MAY GRUNWALD - GIEMSA

Finalidade:
Corantes destinados principalmente a coloração de células sanguíneas em esfregaços de sangue periférico, de medula ou de outra natureza.

Registro ANVISA:
10097010-105

Apresentação:
620487 - GIEMSA CORANTE HEMAT 0,6% FR 500mL
621221 - GIEMSA CORANTE HEMAT 0,6% FR 1000mL
620491 - MAY GRUNWALD COR HEMAT 0,2% FR 500mL
621220 - MAY GRUNWALD COR HEMAT 0,2% FR1000mL

LB 172158
Rev. 03 – 11/2019

1. INTRODUÇÃO

Os corantes de May Grunwald - Giemsa podem ser usados em conjunto na coloração hematológica ou separadamente como no caso da coloração de Giemsa, simples, em procedimentos que demoram entre 15 e 20 minutos. A coloração completa é a mais recomendada, uma vez que a coloração simples pode não revelar todas as nuances de tonalidade das células coradas.
O corante May Grunwald - Giemsa utilizado para coloração de células é uma mistura de corantes com características neutras, que coram os componentes nucleares e citoplasmáticos das células.

2. COMPOSIÇÃO

MAY GRUNWALD-CORANTE

Formulação *	Concentração/L
May Grunwald	2g
Metanol	1000mL

GIEMSA-CORANTE

Formulação *	Concentração/L
Giemsa	6g
Metanol	500mL
Glicerol	500mL

* A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras
- A amostra pode consistir em sangue periférico recém-coletado (de preferência sem anticoagulante – as primeiras gotas da agulha após coleta) ou outros materiais, dispostos em esfregaços finos e contínuos. O sangue após algum tempo pode apresentar formação de coágulos.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio
- Coloração simples:
A lâmina é fixada pela ação de metanol puro e posteriormente corada pelo corante de Giemsa diluído para uso. Os componentes ácidos e básicos de celularidade irão assumir tonalidades características.

- Coloração composta:
A lâmina é submetida à fixação pelo corante de May Grunwald puro, posteriormente corada pela adição de água tamponada e do corante de Giemsa na diluição de uso. Os componentes ácidos e básicos da celularidade irão assumir tonalidades características.

b- Armazenamento e estabilidade
Para fins de transporte e armazenamento, o produto pode permanecer em temperatura ambiente, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. Recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

c- Precauções e cuidados especiais
- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico in vitro;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar produto com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para “Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A” para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121ºC por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab;
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde;
- Não manter os frascos abertos por grandes espaços de tempo, pois a umidade pode causar danos ao produto.

4. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Bico de Bunsen;
- Lâminas;
- Alça bacteriológica;
- Microscópio;
- Cronômetro.

5. PROCEDIMENTO TÉCNICO

5.1 Coloração de May Grunwald Giemsa

a- Cobrir a lâmina com o corante de May Grunwald e deixar atuar por 2 minutos.
b- Acrescentar 20 gotas (1 mL) de água destilada tamponada pH 7,0-7,2, deixar atuar por 1 minuto e homogeneizar.
c- Escorrer sem lavar.
d- Cobrir com a solução de Giemsa diluída (1 gota de corante Giemsa para cada 1 mL de água destilada) e deixar atuar por 13-15 minutos (o laboratório deve avaliar o tempo em função da espessura dos esfregaços ou da sua preferência).
e- Lavar com água destilada e deixar secar em posição vertical.

5.2 Coloração de Giemsa simples

a- Cobrir a lâmina com metanol puro e deixar atuar 3 minutos.
b- Escorrer.
c- Cobrir com a solução de Giemsa diluída (1 gota de corante Giemsa para cada 1 mL de água destilada) e deixar atuar por 13-15

minutos (o laboratório deve avaliar o tempo em função da espessura dos esfregaços ou da sua preferência).
d- Lavar com água destilada e deixar secar em posição vertical.

5.3 Técnica para esfregaços de medula (May Grunwald-Giemsa)
a- Preparar o esfregaço com o fragmento de medula coletado.
b- Fixar o material cobrindo a lâmina com metanol e deixar atuar por 3 minutos.
c- Escorrer o metanol e cobrir o esfregaço com o corante de May Grunwald puro, homogeneizar e deixar atuar durante 3 minutos.
d- Adicionar 1 mL de água destilada, homogeneizar e deixar atuar por 1 minuto.
e- Escorrer o corante sem lavar a lâmina.
f- Cobrir a lâmina com a mistura de Giemsa (15 partes de corante para 10 partes de água destilada), homogeneizar e deixar atuar por 12-15 minutos.
g- Lavar a lâmina cuidadosamente com água destilada.
h- Deixar secar.

6. RESULTADOS

Macroscopicamente a lâmina corada deve apresentar uma tonalidade rosa-mate uniforme. Microscopicamente as plaquetas devem se apresentar púrpuras com pontos avermelhados visíveis. As estruturas eosinófilicas se apresentam em tonalidade alaranjadas, as basofílicas em tonalidades azul-escuras e neutrofílicas lilases. Estruturas chamadas azurrófilas coram-se em tonalidades avermelhadas. Lâminas muito avermelhadas indicam acidez excessiva e lâminas azuladas indicam alcalinidade excessiva.

