

## TP n° 4

# Tissus conjonctifs- Le tissu sanguin

### ❖ Réalisation d'un frottis sanguin

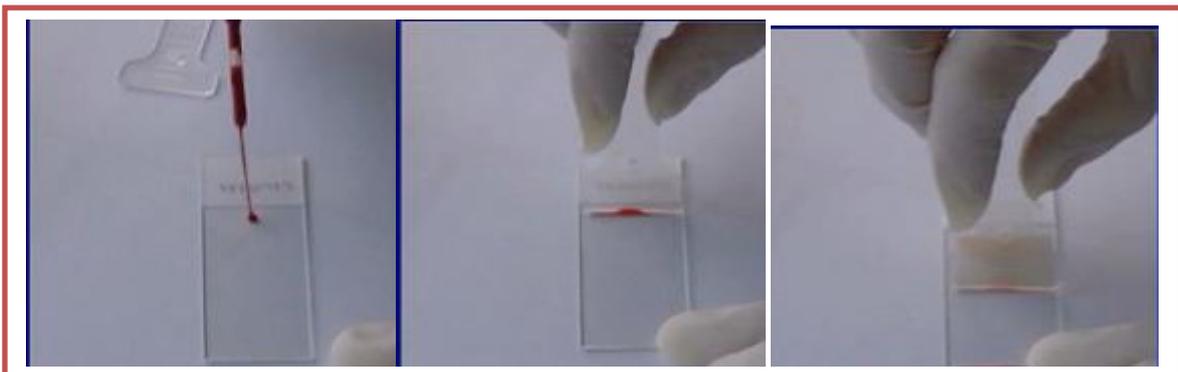
#### 1 Matériel et réactifs :

- 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).