

Coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG)



Fixation et coloration différentielle de structures cellulaires

IFU010A-BEC

Produit destiné à un usage strictement professionnel.

Veuillez lire attentivement l'ensemble de ces informations avant toute utilisation de ce dispositif.

Table des matières

Utilisation prévue.....	1
Principe.....	1
Description du dispositif.....	2
Stockage.....	2
Composants actifs.....	2
Qualification du personnel.....	3
Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis.....	3
Procédure opératoire.....	4
Résultats escomptés.....	6
Performances.....	6
Contrôle qualité utilisateur.....	6
Autres produits.....	6
Recommandations, remarques et dépannage.....	7
Tableau des symboles et abréviations.....	8
Bibliographie.....	8
Suivi des modifications.....	8

Utilisation prévue

May-Grünwald solution en combinaison avec Giemsa solution est destiné à être utilisé pour la fixation et la coloration différentielle des structures cellulaires avant un examen au microscope.

RAL Diagnostics recommande le cas échéant d'utiliser les produits RAL Diagnostics associés et ne saurait garantir les résultats escomptés en association avec d'autres marques de produits.

Principe

La coloration selon Pappenheim permet de réaliser un comptage différentiel des cellules médullaires et des cellules sanguines. Il combine deux colorants : le May-Grünwald et le Giemsa. Il s'agit de mélanges neutres aux propriétés très distinctes. Ils ne sont pas actifs en milieu alcoolique et n'agissent sélectivement que lorsqu'ils sont libérés dans une solution aqueuse tamponnée. Cette libération induit la précipitation des colorants neutres. La solution de May-Grünwald colore les éléments acidophiles et les granulations neutrophiles des leucocytes. La solution de Giemsa colore le cytoplasme des monocytes et des lymphocytes ainsi que la chromatine des noyaux.

Description du dispositif

May-Grünwald solution for stainers

Solution bleu foncé limpide

RÉF. 320830-1000

1 x 1,0 L

RÉF. 320830-2500

1 x 2,5 L

Giemsa solution for stainers

Solution bleu foncé limpide

RÉF. 320450-1000

1 x 1,0 L

RÉF. 320450-2500

1 x 2,5 L

pH=6.8 buffer solution for Haematology

Solution incolore limpide

RÉF. 330368-5000

1 x 5,0 L

pH=7.0 buffer solution for Haematology

Solution incolore limpide

RÉF. 330370-5000

1 x 5,0 L

pH=7.2 buffer solution for Haematology

Solution incolore limpide

RÉF. 330372-5000

1 x 5,0 L

Pour un lot spécifique, se reporter au certificat d'analyse correspondant disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

Stockage

Température de conservation : 15-25 °C à l'abri de la lumière.

Durée de conservation du flacon avant et après ouverture : se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquette.



Composants actifs

May-Grünwald solution for stainers

May- Grünwald : env. 0,2 %

Giemsa solution for stainers

Giemsa - CAS 51811-82-6 : < 0,5 %

pH=6.8 buffer solution for Haematology

Monophosphate potassique – CAS 7778-77-0 : env. 0,08%

Phosphate disodique anhydre – CAS 7558-79-4 : env. 0,06%

pH=7.0 buffer solution for Haematology

Monophosphate potassique – CAS 7778-77-0 : env. 0,07%

Phosphate disodique anhydre – CAS 7558-79-4 : env. 0,07%

pH=7.2 buffer solution for Haematology

Monophosphate potassique – CAS 7778-77-0 : env. 0,05%

Phosphate disodique anhydre – CAS 7558-79-4 : env. 0,09%

Classification des dangers et informations relatives à la sécurité

May-Grünwald solution for stainers

Danger: H225 - Liquide et vapeurs très inflammables.

H301+H311+H331 - Toxique par ingestion, par contact cutané

ou par inhalation. H370 Risque avéré d'effets graves pour les organes.

P210 - Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer. P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P264 - Se laver les mains soigneusement après manipulation. P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux/du visage. P301+P310 - EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P308+P311 - EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.



CONT CH3OH

Giemsa solution for stainers

Danger: H225 - Liquide et vapeurs très inflammables.

H301+H311+H331 - Toxique par ingestion, par contact cutané ou par inhalation. H370 - Risque avéré d'effets graves pour les organes.

