

TP 3 Préparation d'un Frottis

Objectif du TP :

Préparation des frottis et observation sous microscope.

Evaluation de l'activité anti-hémolytique sur frottis sanguins

- **Principe**

Le frottis sanguin a pour but d'observer les cellules sanguines, après étalement d'une goutte de sang sur une lame en verre. Cette technique permet une étude morphologique des cellules du sang et de visualiser le phénomène de l'hémolyse afin de pouvoir l'évaluer qualitativement sous microscope optique.

- **Protocole expérimentale**

La préparation des frottis sanguins a été réalisée selon les étapes résumées ci-dessous :

1/ La fixation

Après avoir bien nettoyé les lames avec du xylène, une goutte de la préparation sanguine à 5% a été déposée à l'extrémité de chaque lame étiquetée.

La goutte est étalée puis le frottis est laissé sécher à l'air libre pendant 12 h.

Une étape de fixation a été réalisée avec du méthanol pendant 10 min puis les lames ont été séchées.

2/ Coloration Wright

- ✓ La reconnaissance des différentes cellules du sang nécessite une coloration du frottis par des réactifs colorants de wright et Giemsa.
- ✓ Après avoir placé la lame du frottis sur les barrettes de support horizontal, les frottis étaient recouverts par 10 gouttes de colorant Wright pendant 2 min.
- ✓ 10 gouttes d'eau distillée ont été ajoutées pendant 2 minutes pour diluer le colorant.
- ✓ L'excès du colorant est rincé sous un faible courant d'eau distillée.

3/ Coloration Giemsa

- ✓ Dépôt de 5 gouttes de colorant Giemsa pendant 2 minutes puis rincé avec l'eau distillée.
- ✓ La lame est laissée sécher à l'air libre en position inclinée.

4/ L'observation

- ✓ Les observations ont été effectuées sous microscope optique allant de grossissement X3 à X10 à X40 jusqu'à X100 et c'est avec ce dernier que les photos du frotti ont été prises.