

742-75**742-86**

Microscopie

Solution de coloration de Wright Giemsa APHA Harleco®

Coloration polychrome pour les frottis de sang périphérique et de moelle osseuse

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro

Utilisation prévue

La solution de coloration de Wright Giemsa APHA Harleco® est utilisée pour le diagnostic cellulaire clinique et sert à l'examen des échantillons d'origine humaine.

Principe

La coloration de Wright utilise un colorant neutre de Romanowsky, formé de l'association de bleu de méthylène azuré comme composant basique et d'éosine comme composant acide. Romanowsky a modifié le colorant neutre mis au point auparavant par Ehrlich, qui permettait d'identifier les granules de leucocytes acidophiles, basophiles et neutrophiles. La solution de Wright Giemsa Harleco® a été formulée pour fournir un marquage différentiel optimal.

Échantillons

Les frottis de sang périphérique doivent être préparés à partir d'un échantillon de sang fraîchement prélevé (tube à capuchon mauve avec EDTA). Laisser les frottis sécher à l'air complètement avant la coloration.

Réactif

Réf. 742 1 l, 10 l

Solution de coloration de Wright Giemsa Harleco®

Autre matériel requis :

Réf. 1217	Tampon phosphate, pH 6,4	1 l, 4 l
ou		
Réf. 1218	Tampon phosphate, pH 6,8	1 l, 4 l
ou		
Réf. 1219	Tampon phosphate, pH 7,0	1 l, 4 l
Réf. 6442	Eau désionisée/distillée, ASTM Type II	4 l, 20 l
Réf. 65044A	Solution de coloration HemaColor® (fixateur)	4 l

Préparation des échantillons

Les échantillons doivent être prélevés par un personnel qualifié. Tous les échantillons doivent être clairement marqués. Des instruments adaptés doivent être utilisés pour le prélèvement et la préparation des échantillons. Suivre le mode d'emploi / les instructions d'application du fabricant.

Préparation des réactifs (mélange colorant/tampon)

- Placer 50 ml de solution de coloration de Wright Giemsa dans un récipient.
- Ajouter 250 ml de tampon phosphate, pH 6,4.
- Mélanger et laisser reposer 10 minutes avant utilisation.

REMARQUES :

- Pour une coloration plus basophile, utiliser un tampon de pH 6,8 ou 7,0.
- Il peut être nécessaire d'ajuster la durée d'incubation dans le colorant et/ou le mélange colorant/tampon si le pH du tampon est différent.
- Le débit d'eau de rinçage ne doit pas dépasser 2 000 ml/minute.
- Pour une coloration optimale, utiliser de l'eau désionisée ou distillée.

Procédure à suivre à l'aide de l'automate de coloration de lames Midas® III-Plus

Toutes les stations sont réglées par défaut sur la méthode par immersion. Il s'agit du protocole de coloration recommandé avec les colorations Harleco®. Débit d'eau de rinçage : 2 000 ml/minute.

Pour les frottis de sang périphérique

Solution	Station	Temps
Fixateur	2	30 secondes
Solution de coloration de Wright Giemsa	3	2 minutes
Mélange colorant/tampon	4	2 minutes
Rinçage	5	2 minutes
Séchage	6	3 minutes

Pour les biopsies d'aspiration de moelle osseuse

Solution	Station	Temps
Fixateur	2	30 secondes
Solution de coloration de Wright Giemsa	3	10 minutes
Mélange colorant/tampon	4	20 minutes
Rinçage	5	2 minutes
Séchage	6	3 minutes

Examiner au microscope après coloration.

