
INDICATIONS

Le système de coloration noir soudan B de Sigma-Aldrich est utilisé dans la mise en évidence histochemie des granules neutrophiles dans le sang ou la moelle osseuse. Le système de coloration noir soudan B est destiné à « un usage diagnostique in vitro ».

Plusieurs lipides, y compris les phospholipides, les graisses neutres et les stérols, sont colorés intensément par le noir soudan B. La réaction des granules neutrophiles avec le colorant a été décrite par Sheehan et Storey en 1947.¹ Le schéma de coloration noir soudan B des leucocytes est souvent équivalent à celui de la myéloperoxydase.² Les cellules soumisees avec les voies lymphoïdes présentent une coloration négative, tandis que les formes myéloïdes et monocytoides présentent des réactions positives caractéristiques. Le noir soudan B est donc considéré comme un adjuvant utile pour l'identification des leucémies myélocytaires et myélonocytaires.³

Les méthodes précédentes utilisaient la fixation des frottis sanguins par vapeur de formaldéhyde.² Cette technique peut entraîner la perte de cellules et des artefacts de coloration. La procédure Sigma-Aldrich a recours à un fixateur au glutaraldéhyde tamponné et à un délai d'incubation plus court qui produit une excellente coloration sans aucune perte ni déformation de cellules.³

RÉACTIFS

RÉACTIF DE COLORATION NOIR SOUDAN B, réf. catalogue 380-1

Noir soudan B, 0,18% (p/v), dans de l'éthanol à 69 % et contenant du phénol tamponné par phosphates.

SOLUTION D'HEMATOXYLINE, Gill N° 3, réf. catalogue GHS-3

Hématoxyline certifiée, 6 g/l, iodate de sodium, 0,6 g/l, sulfate d'aluminium, 52,8 g/l et stabilisant.

SOLUTION DE GLUTARALDEHYDE, référence n° 380-2

Glutaraldéhyde, 4 % dans un tampon borate, pH 7,6.

CONSERVATION ET STABILITÉ :

Conserver le réactif de coloration noir soudan B à température ambiante (entre 18 et 26 °C). L'étiquette du réactif porte une date de péremption.

Conserver la solution d'hématoxyline, Gill N° 3 à température ambiante (entre 18 et 26 °C), à l'abri de la lumière. L'étiquette du réactif porte une date de péremption. Filtrer avant toute utilisation. Il est recommandé de remettre le matériel dans son récipient d'origine après toute utilisation. Éliminer si la solution vire au brun (trop oxydée par l'air) ou au pourpre (perte d'acidité).

Conserver la solution de Glutaraldéhyde au réfrigérateur (2–8 °C). L'étiquette du réactif porte une date de péremption. Éliminer en cas de développement de turbidité.

La solution de fixateur de Glutaraldéhyde est stable pendant plusieurs mois si elle est conservée au réfrigérateur dans un flacon fermé hermétiquement (2–8 °C).

PRÉPARATION :

Préparer la solution du fixateur de Glutaraldéhyde en ajoutant 25 ml d'ACS ou d'acétone de qualité réactif à 75 ml de solution de Glutaraldéhyde, référence N° 380-2.

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 les dernières informations sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Informations sur les risques ou la sécurité (Etats-Unis)

Le réactif de coloration noir soudan B est INFLAMMABLE et NOCIF. Hautement inflammable. Nocif par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Nocif : risques d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, et se protéger les yeux et le visage.

La solution de Glutaraldéhyde est TOXIQUE. Nocive en cas d'ingestion. Toxique en cas d'inhalation. Irritation du système respiratoire et la peau. Risques de lésions oculaires graves. Risque de sensibilisation suite à une inhalation ou un contact dermique. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, et se protéger les yeux et le visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

La solution d'hématoxyline, Gill N° 3 est NOCIVE. Nocive en cas d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants appropriés. Organes cibles : foie et reins.

L'acétone est INFLAMMABLE et IRRITANTE. Irritation des yeux. Des expositions répétées peuvent entraîner une sécheresse cutanée ou des craquelures. Les vapeurs peuvent entraîner des somnolences et des vertiges. Conserver le récipient dans un lieu bien ventilé. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin.

