

Critères d'évaluation de coloration de gram développées le QMP-LS

Barbara Klemba et
Dorothée Bouron-Dal Soglio
1^{er} et 12 juin 2012



Technique-étapes critiques

1. Coloration Gram + (exemple solution de violet-cristal)
2. **Différenciation Gram +** (exemple acétone)
3. Coloration des Gram – (exemple fuschine)
4. Différenciation Gram – Contre coloration (acide picrique)

Étape 1: coloration des Gram positif

Deux sous-étapes, exemple solution de violet-cristal puis de iodo-iodurée (mordanceur)

Gram + et – bleus

Tissu bleu

Étape 2: différenciation en Gram positif

95% Gram + restent colorés en bleu, les autres sont transparents

Tissu ne doit pas être bleu

Etape 3: Coloration des Gram négatif

Gram – deviennent rouges

Tissu rouge (sera décoloré à l'étape 4)

Étape 4: Différenciation Gram négatif

Contre coloration

Gram – restent rouges

Gram + restent bleus

Tissu perd sa couleur rouge (Attention les noyaux restent rouges)

- Gram Twort: vert
- Brown and Hopps: jaune

Catégorie *Résultat de la coloration*

Critères d'évaluation

- 1. Cible clairement démontrée**
- 2. Degré d'intensité**
- 3. Visualisation de la cible**
- 4. Distribution attendue**
- 5. Sélectivité du contre-colorant**

1. Cible clairement démontrée

Description

**La cible doit être
clairement visible
dans le tissu et
contraster avec la
morphologie
sous-jacente.
Gram + et - visibles**

Exemples de commentaires

- **Gram+ ou - trop pâles**
- **Gram+ ou - trop foncés**
- **Gram+ et/ou- manquants**
- **précipités**
- **cible obscurcie par le contre-colorant**

2. Degré d'intensité

Description

La cible doit offrir une gamme d'intensité de coloration complète, démontrer les détails les plus fins, en particulier une morphologie adéquat des cibles

Exemples de commentaires

- **Trop pâle**
- **Trop foncée**
- **Tendance trop pâle**
- **Tendance trop foncée**
- **Morphologie non identifiable**

3. Visualisation de la cible

Description

**Évaluation de la différenciation.
Cristal violet doit être enlevé des Gram – et du tissu (hormis keratine, os, cartilage, fibrine)**

Exemples de commentaires

- **Noyaux violet**
- **Bactérie avec couleur inadéquate**
- **Trop forte différenciation**

4. Distribution attendue

Description

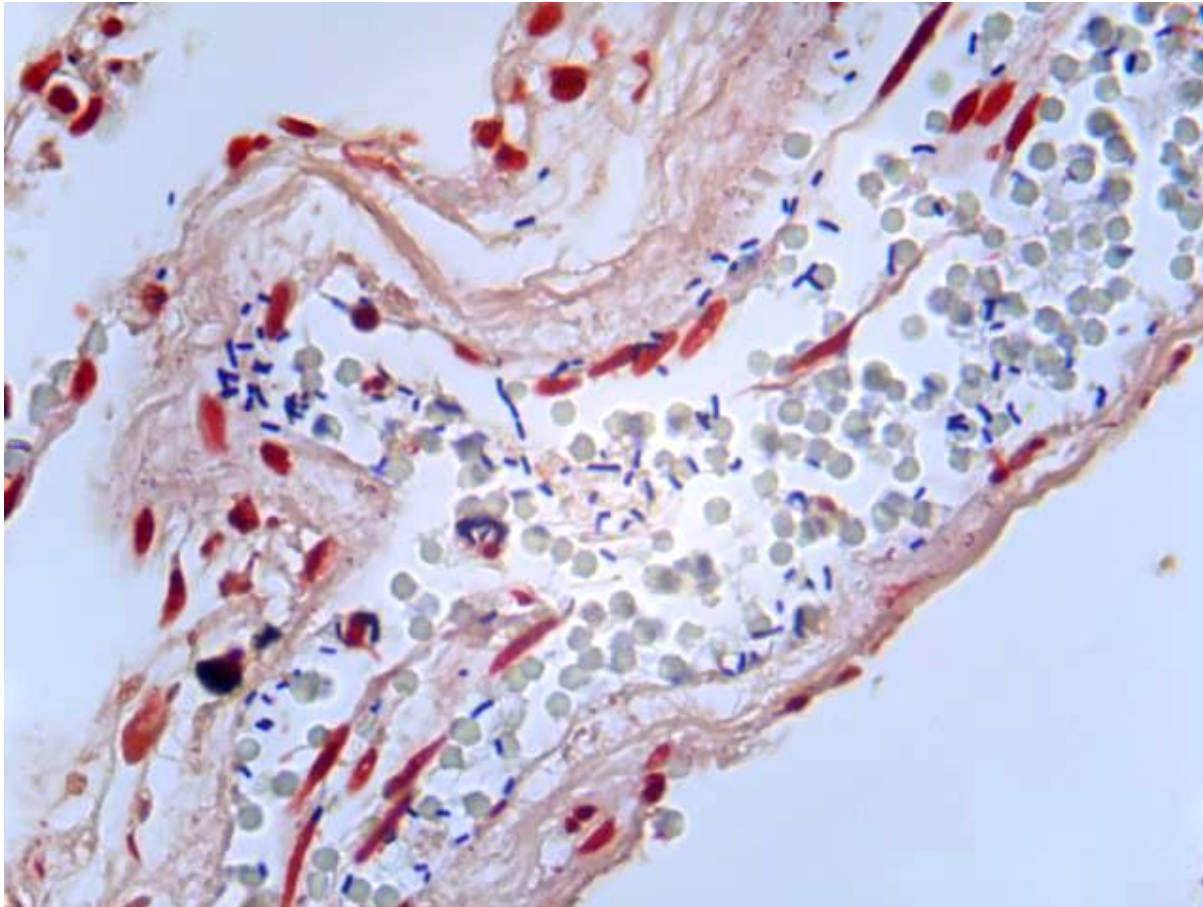
- Pas de réaction croisée avec les autres composantes tissulaires
- Pas de dépôt
- Pas de précipité
- Pas de bruit de fond

Exemples de commentaires

- Dépôt de colorant
- Précipité
- Réaction croisée
- Trop de rouge
- Trop de violet
- Ratio Gram + et Gram - erroné

