

## INDICATIONS

La solution de Wright-Giemsa est destinée à être utilisée pour la coloration des frottis de sang ou de moelle osseuse. Les solutions sont destinées à un « usage diagnostique in vitro ».

Le colorant de Wright-Giemsa est un colorant de Romanowsky modifié utilisé pour colorer de manière différentielle les divers éléments cellulaires composant le sang. Lorsque les frottis sanguins sont colorés comme indiqué dans la procédure, le noyau et le cytoplasme des globules blancs prennent une coloration bleue ou rose caractéristique. L'association d'éosine purifiée et de thiazine dans le produit élimine toute coloration non systématique et donne une réponse chromogène reproductible d'un lot à l'autre.

## RÉACTIF

### COLORANT DE WRIGHT-GIEMSA, MODIFIÉ

Colorant de Wright-Giemsa, modifié, à 0,4 % p/v, tamponné à un pH de 6,8, dans du méthanol.

### MATÉRIELS SPÉCIFIQUES REQUIS MAIS NON FOURNIS :

#### TAMPON PHOSPHATE, référence N° P3288

Un mélange de phosphate de sodium et de phosphate de potassium à 0,0083 mol/l, pH 7,2.

#### MÉTHANOL, sans acétone, référence N° M1775

Microscope / Lames / Lamelles de protection

### CONSERVATION ET STABILITÉ :

Conserver les solutions de Wright-Giemsa à température ambiante (18–26 °C). L'étiquette du réactif porte une date de péremption.

Conserver le tampon phosphate et le méthanol à température ambiante (18–26 °C). Conserver la solution de tampon phosphate à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Altération : Éliminer la solution du colorant de Wright-Giemsa en cas de formation d'un précipité ou d'apparition d'un artefact d'eau dans les globules rouges. Éliminer la solution de phosphate en cas de turbidité ou d'observation d'une prolifération bactérienne.

### PRÉPARATION :

La solution de Wright-Giemsa est prête à l'emploi.

Le tampon phosphate (P3288) doit être préparé en diluant 1 flacon de tampon dans 3,8 litres d'eau déionisée. Bien mélanger pour dissoudre.

Le méthanol est prêt à l'emploi.

### PRÉCAUTIONS :

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour des informations actualisées sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Informations sur les risques et la sécurité (États-Unis)

La solution de Wright-Giemsa est INFLAMMABLE et TOXIQUE. Toxique par inhalation et par ingestion. Irritant pour les yeux et la peau. Conserver le récipient bien fermé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Éviter le contact avec la peau.

Tampon phosphate. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Le méthanol est INFLAMMABLE et TOXIQUE. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Toxique : possibilité d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Irritant pour les yeux et la peau. Conserver le récipient bien fermé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. Éviter l'accumulation de charges électrostatiques. Éviter le contact avec la peau. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Informations sur les risques et la sécurité (Europe) (Attention : ces substances n'ont pas encore été testées entièrement)

La solution de Wright-Giemsa et le méthanol sont FACILEMENT INFLAMMABLES et TOXIQUES. Facilement inflammable. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Toxique : possibilité d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Conserver le récipient bien fermé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

Tampon phosphate. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

Le méthanol est FACILEMENT INFLAMMABLE et TOXIQUE. Facilement inflammable. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Toxique : possibilité d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Conserver le récipient bien fermé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

## PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément au document M29-A2 du NCCLS. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Des frottis récents de sang total ou des frottis récents préparés à partir de sang anticoagulé avec de l'EDTA doivent être utilisés. Les frottis plus épais (de moelle osseuse, par exemple) nécessitent généralement des temps de coloration plus longs.

