

IDEXX

Préparation des lames pour
IDEXX Digital Cytology*



Le nombre et les types de lames que vous devrez préparer varient en fonction du type d'échantillon :

Type d'échantillon	Préparation des lames et flux de travail requis
Aspiration à l'aiguille fine	Préparez 2 frottis directs.
Sang	Analysez l'échantillon sur un analyseur d'hématologie IDEXX en clinique. Préparez 2 frottis sanguins.
Effusion corporelle et liquide articulaire	Mesurer les protéines avec un réfractomètre et analyser sur un analyseur d'hématologie IDEXX en clinique en spécifiant le type d'échantillon. Préparez 1 frottis direct. Préparez 1 frottis arrêté formant une ligne (non concentré).
Lavage trachéal ou lavage broncho-alvéolaire	Si du matériel flocculant est présent, préparer 1 frottis direct et 1 frottis de matériel flocculant écrasé. En l'absence de matériel flocculant, préparer 1 frottis direct et 1 frottis arrêté formant une ligne (non concentré).
Sédiments urinaires	Préparez 1 frottis direct. Préparez 1 frottis arrêté formant une ligne (non concentré).

Conseils pour la soumission digitale des lames

Lors de la sélection des lames à numériser, veillez à :

- Inspectez visuellement les lames sous un bon éclairage, sans microscope.
- Évaluez les lames colorées au microscope. Les meilleurs frottis contiennent du matériel cellulaire visible à faible puissance ($4\times$ et $10\times$) et une majorité de cellules intactes lorsqu'elles sont observées à un grossissement plus élevé ($10\times$ à $20\times$).

Important : lors de la préparation des lames, n'oubliez pas:

- D'étiqueter chacune des lames avec le nom, la date, la source et le type de préparation de la lame.
- De sauvegarder l'échantillon et toutes les lames colorées soumises numériquement pendant 2 semaines.
- De conserver 1 à 2 lames non colorées supplémentaires au cas où des analyses supplémentaires seraient recommandées.

Besoin d'aide pour la préparation des échantillons?

Regardez les vidéos disponibles sur [idexxlearningcenter.com](https://www.idexxlearningcenter.com).

Préparation des frottis d'aspiration à l'aiguille fine (2 frottis directs recommandés)

Masses cutanées/sous-cutanées, noeuds lymphatiques et organes internes

Remarque : Il est important de sélectionner la dimension d'aiguille optimale, car les aiguilles de petite dimension peuvent provoquer une lyse cellulaire accrue et les aiguilles de grande dimension peuvent introduire un excès de sang. Les aiguilles de calibre 22 fonctionnent bien pour la plupart des types de tissus.

Technique pour aspiration à l'aiguille fine :

1. Immobilisez la lésion d'une main tout en introduisant une aiguille munie d'une seringue.
2. Prélevez l'échantillon dans la seringue en tirant le piston de la seringue avec une pression négative.
3. Relâchez la pression négative et ensuite, retirez l'aiguille.
4. Retirez l'aiguille de la seringue, faites entrer de l'air dans la seringue, puis rattachiez l'aiguille.
5. Évacuez le matériel cellulaire sur 2 lames.
6. Après l'application de l'échantillon sur une lame, superposez une autre lame, en position perpendiculaire l'une de l'autre. Sans ajouter de pression, tirez la lame du dessus sur toute la longueur de la lame du bas avec une pression uniforme pour l'étaler.
7. Laissez la lame sécher à l'air libre ou utilisez un ventilateur (sans chaleur) pour éviter des artefacts de séchage.
8. Colorez les lames et laissez-les sécher à l'air libre ou utilisez le mode « frais » du ventilateur. Pour en savoir plus, consultez le tapis *Comment colorer les lames pour IDEXX Digital Cytology**.



