

Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa R information technique

Carte technique 09-230

Code produit 09-230

Emballage 500 – 1000 ml ou à la demande

La stabilité du produit correctement conservé à 15-20°C 24 mois

Producteur-fournisseur:

DDKItalia S.r.l

Via Marche 19 • 27029 Vigevano (Pv)

info@ddkitalia.com • www.ddkitalia.com

EU emergency number		112
---------------------	---	-----

**Principe**

La coloration de Giemsa est souvent utilisé pour le diagnostic en cas de questions hématologiques et histologiques. Lors de l'application hématologique la coloration de Giemsa est souvent utilisée en combinaison avec d'autres solutions de colorant, par ex. avec la solution de May-Grünwald comme coloration de synthèse de Pappenheim (MGG). En le faisant, les noyeux cellulaires se colorent essentiellement en rouge, phénomène dû à l'interaction moléculaire entre le colorant éosine J et un complexe ADN azur B. Les deux colorants forment un complexe éosine J - ADN azur B. L'intensité de la coloration qui en résulte dépend de la teneur en azur B et du rapport entre azur B et éosine J. En outre, la coloration qui en résulte peut être influencée par divers facteurs comme la fixation, le temps de coloration, le pH des solutions et les substances tampon. En histologie et en usage clinico-cytologique la coloration de Giemsa est utilisée comme coloration de synthèse élargie sans colorants supplémentaires. Dans ce cas, la coloration des différents composants cellulaires est influencée par le traitement préliminaire du matériel. Ici les noyeux cellulaires apparaissent en diverses nuances de bleu, tandis que les composants acidophiles sont représentés en diverses nuances de rouge.

**Matériel des échantillons**

Des coupes de tissus fixés à la formaline et inclus en paraffine (coupes en paraffine de 3 à 4 µm d'épaisseur) ou que des frottis de sang entier natif et de moelle osseuse préparés extemporanément ainsi que du matériel clinique de la cytologie comme sédiment urinaire, crachat, frottis de ponctions-biopsies à l'aiguille fine (BAAF), liquides de lavage, empreintes sont utilisés comme matériel de départ.

**Coloration de Giemsa.**

Mode opératoire. Frottis séchés à l'air. Coloration dans la cuve de coloration - sur le banc de coloration. Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions. Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec frottis séché à l'air	
Méthanol	3 minutes
Solution de coloration de Giemsa diluée pour la coloration manuelle	10-12 minutes
Solution tampon	1 minute
Solution tampon	1 minute
Sécher à l'air (p. ex. pendant toute une nuit, ou à 50°C dans l'armoire de séchage)	

Coloration dans le distributeur automatique de coloration. Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

	Durée	Stat	Dip
Porte-objet avec frottis séché à l'air			
Méthanol	3 minutes	2	on
Solution de Giemsa diluée pour la coloration dans le distributeur automatique	10-15 minutes	3	on
Solution tampon	1 minute	4	on
Eau du robinet courante	2 minutes	5	on
Sécher	3 minutes	6	-

## Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa R information technique

Carte technique 09-230

Code produit 09-230

Si l'on souhaite stocker des préparations de frottis pendant plusieurs mois, il est conseillé de les recouvrir d'un produit de montage anhydre (p. ex. DdMount) et d'une lamelle couvre-objet. Sans recouvrement, la coloration reste stable environ trois jours, et quelques heures seulement si elle est recouverte d'huile d'immersion.

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du DdMount, les préparations cytologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p. ex. DdMount), et une lamelle couvre-objets et être conservée.

