

Protocole n° 114

Coloration MCDh en Cyto-bactériologie

Principe :

La coloration par le MCDh est une variante de la coloration de May-Grünwald Giemsa. Ce produit permet une étude cytologique des liquides (urines, LCR, liquides articulaires, liquides pleuraux, etc.) ou des prélèvements solides (biopsies, tissus, écouvillonnages, etc.). L'interprétation des frottis permet une évaluation qualitative et quantitative de la présence de bactéries, leucocytes et cellules épithéliales.

Le MCDh 1, formulé avec de l'alcool éthylique, est un mélange de colorants neutres ; il permet la fixation du frottis et prépare la coloration, notamment, des éléments hydrosolubles.

Ces colorants ne sont pas actifs en milieu alcoolique et n'agissent de façon sélective qu'en milieu aqueux (MCDh 2 et MCDh3). La précipitation des colorants neutres permet la coloration des hématies, du cytoplasme de certains leucocytes ainsi que des bactéries. Enfin, le MCDh 4 vient éliminer l'excès de colorant et participe à la différenciation des éléments cellulaires grâce à l'action d'agents de rinçage spécialement sélectionnés.

C'est l'action successive du MCDh 1, du MCDh 2, du MCDh 3 et du MCDh 4 qui permet l'apparition de la couleur violette (effet de type Romanowsky-Giemsa) notamment au niveau de la chromatine.

Produits nécessaires à la coloration :

| | |
|------------------------|------------------|
| MCDh 1 Réf. 313590- | 1000 mL, 2500 mL |
| MCDh 2 Réf. 313570- | 1000 mL, 2500 mL |
| MCDh 3 Réf. 313560- | 1000 mL, 2500 mL |
| MCDh 4 Réf. 313600- | 1000 mL, 2500 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.

- Placer le frottis fixé sur le support de coloration.
- Bain de MCDh 1 7 minutes
- Egoutter l'excédent sur papier filtre. 1 minute
- Bain de MCDh 2 1 minute
- Au moment de sortir la lame, l'agiter modérément dans le bac.
- Egoutter l'excédent sur papier filtre.
- Bain de MCDh 2 1 minute
- Au moment de sortir la lame, l'agiter modérément dans le bac.
- Egoutter l'excédent sur papier filtre.
- Bain de MCDh 3 30 secondes
- Au moment de sortir la lame, l'agiter modérément dans le bac.
- Egoutter l'excédent sur papier filtre.
- Bain de MCDh 4 2 secondes avec agitation
- Séchage

Résultats :

Noyaux / chromatine : pourpre +/- dense

Cytoplasme : bleu à bleu-violacé léger

Hématies : beige rosé

Bactéries : bleu à rose-violacé

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Produit destiné 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.

La finesse des frottis est importante pour un résultat de qualité.

En fonction de l'épaisseur du frottis, il peut être nécessaire d'ajuster le temps du premier bain (MCDh 1).

Références Bibliographiques :

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.

DENIS F., PLOY M.-C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R., *Bactériologie médicale. Techniques usuelles*, éd. Elsevier Masson, 2007, p. 5-8.