Technique à l'aiguille fine sans aspiration :

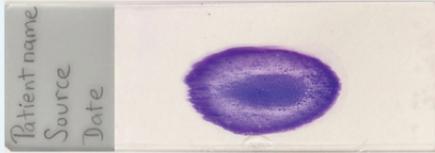
1. Immobilisez la lésion d'une main tout en introduisant une aiguille.
 2. Une fois dans la lésion, faites monter et descendre l'aiguille plusieurs fois à un angle et dans la même voie de l'aiguille pour prélever le matériel de la lésion.
 3. Faites entrer de l'air dans la seringue, puis attachez l'aiguille à la seringue.
 4. Évacuez le matériel sur 2 lames en utilisant l'air dans la seringue.
 5. Après l'application de l'échantillon sur une lame, superposez une autre lame, en position perpendiculaire l'une de l'autre. Avec une pression légère et uniforme, tirez la lame du dessus sur toute la longueur de la lame du bas pour l'étaler.
-
6. Laissez la lame sécher à l'air libre ou utilisez un ventilateur (sans chaleur) pour éviter des artefacts de séchage.
 7. Colorez les lames et laissez-les sécher à l'air libre en utilisant le mode « frais » du ventilateur. Pour en savoir plus, consultez le tapis *Comment colorer les lames pour IDEXX Digital Cytology**.

Sélection des lames d'aspiration à l'aiguille fine à numériser

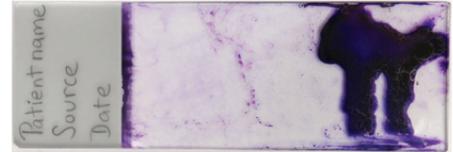
Ce qu'il faut chercher

À éviter

Inspection visuelle des lames

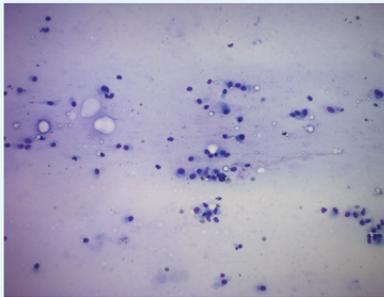


La lame contient du matériel visible (généralement bleu) / l'échantillon est répandu sur la lame

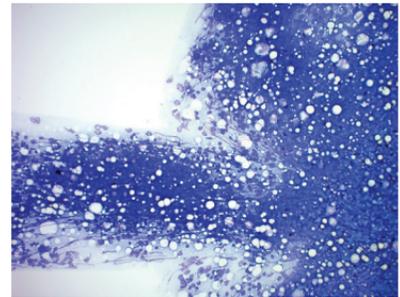


Principalement des gouttelettes de sang ou de matériel épais, ou du matériel sur le côté opposé du bord dépoli de la lame.

Inspection au microscope (Objectif 4x, 10x ou 20x)



Cellules intactes et couches de cellules de l'épaisseur d'une cellule avec un bon contraste de couleur des cellules



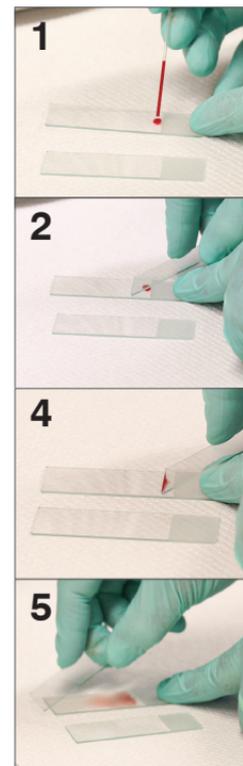
Prédominance de cellules lysées, trop roses ou pâles

Préparation des lames de frottis sanguin (2 frottis sanguins recommandés)

Préparez un frottis sanguin avec du sang frais (<24 heures). La détérioration de l'échantillon se produit lors d'un stockage prolongé.