P210 - Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer. P261 - Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P264 - Se laver les mains soigneusement après manipulation. P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux/du visage. P301+P310 - EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P308+P311 - EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.



CONT CH3OH

pH=6.8, 7.0 or 7.2 buffer solution for Haematology

Attention : H317 - Peut provoquer une allergie cutanée. H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P280 -

Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux. P333+P313- En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.



CONT 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one / 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one

Qualification du personnel

Tous les échantillons et produits doivent être manipulés par du personnel qualifié et habilité, protégé par une protection individuelle ou collective, selon les directives nationales en vigueur dans les laboratoires. Le personnel doit également prendre connaissance de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquetage du produit et fiche de données de sécurité (disponibles sur my.ral diagnostics.fr).

Traiter les échantillons conformément aux procédures en vigueur dans le laboratoire et exigées par les autorités compétentes au niveau national.

La procédure de diagnostic est strictement réservée au personnel qualifié et habilité, conformément aux procédures en vigueur au sein du laboratoire.

Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis

Lames de microscope et série de systèmes de coloration DxH Slidemaker.

Cet équipement peut être différent en fonction du protocole. Veuillez-vous référer au protocole envisagé (voir la section Procédure opératoire) afin de vous assurer que vous disposez du nécessaire pour réaliser les analyses.

Procédure opératoire

L'équipement utilisé pour le traitement des échantillons doit être conforme aux instructions d'utilisation du fournisseur.

Préparation des échantillons

Frottis sanguin automatisé : veuillez-vous reporter au mode d'emploi des systèmes automatisés de la série DxH Slidemaker Stainer correspondants pour obtenir des informations sur la préparation des échantillons.

Frottis sanguin manuel : homogénéiser le tube en le retournant lentement et installer un dispositif d'étalement du sang. Retourner le tube et presser délicatement le dispositif sur une lame pour y déposer une petite goutte de sang (Fig. 1 - lame A à l'étape 1).

En utilisant une autre lame inclinée à 45° (Fig. 1 - lame B à l'étape 1), étaler le sang par capillarité sur le bord court (Fig. 1 - étapes 2 & 3) et tirer le frottis d'un geste franc (Fig. 1 - étape 4). Un frottis de bonne qualité ne va pas jusque l'extrémité de la lame et présente une diminution progressive de l'épaisseur jusqu'à son extrémité effilée. Laisser le frottis sécher à l'air libre avant de le fixer ou de le colorer.

NB : en l'absence de dispositif d'étalement du sang, ouvrir le tube et utiliser une pipette pour déposer une goutte de sang.

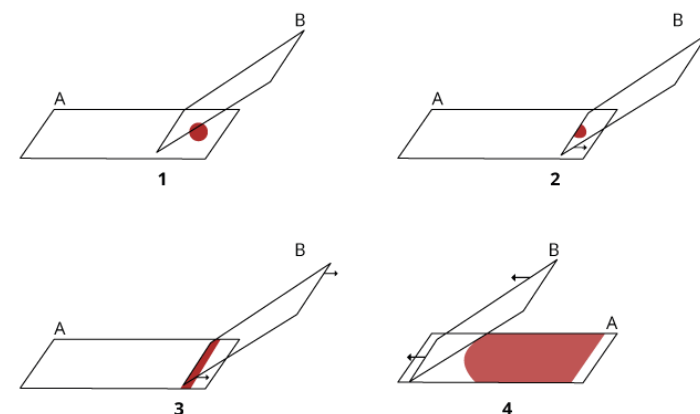


Figure 1. Représentation schématique de la réalisation d'un frottis sanguin

A & B : Lames, 1 - 4 : étapes 1 à 4

Préparation des réactifs et instruments

Le cas échéant, diluer Giemsa solution selon les indications de la section protocole. Transférer les solutions dans des bacs de coloration comme indiqué dans les protocoles ci-dessous.

Protocoles

Les étapes de coloration des protocoles indiqués ci-dessous consistent en des bains successifs des lames dans les différents bacs de coloration.

