**Module : Hématologie TP 3 13/05/2018**

**Réalisation d’un frottis sanguin et Coloration MGG**

1. **Réalisation d’un frottis sanguin**

La goutte de sang doit être étalée sur une lame porte-objet. On réalise un **frottis sanguin** :

**Matériel à disposition :**

- Tube à hémolyse contenant du sang

- Pipette compte-gouttes

- Lames (2)

- Gants

- Papier essuie-tout

- Poubelle

- Feutre indélébile

**Protocole :**



|  |  |
| --- | --- |
|  1 - Homogénéiser le sang  | - Manipuler délicatement. - Attendre quelques instants après l’agitation avant d’ouvrir.  |
| 2 - Ouvrir le tube  | - Saisir le bouchon avec un papier, poser le bouchon sur le papier.  |
| 3 - Déposer une goutte de sang à 1 cm de l’extrémité de la lame (1)  | - Le mouvement doit être rapide, régulier, sans trop appuyer, en maintenant la même inclinaison.  |
| 4 - Faire glisser la seconde lame à étalement inclinée de 45° vers la goutte de sang jusqu’à la toucher (2).  |
| 5 - Laisser s’étaler la goutte de sang le long de l’arête de la lame à étalement (3).  |
| 6 - Glisser la lame en tirant ou en poussant : tout le sang doit être étalé avant d’atteindre l’autre extrémité de la lame (4).  |
| 7 - Sécher le frottis par agitation dans l’air.  | - Le séchage doit être rapide afin d’éviter que les cellules ne se rétractent.  |
| 8 - Marquer la lame au feutre, côté frottis.  |

1. **Coloration d’un frottis sanguin**

La reconnaissance des différentes cellules du sang nécessite une **coloration du frottis**, dite de **May - Grünwald - Giemsa (MGG)** :

**Matériel :**

- Votre lame de frottis

- barrettes de support

- Flacons compte-gouttes

- Papier essuie-tout

- Poubelle

- Eau distillée

- Un bécher 100 mL pour prélever de l’eau distillée au compte-gouttes

- Deux Colorants (May-Grunwald et Giemsa)

- Microscope optique - Huile à immersion.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Etapes**  | **Manipulations**  |  **Durées d’action**  |
| **1. Coloration au May - Grünwald**  | - a : Placer la lame du frottis sur les barrettes de support horizontal d’un bac de coloration. - b : Recouvrir le frottis de 15 gouttes de colorant.  |   3 minutes  |
|  | - c : Ajouter 15 gouttes d’eau distillée.  |   2 minutes  |
| **2. Coloration au Giemsa**  | - a : Eliminer le May – Grünwald sous un faible courant d’eau distillée. - b : Déposer 2 gouttes de Giemsa puis 20 gouttes d’eau distillée  |   10 minutes  |
| **3. Séchage**  | - a : Rincer par un faible jet d’eau distillée. - b : Laisser sécher la lame à l’air, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure avec du papier essuie-tout.  |  Au moins 5 minutes  |