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

## Résultat

	Solution tampon pH 6,4	Solution tampon pH 6,8	Solution tampon pH 7,2
Noyaux cellulaires	rouge à violet	rouge à violet	violet
Lymphocytes	plasma bleu	plasma bleu	plasma bleu
Monocytes	plasma bleu gris	plasma bleu gris	plasma bleu gris
Granulocytes neutrophiles	granule violet clair	granule violet clair	granule violet clair
Granulocytes éosinophiles	granule rougeâtre à rouge brun	granule rougeâtre à rouge brun	granule rougeâtre à rouge brun
Granulocytes basophiles	granule violet foncé	granule violet foncé	granule violet foncé
Thrombocytes violet	violet	violet	violet
Erythrocytes	rougeâtre	rougeâtre	rougeâtre brunâtre
Parasites du sang	noyaux cellulaires clair	noyaux cellulaires rouge clair	noyaux cellulaires rouge clair

## Coloration de Pappenheim avec solution de May-Grünwald et solution de Giemsa

Mode opératoire Frottis séchés à l'air Coloration dans la cuve de coloration Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants. Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions. Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec frottis séché à l'air	
May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène modifiée	3 minutes
Solution de Giemsa diluée pour la coloration manuelle	10-15 minutes
Solution tampon	1 minute
Solution tampon	1 minute
Sécher à l'air (p. ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)	

## Coloration sur le banc de coloration

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

Porte-objet avec frottis séché à l'air			
May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène modifiée		recouvrir complètement	3 minutes
Solution tampon	1 ml	mélanger	
Solution de Giemsa diluée pour la coloration manuelle		recouvrir complètement	10-15
Solution tampon		rincer	
Sécher à l'air (p. ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)			

Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa R information technique

Carte technique 09-230

Code produit 09-230

Résultat

	Solution tampon pH 6,8	Solution tampon pH 7,2
Noyaux cellulaires	pourpres à violet	violet
Lymphocytes	plasma bleu	plasma bleu
Monocytes	plasma bleu gris	plasma bleu gris
Granulocytes neutrophiles	granule violet clair brique	granule violet clair
Granulocytes éosinophiles	granule rouge à noir	granule rouge brun
Granulocytes basophiles	granule violet foncé à noir	granule violet foncé à noir
Thrombocytes	violet	violet
Erythrocytes	rougeâtre	rougeâtre-gris

Coloration de Giemsa

Coupes en paraffine

Coloration dans la cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml

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

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

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

Pour la coloration de Giemsa de coupes en paraffine, utiliser impérativement des bains de clarifications séparés avec xylol, car les traces d'éthanol dans les solutions pourraient engendrer la décoloration des préparations.

Porte-objet avec préparation histologique	
Eau distillée	10 secondes
Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution (non diluée, filtrée)	15 minutes
Acide acétique 0,1 %	10 secondes
Eau distillée	10 secondes
Propanol-2	10 secondes
Propanol-2	10 secondes
Propanol-2	10 secondes
Xylène	5 minutes
Xylène	5 minutes
Monter les préparations humides avec DdMount et couvre-objet	

Résultat

Noyaux cellulaires, cellules	bleu à bleu foncé
Collagène, ostéoïde	bleu pâle
Granule éosinophile	rouge
Mucopolysaccharides acides, granules mastocytaires, matrice du cartilage	rougeâtre-violet
Substances acidophiles	rouge orangé

Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa R information technique

Carte technique 09-230

Code produit 09-230

\* Remarques:

1. Les temps indiqués dans cette notice sont approximatifs. Les préférences personnelles peuvent varier et les temps peuvent être ajustés en fonction des préférences personnelles. Les solutions de coloration très utilisées perdront leur pouvoir de coloration et les temps de colorations devront être prolongés ou de nouvelles solutions devront être utilisées.
2. Certaines sources d'eau du robinet sont acides et ne peuvent être utilisées dans la partie « bleuissement » de ce protocole. Si l'eau du robinet est acide, utiliser une solution alcaline diluée.
3. Des noyaux de couleur pourpre ou rouge marron sont le signe d'un « bleuissement » inadéquat.
4. Si la coloration à l'éosine est excessive, la coloration nucléaire peut être masquée. Une coloration à l'éosine adéquate doit démontrer un effet à trois tons. Pour accroître la différenciation de l'éosine, prolonger le temps de réaction aux alcools ou utiliser un premier alcool plus riche en eau. Les temps de réaction aux alcools peuvent être ajustés pour obtenir le degré de coloration à l'éosine recherché.