- Resultados esperados para colorações:

	Resultado esperado
Lâminas	Coração rosa-mate uniforme, mais escura na região mais densa do esfregaço.
Eritrócitos ortocromáticos	Corando-se em tonalidade rósea
Neutrófilos citoplasma acidófilo	Núcleo basofílico e granulações neutrofílicas (tonalidade em lilás)
Linfócitos citoplasma basofílico	Sem granulações e núcleo basofílico
Monócitos citoplasma ligeiramente basofílico	Com eventuais granulações azurrófilas e núcleo basofílico
Eosinófilos citoplasma acidófilo,	Núcleo basofílico e granulações eosinofílicas (alaranjadas) grosseiras
Plaquetas basofílicas	Granulações azurrófilas visíveis

7. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)
Os resultados falsamente aumentados ou diminuídos, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:
- Após abertos, os componentes tornam-se suscetíveis a contaminações químicas ou microbianas que podem inviabilizar sua utilização.
- Manter os frascos dos padrões sempre fechados de maneira a evitar alterações em concentrações.
- Os reagentes se destinam ao uso diagnóstico in vitro, não devendo ser ingeridos ou entrar em contato com a pele e mucosas;
- Utilização de reagente vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Não utilizar água tamponada adequada para a realização da coloração.
- Erro na conservação dos reagentes.
- Deve-se evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como ponteiras plásticas de micropipetador reaproveitadas.
- Deve-se evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como tubos para a reação.
- Interpretação equivocada de resultados.
- Tempo excessivo ou insuficiente de coloração.
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado.
- Não utilizar a proporção amostra reagente sugerida na técnica.
- Todas as amostras devem ser manipuladas com extrema cautela, pois podem veicular diversas doenças infectocontagiosas (hepatite, SIDA etc.).
- Lâminas com riscos e resíduos de detergente ou gordura não devem ser usadas.
- O uso de água da rede ou com pH em faixa inadequada gera resultados incompatíveis com o padrão de qualidade exigido em literatura.

8. CONTROLE DA QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo todos os reagentes Laborclin são testados pelo Laboratório de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de seu vencimento, descrito na embalagem, desde que armazenados e transportados em condições adequadas. A aplicação do controle de qualidade interno fica à critério do usuário, conforme seus procedimentos.

- Materiais necessários
Utilizar, preferencialmente, amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas em acordo com as normas vigentes;
Recomenda-se a análise comparativa da lâmina corada com o corante do novo lote, contra lâmina corada por corantes de lotes anteriores.

- Controle de qualidade dos reagentes:

	Aspecto do produto
Corantes não utilizados	May Grunwald: Solução azul, livre de partículas vísiveis. Giemsa: Solução azul, livre de partículas vísiveis.

9. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:
- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

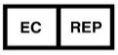
10. REFERÊNCIAS

1. KONEMAN, Elmer; *et al*. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 5 ed., 1997.
2. LIMA, O. A.; Soares J.B; Greco J.B. Galizzi; Cançado J.R: Métodos de laboratório aplicados à clínica; 1992.
3. LIU, W: A simplified cytologic staining technic. Am J Clin Pathol 54:767, 1970
4. MAHON, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
5. MOURA, R. A. *et al*. Técnicas de laboratório, 3ºEd., Ed Atheneu, 1992.
6. MURRAY, P. R. *et al*. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007.
7. OPLUSTIL, C. P. *et al*. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 3. ed. São Paulo, 2010.

8. PELCZAR Jr, M. J.; Chan, E. C. S.; Krieg, N. R.; Microbiology: concepts and applications; McGrawHill; 1993; 75-76 pp.
9. RIBEIRO, M. C.; Soares, M. M. S. R.; Microbiologia prática: roteiro e manual; Atheneu; 1993.
10. RUNYON, E.H. *et al*. Manual of clinical microbiology, p.141-174, Washington DC, Am. Soc. Mic., 1974.
11. SILVA, M. B. S., Hematologia, Técnicas Laboratoriais e Interpretação, 28-32, 1988.
12. STANER, R. Y.; Dourdoroff, M & Adelberg, E. Métodos de coloraciones in. Microbiologia. 2ºed. Madrid, 1977.
13. STANLEY S. Raphael: Lynch: Técnicas de laboratório; 1986.
14. TRABULSI, L. R; *et al*. Microbiologia. 3ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
15. VALLADA, E.P. Atheneu, ed. Manual de Técnicas Hematológicas. São Paulo.1999.

Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda
CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone 041 36619000
www.laborclin.com.br
Responsável Técnico:
Ana Lúcia Monteiro – CRF/PR-5972
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnostico *in vitro*
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Europeia.
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando oxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso
	Controle		Controle negativo
	Controle positivo		Manter seco
	Manter afastado de luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho de IVD
	Não reutilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Segunda edição (28.07.2015)