Technique de frottis sanguin

1. Placez une petite goutte de sang frais anticoagulé et bien mélangé sur une lame de verre propre à environ 2 cm d'une des extrémités de la lame.
2. Placez une lame d'étalement propre devant la goutte de sang à un angle d'environ 30 degrés de la lame.
3. Faites glisser la lame d'étalement vers la goutte de sang.
4. Laissez le sang s'étaler entre les deux lames jusqu'à ce qu'il couvre $\frac{3}{4}$ de la largeur de la lame (cela devrait se faire rapidement).
5. Avec un mouvement régulier et homogène, tirez la lame d'étalement sur toute longueur de la lame du frottis sanguin, en gardant le même angle sans soulever la lame d'étalement. Le sang de la goutte suivra la lame d'étalement, tout en laissant une fine pellicule sur l'autre lame. Le frottis sanguin devrait mesurer entre 3 et 4 cm et avoir la forme d'un pouce.
6. Laissez la lame du frottis sanguin sécher à l'air libre ou utilisez un ventilateur (sans chaleur) pour éviter des artéfacts de séchage.
7. Colorez les lames et laissez-les sécher à l'air libre ou utilisez le mode « frais » du ventilateur. Pour en savoir plus, consultez le tapis *Comment colorer les lames pour IDEXX Digital Cytology**.

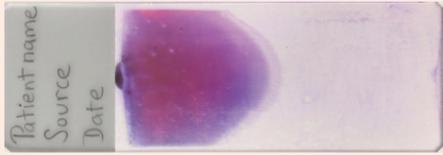


Sélection des lames de frottis sanguin à numériser

Ce qu'il faut chercher

À éviter

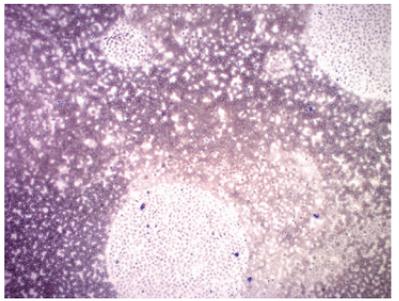
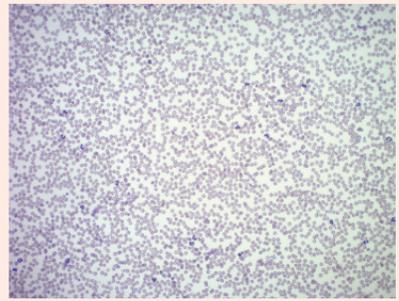
Inspection visuelle des lames



Une apparence d'un pouce et présence d'un bord en forme de plume.

Coloration inégale, forme de plume incomplète et asymétrique

Inspection au microscope (Objectif 4x, 10x ou 20x)



Présence d'une monocouche, absence ou peu de dépôts de colorant

Échantillon de plus de 48 heures, frottis inégal, cellules lysées

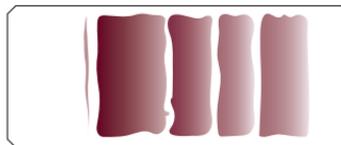
Dépannage des frottis sanguins



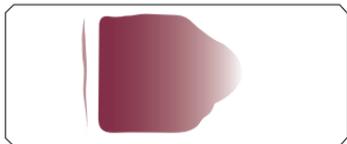
Assurez-vous qu'il y a un bord en forme de plume.



N'utilisez pas une lame d'étalement sale ou ébréchée.



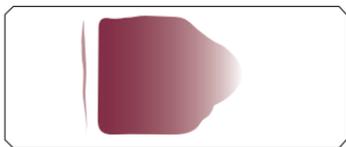
N'hésitez pas avec la lame d'étalement.



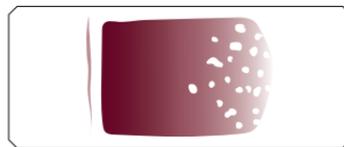
N'allez pas trop vite.



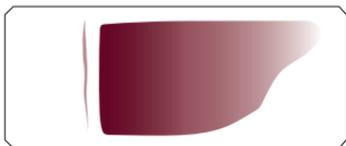
N'utilisez pas une goutte de sang trop petite.