## REMARQUES :

- Le temps de coloration peut être prolongé pour obtenir plus de détails sur les cellules. Il est possible de faire varier la couleur (colorations bleues ou rouges) en allongeant ou en réduisant le temps d'immersion dans l'eau déionisée.
- Il est déconseillé d'effectuer une coloration rapide (30 secondes) pour la moelle osseuse. Pour obtenir de bons résultats, plonger ces préparations pendant 1 à 3 minutes dans le colorant et 2 à 10 minutes dans de l'eau déionisée.
- Pour effectuer une coloration par lot, il est recommandé d'utiliser des supports de lames et de la vaisselle de type Miles Scientific pour Tissue-Tek<sup>®</sup> car ce système permet de placer les lames à la verticale.
- Il est possible de faire varier la couleur en allongeant ou en réduisant le temps d'immersion dans l'eau déionisée. Les échantillons de moelle osseuse doivent être colorés pendant 3 minutes minimum et tamponnés pendant 3 à 10 minutes.
- Les temps de coloration indiqués dans les procédures décrites ci-dessus ont donné de bons résultats dans nos laboratoires. Ces temps peuvent être ajustés en fonction des préférences de chacun.
- Le pH de l'eau déionisée recommandée pour cette procédure doit être compris entre 6,8 et 7,2. Si l'eau déionisée est plus acide que le pH 6,8, il est recommandé d'utiliser un tampon phosphate.
- Si les lames ne peuvent pas être colorées immédiatement, il est possible de les fixer dans du méthanol pendant 1 minute et de les faire sécher. Les colorer le plus rapidement possible.
- Des lames de contrôle positif doivent être incluses dans chaque essai.
- Les données obtenues par cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement à d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

## PROTOCOLE :

### I. Méthode de trempage (rapide)

- Placer environ 50 ml de colorant de Wright-Giemsa dans une jarre de Coplin.
- Remplir une autre jarre de Coplin d'eau ou de tampon phosphate.
- Placer le frottis sanguin complètement sec, le bord frangé vers le BAS, dans le colorant de Wright-Giemsa pendant environ 30 secondes. REMARQUE : Un trempage rapide de 5 à 10 secondes peut réduire les artefacts d'eau sur les frottis qui ne sont pas complètement secs.
- Retirer la lame du colorant et la placer dans de l'eau déionisée, ou dans le tampon phosphate, pH 6,8–7,2, le bord frangé vers le BAS, pendant 1 à 10 minutes environ. NE PAS AGITER LA LAME PENDANT QU'ELLE SE TROUVE DANS L'EAU DÉIONISÉE.
- Rincer rapidement sous de l'eau déionisée et laisser sécher complètement la lame à l'air libre avant de l'examiner.

### II. Méthode de coloration horizontale

- Placer le frottis sanguin complètement sec sur un support pour coloration approprié.
- Plonger la lame dans 1 à 2 ml de colorant de Wright-Giemsa.
- Au bout d'1 minute, ajouter un volume égal d'eau déionisée ou de tampon phosphate, pH 6,8–7,2, et bien mélanger en soufflant doucement sur la lame.
- Au bout d'1 à 3 minutes, bien rincer à l'aide de l'eau déionisée et laisser sécher à l'air libre.

## PERFORMANCE

Les noyaux présentent diverses nuances de violet. La coloration cytoplasmique présente diverses colorations de bleu à rose clair. De fins granules rougeâtres à lilas peuvent être présents dans le cytoplasme de certains types de cellules. Le cytoplasme des basophiles présente des granules bleu foncé à noir. Le cytoplasme des éosinophiles présente des granules orange. Les globules rouges doivent être de couleur rose à orange.<sup>1</sup>

Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le service technique Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

## RÉFÉRENCES

- Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger, Philadelphia 1993 p101

Sigma-Aldrich, Inc. garantit la conformité de ses produits avec les informations contenues dans la présente notice et dans les autres notices Sigma-Aldrich. L'utilisateur doit s'assurer que le(s) produit(s) est/sont adapté(s) à l'utilisation qu'il souhaite en faire. D'autres conditions générales peuvent s'appliquer. Voir au verso de la facture ou du bordereau de commande les conditions générales de vente et autres informations.

Protocole N° WG  
Révision précédente : 2003-09  
Révision : 2010-06



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse  
Egham TW20 9BD Royaume-Uni

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765  
Service technique : en PCV au +1 314 771 3122  
ou adresser un email à [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Pour commander : en PCV au +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH  
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Allemagne 49-7329-970