Gram

référence



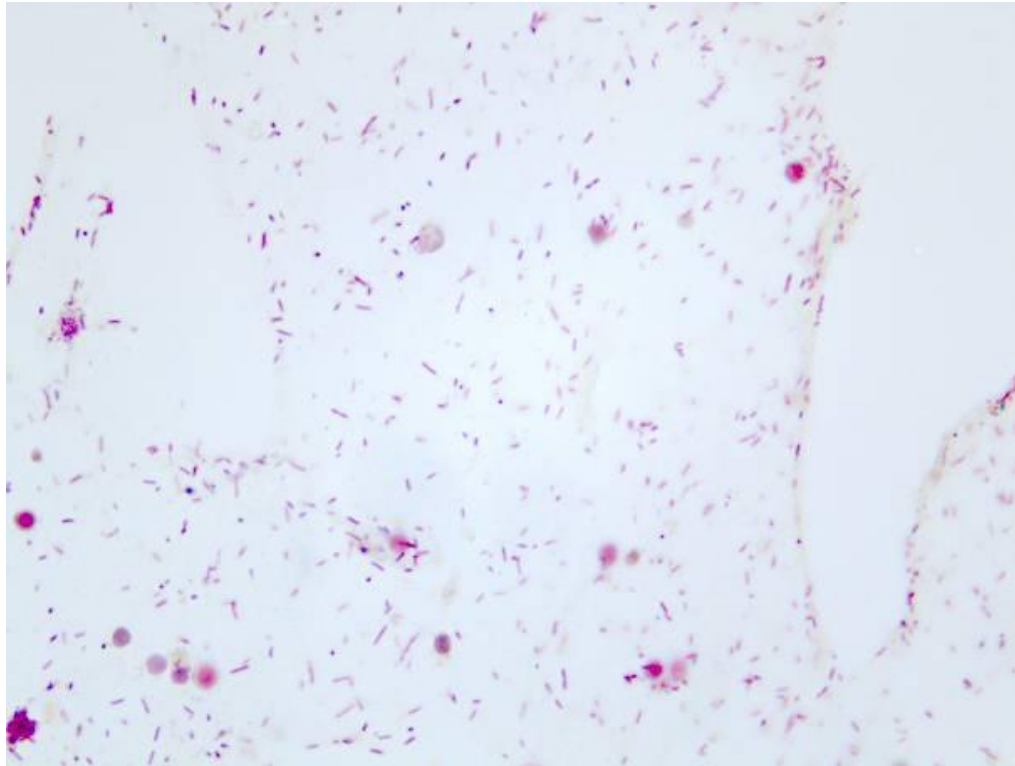
Distribution des cibles

Intensité des couleurs

Pas de dépôt

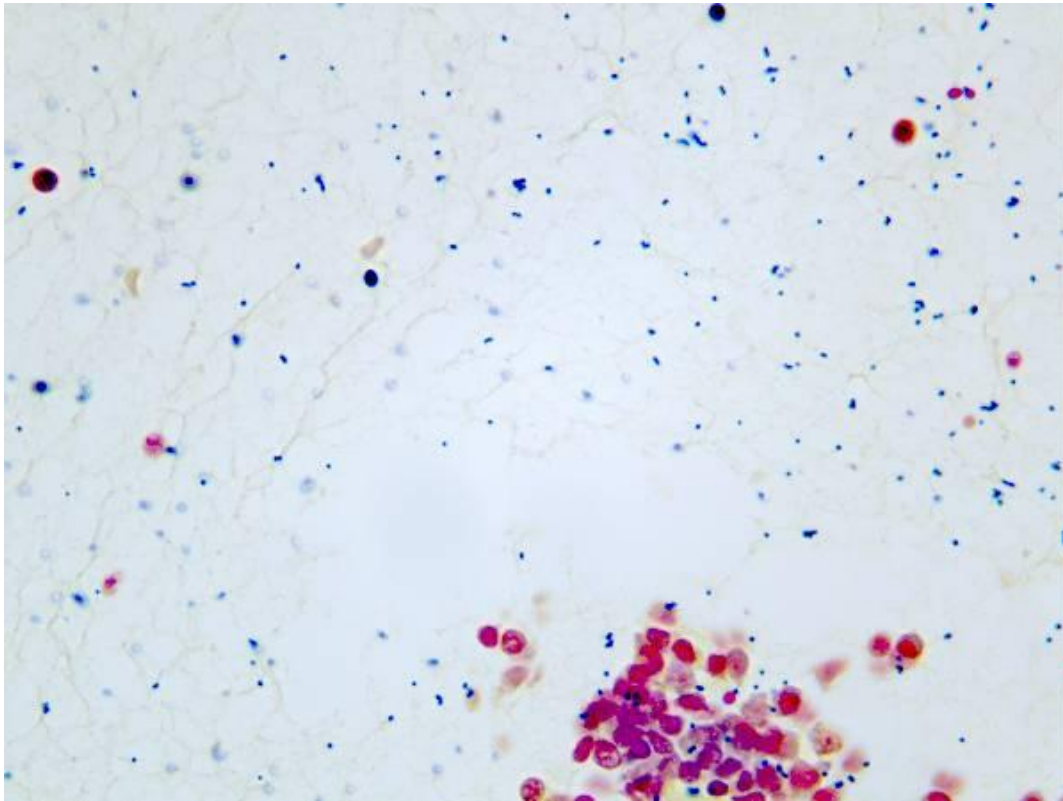
Contre colorant optimise
la réaction

Gram négatif



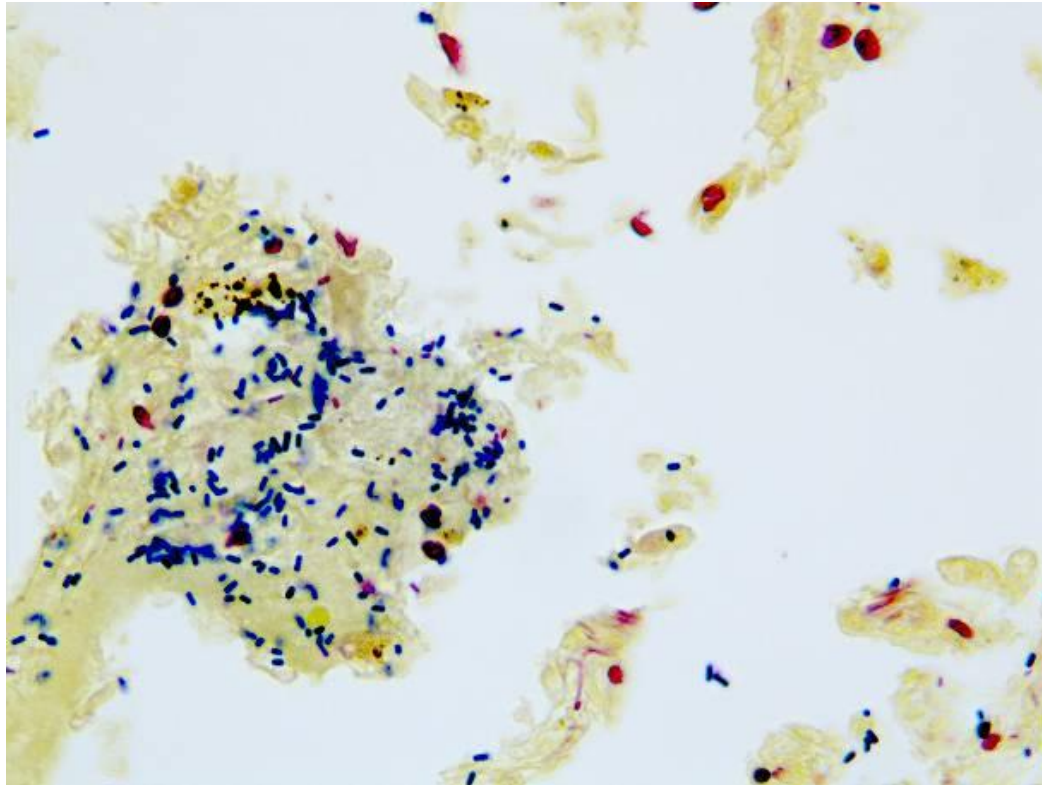
Bloc cellulaire gram négatif

Gram positif



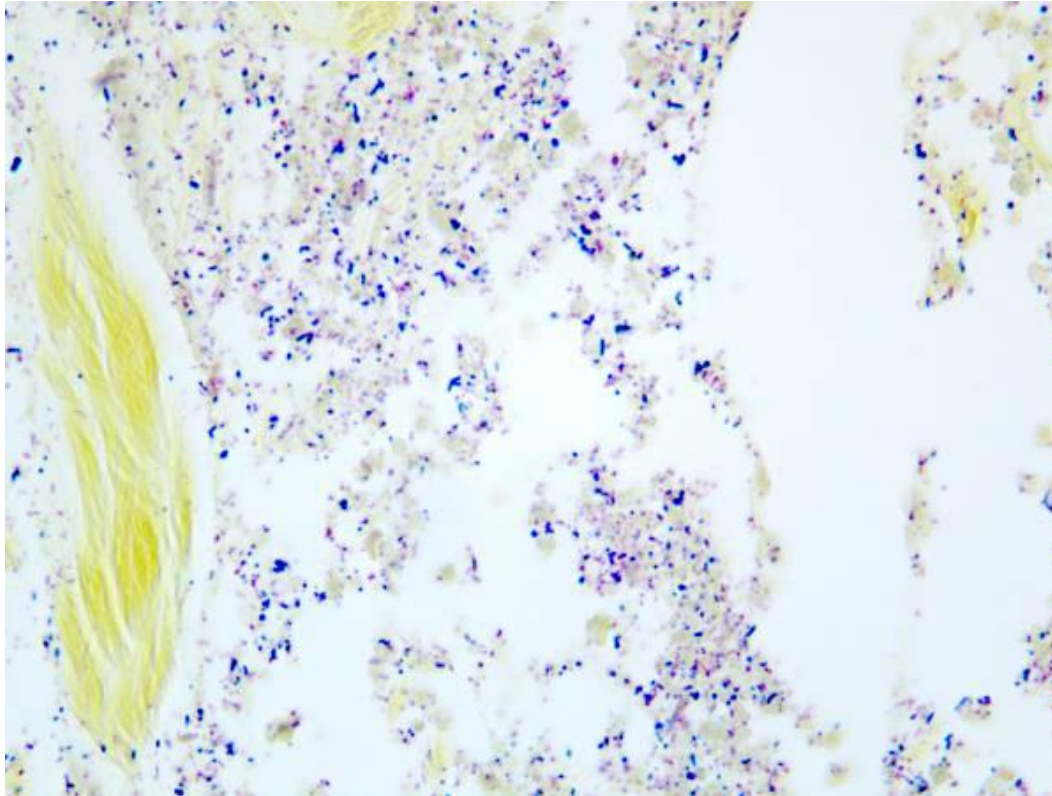
Bloc cellulaire gram positif

Gram + et -



Poumon, flore mixte

Gram + et -



Placenta :flore mixte

Tissus contrôles

Appendice non recommandé seul

Suggestion: fabrication maison, exemple cocci +,