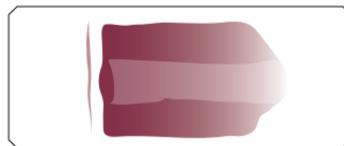
N'étez **pas** trop rapidement pour permettre au sang de se répandre sur la lame d'étalement.



N'utilisez **pas** de lames contaminées par de la poussière ou du gras ou des échantillons avec un taux élevé de lipides.



N'exercez **pas** de pression inégale sur la lame d'étalement.



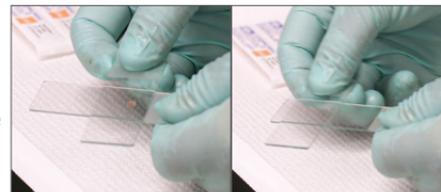
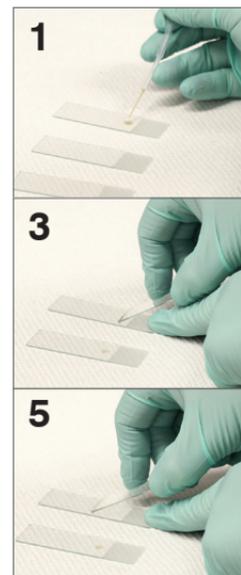
Ne laissez **pas** la goutte de sang commencer à sécher (évités les retards).

Préparation des lames de fluides (1 frottis direct et 1 frottis arrêté formant une ligne (concentrée))

Effusion de cavités corporelles, lavage broncho-alvéolaire (LBA) / lavage trachéal ou liquide articulaire :

IMPORTANT : Mesurer les protéines avec un réfractomètre et mettre l'échantillon dans l'analyseur d'hématologie en utilisant le réglage approprié pour ce type d'échantillon. Préparer un frottis direct et un frottis arrêté formant une ligne (non concentrée). Lors de la création d'une demande pour des échantillons de fluide, précisez la couleur, la limpidité et les protéines totales au moment de l'envoi du test.

- Si l'échantillon présente une faible cellularité ou si des agents infectieux sont soupçonnés, un frottis arrêté supplémentaire peut être préparé pour améliorer l'évaluation cytologique :
 1. Placez une goutte de fluide non concentré et bien mélangé sur une lame de verre propre.
 2. Placez une lame d'étalement propre devant la goutte de liquide/urine à un angle d'environ 30 à 40 degrés de la lame d'échantillon.
 3. Faites glisser la lame d'étalement vers la goutte, ce qui permettra au matériel de s'étaler sur le bord de la lame d'étalement.
 4. Faites glisser la lame d'étalement dans l'extrémité de la lame d'échantillon en gardant le contact entre les deux lames.
 5. Arrivé au milieu de la lame, arrêtez brusquement l'étalement de l'échantillon et soulevez la lame d'étalement pour former une ligne de matériel.
 6. Laissez le frottis sécher à l'air libre ou utilisez un ventilateur (sans chaleur) pour éviter des artefacts de séchage.
 7. Colorez les lames et laissez-les sécher à l'air libre ou utilisez le mode « frais » du ventilateur. Pour en savoir plus, consultez le tapis *Comment colorer les lames pour IDEXX Digital Cytology**.
- Préparations supplémentaires : si du matériel floculant est présent, prélever une partie de ce matériel et préparer une lame supplémentaire en utilisant la technique de frottis décrite pour les échantillons de cytologie.
- Pour les échantillons à forte teneur en sang, une couche leucocytaire (buffy coat) peut être soumise en plus d'un frottis direct.