Protocole pour la série DxH Slidemaker Stainer – méthode de coloration par bain - analyse sur systèmes automatisés de la série CellaVision® DM ou manuelle

Durée de traitement : 16 min

Étapes	Réactif	Temps [mm: ss]	Indications
Fixer et pré-colorer	May-Grünwald solution	03: 00	Agitation
Rincer	Buffer Solution	02: 00	
Colorer	Solution de Giemsa à 5 % diluée dans buffer solution	10: 00	
Rincer	Buffer Solution	00: 20	
Rincer	Buffer Solution	00: 40	
Sécher	Non	≥03: 00	Non

Protocole pour la série de systèmes de coloration DxH Slidemaker Stainer - Méthode par bain de coloration - Analyse manuelle au microscope

Durée de traitement : 20 min 10 s

Étapes	Réactif	Temps [mm:ss]	Indications
Fixation et pré-coloration	May-Grünwald solution	03: 00	Agitation
Rincer	Buffer Solution	02: 00	
Colorer	Solution de Giemsa à 5 % diluée dans buffer solution	15: 00	
Rincer	Buffer Solution	00: 10	
Sécher	Non	≥03: 00	Non

Protocole manuel - Méthode de coloration par bain - Analyse manuelle au microscope

Durée de traitement : 14 min 10 s

Étapes	Réactif	Temps [mm: ss]	Indications
Fixer et pré-colorer	May-Grünwald solution	03: 00	Non
Rincer	Buffer Solution	01: 00	Peut être prolongé jusqu'à 2 minutes
Colorer	1/20 de Giemsa solution dilué dans buffer solution	10: 00	Peut être prolongé jusqu'à 15 minutes
Rincer	Buffer Solution	00: 10	Agiter continuellement dans le bain pendant le compte à rebours
Sécher	Non	≥03: 00	Non

Résultats escomptés

Noyaux / chromatine : pourpre ± dense
Cytoplasme de granulocytes sans ARN : rose violacé clair
Granulations de granulocytes éosinophiles : rose orangé
Granulations de granulocytes basophiles : bleu foncé
Granulations de granulocytes neutrophiles : ± violet-rose profond
Cytoplasme de lymphocytes avec ARN : bleu pur
Cytoplasme de lymphocytes sans ARN : bleu clair
Granulations de lymphocytes azurophiles : rouge
Cytoplasme de monocytes : bleu violacé
Érythrocytes : rose-beige à beige-gris
Chromomère de plaquettes : rouge violacé
Hyalomère de plaquettes : bleuâtre
Noyau de parasites sanguins : rouge
Cytoplasme de parasites sanguins : bleu

Si les résultats observés diffèrent de ceux escomptés, contacter le service technique de RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour recevoir une assistance.

Performances

Ce dispositif médical est conforme à l'état de l'art. Ses performances analytiques, sa validité scientifique et sa pertinence médicale sont évaluées lors de l'examen du marquage CE.

Afin de garantir les performances du produit, utiliser un équipement de laboratoire propre et sec.

Il incombe au laboratoire de notifier au fabricant et à l'autorité compétente au niveau régional/national tout incident grave lié à l'utilisation de ce dispositif médical.

Contrôle qualité utilisateur

Les utilisateurs ont la responsabilité de déterminer les modes opératoires appropriés de contrôle qualité leur laboratoire et de se conformer aux réglementations de laboratoire applicables.

RAL Diagnostics recommande d'effectuer la coloration de frottis sanguins fraîchement réalisés présentant une numération leucocytaire normale et sans pathologie anormale connue lors du renouvellement du réactif et pour le premier cycle de coloration chaque jour. Les lames colorées à des fins de contrôle de la qualité doivent être vérifiées pour s'assurer qu'elles présentent des résultats satisfaisants pour le test prévu (correctement colorées et exemptes de précipité).

Ces procédures de contrôle de la qualité ne doivent être effectuées que par du personnel qualifié.

Autres produits

Pour toute information, veuillez contacter votre fournisseur habituel.

Recommandations, remarques et dépannage

Aspect du produit

Si l'aspect du produit diffère de celui indiqué ci-dessus dans ce manuel, ne pas l'utiliser et contacter le service technique de RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour obtenir de l'aide.

Remarques sur les procédures

Afin de prévenir la dégradation du produit, veuillez respecter les recommandations de stockage et de manipulation indiquées dans cette notice.

