

May-Grünwald solution

RÉF. 320070

Fixation et coloration différentielle de structures cellulaires



IFU016A-RAL

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 |
| Classification des dangers et informations relatives à la sécurité..... | 2 |
| Qualification du personnel..... | 2 |
| Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis..... | 3 |
| Procédure opératoire..... | 3 |
| Résultats escomptés..... | 5 |
| Performances..... | 6 |
| Contrôle qualité utilisateur..... | 6 |
| Autres produits..... | 6 |
| Recommandations, remarques et dépannage..... | 6 |
| Tableau des symboles et abréviations..... | 8 |
| Bibliographie..... | 8 |
| Suivi des modifications..... | 8 |

Utilisation prévue

May-Grünwald solution est destiné à être utilisé en combinaison avec Giemsa solution pour effectuer 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 de 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

Solution bleu foncé limpide

RÉF. 320070-0500

1 X 500 mL

RÉF. 320070-1000

1 x 1,0 L

RÉF. 320070-2500

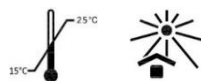
1 x 2,5 L

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

May- Grünwald : env. 0,3 %

Classification des dangers et informations relatives à la sécurité

May-Grünwald solution



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 et du visage.

P301+P310 - EN CAS D'INGESTION: Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P

308+P311 - EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

| | |
|------|-------|
| CONT | CH3OH |
|------|-------|

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

Solution aqueuse d'hyposulfite de sodium, éthanol, acétone, milieux de montage, lames de microscope et les dispositifs suivants de RAL Diagnostics :

Giemsa R solution RÉF. 320310

Giemsa L solution RÉF. 320300

pH=6.8 buffer solution for Haematology RÉF. 330368

pH=7.0 buffer solution for Haematology RÉF. 330370

pH=7.2 buffer solution for Haematology RÉF. 330372

Lugol, PVP-stabilized solution RÉF. 367400

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

Les exemples suivants concernent les préparations d'échantillons hématologiques, les échantillons doivent être traités conformément aux procédures disponibles dans le laboratoire et promulguées par les autorités nationales.

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 jusqu'à 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 de dépôt de gouttes, ouvrir le tube et utiliser une pipette pour déposer une goutte de sang.

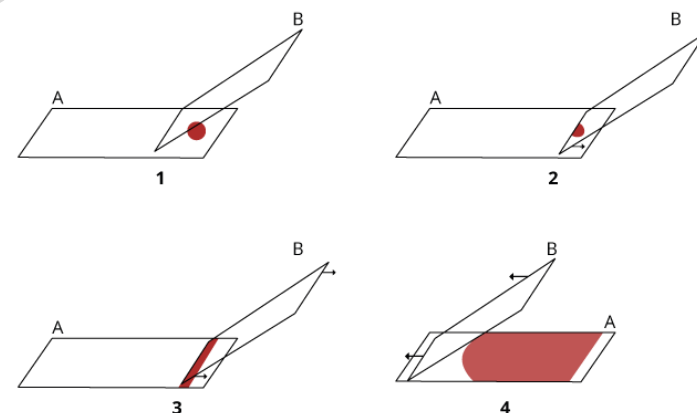


Figure 1. Représentation schématique de la réalisation d'un frottis sanguin

A & B : Lames, 1 - 4 : étapes 1 à 4

Frottis manuel de moelle osseuse par méthode d'écrasement : à l'aide d'une pipette, déposer une petite quantité de l'échantillon sur une lame de microscope. Éponger au papier filtre l'excès de sang pour ne garder que les morceaux brillants. Couvrir la première lame avec une lame. Étaler l'échantillon en le faisant glisser et en l'étirant jusqu'à l'extrémité de la lame afin d'en réduire progressivement l'épaisseur. Un frottis de bonne qualité ne va pas jusque l'extrémité de la lame. Jeter la deuxième lame utilisée pour le frottis. Laisser le frottis sécher à l'air libre avant de le fixer ou de le colorer.

Préparation des réactifs et instruments

Le cas échéant, diluer May-Grünwald solution et Giemsa solution selon les indications indiquées dans la section sur le protocole. Transférer les solutions dans des bains de coloration comme indiqué dans les protocoles ci-dessous.

Eau acétique : 5 gouttes dans 100 ml d'eau distillée

Solution aqueuse d'hyposulfite de sodium à 5 % : 5 g d'hyposulfite de sodium dans 100 ml d'eau distillée

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 les échantillons hématologiques - Méthode manuelle 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 | |
| Colorer | 1/20 Giemsa R solution diluée dans buffer solution | 10: 00 | |
| Rincer | Buffer Solution | 00: 10 | Agiter continuellement dans le bain pendant le compte à rebours |
| Sécher | Non | ≥03: 00 | Non |

Protocole pour les coupes histologiques- Méthode manuelle de coloration par bain - Analyse manuelle au microscope

Durée de traitement : 65 min

| Étapes | Réactif | Temps [mm: ss] | Indications |
|--------------|--|----------------|------------------------------------|
| Colorer | Lugol, PVP-stabilized solution | 05: 00 | * |
| Colorer | Solution aqueuse d'hyposulfite de sodium à 5 % | 05: 00 | Non |
| Rincer | Eau distillée | Non | |
| Colorer | 1/5 de May-Grünwald solution dilué dans de l'eau distillée | 15: 00 | Dans un autoclave à 37° C |
| Colorer | Giemsa L solution (3 gouttes dans 2 mL) | 40: 00 | |
| Différencier | Eau acétique (5 gouttes pour 100 ml) | Non | |
| Rincer | Eau distillée | Non | Puis égoutter sur un papier filtre |
| Déshydrater | Mélange éthanol/acétone 50/50 | Non | Non |
| Déshydrater | Toluène ou xylène | Non | 2 bains |
| Monter | Milieu de montage à base de toluène ou de xylène | Non | Non |

*Déconditionner et réhydrater les coupes histologiques dans les réactifs appropriés avant la coloration.

Résultats escomptés

Échantillons hématologiques

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

Échantillons de coupes histologiques

Noyaux / Chromatine : violet à rose

Cytoplasme basophile : Ciel à bleu foncé

Cytoplasme acidophile : Rouge clair à rose

Cytoplasme polychromatophile : grisâtre ou violacé

Granulations de leucocytes acidophiles : orangé

Granulations leucocytaires neutrophiles : rose brun peu net

Granulations de leucocytes basophiles : violet foncé

Granulations de leucocytes azurophiles : pourpres ou violacées

Granulations d'érythrocytes basophiles : bleu cobalt

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.

Échantillon hématologique: RAL Diagnostics recommande d'effectuer la coloration de frottis sanguins fraîchement réalisés présentant une numération leucocytaire normale et sans pathologie 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 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.

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique et pathologique,* éd GAUTHIER-VILLARS, vol 2, 1970 p. 1435-1436

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

SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'HEMATOLOGIE (SFH), *Guides des bonnes pratiques des ponctions médullaires,* Juin 2003, VI.2

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

Suivi des modifications

| Date | Version | Modifications |
|---------|-------------|-----------------------------------|
| 05/2022 | IFU016A-RAL | 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