Sélection des lames de fluides à numériser

Ce qu'il faut chercher

À éviter

Inspection visuelle des lames

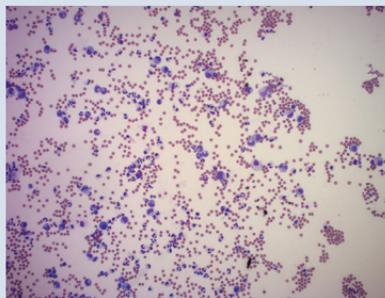


Frottis mince d'échantillon avec une ligne de matériel cellulaire visible

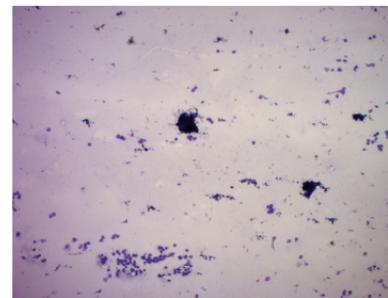


Gouttelettes d'échantillon (mauvais étalement)

Inspection au microscope (Objectif 4×, 10× ou 20×)



Bon contraste de couleur des cellules, cellules intactes, distribution uniforme des cellules (frottis direct) et dépôts de colorant minimes



Dépôts de colorant, artefacts de séchage (cellules floues) et cellules lysées

Préparation des lames de sédiments urinaires (1 frottis direct et 1 frottis arrêté formant une ligne (sédiment))

1. Remplissez un tube de centrifugation de 5 ml d'urine fraîche et bien mélangée, puis centrifugez le tube selon les réglages destinés aux échantillons d'urine (ou $400 \times g$). Si votre centrifugeuse n'a pas de réglages destinés aux échantillons d'urine, consultez le manuel de l'utilisateur pour connaître les réglages et les temps de centrifugation.
2. Aspirez doucement le surnageant jusqu'au culot, en laissant une très petite quantité d'urine dans laquelle remettre en suspension le culot. Ensuite, frappez légèrement le fond du tube plusieurs fois avec votre doigt pour remettre doucement les éléments formés en suspension.
3. Placez une goutte de fluide non concentré et bien mélangé ou de sédiment urinaire remis en suspension (obtenus par centrifugation) sur une lame de verre propre.
4. Placez une lame d'étalement devant la goutte de liquide/d'urine à un angle d'environ 30 à 40 degrés du frottis.
5. Faites glisser la lame d'étalement vers la goutte, ce qui permettra au matériel de s'étaler sur le bord de la lame d'étalement.
6. Faites glisser la lame d'étalement vers l'extrémité de la lame d'échantillon en gardant le contact entre les deux lames.
7. Arrivé au milieu de la lame, arrêtez brusquement l'étalement de l'échantillon et soulevez la lame d'étalement pour former une ligne de matériel.
8. Laissez le frottis sécher à l'air libre ou utilisez un ventilateur (sans chaleur) pour éviter des artefacts de séchage.
9. Colorez les lames et laissez-les sécher à l'air libre ou utilisez le mode « frais » du ventilateur. Pour en savoir plus, consultez le tapis *Comment colorer les lames pour IDEXX Digital Cytology**.



Sélection des lames d'urine à numérisiser

Ce qu'il faut chercher

À éviter

Inspection visuelle des lames



Frottis mince d'échantillon avec une ligne de matériel cellulaire visible

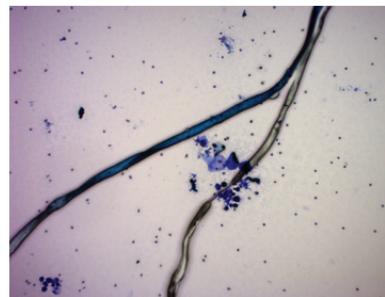


Un séchage insuffisant peut entraîner le lavage de l'échantillon pendant la coloration

Inspection au microscope (Objectif 4×, 10× ou 20×)



Bon contraste de couleur des cellules, cellules intactes, distribution uniforme des cellules (frottis direct) et dépôts de colorant minimes



Présence de corps étrangers, lames trop colorées

Pour plus d'informations sur les tests de pathologie, visitez idexx.ca/fr/pathologie.