

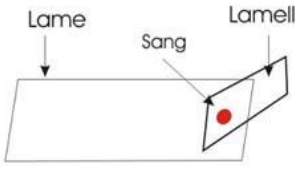
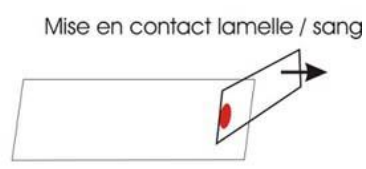

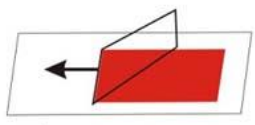
Réalisation d'un frottis sanguin

→ 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 :

Etapes	Précisions
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)	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <p style="text-align: right; font-size: small; margin-top: 5px;">R. Moreda - Lycée Docteur Lacroix - Narbonne</p>
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.	

Informations hygiène et sécurité :

Toute manipulation avec du sang humain est interdite dans le cadre de l'enseignement général. Le sang observé est donc du sang animal. Le risque biologique lié à sa manipulation est considéré comme nul. Quels **dangers potentiels liés à la manipulation de sang humain** identifiez-vous ?



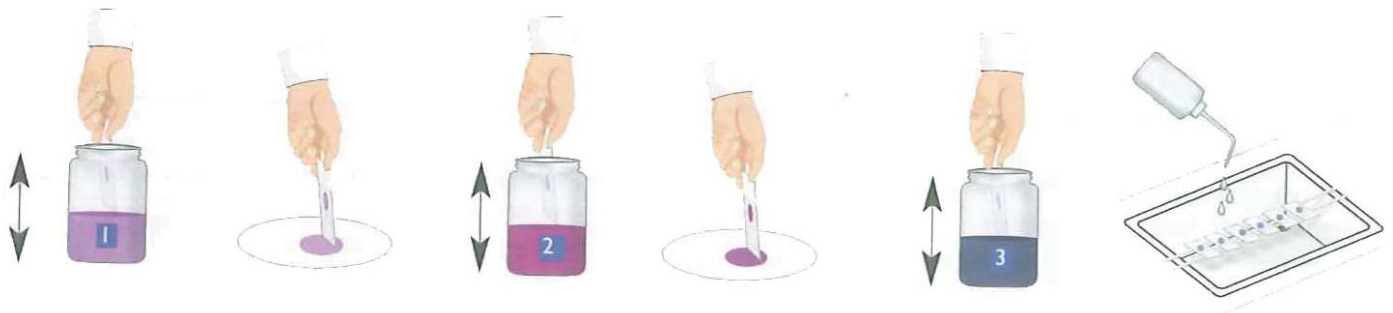
Coloration d'un frottis sanguin

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

Matériel :

- Votre lame de frottis
- Bac de coloration inox + 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
- Colorants (2 ou 3 flacons selon les cas, voir ci-dessous)
- Cristalliseur, pour la récupération des eaux de rinçage

Cas n°1 : Si batterie de 3 colorants (kit Sordalab) :



5 x 1 seconde
puis

Egoutter

5 x 1 seconde

Egoutter

5 x 1 seconde Laver rapidement,

laisser sécher à l'air

Cas n° 2 : Si batterie de 2 colorants :

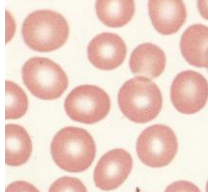


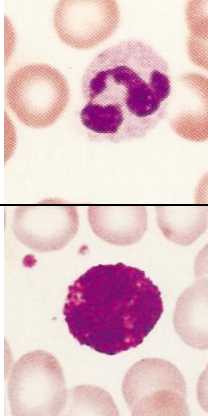
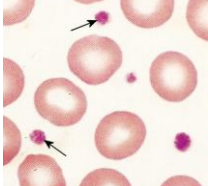
Étapes	Manipulations	Durées d'action
1 - Coloration au May - Grünwald	- a : Placer la lame du frottis sur les barrettes de support horizontal d'un bac de coloration. - b : Recouvrir le frottis de 15 gouttes de colorant.	3 minutes
2 - Coloration au May – Grünwald (suite)	- c : Ajouter 15 gouttes d'eau distillée.	2 minutes
3 - 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
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

Résultats au microscope, x 100 et x 400 :

→ Si la préparation est réussie, les cellules sont bien séparées, les cytoplasmes non rétractés, et les colorations suivantes apparaissent :

Noyaux :	chromatine :	pourpre ± dense
Polynucléaires :	cytoplasme sans ARN :	rosé léger
	granulations éosinophiles :	brun-orangé
	granulations basophiles :	bleu violacé foncé
	granulations neutrophiles :	pourpre ± intense
Lymphocytes :	cytoplasme avec ARN :	bleu franc
	cytoplasme sans ARN :	bleu clair
	granulations azurophiles :	rouge
Monocytes :	cytoplasme :	bleu-gris
Hématies :		rouge clair
Plaquettes :	chromomère :	rouge-violacé
	hyalomère :	bleuté

Les éléments figurés du sang

NOM (Diamètre) <i>Nombre par mm³</i>	Aspect au microscope optique après coloration	Particularités	Rôle(s)	
HEMATIES (6 à 7 µm) 4 à 5 millions		Cellules : - sans noyau - en forme de disques biconcaves - colorées en rose par l'hémoglobine	Transport des gaz respiratoires	
LEUCOCYTES	LYMPHOCYTES (6 à 8 µm) 1 500 à 2 000		Cellules : - à gros noyau sphérique et très colorable - sans granulations cytoplasmiques.	Défense et immunité de l'organisme
	MONOCYTES (15 à 30 µm) 300 à 600		Cellules : - à noyau clair en forme de haricot - à cytoplasme sans granulations.	
	GRANULOCYTES Neutrophiles, Acidophiles et Basophiles (10 à 15 µm) 4 500 à 5 500		Cellules : - à noyau plurilobé - à cytoplasme contenant de nombreuses granulations parfois très colorées et masquant le noyau.	
PLAQUETTES (2 à 3 µm) 300 000		Ce ne sont pas des cellules mais des fragments cellulaires sans noyau.	Coagulation	