

## 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 azul II (mistura equimolar de azul 1 e azul de metileno) e eosinato de azul II (corante formado pela combinação equimolar de azul 1, azul de metileno e eosina amarelada). Esses dois corantes são utilizados através de 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.

## REAGENTES

**Corante seg. May-Grunwald apresenta a seguinte formulação:**

Corante May-Grunwald em pó 2,5 g  
Metanol (tamponado pH 6,8) 1000mL

## APRESENTAÇÃO

Frasco 1 x 500mL  
Frasco 1 x 1000mL

## MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Suporte para coloração.
- Cronômetro.
- Lâminas.
- Água destilada ou deionizada.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DO REAGENTE

O corante deve ser mantido no frasco original, bem vedado, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz solar. Sob essas condições, permanece estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco. 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 DOS REAGENTES

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

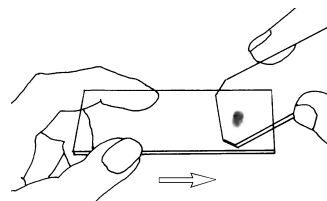


Irritante

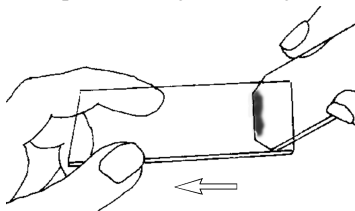
## AMOSTRA

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 nos desenhos como fazer esfregaços sanguíneos).

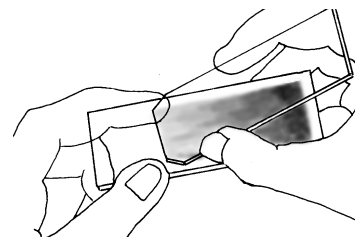
**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**



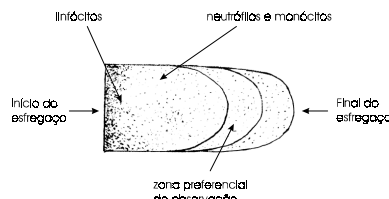
1. Dispensar uma gota de sangue sobre a lâmina.



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

Corante seg. May-Grunwald apresenta limitação na sua capacidade tintorial, **sendo sempre usado em associação com o corante Giemsa.**

### Preparo da solução corante seg. Giemsa

Em tubo de ensaio, misturar 3 gotas do corante Giemsa para cada 2mL de água destilada.

1. Fazer os esfregaços. Após secarem à temperatura ambiente estão prontos para serem corados. Em dias frios, agitar as lâminas para acelerar o processo de secagem.
2. 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.
3. Acrescentar à lâmina igual número de gotas de água destilada, homogeneizar e deixar agir durante 2 minutos.
4. 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.
5. Secar a lâmina, mantendo-a 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, muitas vezes, 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 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

**Reprodutibilidade:** foram realizados testes com corante hematológico May-Grunwald em 10 indivíduos escolhidos aleatoriamente, sendo confeccionados dois esfregaços para cada indivíduo, totalizando vinte lâminas estudadas. As amostras foram coletadas sem anticoagulantes e os esfregaços, confeccionados em lâminas novas, desengorduradas. Utilizou-se água recém deionizada no processo de coloração. 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.

Observamos que a reprodutividade do corante está relacionada com a qualidade da água, qualidade do metanol, limpeza da lâmina onde foi confeccionado o esfregaço e tempo de coloração.

**Repetitividade:** durante 12 meses consecutivos, foram realizados testes em esfregaços sanguíneos confeccionados e corados em condições ideais, com o mesmo lote do corante. Houve concordância das características tintoriais dos elementos sanguíneos durante todo o período de teste.

## 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, Caçado 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.**

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

1. O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

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

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810023

Revisão: 11 (08/2009)

## NBR ISO 9001

**Sistema da Qualidade certificado desde 1999**



SAC: (62) 3269 0000 (Grande Goiânia)

SAC: 0800 644 6433 (Demais localidades)

[www.doles.com.br](http://www.doles.com.br)

**doles**