\* Précautions:

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour les dernières informations sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Informations sur les risques et la sécurité (Etats-Unis)

Somme solution son't corrosive. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Retirer immédiatement tout vêtement contaminé. Porter des vêtements protecteurs et des gants, ainsi qu'une protection du visage et des yeux adaptés.

le réactif toxique. Nocif en cas d'ingestion. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, ainsi qu'une protection du visage et des yeux adaptés.

En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible). Usage limité aux professionnels. Éviter toute exposition - obtenir des instructions spécifiques avant toute utilisation.

\* L'alcool est inflammable et irritant. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Conserver le récipient bien fermé. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés.

\* Informations sur les risques et la sécurité (Europe)

Le solution corrosive. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Retirer immédiatement tout vêtement contaminé. Porter des vêtements protecteurs et des gants, ainsi qu'une protection du visage et des yeux adaptés.

Le réactif toxique provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, ainsi qu'une protection du visage et des yeux adaptés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible). Usage limité aux professionnels. Éviter toute exposition - obtenir des instructions spécifiques avant toute utilisation. L'alcool est inflammable et irritant. Hautement inflammable. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Conserver le récipient bien fermé. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés.

\* Prelevement des echantillons:

Il est recommande de prelever et de conserver les echantillons conformément aux directives du guide de bonne execution des analyses de biologie medicale. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

On utilise des frottis de sang total, de sang traité sur EDTA ou héparine ou des frottis de moelle osseuse fraîchement préparés. Les fixer dès que possible.

Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa R information technique

Carte technique 09-230

Code produit 09-230

\* Pour les polysaccharides, les tissus fixés dans du formol neutre tamponné à 10 %, une solution de Zenker ou de Bouin peuvent être utilisés.

A noter que certains carbohydrates sont solubles dans l'eau. Pour la mise en évidence du glycogène, le liquide de Carnoy, le liquide de Gendre ou le formol alcoolique acide sont recommandés. Le délai nécessaire à l'extraction de l'enzyme peut être prolongé lorsque le tissu est fixé dans un fixateur contenant de l'acide picrique.

Couper les coupes de tissus à 5 microns.

L'information ci-dessus est suspecté d'être exactes et représentent les meilleures informations dont nous disposons actuellement. Cependant, nous ne faisons aucune garantie de qualité marchande ou toute autre garantie, expresse ou implicite, à l'égard de plus d'informations disponibles, et nous n'assumons aucune responsabilité résultant de son utilisation. Les utilisateurs doivent faire leurs propres enquêtes pour déterminer la pertinence de l'information à leurs besoins particuliers. En aucun cas D.D.K. être responsable des réclamations, pertes, dommages ou d'un tiers ou pour les profits perdus ou quelconques dommages indirects, accessoires, consécutifs ou exemplaires spéciaux, QUELLE QU'ELLE SOIT, même si D.D.K. a été informé de la possibilité de dommages plus disponible.

Le informazioni sopra indicate sono riportate con la massima accuratezza e rappresentano le migliori informazioni attualmente disponibili a noi. Tuttavia, non diamo garanzia di esattezza o qualsiasi altra garanzia, espressa o implicita al riguardo di tali informazioni. Inoltre; non assumiamo nessuna responsabilità derivata dal relativo uso. Gli utenti dovrebbero effettuare le loro proprie indagini per determinare l'idoneità delle informazioni per i loro scopi precisi. In nessun caso D.D.K. sarà responsabile per tutti i reclami, perdite, o danni diretti o indiretti, o verso terzi, o per i profitti persi, o danni speciali, indiretti o fortuiti, conseguenti o esemplari che possono intervenire, anche se D.D.K. si è raccomandata della possibilità di tali danni.

The information above is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes. In no event shall D.D.K. be liable for any claims, losses, or damages of any third party or for lost profits or any special, indirect, incidental, consequential or exemplary damages, howsoever arising, even if D.D.K. has been advised of the possibility of such damages.