

Mise en évidence des phosphatases alcalines leucocytaires

1° Principe :

En milieu alcalin, les phosphatases libèrent, à partir d'un substrat constitué de phosphate de naphthol, du naphthol qui est révélé sous forme de précipité brun par couplage avec un sel de diazonium.

2° Technique :

• Prélèvement :

Les frottis sanguins, réalisés à partir de sang capillaire, sont séchés à l'air et immédiatement fixés. Après fixation, ils peuvent éventuellement être conservés plusieurs heures, voir plusieurs jours, à température ambiante.

• Réactifs :

- Fixateur : méthanol + formol.
- Tampon : solution stock (1) + solution de travail (2).
- Substrat : réactif B.
- Colorant nucléaire : vert de méthyle à 7% ou hématoxyline de Harris.

• Mode opératoire :

- Réactif A : 30 secondes.
- Rincer à l'eau ordinaire.
- Réactif B : 10 minutes.
- Rincer à l'eau ordinaire : 10 secondes.
- Vert de méthyle ou hématoxyline de Harris : 5 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher à l'air.

3° Résultat :

L'activité « phosphatase alcaline » est révélée par un précipité brun-marron dans le cytoplasme des cellules. Les noyaux sont colorés en vert ou en rouge.

Seuls les polynucléaires neutrophiles sont positifs.

On attribue un score à chaque polynucléaire neutrophile en fonction du nombre et de la taille des grains cytoplasmiques :

- Pas de grain : 0
- 1 à 3 petits grains fins : 1
- Jusqu'à 10 grains : 2
- 10 à 30 grains : 3
- Cytoplasme bourré de grains épais : 4

Le résultat est obtenu en établissant le score total sur 100 PN.

Les valeurs normales sont de 20 à 80.