Résultats

Types cellulaires	Noyaux	Granules	Cytoplasme
Érythrocytes		Rouge jaunâtre	Rouge jaunâtre
Leucocytes polymorpho-nucléaires neutrophiles	Bleu foncé à mauve	Lilas rougeâtre	Rose pâle
Leucocytes basophiles	Mauve ou bleu foncé	Mauve foncé à noir	

Leucocytes éosinophiles	Bleu à mauve	Rouge à rouge orangé	Bleu
Lymphocytes	Mauve foncé		Bleu ciel
Plaquettes		Violet à mauve	

Notes techniques pour les procédures de marquage manuelles

- Il peut être nécessaire d'expérimenter et d'ajuster les durées d'incubation pour obtenir des résultats optimaux et une nette différenciation entre les cellules.
- Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque :
 - Les lames sont propres, sans corps gras ni débris.
 - Le méthanol (fixateur) ne contient pas d'acétone.
 - Les frottis sanguins sont fraîchement préparés.
 - Les frottis sanguins forment une couche très mince sur la lame.
- Le microscope utilisé doit être conforme aux exigences des laboratoires de diagnostic médical.
- Lorsque des systèmes de traitement de lames histologiques et de coloration automatisée sont utilisés, suivre le mode d'emploi fourni par le fournisseur du système et du logiciel.
- Les solutions de coloration fraîchement préparées doivent être filtrées avant l'emploi.
- Éliminer tout excédent d'huile à immersion avant l'archivage.

Diagnostic

Le diagnostic doit être effectué exclusivement par un personnel formé et agréé. Une nomenclature valide doit être utilisée.

Des tests complémentaires doivent être sélectionnés et réalisés selon des méthodes reconnues.

Des témoins adéquats doivent être effectués pour chaque application.

Stockage

15-30 °C

Durée de conservation

La solution de coloration de Wright Giemsa pour la microscopie peut être utilisée jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.

À partir du moment où le flacon est ouvert pour la première fois, son contenu peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée s'il est conservé entre 15 et 30 °C.

Les flacons doivent toujours être fermés hermétiquement.

Instructions supplémentaires

À usage professionnel uniquement.

La procédure doit être réalisée par un personnel qualifié uniquement.

Les directives nationales de sécurité sur le lieu de travail et d'assurance qualité doivent être suivies.

Des microscopes équipés selon les normes en vigueur doivent être utilisés.

Protection contre les infections

Des mesures efficaces doivent être prises pour éviter les infections dans le cadre des directives de laboratoire.

Instructions d'élimination

L'emballage doit être éliminé selon les directives en vigueur. Les solutions usagées et celles qui ont dépassé la durée de conservation doivent être éliminées en tant que déchets spéciaux conformément aux directives locales.

Réactifs auxiliaires

Réf. 64969	Milieu de montage Krystalon™ Harleco®	50 ml, 500 ml
Réf. 104699	Huile à immersion pour la microscopie	100 ml, 500 ml
Réf. 1217	Tampon phosphate, pH 6,4	1 l, 4 l
Réf. 1218	Tampon phosphate, pH 6,8	1 l, 4 l
Réf. 1219	Tampon phosphate, pH 7,0	1 l, 4 l
Réf. 6442	Eau désionisée/distillée, ASTM Type II	4 l, 20 l
Réf. 65044A	Solution de coloration HemaColor® (fixateur)	4 litres

Classification des risques

Réf. 742. Veuillez respecter la classification des risques imprimée sur l'étiquette et les informations contenues dans la fiche de données de sécurité. La fiche de données de sécurité est disponible sur le site Internet et sur demande.

Documentation

1. Löffler, H., Rastetter, J., Haferlach, T., *Atlas der klinischen Hämatologie*, 2004, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
2. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon and Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W., and Kiernan, J.A.) Bios, 2002



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Harleco® est une marque déposée de Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

HemaColor® est une marque déposée de Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Krystalon™ est une marque de Merck KGaA.

Midas® est une marque déposée de Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Statut au : 08/07/2019 20511119



EMD Millipore Corporation
400 Summit Drive
Burlington, MA 01821, USA
Tel. +1-978-715-4321

MILLIPORE
SIGMA