Informations sur les risques ou la sécurité (Europe)

Le réactif de coloration noir soudan B est HAUTEMENT INFLAMMABLE et NOCIF. Hautement inflammable. Nocif par inhalation, en cas de contact avec la peau et en cas d'ingestion. Nocif : risques d'effets irréversibles en cas d'inhalation, de contact avec la peau et d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, et se protéger les yeux et le visage.

La solution de Glutaraldéhyde est NOCIVE. Nocive en cas d'inhalation et d'ingestion. Irritation du système respiratoire et de la peau. Risques de lésions oculaires graves. Risque de sensibilisation suite à une inhalation ou un contact dermique. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants, et se protéger les yeux et le visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter un médecin (lui montrer l'étiquette du produit si possible).

La solution d'hématoxyline, Gill N° 3 est NOCIVE. Nocive en cas d'ingestion. Irritation des yeux, de l'appareil respiratoire et de la peau. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs et des gants appropriés.

L'acétone est HAUTEMENT INFLAMMABLE et IRRITANTE. Hautement inflammable. Irritation des yeux. Des expositions répétées peuvent entraîner une sécheresse cutanée ou des craquelures. Les vapeurs peuvent entraîner des somnolences et des vertiges. Conserver le récipient dans un lieu bien ventilé. Tenir éloigné des sources d'ignition – défense de fumer. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un médecin.

PROTOCOLE

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément aux directives du Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale M29-A2. 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.

On peut utiliser des frottis de sang total ou anticoagulé ou de moelle osseuse fraîchement préparés. Les fixer dès que possible.

MATÉRIELS SPECIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :

Acétone, réactif ACS

REMARQUES :

Il est recommandé de traiter les frottis de sang provenant de donneurs sains avec les échantillons des patients pour vérifier la performance du système.

Les données obtenues avec cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement avec d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

PROTOCOLE :

1. Laisser la solution de Glutaraldéhyde refroidir au réfrigérateur (2–8 °C).
2. Les frottis des préparations de sang ou de moelle épinière sont fixés pendant 1 minute à 2–8° C par une légère agitation suivie d'un rinçage minutieux dans de l'eau déminéralisée.
3. Les immerger pendant 5 minutes dans le réactif de coloration noir soudan B, référence N° 380-1, pour les colorer, en agitant par intermittence.
4. Rincer 3 fois ou plus dans de l'éthanol à 70 % jusqu'à la disparition totale du colorant. Rincer ensuite minutieusement dans de l'eau distillée.
5. Contre-colorer dans la solution d'hématoxyline, Gill N° 3, référence N° GHS-3, pendant 5 minutes, puis rincer minutieusement sous l'eau du robinet.
6. Après avoir séché à l'air, les lames peuvent être montées sur le milieu de montage DPX pour histologie ou sur tout autre milieu de montage permanent adéquat.

PERFORMANCE

Les polynucléaires neutrophiles et leurs précurseurs montrent une granulation intracellulaire bleue noire. Les monocytes se colorent moins intensément et les lymphocytes ne se colorent pas avec le noir soudan B.

Les frottis sanguins préparés à partir de donneurs normaux ont été colorés pour le noir soudan B selon la procédure décrite et selon la méthode classique de Sheehan-Storey. Les polynucléaires neutrophiles ont montré une granulation bleue noire avec la procédure Sigma-Aldrich N° 380, et une granulation bleue noire avec la procédure de Sheehan-Storey. Dans les deux cas, les monocytes se sont colorés moins intensément et les lymphocytes n'ont montré aucune activité de la myéloperoxydase.

Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le Service Technique d'Assistance Sigma-Aldrich.

RÉFÉRENCES

1. Sheehan HL, Storey GW: An improved method of staining leukocyte granules with Sudan Black B. J Pathol Bacteriol 59:336, 1947
2. Davey FR, Nelson DA: Sudan Black B Staining. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Beutler, AJ Erslev, RW Rundles, Editors, McGraw-Hill, New York, 1977, pp 1629–1630
3. Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978

Sigma-Aldrich, Inc. garantit la conformité de ses produits aux informations contenues dans cette 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 de vente et autres informations.

Protocole N° 380
Révision précédente : 2003-03
Révision : 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 Etats-Unis +1 314 771 5765

Assistance technique : appeler en PCV au +1 314 771 3122

ou adresser un email à clintech@sial.com

Pour commander : appeler en PCV au +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Allemagne 49-7329-970