bacilles – dans un tissu type placenta ou
poumon.

Gram

Si problème: identification des problèmes

Problème étape 1:Coloration Gram +

Bleu absent → vérifier si une des deux premières solutions n' a pas été oubliée.

Problème étape 2: Différenciation Gram +

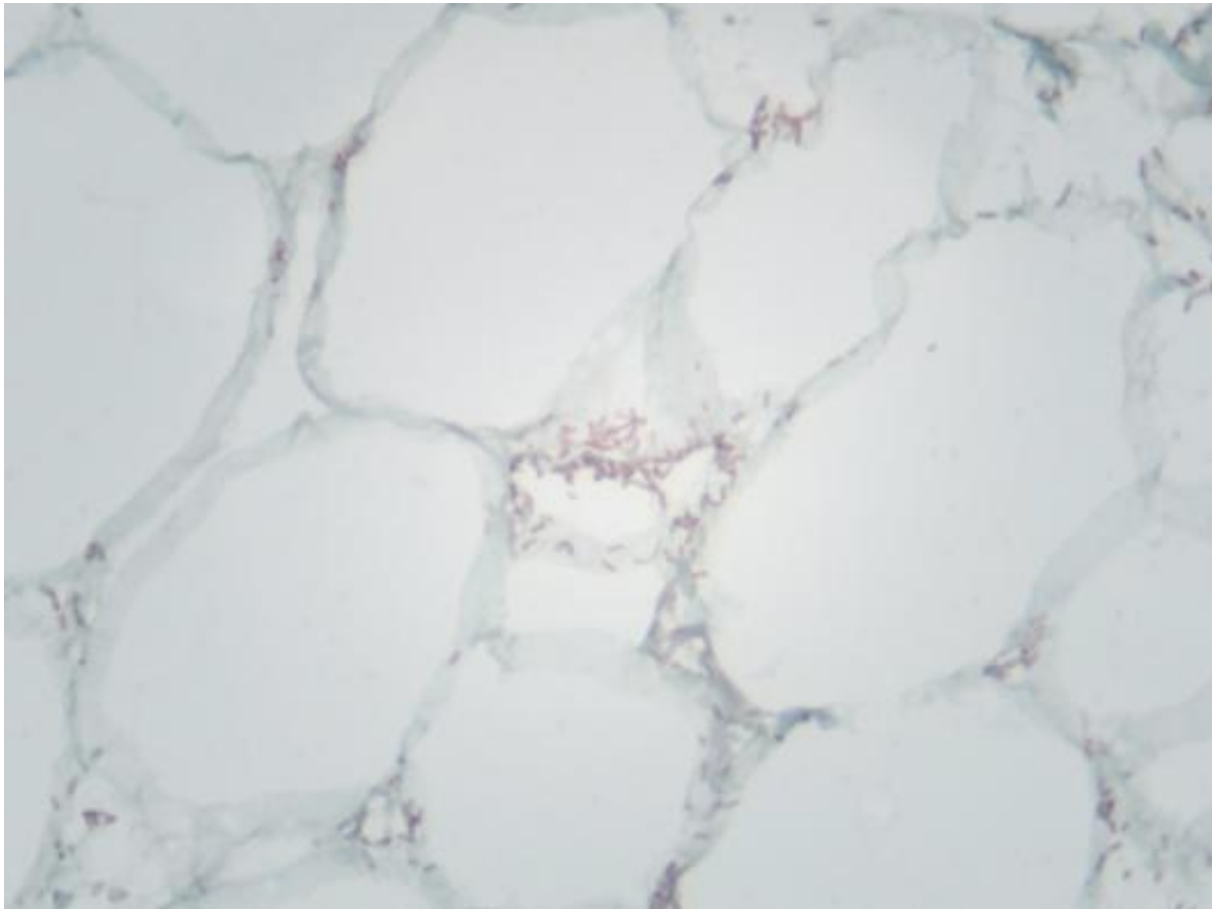
Gram + absent= différenciation trop importante
(passage trop long dans l'acétone)

Gram – bleus= différenciation insuffisante
(passage trop court dans l'acétone)

Tissu bleu= différenciation insuffisante (passage trop court dans l'acétone)

