RAL DIFF-QUIK™ EZ KIT (3x100 ml) RÉF.: 720550-0000 RAL DIFF-OUIKTM KIT $(3x \ 0.5L)$ RÉF.: 720555-0000

KIT DE COLORATION RAPIDE

Principe:

Le kit RAL Diff-Quik est une variation rapide de la coloration de Romanowsky. En milieu tamponné aqueux, ce kit permet :

- · Une coloration différentielle des frottis sanguins (numération globulaire différentielle, étude morphologique des leucocytes, étude de parasites) et médullaires (myélogrammes)
- · La recherche de parasites tissulaires et sanguicoles en mycologie médicale et vétérinaire
- · L'étude cytologique et structurelle de coupes de tissus fixés et enrobés de paraffine ainsi que de fluides et ponctions
- · L'étude cytologique des urines, du liquide rachidien et d'autres liquides

L'analyse des frottis est identique à celle réalisée avec la coloration de Romanowsky classique.

Description du kit : (3 x 100 ml ou 3 x 500 ml)

Flacon 1 : RAL Diff-Quiktm Fixative Solution	100 ml ou 500 ml
Flacon 2 : RAL Diff-Quiktm Solution I	100 ml ou 500 ml
Flacon 3: RAL Diff-Quiktm Solution II	100 ml ou 500 ml

Nombre de tests réalisables : 100 à 200 lames pour 3 x 100 ml

800 à 1000 lames pour 3 x 500 ml

Recharges disponibles :

RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (1x 2.5 L) RÉF.: 720560-2500 RAL Diff-Ouiktm Solution I (1x 2.5 L RÉF.: 720570-2500 RAL Diff-Quiktm Solution II (1x 2.5 L) RÉF.: 720580-2500

Utilisation:

Produit destiné à un usage strictement professionnel.

Usage pour diagnostic in vitro. IVD

L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par des entreprises spécialisées et agréées.

Température de conservation : 15-25 °C à l'abri de la lumière.

Durée de vie après ouverture : 2 moins (pour le kit EZ uniquement, consulter les notes)

Préparation des échantillons :

Traiter les échantillons conformément aux procédures en vigueur dans le laboratoire et promulguées par les autorités compétentes au niveau national.

Traitement des échantillons :

Plasmodium: frottis sanguins épais

Temps de réalisation d'un test : 7 secondes

- · Prélever 2 µl de sang d'un tube EDTA et déposer la goutte au centre d'une lame
- Étaler la goutte avec le coin d'une autre lame de sorte à former un cercle
- · Laisser sécher pendant 20 minutes à l'air ambiant ou 5 minutes dans un incubateur ou 2 minutes avec un sèche-cheveux
- · Recouvrir la goutte avec très peu d'eau du robinet pour l'hémolyser
- · Après la dispersion de l'hémoglobine, incliner tout simplement la lame pour éliminer l'eau rouge
- · Rincer la goutte très délicatement avec de l'eau du robinet
- · La goutte prend alors une apparence blanchâtre

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Selon l'épaisseur du frottis, il peut s'avérer nécessaire d'augmenter le temps de fixation

Les structures pariétales des formes fongiques et kystiques du Pneumocystis carinii ne se colorent pas et apparaissent tel un léger halo.

Avec le kit 3 x 100 ml, l'utilisation de flacons à col large permet de procéder à la coloration des lames directement dans le flacon. Cette méthode, qui évite le transfert de solutions, réduit le risque d'évaporation et d'oxydation par l'air.

Conserver impérativement les 3 flacons à l'abri de la lumière.



RAL DIFF-QUIK™ EZ KIT (3x100 ml) RAL DIFF-OUIK™ KIT (3x 0.5L)

KIT DE COLORATION RAPIDE

(Le flacon 1) contient du méthanol qui est très hygroscopique et doit donc être renouvelé régulièrement, notamment dans les pays avec un taux d'hygrométrie élevé). Le degré d'oxydation de la RAL Diff-Quiktm Solution II est normalisé lors de la fabrication.

Ce degré varie au fil du temps et lors du transfert de petites quantités de RAL Diff-Quiktm Solution I d'un flacon à un autre. Il est donc très important d'égoutter l'excédent de RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 2) avant de plonger la lame dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3). La RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 2) peut présenter une couleur plus ou moins sombre, mais cela n'affecte en rien les résultats de la coloration. La RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3) a une stabilité de 2 mois après ouverture.

Bibliographie:

DATRY A., LECSO G., RICHARD-LENOBLE D. et KOMBILA M., Coloration rapide des plasmodies et des microfilaires par les colorants solubles dans l'eau, Med. Trop., vol 42, n°6, nov-déc 1982, p.673-675.

JASWANT SINGH, BHATTACHARJI L. M., Rapid staining of malarial parasites by a water soluble stain, The Ind. Med. Gaz., n°3, mars 1944, p. 102-104.

