

Objectifs/Innovation

- La coloration des frottis médullaires (FM) au May Grünwald-Giemsa (MGG) est l'étape pré-analytique indispensable à l'analyse du myélogramme. A ce jour, il n'existe pas de **protocole de coloration standardisé** pour les FM ni de colorateur recommandé.
- L'objectif est de valider la coloration des FM sur le nouvel **étaleur-colorateur SP-50®** (Sysmex) utilisé dans de nombreux laboratoires pour la coloration des frottis sanguins (FS).

Matériels

- Colorateur SP-50® (Sysmex)
- Colorants MGG RAL
- Lames à bords rodés (Sysmex)



Méthodes

- Optimisation** du protocole sur FM « normaux » (rémission cytologique, cytopénies périphériques...) en ajustant les temps de coloration et le nombre de rinçages
- Validation** sur FM pathologiques (envahissements médullaires, myélodysplasies, aplasie...).

Tableau 1 : Affinités tinctoriales des constituants cellulaires pour le MGG

Noyau : violet	hématies : beige rosé			
Condensation chromatine	Éléments matures : Condensée	Chromatine intermédiaire	Éléments immatures : décondensée	
Cytoplasme	Acidophile : rose	Basophile : bleu	Monocytes : gris	
Granulations	Neutrophiles violettes	éosinophiles : orange	Basophiles : violet foncé	

Résultats

Tableau 2: Protocoles de coloration utilisés sur le colorateur SP-50® (Sysmex)

Protocoles sélectionnés	Protocole sang	Protocole moelle 1	Protocole moelle 2
May-Grünwald pur	3min 12sec	3min 36sec	3min 12sec
May-Grünwald 1/10*	3min 12sec	3min 12sec	3min 12sec
Giemsa 1/25*	6min 48sec	6min 48sec	6min 24sec
Rinçage	1	1	1
Séchage	3min 12sec	3min 12sec	3min 12sec

- Sur les 18 protocoles testés sur FM normaux, tous ne satisfont pas à la coloration des granulations (8), des cytoplasmes (9) et/ou des noyaux (7).
- Les 3 protocoles les plus satisfaisants ont été sélectionnés (Tableau 2).
- Les principaux problèmes rencontrés sont la mauvaise **coloration des granulations** et une **basophilie** trop marquée des cytoplasmes, ne satisfaisant pas aux critères de reconnaissance cellulaires définis (Tableau 1 et 3).
- De plus, les colorations ne sont **pas reproductibles** en fonction de la cellularité du FM (Tableau 3).

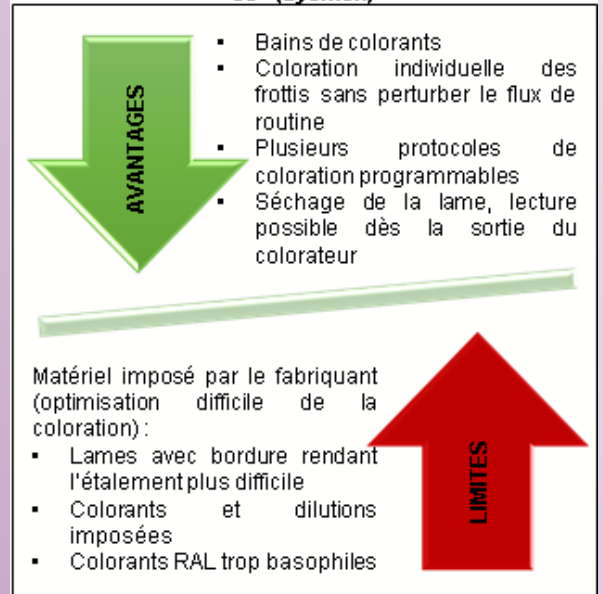
Tableau 3 : Frottis médullaires colorés au MGG (x100)

✓ = coloration satisfaisante ; ✗ = non satisfaisante selon les critères définis

Lignées cellulaires	Cellularité			
	Moelle pauvre	Moelle de richesse moyenne	Moelle riche	Moelle hyperplasique
Méga-caryocytaire	✓	✓	✗	✗
Erythroïde	✓	✓	✗	✗
Granuleuse	✓	✓	✗	✗
	✓	✓	✗	✗

Discussion/Conclusion

Figure 1 : Avantages et limites du colorateur SP-50® (Sysmex)



- Des colorateurs différents pour les FS et FM sont souvent utilisés au sein des laboratoires pour parer aux problèmes techniques (matrice, cellularité) ou organisationnels. L'utilisation d'un unique colorateur permettrait de **réduire le coût de maintenance, faciliter la gestion de réactifs, diminuer la consommation et les déchets engendrés.**
- A ce jour, aucun protocole de coloration des FM sur le colorateur SP-50® (Sysmex) ne nous satisfait pleinement. De nouveaux tests sont en cours afin de standardiser la coloration, quelle que soit la richesse médullaire.