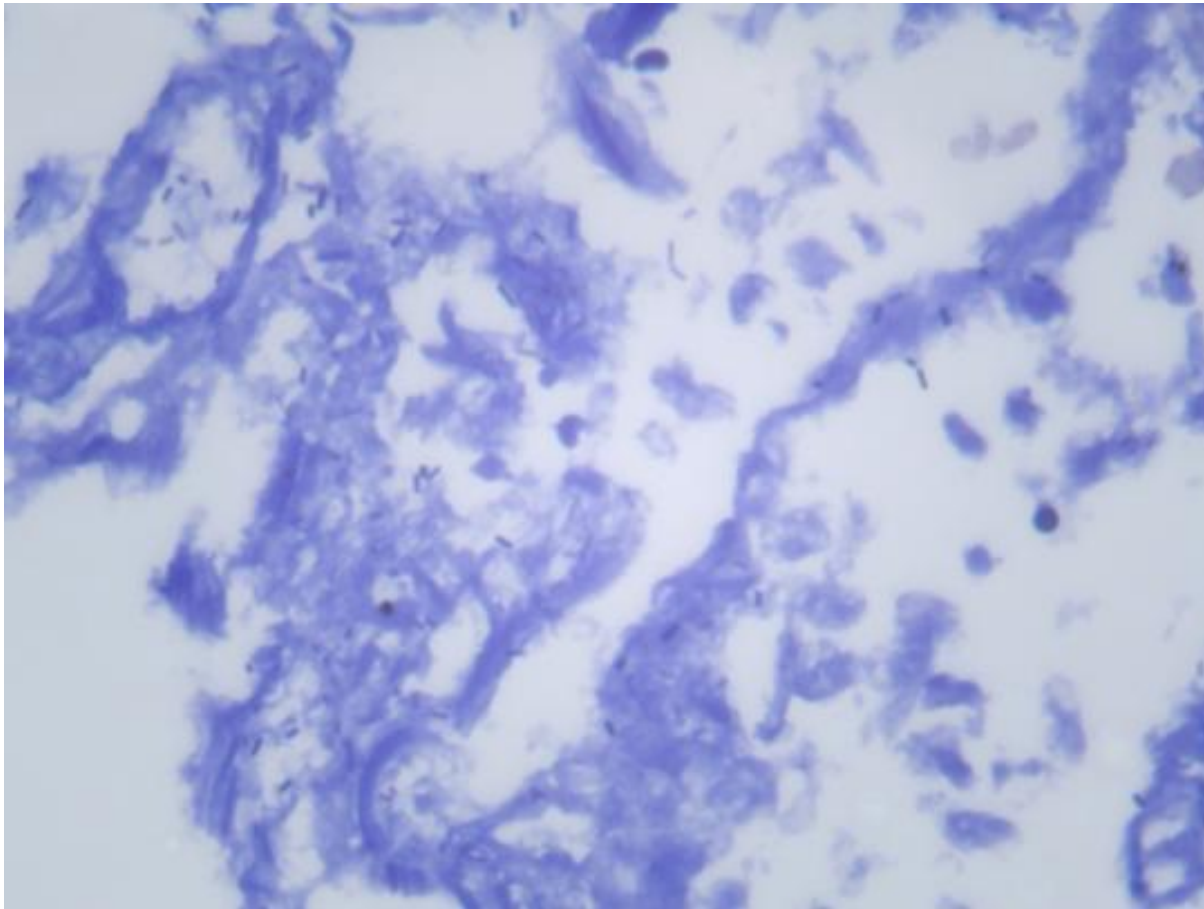
Gram

Procédure Twort. G+ colorés en rouge. (témoin)

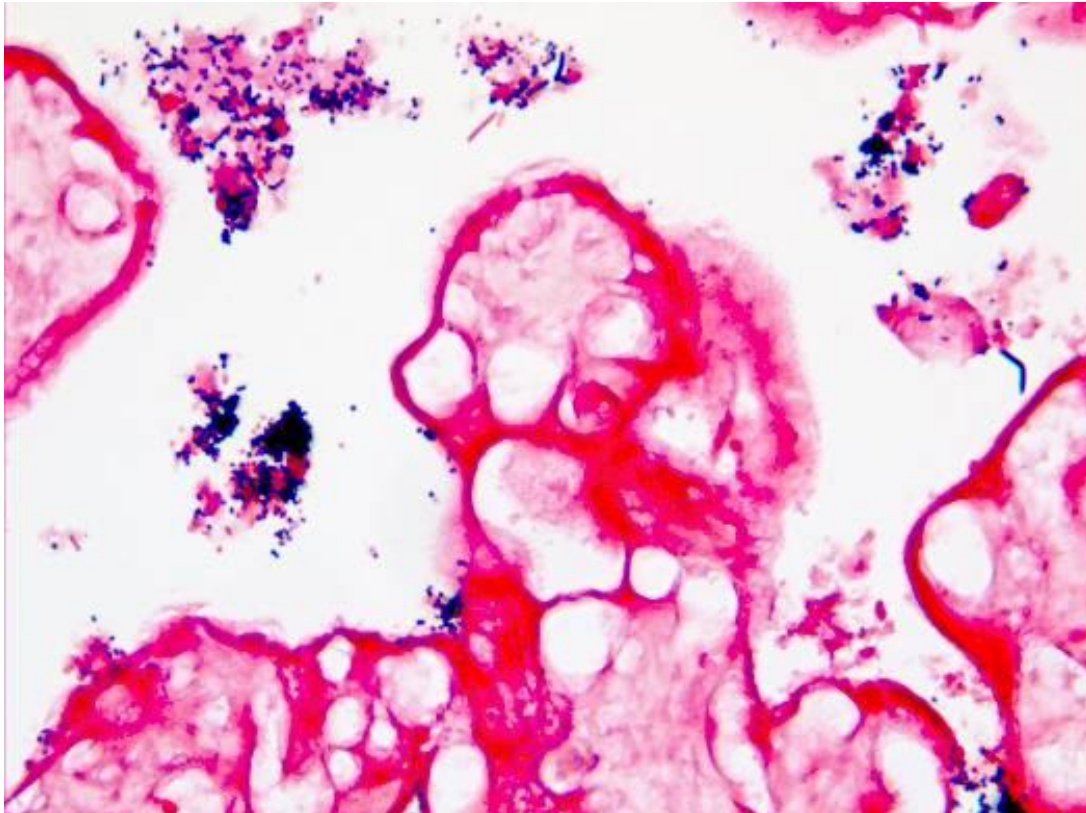


Gram

Procédure Hucker conn. Différenciation G+ insuffisante.



