

TP n° 4

Tissus conjonctifs- Le tissu sanguin

❖ Réalisation d'un frottis sanguin

1 Matériel et réactifs :

- Lames propres et dégraissées
- Pipette pasteur plastique
- Gants
- Produit biologique : Sang fraîchement recueilli
- Colorants : May **Grünwald** : éosinate de bleu de méthylène/ **Giemsa** : éosinate d'azur de méthylène
- Ethanol pur
- Pissette d'eau neutre
- Huile à immersion (huile de paraffine)

2 Mode opératoire :

A. Exécution du frottis

- Un échantillon de sang prélevé par piqûre au bout du doigt
- Déposer une petite goutte sur l'une des extrémités de la lame 1
- Placer la lame 2, inclinée à 45°, contre la goutte de sang, jusqu'à temps que le sang s'étale par capillarité sur l'ensemble de la largeur de la lame 2.
- Faire alors glisser la lame 2, rapidement sur toute la longueur de la lame 1 de façon à étaler le sang (**ne pas répéter l'opération plusieurs fois sur la même lame**).
- Sécher rapidement à l'air.

B. Fixation du frottis

Si vous colorez le frottis avant de l'avoir fixé, les cellules exploseront en raison du choc osmotique. Pour éviter cela, il faut fixer le frottis avant la coloration.

- Placer la lame du frottis sur un support horizontal au-dessus d'un bac de coloration.
- Verser sur la lame quelques gouttes d'éthanol de façon à recouvrir complètement le frottis.
- Laisser agir 2 à 3 minutes.
-

C. Coloration du frottis

1 - Coloration au May - Grünwald

- Verser sur la lame quelques gouttes de May-Grünwald de façon à recouvrir complètement le frottis
- Laisser agir 2 à 5 minutes.
- Egoutter le colorant puis on va ajouter le Giemsa.

2 - Coloration au Giemsa

- Verser sur la lame quelques gouttes de Giemsa de façon à recouvrir complètement le frottis
- Laisser agir 20 minutes (coloration lente).
- Rincer sous un jet d'eau neutre.
- Ne pas incliner la lame car il resterait un dépôt de colorant sur l'étalement.
- Laisser de l'eau propre sur la lame pendant 2 à 3 minutes pour obtenir une coloration différentielle.

Remarque : s'il n y a pas l'eau neutre au labo on la remplace par l'eau de robinet.

D. Séchage

Laisser égoutter l'eau et faire sécher la lame à l'air entre 10 à 20 mn, en position inclinée, après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier absorbant.

Études Cytologiques : obj.x100 à l'immersion (huile d'immersion).