La qualité et la reproductibilité de la coloration sont obtenues en utilisant une solution tampon.

En raison du mode d'action complexe des colorants, il est essentiel de mettre en place des conditions de coloration standard pour assurer une qualité de coloration et une reproductibilité parfaite. L'utilisation de l'eau du robinet ou d'un mélange d'eau n'est pas recommandée car des variations imprévisibles peuvent se produire et avoir des répercussions sur les résultats de la coloration. La qualité et la reproductibilité de la coloration sont obtenues en utilisant une solution tampon spécialement formulée pour l'hématologie. Sûrs pour les utilisateurs, les Buffer solutions for Haematology sont formulés avec des phosphates, sont spécialement développés pour l'hématologie, et permettent de garantir une meilleure stabilité et rinçabilité des produits.

Stabilité du produit

Chaque produit RAL Diagnostics est utilisable jusqu'à la date de péremption figurant sur le produit, dans son emballage d'origine et hermétiquement scellé.

Stabilité de la coloration

La qualité et la reproductibilité de la coloration dépendent de l'utilisation correcte des produits.

La coloration réalisée conformément à ces recommandations restera stable pendant plusieurs jours. S'il est nécessaire de conserver les préparations de frottis colorés pendant plusieurs mois ou années, RAL Diagnostics recommande de les monter avec une lamelle, avec un milieu de montage approprié, et de les conserver dans une boîte à l'abri de la lumière et de la poussière.

Instructions pour le nettoyage et l'élimination des déchets

Traiter tous les échantillons biologiques, effluents et consommables usagés comme potentiellement dangereux.



Pour éviter tout risque, appliquer les instructions suivantes : éliminer les échantillons, effluent et consommables conformément aux normes du laboratoire ainsi qu'aux normes et réglementations nationales et locales en vigueur.

L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par des entreprises spécialisées et agréées.

Tableau des symboles et abréviations

Selon le produit, vous pouvez trouver les symboles suivants sur le dispositif ou le matériel d'emballage.

Pictogrammes GHS	Interprétation	Symboles	Interprétation
	Explosif		Code du lot
	Inflammable		Numéro de série
	Comburant		Référence du catalogue
	Gaz sous pression		Date de fabrication
	Corrosif		Utiliser jusqu'à
	Toxique		Identification unique du dispositif
	Nocif ou irritant		Fabriquant
	Danger pour la santé		Importateur
	Danger pour l'environnement		Entité distribuant le dispositif médical dans la région concernée
	Etiquetage non applicable		Dispositif marqué CE
			Dispositif médical de diagnostic in vitro
			Représentant agréé de la communauté européenne
			Représentant agréé en Suisse
			Conformes aux directives britanniques
			Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
			Conservation à l'abri de la lumière
			Limite de température : 15-25°C
			Limite de température : 15-30°C
			Conservation à l'abri de l'humidité
			Boîte : manutention vers le haut
			Fragile
			Stérilisé par irradiation
			Système de barrière stérile unique avec emballage de protection externe
			Combinaison de protection stérile et stérilisée par radiation
			Ne pas réutiliser
			Ne pas stériliser de nouveau
			Contenu suffisant pour n tests
			Matière dangereuse contenue
			Consulter les instructions d'utilisation
			Utilisation
			Après ouverture utiliser dans les XX mois
			Ne pas utiliser le produit en conjonction avec une machine de coloration automatique
			Dispositif médical contenant des substances potentiellement cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques (CMR), ou des substances classées comme perturbateurs endocriniens

Bibliographie

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.

École 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 6^{ème} éd., 1942, 587-591.

MATHIOT C., *Cytologie en hématologie, quelques aspects de la pathologie*. Biologiste, praticien et Réactifs RAL, 1979

THEML H., *ATLAS de poche d'Hématologie, Médecine-Sciences Flammarion*, p. 19-25, 2000

Suivi des modifications

Date	Version	Modifications
05/2022	IFU010A-BEC	Conformité à l'IVDR (UE) 2017/746



RAL Diagnostics - Site Montesquieu - 33650 Martillac - France
T+33(0)5 57 96 04 04 - F +33 (0)5 57 96 04 55 - ral-diagnostics.fr / cellavision.com