

1.09204.0100, 1.09204.0127, 1.09204.0500
1.09204.0509, 1.09204.1000, 1.09204.1022
1.09204.2500, 1.09204.9025

Microscopie

Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution

Coloration de frottis sanguins et de moelle osseuse, coupes en paraffine et matériel clinico-cytologique

IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro



La présente solution Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution est utilisée pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen d'échantillons d'origine humaine. C'est une solution de colorant, utilisé pour la mise en évidence de structures bactériennes cibles (par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, recouvrement) dans des épreuves hématologiques et histologiques humaines et clinico-cytologiques, telles que les frottis de cultures bactériennes d'enrichissement, de sang entier et de moelle osseuse, et des coupes histologiques.

Principe

La couleur typique des noyaux en hématologie, principalement rouge violet, repose sur l'interaction entre l'éosine G et un complexe ADN azur B. Les deux colorants forment un complexe. L'intensité de la coloration dépend de la teneur en azur B et du rapport azur B- éosine G. Le résultat de la coloration peut être influencé par divers facteurs comme le pH de la solution et de la solution tampon, les substances tampons, le temps de coloration et de fixation. En histologie, les différents composants cellulaires sont influencés par le traitement préparatoire. Dans ce cas, les noyaux de cellule apparaissent en différentes teintes de bleu. Les composants acidophiles sont représentés en différentes teintes de rouge.

Matériel

Frottis sanguins et de moelle osseuse séchés à l'air, coupes en paraffine, mais aussi matériel clinique de cytologie comme sédiments urinaires, crachats, ponctions biopsies à l'aiguille fine, empreintes, liquides de lavage.

Réactifs

Art. n° 109204 Azur éosine bleu de méthylène selon Giemsa en solution 100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. n° 106009 Méthanol pour analyse 1 l, 2,5 l
EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur
Art. n° 104091 Glycérine p.a. 1 l, 2,5 l
Art. n° 109468 Comprimés tampon selon Weise pH 7,2 1 emb. (100 comp.)
Art. n° 111374 Comprimés tampon selon Weise pH 6,8 1 emb. (100 comp.)
Art. n° 109203 Azur éosine-bleu de méthylène selon Giemsa 25 g, 100 g
Art. n° 101424 May-Grünwald 100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l en solution d'éosine-bleu de méthylène

Préparation

1. Solution tampon

Dissoudre 1 comprimé tampon* dans 1 l d'eau distillée.
*1.11374 ou 1.09468 selon le résultat souhaité de la coloration

2. Solution de Giemsa diluée pour la coloration manuelle

Diluer 10 ml de solution azur éosine bleu de méthylène de Giemsa avec 190 ml de solution tampon, bien mélanger, laisser reposer 10 min et filtrer si nécessaire.

3. Solution de Giemsa diluée pour la coloration dans le auto préparateur automatique d'coloration

Ajouter lentement 25 ml de solution azur éosine bleu de méthylène de Giemsa à 275 ml de solution tampon, mélanger et laisser reposer 10 min, et filtrer si nécessaire.

4. Azur éosine bleu de méthylène en solution de Giemsa à partir de colorant

Dissoudre 0,76 g d'azur éosine bleu de méthylène de Giemsa dans 50 ml de glycérine, chauffer 3 heures au bain-marie à 60 °C, ajouter 50 ml de méthanol, laisser reposer 5 jours et filtrer.

Mode opératoire

Frottis séchés à l'air

Banc de coloration/cuvette de coloration

Méthanol 3 à 5 min
Solution de coloration de Giemsa diluée 15 à 20 min
Rincer avec une solution tampon 2 x 1 min
Sécher

Réactifs	Durée	Station	Dip
Méthanol	3 min	2	on
Solution de Giemsa diluée	20 min	3	on
Solution tampon	1 min	4	on
Eau courante (laver)	2 min	5	on
Sécher	3 min	6	-

Coloration de Pappenheim

Coloration avec la solution de May-Grünwald et la solution de Giemsa

Banc de coloration

Recouvrir le frottis avec 1 ml de solution de May-Grünwald 3 min
mélanger avec 1 ml de solution tampon et colorer 3 à 5 min
recouvrir avec la solution de Giemsa diluée, colorer 15 à 20 min
Rincer avec une solution tampon
Sécher

Cuve à coloration

Solution de May-Grünwald 3-5 min
Solution de coloration de Giemsa diluée 15 à 20 min
Rincer avec une solution tampon 2 x 1 min
Sécher

Résultat avec un tampon phosphate selon Weise pH 6,8

Type de cellule	Solution de Giemsa	Coloration de Pappenheim
Noyaux cellulaires	rouges à violets	pourpres à violets
Lymphocytes	plasma bleu	plasma bleu
Monocytes	plasma bleu pigeon	plasma bleu pigeon
Granulocytes neutrophiles	granules violet clair	granules violet clair
Granulocytes éosinophiles	granules rouges à gris bleu	granules rouge tuile à violet foncé
Granulocytes basophiles	granules violet foncé	granules violet foncé à noirs
Thrombocytes	violet	violet
Érythrocytes	rougeâtres	rougeâtres
Parasites du sang	noyaux cellulaires rouge clair	

Coloration de Giemsa de coupes en paraffine

Étape	Durée
Déparaffiner les coupes de façon habituelle et réhydrater	
Distillation eau	10 sec
Solution azur éosine bleu de méthylène de Giemsa non diluée, filtrée	15 min
Acide acétique 0,1 %	10 sec
Distillation eau	10 sec
Isopropanol	10 sec
Isopropanol	10 sec
Isopropanol	10 sec
Xylo ou Neo-Clear®	5 min
Xylo ou Neo-Clear®	5 min
Recouvrir les préparations humides de xylo avec néo Entellan® et les préparations humides de Neo-Clear® avec Neo-Mount®	

Résultat

Noyaux de cellule, cellules bleu - bleu foncé
Collagène, ostéoïde bleu pâle
Granule éosinophile rouge
Mucopolysaccharides acides, granules mastocytaires, matrice du cartilage rougeâtre - violet
Substances acidophiles orange - rouge

Remarque sur la coloration Giemsa de coupes en paraffine

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

Préparation de moelle osseuse et ponctions lombaires :

Des résultats optimaux seront obtenus en utilisant la solution de décalcification douce OSTEOSOFT®. Les ponctions fixées sont conservées pendant 6 heures dans OSTEOSOFT® pour une décalcification soignée et transférées ensuite au processus histologique. Les petits blocs sont coupés avec précaution et sont ensuite traités, si nécessaire, pendant 20 min avec OSTEOSOFT®.

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 ».

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 le colorant entre + 5 °C et + 30 °C, la solution de coloration entre + 15 °C et + 25 °C.

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

Stabilité

Après la première ouverture du flacon, conserver entre + 5 °C et + 30 °C ou entre + 15 °C et + 25 °C, 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° 101728	OSTEOSOFT® Solution de décalcification douce pour l'histologie	1 l
Art. N° 109634	2- Propanol pour analyse EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5l
Art. N° 108681	Xylol pour analyse EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l, 2,5
Art. N° 107961	Néo Entellan®	100 ml, 500 ml
Art. N° 109843	Neo-Clear®	5 l
Art. N° 109016	Neo-Mount®	500 ml
Art. N° 100063	Acide acétique (concentré) 100 % Anhydre pour analyse ACS, ISO, Reag. Ph Eur	1 l

Classification des matières dangereuses

Art. n° 109204

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° 109204

C.I. 52015 + Azur	4,1 g/l
C.I. 45380	2,4 g/l
contient du CH ₃ OH	
1l =	0,99 kg

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