Gram



Différenciation inadéquate

Problème étape 3: Coloration des Gram –

Gram – violets= passage trop court dans l'acétone dans l'étape 2

Gram – pâles/transparents=passage trop court dans la solution colorante

Gram + rouges → passage trop long dans l'acétone dans l'étape 2

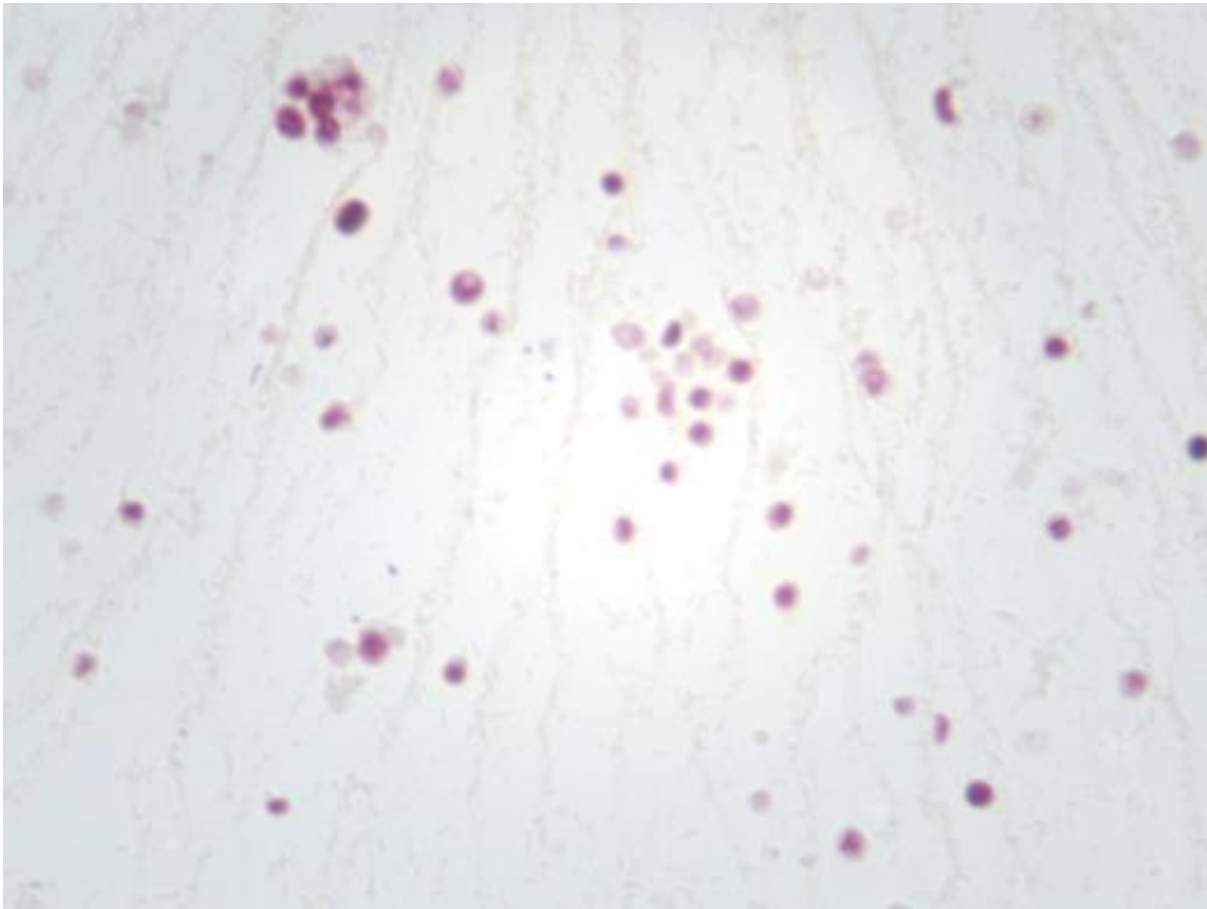
Problème étape 4: Différenciation Gram –

