

## Protocole n° 110

### Coloration de May-Grünwald Giemsa pour automate

#### 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.

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 solution pour automate Réf. 320830-	2500 ou 25000 mL
Giemsa en solution pour automate Réf. 320450-	2500 ou 25000 mL
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

#### 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 :

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

- Bain de May-Grünwald solution pour automate pur pendant 3 minutes.
- Bain de Tampon en solution pour Hématologie pendant 2 minutes.
- Bain de Giemsa en solution pour automate dilué au 1/20 dans un Tampon en solution pour Hématologie pendant 15 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

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

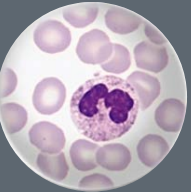
#### Recommandations et/ou notes d'utilisation :

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 agréée.

Température de stockage : 15 – 25 °C.

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.

### 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, 6<sup>ème</sup> éd., 1942, p. 566-585.

**MATHIOT C.,** *Cytologie en hématologie, Quelques aspects de la pathologie*, Biologiste et Praticien et Réactifs R.A.L., 1979.