Utilisation prévue

La solution de coloration de May-Grünwald Harleco® est utilisée pour le diagnostic cellulaire clinique et sert à l'examen des échantillons d'origine humaine.

Principe

La coloration de May-Grünwald utilise un colorant neutre de Romanowsky, formé de l'association de bleus de méthylène azurés comme composant basique et d'éosine comme composant acide. Romanowsky a modifié le colorant neutre mis au point auparavant par Ehrlich, qui permettait d'identifier les granules de leucocytes acidophiles, basophiles et neutrophiles.

Échantillons

Les frottis de sang périphérique doivent être préparés à partir d'un échantillon de sang fraîchement prélevé (tube à capuchon mauve avec EDTA). Laisser les frottis sécher à l'air complètement avant la coloration.

Réactifs

Réf. 660

Solution de coloration de May-Grünwald
Harleco®

1 l, 4 l

Autre matériel requis :

Réf. 1217	Tampon phosphate, pH 6,4	1 l, 4 l
ou		
Réf. 1218	Tampon phosphate, pH 6,8	1 l, 4 l
Réf. 6442	Eau désionisée/distillée, ASTM Type II	4 l, 20 l
Réf. 65044A	Solution de coloration HemaColor® (fixateur)	1 l, 4 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.

Procédure de marquage**Préparation des tampons de dilution**

- Placer 30 ml de tampon phosphate de pH 6,4 ou 6,8 dans un récipient
- Ajouter 100 ml d'eau désionisée/distillée, ASTM Type II

Procédure : méthode lame recouverte

1. Placer les lames sur un portoir de coloration et recouvrir de méthanol (1 à 2 ml) pendant 1 minute. Laisser égoutter l'excès de méthanol.
2. Recouvrir les lames de 20 gouttes de coloration de May-Grünwald et laisser incuber pendant 1 minute. Ne pas rincer.
3. Ajouter 30 gouttes de tampon de dilution (voir la section Préparation des tampons de dilution). Mélanger en faisant doucement basculer la lame. Laisser reposer pendant 3 minutes. Un reflet métallique verdâtre devrait apparaître à la surface du mélange.
4. Laisser égoutter le mélange colorant-tampon et rincer avec 5-10 ml d'eau

- désionisée. Laisser sécher à l'air avant d'examiner.
- Observer au microscope (voir la section Résultats).

Procédure : méthode lame immergée

Équipement requis : quatre jarres de Coplin, pinces

- Placer la lame dans du méthanol (fixateur) pendant 1 minute.
 - Placer la lame dans le colorant de May-Grünwald pendant 4 minutes.
 - Placer la lame dans le mélange colorant-tampon pendant 8 minutes.
- *Mélange colorant-tampon (stable pendant 2 heures)*
- | | |
|-------------------------------|-------|
| a. Coloration de May-Grünwald | 10 ml |
| b. Tampon de pH 6,4 ou 6,8 | 15 ml |
| c. Eau désionisée | 35 ml |

Laisser reposer 10 à 15 minutes avant utilisation

- Laisser égoutter le mélange colorant-tampon et rincer avec 10-15 ml d'eau désionisée.
- Laisser sécher la lame.
- Observer au microscope (voir la section Résultats).

Remarque : pour des résultats optimaux, les jarres de Coplin doivent être fermées quand elles ne sont pas utilisées.

Résultats

Types cellulaires	Noyaux	Granules	Cytoplasme
Érythrocytes		Rouge jaunâtre	Rouge jaunâtre
Leucocytes polynucléaires neutrophiles	Bleu foncé à mauve	Lilas rougeâtre	Rose pâle
Leucocytes basophiles	Mauve ou bleu foncé	Mauve foncé à noir	
Leucocytes éosinophiles	Bleu à mauve	Rouge à rouge orangé	Bleu
Lymphocytes	Mauve foncé		Bleu ciel
Plaquettes		Violet à mauve	

Notes d'application :

- 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.
- Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque :
 - Les lames sont propres, sans corps gras ni débris.
 - Le méthanol (fixateur) ne contient pas d'acétone.
 - Les frottis sanguins sont fraîchement préparés.
 - Les frottis sanguins forment une couche très mince sur la lame.
- L'intensité de la coloration peut être accrue en augmentant la durée des étapes 2 et 3. Cependant, cela n'aura qu'un effet modéré sur l'intensité.
- Un tampon de pH 6,4 produit des résultats acidophiles. Les globules rouges seront de couleur rose (étape 3)
- Un tampon de pH 6,8 produit des résultats neutrophiles. Les globules rouges seront de couleur rose jaunâtre à beige (étape 3)
- L'eau distillée produit des résultats basophiles. Les globules rouges seront de couleur grise à bleu gris (étape 3)
- Les meilleurs résultats pour la lecture des lames seront situés à l'extrême la plus mince du frottis.

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 en vue d'éviter de rendre des résultats incorrects.

Stockage

15-30 °C