Tissu reste rouge → différenciation insuffisante/trop courte

Gram – pâles/transparents → différenciation trop longue/importante

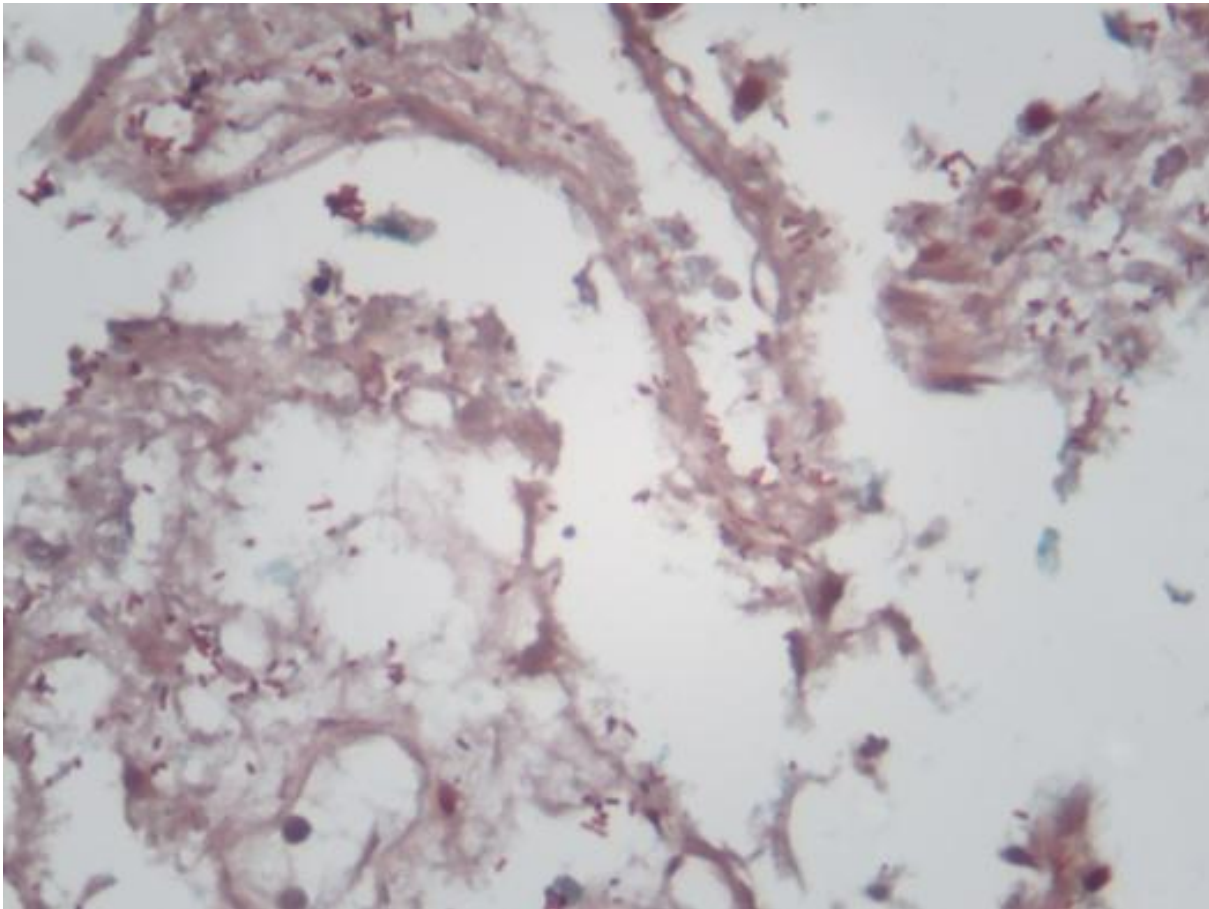
Gram

Procédure Brown & Hopps. G+ OK, G- invisibles



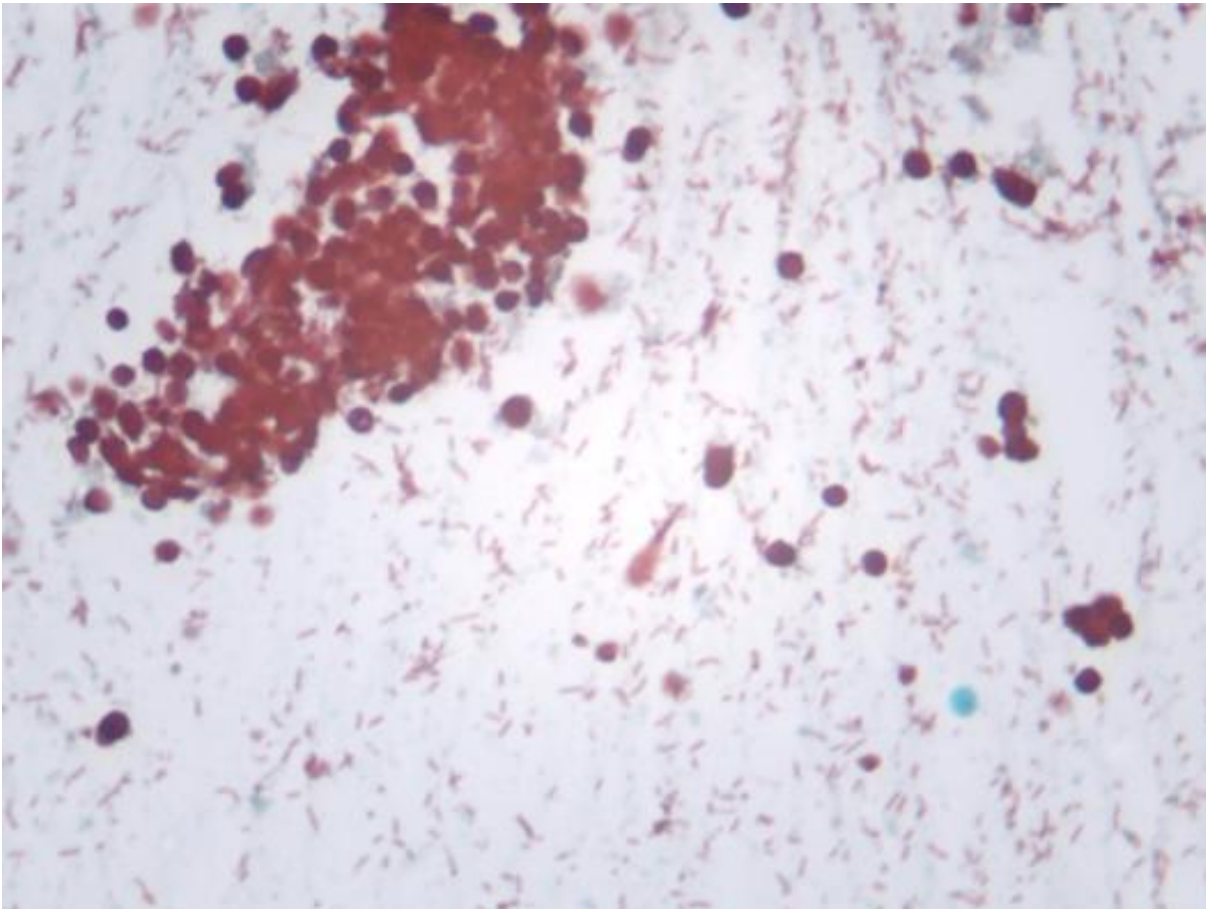
Gram

Procédure Twort. G+ colorés en rouge.



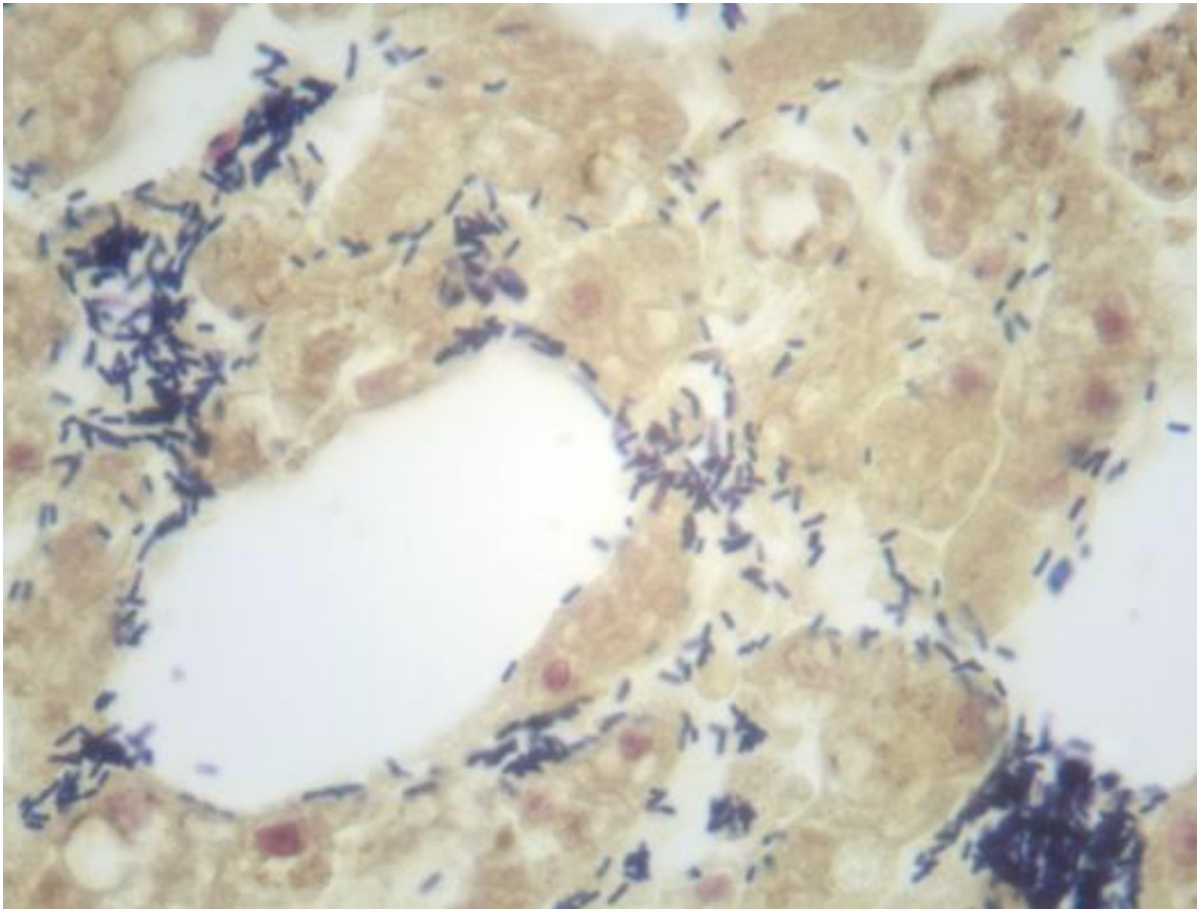
Gram

Procédure Twort. G+ colorés en rouge.



Gram

Procédure Brown & Hopps. G+ OK, G- invisibles



Conclusion-contrôle qualité

Est-ce que la cible est clairement démontrée?

A-t-elle la bonne intensité?

Gram+ bleus, gram- rouge?