BOURÉE P., Aide mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale, Médecine-Sciences, Flammarion, 2 ème éd., 1994, p. 294-295.

PRAT J.J., BROULAND J-Ph., MIKOL J., Une alternative à la coloration de Giemsa sur coupe histologique (Service Anatomie et Cytologie Pathologiques - Hôpital Lariboisière), Assises d'Anatomie Pathologiques, 23-24 mars 1955, p. 44.

BROULAND J.P., PRAT J.J., CASTAGNET P., Méthode rapide de coloration pour la mise en évidence de Hélicobacter pylori (Service Anatomie et Cytologie Pathologiques - Hôpital Lariboisière). Assises d'Anatomie Pathologique, 23-24 mars 1995, p.211.

Procédures de coloration :

Hématologie: frottis sanguins

Temps de réalisation d'un test : 15 secondes

- · Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1).
- · Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre. · Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la RAL Diff-Ouiktm Solution I (flacon

).
- · Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- · Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- · Rincer la lame à l'eau distillée.

Hématologie : moelle osseuse Temps de réalisation d'un test : 3 minutes

 Plonger la lame 1 minute dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1).

RÉF.: 720550-0000

RÉF.: 720555-0000

- Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre. Plonger la lame 1 minute dans la RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 2).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre. Plonger la lame 1 minute dans la RAL Diff-Ouiktin
- Solution II (flacon 3). Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- · Rincer la lame à l'eau distillée.

Cytologie: spermocytogrammes

Temps de réalisation d'un test : 1 minute et 20 secondes

- · Plonger la lame 1 minute dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1).
- · Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre. · Plonger la lame 25 secondes dans la RAL Diff-
- Qujktm Solution I (flacon 2). · Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- · Plonger la lame 25 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- · Rincer la lame à l'eau distillée.

Cytobactériologie : cytologie des liquides biologiques, des urines, des cytoponctions

Temps de réalisation d'un test : **15 secondes** (1 minute et 4 secondes pour

- Plonger la lame 5 secondes (1 minute pour le LCR) dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution
- (flacon 1). · Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- Plonger la lame 5 secondes (2x1 seconde pour
- le LCR) dans la RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 2). Égoutter l'excédent de solution sur du papier filtre.
- Plonger la lame 5 secondes (2x1 seconde pour le LCR) dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- · Rincer la lame à l'eau distillée.

et du LCR





NOTICE D'UTILISATION

robés de paraffine

- Déparaffiner, puis hydrater la coupe.
- · Plonger la lame 5 secondes dans la RAL Diff-Quiktr Solution I (flacon a).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier ab- Diff-Quikt Fixative Solution (flacon 1).
- Plonger la lame 7 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon a).
- · Rincer pendant quelques secondes.
- condes jusqu'à l'obtention de la coloration souhaitée.
- · Arrêter la différenciation par immersion de la lame dans de l'isopropanol.
- de toluène ou de xylène.

Parasitologie: Plasmodium par frottis sanguins épais

Temps de réalisation d'un test : 7 secondes 4 secondes Plonger la lame 1 seconde dans la solution RAL Plonger la lame 1 minute dans la solution RAL

- Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1).
- sorbant. · Plonger la lame 3 x 1 seconde dans la RAL Diff- · Plonger la lame 2 x 1 seconde dans la RAL Diff-
- Quiktm Solution I (flacon 2). Rincer la lame très délicatement à l'eau distillée.
- · Plonger la lame 3 x 1 seconde dans la RAL Diff-sorbant. Quiktm Solution II (flacon 3).
- Rincer la lame très délicatement à l'eau distillée.

Parasitologie: protozoaires tissulaires (Leishmania, Toxoplasma, Microsporidies), Cryptosporidium, Pneumocystis carinii et champignons responsables de mycoses profondes

Temps de réalisation d'un test : 2 minutes et 5 secondes

- · Plonger la lame 1 seconde dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1). · Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant.
- · Plonger la lame 25 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 2).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant. Plonger la lame 40 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- Rincer rapidement la lame à l'eau distillée.

Parasitologie vétérinaire (Piroplasmosis, M. pachydermatis)

Temps de réalisation d'un test : 15 secondes et 15 secondes

- RAL Diff-Ouiktm Fixative Solution (flacon 1)
- Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la RAL Diff-
- Quiktm Solution I (flacon 2). Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant.
- Ouiktm Solution II (flacon 3).
- · Rincer rapidement la lame à l'eau distillée.

Microfilaires

Temps de réalisation d'un test : 30 à 40 secondes

- · Plonger la lame 10 x 1 seconde dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant. Plonger la lame 10 x 1 seconde dans la RAL Diff-
- Quiktm Solution I (flacon 2). Égoutter l'excèdent de solution sur du papier absorbant.
- · Plonger la lame 10 à 20 x 1 seconde dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- Rincer rapidement la lame à l'eau distillée.

