

## FINALIDADE

Sistema para coloração de células em esfregaços de sangue periférico, medula óssea ou para estudo citológico de elementos celulares colhidos por punção, raspagem ou concentrados de elementos celulares de derrames cavitários.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

## PRINCÍPIO

Os corantes para esfregaços sanguíneos, também chamados de pancrômicos, são uma mistura de corantes de características neutras, dependentes do pH da solução corante, que em condições apropriadas coram os componentes nucleares e citoplasmáticos dos leucócitos, com predominância de tons vermelhos (quando ácidos) e azulados diversos (quando básicos). O corante de May-Grunwald (1902) é uma mistura de eosina e azul de metileno (não oxidados), que quimicamente se transforma em eosinato de azul de metileno.

Giemsa (Alemanha) desenvolveu, no mesmo período, um corante que leva seu nome e que hoje se sabe ser uma mistura de azur II (mistura equimolar de azur 1 e azul de metileno) e eosinato de azur II (corante formado pela combinação equimolar de azur 1, azul de metileno e eosina amarelada).

Esses dois corantes são utilizados em um método de coloração mais demorado em que após fixação e coloração pelo May Grunwald, se processa uma segunda coloração com solução de Giemsa, obtendo-se um resultado final melhor e mais detalhado.

A necessidade de um único corante que pudesse corar globalmente os elementos celulares com os detalhes do MG-Giemsa levou ao desenvolvimento de novos corantes: Leishman (Inglaterra, 1901) e Wright (Inglaterra, 1902). São corantes basicamente idênticos, compostos de eosina amarelada e produtos de oxidação do azul de metileno. A diferença entre ambos se restringe ao fato de que o processo de maturação é mais longo na feitura do corante Leishman (em pó).

## PARTICULARIDADES DOS CORANTES PANCRÔMICOS DOLES

Na manipulação dos corantes pancrômicos são utilizados corantes específicos, previamente aprovados e de procedência tradicional. O solvente é representado por metanol, grau analítico, tamponado a pH 6,7 - 6,8.

## REAGENTE

|                                   |        |
|-----------------------------------|--------|
| Corante Giemsa, em pó             | 8g     |
| Glicerol                          | 500mL  |
| Metanol (tamponado pH 6,8) q.s.p. | 1000mL |

## APRESENTAÇÃO

|           |            |
|-----------|------------|
| Ref. 500  | 1 x 500mL  |
| Ref. 1000 | 1 x 1000mL |

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Suporte para coloração.
- Cronômetro.
- Lâminas.
- Água destilada ou deionizada.
- Metanol.
- May Grunwald.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O corante deve ser mantido no frasco original, bem vedado, armazenado à temperatura ambiente (20-30°C) e ao abrigo da luz solar. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco, obedecidas as condições de armazenamento.

Na prática diária o corante é utilizado sob forma de gotas. Sugere-se o uso de pequeno frasco conta-gotas, periodicamente alimentado com o corante do frasco estoque.

## CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DO REAGENTE

Por tratar-se de uma solução alcoólica, deve-se tomar os cuidados inerentes ao uso do álcool em laboratório. Evite pipetar o corante com o uso da boca. A ingestão acidental do metanol, dependendo da quantidade absorvida, pode ser fatal. **As soluções corantes são para uso exclusivo *in vitro*.** Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se o contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Inflamável

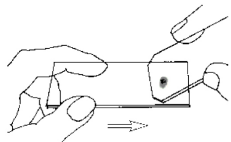


Irritante

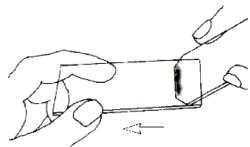
## AMOSTRA

Sangue periférico colhido por punção digital ou de coleta venosa, com o uso de anticoagulantes adequados (heparina ou soluções de EDTA). Esfregaços de medula óssea e concentrados celulares de derrames cavitários. Os esfregaços feitos a partir de sangue colhido com anticoagulantes devem ser confeccionados em até 30 minutos, para se evitar deformações celulares sob efeito do anticoagulante (ver desenhos: como fazer esfregaços sanguíneos).

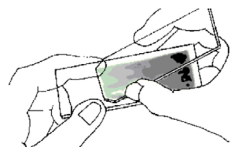
**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**



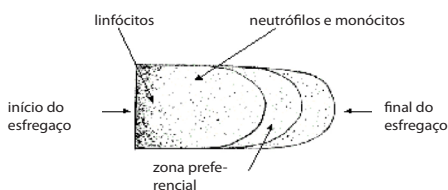
1. Dispensar uma gota de sangue sobre a lâmina.



2. Com o uso de uma lâmina extensora, realizar o esfregaço.



3. O esfregaço deve ser uniforme em toda a lâmina.



4. Desenho esquemático de esfregaço. Resultados homogêneos na contagem diferencial são obtidos examinando-se a porção mediana do esfregaço.

## PROCEDIMENTO TÉCNICO

### Preparo da solução corante seg. Giemsa

Em tubo de ensaio, misturar 3 gotas do corante Giemsa para cada 2mL de água destilada. A seguir são recomendadas duas opções para coloração com o corante Giemsa. O laboratório

deverá optar por uma das colorações de acordo com sua preferência e/ou finalidade.

