

Microscopie

Solution de bleu de crésyl brillant

Coloration des réticulocytes dans le sang

IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro



La présente solution Solution de bleu de crésyl brillant est utilisée pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen hématologique et cytologique d'échantillons d'origine humaine. C'est une solution de colorant prête à l'emploi, utilisée pour la mise en évidence de structures cibles (par fixation, coloration, éventuellement contre-coloration, recouvrement) dans des épreuves hématologiques et clinico-cytologiques humaines, telles que les frottis de sang entier et de moelle osseuse.

Principe

Il est possible de déterminer la capacité de régénération des érythrocytes en effectuant une numération des réticulocytes. La détermination de la substance granulo-filamenteuse (ribonucloéoprotéine) se fait à l'aide de jeunes érythrocytes non fixés (dans une coloration supravitale). Selon le degré de développement des réticulocytes, on différencie 4 formes de maturité de la substance granulo-filamenteuse : serpent (I), réticulaire incomplet (II), réticulaire complet (III) et granulaire (IV). Dans le sang périphérique, on trouve presque exclusivement les degrés III et IV de développement. Le bleu de Crésyl brillant permet de mettre en évidence aussi bien le réticule que des points en bleu noir.

Matériel

Sang veineux, dans les cas exceptionnels sang capillaire

Réactifs

Art. n° 101384 Bleu de crésyl brillant en solution	100 ml
Art. n° 101368 Bleu de crésyl brillant zinc chlorure sel double Certistain®	25 g

N° index couleur: -

Nom index couleur:

Préparation

Solution de bleu de crésyl brillant

Ajouter 1,5g de bleu de Crésyl brillant zinc chlorure sel double Certistain® à 100 ml de solution saline isotonique (0,58%NaCl) et filtrer. Conserver la solution comme solution de base tamponnée.

Solution d'utilisation du bleu de crésyl brillant

Diluer la solution de base de bleu de Crésyl brillant à un rapport de 1 : 80 à 1 : 200 dans une solution saline isotonique. La dilution optimale devra être réalisée lors d'un test préalable.

Analyse unique

Prélever 20 µl de sang et 20 µl de solution de bleu de Crésyl brillant dans une pipette pour hémoglobine et les verser dans un petit récipient pouvant être refermé. Mélanger soigneusement et prélever un frottis fin après 30 min.

Analyses en série

A l'aide d'une tige en verre, étaler une fine couche de solution de bleu de crésyl brillant sur une lame. Des lames ainsi préparées et séchées à l'air se conservent 2 à 3 semaines. Pour la numération des réticulocytes, déposer rapidement une goutte de sang sur la couche de colorant et mettre immédiatement la lame avec le matériel encore humide dans une chambre humide (boîte de Pétri avec du papier filtre humidifié). Faire ensuite sécher à l'air.

Mode opératoire

Numération au microscope

Effectuer la numération des réticulocytes sur 1000 érythrocytes au microscope en tours méandriques avec immersion d'huile. Pour ne pas perdre le fil lors de la numération, insérer un filet de numération pour réticulocytes divisé en petits carrés (ou un diaphragme carré en papier) dans l'un des deux oculaires. Dans le sang périphérique, on trouve presque exclusivement les degrés III et IV de développement. Le bleu de Crésyl brillant permet de mettre en évidence aussi bien le réticule que des points en bleu noir.

Résultat

Le nombre de réticulocytes est exprimé par rapport à 1000 érythrocytes comptabilisés, c'est à dire en ‰. En présence d'un nombre faible d'érythrocytes, on se reportera au nombre absolu de réticulocytes / µl.

Calcul

Nombre de réticulocytes = $\frac{E/\mu\text{l} \times R(\text{‰})}{1000}$ [cellules/µl]

E = Nombre d'érythrocytes
R = Nombre de réticulocytes

Valeurs normales

	‰	Nombre de réticulocytes/µl
Adultes	5 - 15	25.000 - 75.000
Nouveaux-nés	20 - 60	100.000 - 300.000

Remarque

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux. Pour la filtration de la solution utiliser un papier filtre de type « passage rapide ». Utiliser une pipette à hémoglobine et un filet de numération pour réticulocytes.

Préparation des échantillons

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés. Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi/l'utilisation.

Diagnostic

Les diagnostics ne doivent être effectués que par des personnes autorisées et entraînées. Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées. Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné. Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues.

Stockage

Stocker les solution de coloration/colorant entre + 15 °C et + 25 °C/+ 5 °C et + 30 °C.

Utiliser la solution et le colorant jusqu'à la date de péremption indiquée.

Stabilité

Après la première ouverture du flacon, conserver entre + 15 °C et + 25 °C/+ 5 °C et + 30 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, la coloration doit être effectuée par un personnel qualifié. Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité. Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur. Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com. Au sein de l'UE s'applique le règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. n° 104699	Huile d'immersion	100 ml, 500 ml
Art. n° 115577	Huile d'immersion selon ISO 8036 modifiée	100 ml
Art. n° 106009	Méthanol pour analyse EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur	1l, 2,5l

Classification des matières dangereuses

Art. n° 101384

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité. La fiche de données de sécurité de Merck est disponible sur Internet et sur demande.

Composants principaux des produits

Art. n° 101384	
C.I. 51010	1 g/l
C.I. 52040	3 g/l
NaCl	9 g/l

Status: Juin 2014

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Tel. +1-978-715-4321