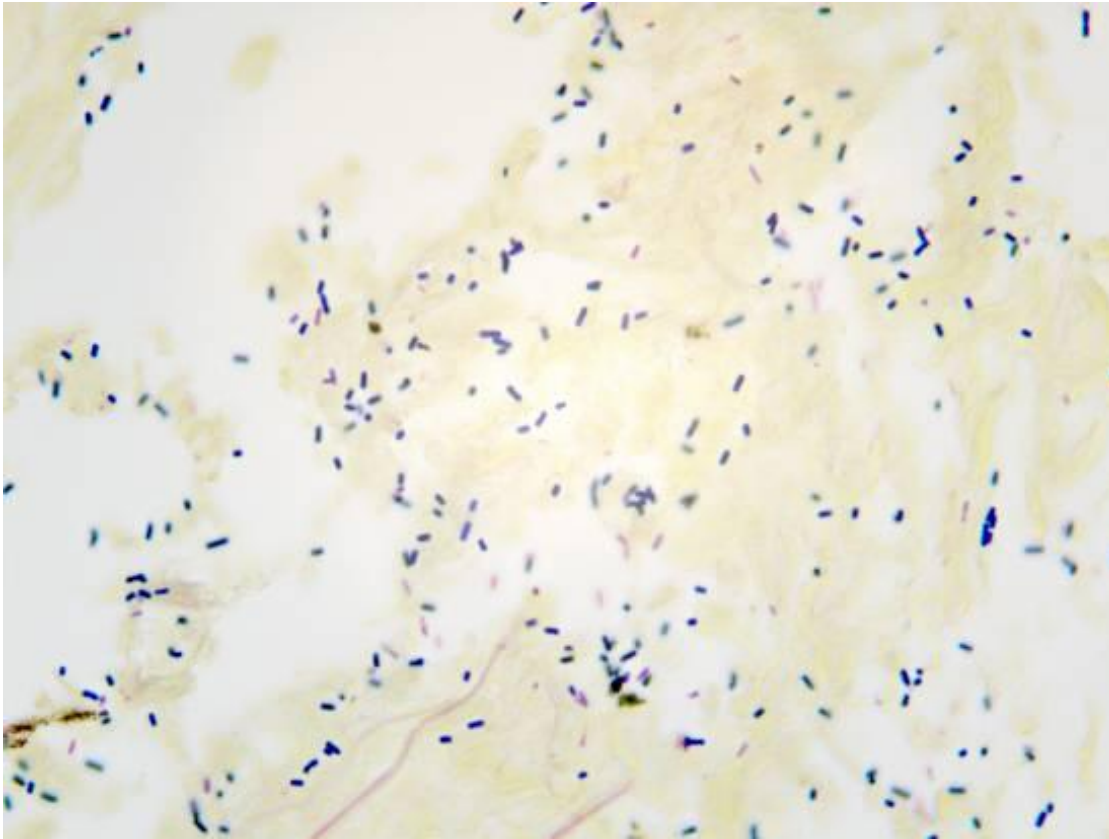
Gram + ou gram- manquants?

La différenciation est-elle adéquat?

Y-a-t-il des précipités.....?

Le contre colorant masque-t-il la cible ou la rehausse-t-il?

Quiz ?

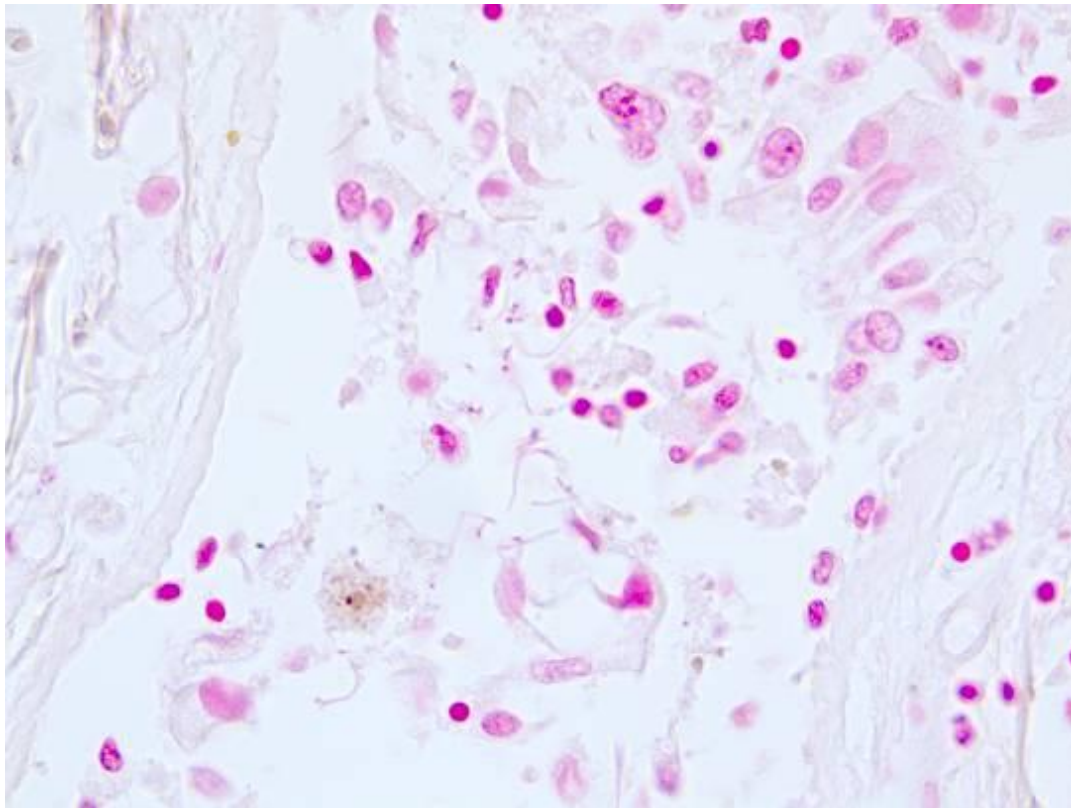


 excellent

 acceptable

 unacceptable

Quiz Degré d'intensité?