Cytologie des coupes de tissus fixés et en-Cytologie des ponctions (du sein et des organes profonds), des liquides d'effusion de la Temps de réalisation d'un test : 13 secondes membrane séreuse (plèvre, péritoine, etc.)

Temps de réalisation d'un test : 15 secondes

- Faire un frottis
- Plonger la lame 5 secondes dans la solution RAL
- · Égoutter l'excédent de solution sur du papier ab-
- Plonger la lame 5 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 9).
- · Agiter la lame dans de l'éthanol à 90° pendant 1 à 2 se | · Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant
 - · Plonger la lame 5 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- · Monter la lame avec un milieu de montage à base | · Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant.

Parasitologie : Plasmodium par étalement de sang

Temps de réalisation d'un test : 1 minute et

- Diff-Quiktm Fixative (flacon 1)
- sorbant
- Quiktm Solution I (flacon 2).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier ab-
- Plonger la lame 2 x 1 seconde dans la RAL Diff-Ouiktm Solution II (flacon 3).
- Rincer rapidement la lame à l'eau distillée.

Histocytologie:

Temps de réalisation d'un test : 15 secondes

- Faire un frottis
- Plonger la lame 5 secondes dans la solution RAL Diff-Quiktm Fixative Solution (flacon 1)
- · Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant.
- Plonger la lame 5 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution I (flacon 9).
- Égoutter l'excèdent de solution sur du papier absorbant
- Plonger la lame 5 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant.

Trichomonas

Temps de réalisation d'un test : 2 minutes

- · Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la solution · Plonger la lame 15 secondes dans la solution RAL Diff-Ouiktm Fixative Solution (flacon 1)
- · Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant. · Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant. Plonger la lame 1 minute dans la RAL Diff-Quik^{tn} Solution I (flacon 9).
- Égoutter l'excédent de solution sur du papier absorbant. · Plonger la lame 5 x 1 seconde dans la RAL Diff- · Plonger la lame 1 minute dans la RAL Diff-Quik™ Solution II (flacon 3).
 - · Rincer rapidement la lame à l'eau distillée.

Histologie : Détection de l'Helicobacter pylori

- · Déparaffiner, puis hydrater la coupe.
- Plonger et agiter la lame 7 secondes dans la RAL
- Diff-Quiktm Solution I (flacon 2). Plonger et agiter la lame 5 secondes dans la RAL Diff-Quiktm Solution II (flacon 3).
- · Rincer la lame à l'eau courante et la sécher sur du papier-filtre.
- · Plonger et agiter la lame 10 secondes dans de l'alcool à 90°.
- Arrêter la différenciation par immersion de la lame dans de l'alcool absolu.
- Plonger les lames dans 2 bains de xylène ou de toluène. Monter la lame avec un milieu de montage à base
- de toluène ou de xylène.

Exemple de frottis sanguin :











5X1 s



5X1 s

Égoutter

5X1 s

Égoutter

Rincer

Résultats : Frottis sanguin

Noyaux: chromatine : pourpre ± dense cytoplasme sans ARN: rosé léger Leucocytes:

> 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

rouge clair **Erythrocytes:**

Plaquettes: chromomère : rouge pourpre

hvalomère : bleuté

Parasites sanguicoles: noyaux : rouge (plasmodium) cytoplasme: bleu

Parasitologie et mycologie

Cytoplasme des cellules eucaryotes hôtes fongiques ou parasites : bleu plus ou moins bleu foncé selon la richesse ribosomique.

Noyaux : rouge pourpre

Helicobacter pylori sur coupes histologiques

Helicobacter pylori: bleu foncé Noyaux: bleu

Cytoplasmes: du rose au rouge Collagène: rose très pâle

Histocytologie

Noyaux: rouge violet

Cytoplasmes

acidophiles: rose basophiles: bleu Collagène: rose pâle Érythrocytes: beige

RAL DIFF-QUIK™ FIXATIVE SOLUTION - 720560-0100 -0500

-2500







CONT CH3 OH

DANGER. H225 Liquide et vapeurs très inflammables. H311 Toxique par contact cutané. H301 Toxique en cas d'ingestion. H331 Toxique par inhalation. H370 Risque avéré d'effets graves pour les organes. P202 Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité. P233 Maintenir le récipient fermé de manière étanche. P281 Utiliser l'équipement de protection individuel requis. P304+P340 EN CAS D'INHALATION: transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. P309+P311 EN CAS d'exposition ou de malaise: appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

RAL DIFF-QUIK™ SOLUTION I - 720570-0100

-2500



5-Chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one/ 2-methyl-2H-isothiazol-3-one

ATTENTION. H317 Peut provoquer une allergie cutanée. P333+P313 En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

RAL DIFF-QUIK™ SOLUTION II - 720580-0100

-0500 -2500