### Opção 1-Coloração May-Grunwald-Giemsa

1. Cobrir cada lâmina com 15 a 20 gotas do corante de **May Grunwald** por 1 a 2 minutos, de acordo com a extensão do esfregaço.
2. Acrescentar à lâmina igual número de gotas de água destilada, homogeneizar e deixar agir durante 2 minutos.
3. Deixar escorrer a água da lâmina e cobrir em seguida com solução diluída de Giemsa, preparada no momento da coloração. Corar durante 10 minutos. Deixar escorrer e lavar a lâmina em água corrente.
4. Secar a lâmina, mantendo-a em posição vertical.

### Opção 2-Coloração Giemsa

1. Fixar o esfregaço, cobrindo-o com 15 a 20 gotas de metanol por 2 minutos.
2. Escorrer o álcool metílico e, sem lavar ou deixar secar, cobrir a lâmina com solução de uso de Giemsa (aproximadamente 5mL).
3. Proceder à coloração por 10 minutos.
4. Lavar a lâmina em água corrente e deixá-la secar em posição vertical.

## RESULTADOS ESPERADOS

→ Hemácias: róseo

→ Plaquetas: azul

→ Leucócitos:

• Linfócitos

núcleo: azul violeta - citoplasma: azul

• Monócitos

núcleo (lobulado): azul violeta - citoplasma: azul claro

• Granulócitos

Neutrófilos polimorfonucleares

núcleo: azul escuro - citoplasma: rosa pálido

granulações: de tons róseos a azul claro

• Basófilos

núcleo: púrpura a azul escuro

granulações volumosas, cobrindo todo o citoplasma : azul escuro

• Eosinófilos

núcleo: azul - citoplasma: rosa pálido

grânulos volumosos: vermelho a vermelho laranja.

## LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- Os esfregaços de cor vermelho intenso estão excessivamente ácidos, ou o corante atuou por pouco tempo.
- Os esfregaços de cor cinza, cinza azulado



ou esverdeado estão muito alcalinos, ou o corante agiu durante muito tempo.

- Os esfregaços muito espessos só são aproveitáveis em certas partes das bordas. Os excessivamente delgados tornam-se pálidos.
- A acidez ou a basicidade do esfregaço estão relacionadas, frequentemente, à qualidade da água.

### **CONTROLE DE QUALIDADE DO SISTEMA**

1. O controle de qualidade em microscopia de esfregaços sanguíneos depende diretamente da formação e da experiência do profissional que avaliará a qualidade dos esfregaços, coloração, etc..
2. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos. Não usar detergente à base de fosfato.
3. A água utilizada na limpeza do material e no preparo dos reagentes deve ser de boa qualidade.
4. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
5. As lâminas para confecção do esfregaço devem estar perfeitamente limpas, isentas de gordura e polidas.
6. A gota de sangue não deve ser muito grande. Quanto maior a gota, mais espesso o esfregaço.
7. O esfregaço satisfatório deve ser fino e homogêneo, de margens livres, pois só os que reúnem estas condições apresentam os leucócitos e eritrócitos sem deformações e convenientemente distribuídos.

### **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO**

**Repetitividade:** foram realizados testes com corante hematológico Giemsa, em 10 indivíduos escolhidos aleatoriamente, sendo confeccionados dois esfregaços para cada indivíduo, totalizando 20 lâminas estudadas. As amostras foram coletadas sem anticoagulantes e os esfregaços, confeccionados em lâminas novas, desengorduradas. Utilizou-se água recém-deionizada para diluição do corante e metanol p.a. para fixação do esfregaço. O procedimento técnico seguiu rigorosamente as instruções de uso, havendo assim total concordância das características tintoriais de eritrócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas, entre as lâminas estudadas.

**Reprodutibilidade:** durante 12 meses consecutivos, foram realizados testes em esfregaços sanguíneos confeccionados e corados em condições ideais, utilizando-se o mesmo lote de corante. Houve concordância das características tintoriais dos elementos sanguíneos durante todo o período de teste. Observamos que a reprodutividade do corante está relacionada com a qualidade da água, qualidade do metanol e limpeza da lâmina onde foi confeccionado o esfregaço e tempo de coloração.

### **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

- Walf : *Practical clinical hematology interpretation and techniques*, 375-376; 1973.
- Waessner S.: *Técnicas em citologia hematológica*, 16-32; 1990.
- Lima, O.A.; Soares JB; Greco J.B. Galizzi, Cançado J.R.: *Métodos de laboratório aplicados à clínica*, 21-9 a 21-12; 1992.
- Bick Rodger L.: *Hematology clinical and laboratory practice*, vol.01, 39 a 49; 1993.
- Doles: dados de arquivo.

### **TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - Código de Defesa do Consumidor.

Os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento.

**Os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reag. Equip. para Laboratórios Ltda.  
CNPJ: 01.085.513/0001-05  
Rodovia BR 153, Km 493, Lt.07  
Conjunto Palmares.  
CEP: 74775-027  
Goiânia - GO - Brasil  
e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810018

Revisão: 11 (04/2010)

### **NBR ISO 9001**

**Sistema da Qualidade  
certificado desde 1999**