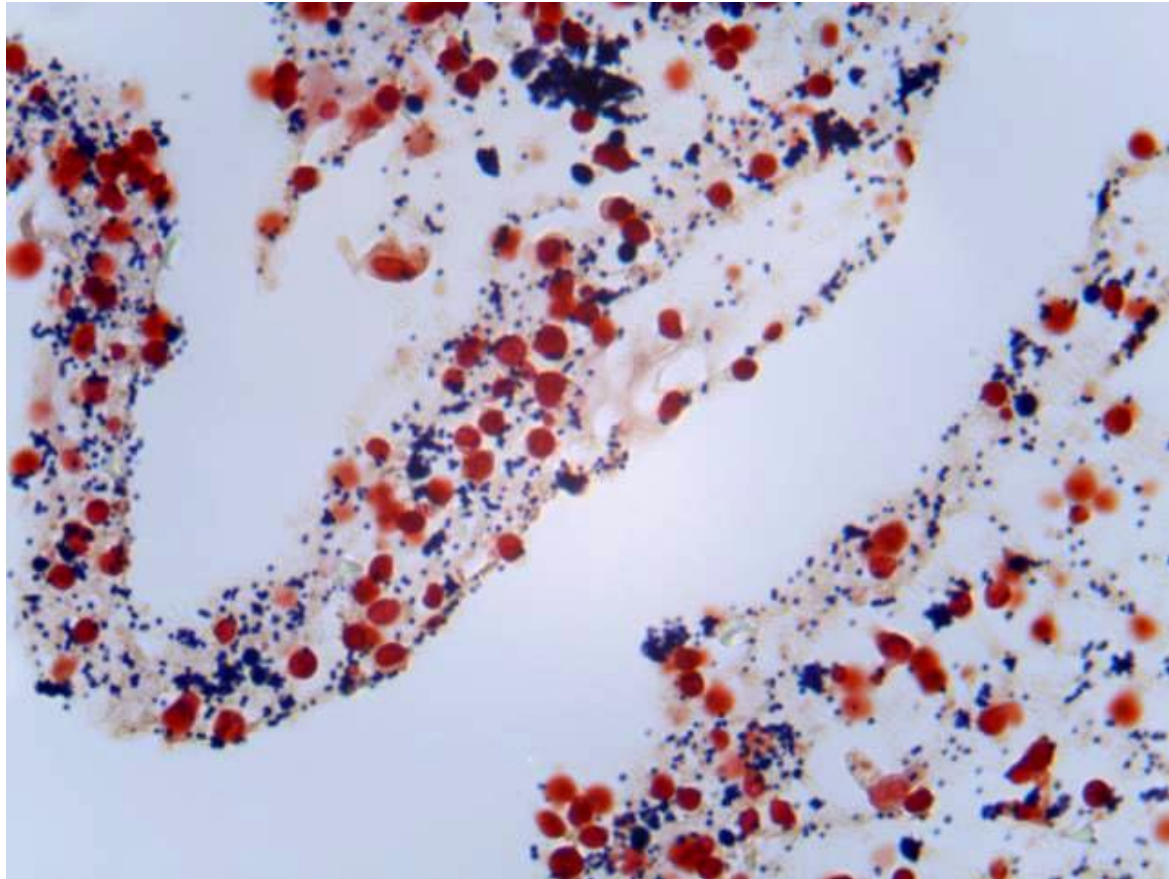


 excellent

 acceptable

 unacceptable

Quiz ?

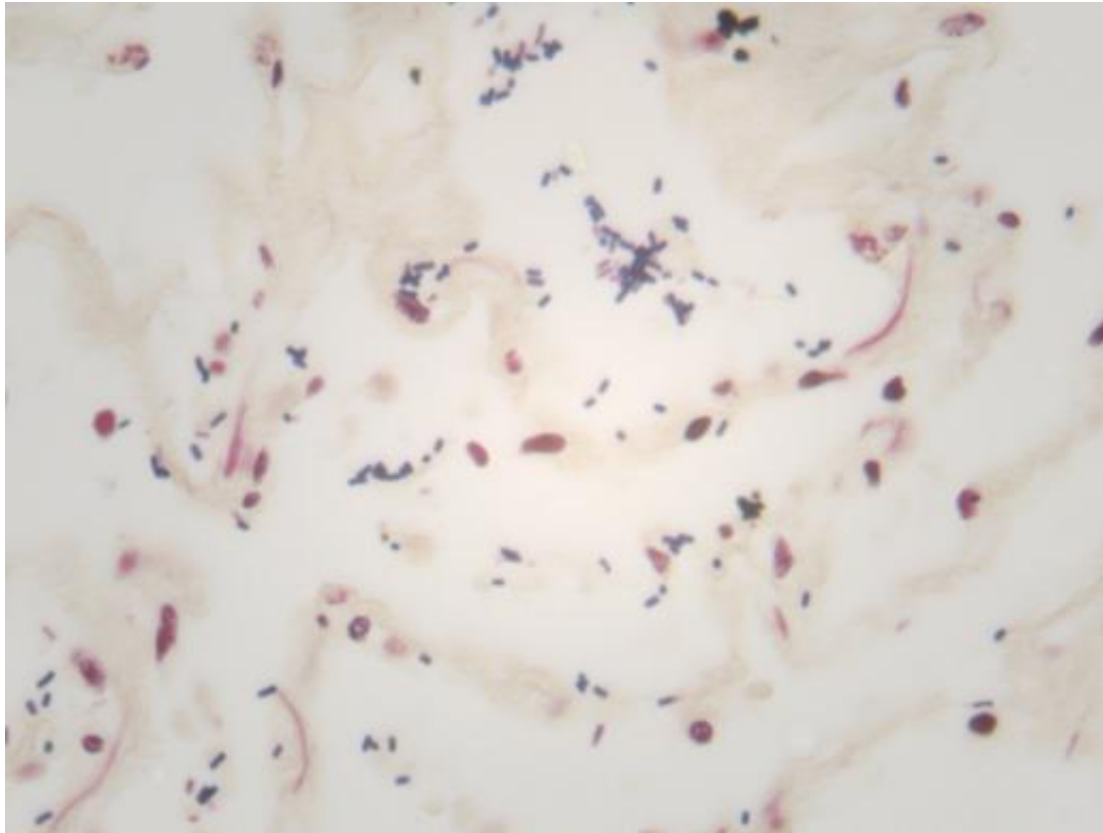


 excellent

 acceptable

 unacceptable

Quiz ?

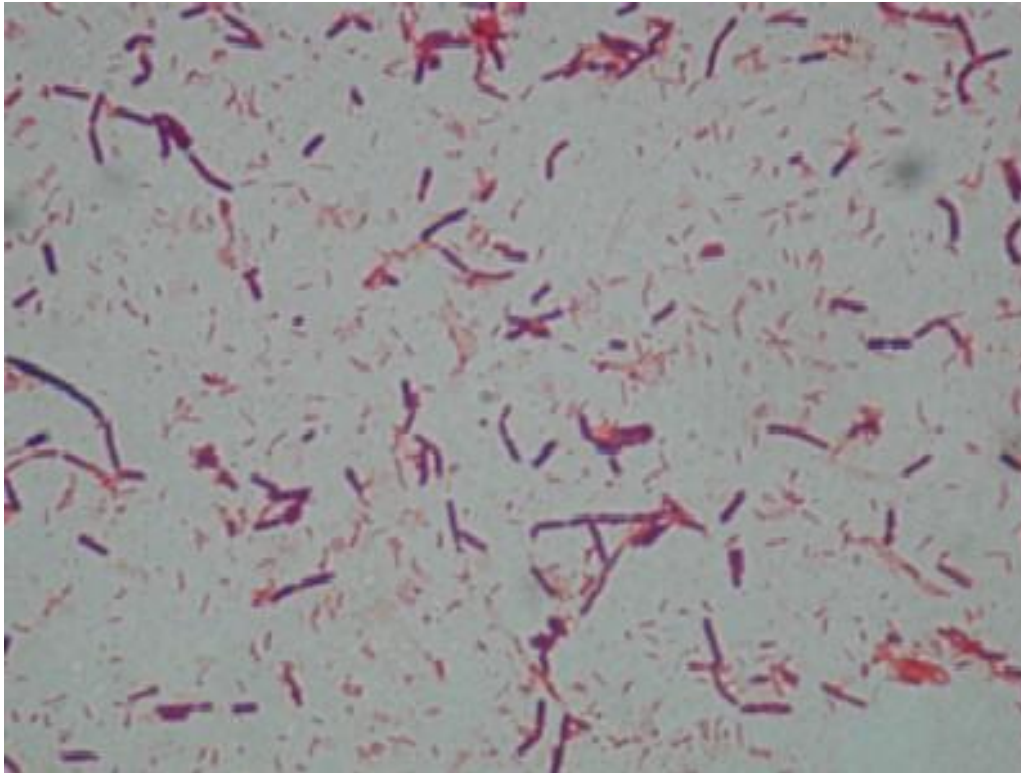


 excellent

 acceptable

 unacceptable

Quiz ?



 excellent

 acceptable

 unacceptable

Quality Management Program – Laboratory Services (QMP-LS)

Les critères de qualité pour l'évaluation technique des colorations histologiques ont été développés par le *Quality Management Program-Laboratory Services* (QMP-LS) qui seul en détient la propriété intellectuelle et les droits d'auteur. Leur logo et le matériel protégé ne peuvent être reproduits sans la permission écrite du QMP-LS.

Marque déposée © 2011 *Quality Management Program-Laboratory Services*, un département de l'*Ontario Medical Association*.

Tous droits réservés.