

# PANÓPTICO RÁPIDO CONCENTRADO 1:10

Para diagnóstico "in vitro"

## PRINCIPIO

Los colorantes que forman el Panóptico Rápido combinan la policromía y calidad de los métodos clásicos de tinción hematológica (May Grünwald, Giemsa, Wright) con una gran rapidez de ejecución, tan solo 15 segundos. Se trata de una técnica que se realiza por inmersión en las soluciones colorantes.

Como en el resto de tinciones de tipo Romanowsky, los colorantes básicos se unen a los componentes ácidos de las células, ácidos nucleicos, gránulos en neutrófilos y proteínas ácidas que se tiñen de un color rojo púrpura más o menos intenso, mientras que los colorantes ácidos se unen a la hemoglobina, componentes básicos de las estructuras celulares y los gránulos de los eosinófilos.

Su utilización permite la tinción diferencial de las células sanguíneas. El resultado de la tinción puede ser influenciado por varios factores como son la fijación, el tiempo de tinción y el valor del pH del agua de lavado. Si el pH es demasiado básico la coloración será más azul y si el pH es demasiado ácido, la coloración será más rosada.

## UTILIDAD DIAGNÓSTICA

Para la tinción diferencial de extensiones de sangre periférica y médula ósea. También puede usarse para la tinción de muestras de espermatozoides.

## REACTIVOS

### Kit 3 x 100 mL

Contiene

A.- Reactivo Nº 1	1 x 10 mL
B.- Reactivo Nº 2	1 x 100 mL
C.- Reactivo Nº 3	1 x 100 mL

Ref. 99 03 45

Ref. 99 03 50

Ref. 99 03 52

Ref. 99 03 54

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO DE TRABAJO:

Reactivo Nº 1: Diluir el vial hasta 1000 mL con metanol.

Reactivo Nº 2: Diluir el vial hasta 1000 mL con agua desionizada.

Reactivo Nº 3: Diluir el vial hasta 1000 mL con agua desionizada.

Los 3 reactivos una vez diluidos a 1000 mL ya están listos para su uso.

## COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

- A. Disolución acuosa de hexametil-p-rosanilina
- B. Disolución acuosa tamponada de xanteno
- C. Disolución acuosa tamponada de tiazina

## CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Los reactivos almacenados a 15-30°C y protegidos de la luz, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Los envases deben mantenerse siempre bien cerrados. Una vez diluidos son estables a temperatura ambiente (15 - 30°C) un mínimo de tres meses si se evitan las contaminaciones y la excesiva evaporación.

Con el tiempo, puede aparecer un ligero precipitado en algún reactivo, que no afecta a la funcionalidad del producto.

## MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Material de uso general de laboratorio.
- Láminas para la extensión de la sangre.
- Sistema, manual o automático, de tinción.
- Microscopio.

## PRECAUCIONES

Los productos son para uso profesional. Todos los reactivos deben manipularse con precaución por personal técnico formado. Se aconseja consultar antes de su uso la ficha de datos de seguridad.

La eliminación de los residuos debe hacerse según la normativa local vigente.

## MUESTRA

Extensiones de sangre secadas al aire. Se recomienda que sean finas y homogéneas para obtener una mejor fijación del colorante sin sobrecoloraciones.

Para obtener buenos resultados se aconseja realizar la tinción durante las dos horas siguientes a la preparación. Las extensiones viejas, pueden teñirse de forma irregular.

La muestra idónea es sangre capilar pero si se usa sangre venosa se aconseja utilizar EDTA como anticoagulante. El uso de la Heparina está desaconsejado.

Manipular las muestras con precaución por su capacidad potencialmente infecciosa.

## CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda seguir las prácticas de control de calidad marcadas por el CLSI (antes NCCLS). La metodología de tinción indicada es la utilizada de rutina en nuestros laboratorios.

## PROCEDIMIENTO

### TINCIÓN HEMATOLÓGICA

1. Dejar secar al aire.
2. Disponer los colorantes, Nº 1, Nº 2, y Nº 3, en cubetas Wertheim o similares.
3. Sumergir el cestillo con los portas durante 5 segundos (5 inmersiones de 1 segundo) en la disolución colorante Nº 1, escurrir.
4. Sumergir otros 5 segundos (5 inmersiones de 1 s) en la disolución colorante Nº 2, escurrir de nuevo.
5. Sumergir otros 5 segundos (5 inmersiones de 1 s) en la disolución colorante Nº 3.
6. Lavar con agua del grifo y dejar secar.
7. Examinar al microscopio.

### TINCIÓN DE ESPERMATOZOIDES

8. Preparar una extensión con 15 µl de semen reciente sobre un porta estándar y dejar secar al aire mínimo 10 minutos.
9. Disponer los colorantes, Nº 1, Nº 2, y Nº 3, en cubetas Wertheim o similares.
10. Sumergir el cestillo con los portas durante 5 segundos (5 inmersiones de 1 segundo) en la disolución colorante Nº 1, escurrir.
11. Sumergir otros 5 segundos (5 inmersiones de 1 s) en la disolución colorante Nº 2, escurrir de nuevo.
12. Sumergir otros 5 segundos (5 inmersiones de 1 s) en la disolución colorante Nº 3.
13. Lavar con agua del grifo y dejar secar.
14. Examinar al microscopio.

## RESULTADOS

Eritrocitos: Color rosa pálido o intenso.

Plaquetas: Color violeta pálido o púrpura.

Neutrófilos: Núcleo azul oscuro. Citoplasma rosado con granulaciones rojo violeta.

Eosinófilos: Núcleo azul. Citoplasma azul, con gránulos rojos o rojo anaranjado.

Basófilos: Núcleo azul oscuro o púrpura. Gránulos púrpura casi negros.

Linfocitos: Núcleo violeta. Citoplasma azul celeste.

Monocitos: Núcleo laxo violeta. Citoplasma azul celeste.

Cabeza del espermatozoide: Violeta oscuro.

Acrosoma del espermatozoide: Violeta en tonalidad más clara del violeta de la cabeza.

Pieza intermedia y cola del espermatozoide: Violeta oscuro

Fondo: Rosa pálido.

## NOTAS

La intensidad de la coloración es proporcional al tiempo de tinción. Para obtener resultados óptimos el colorante debe preservarse de la humedad. La intensidad de la tinción puede variarse, modificando el número de inmersiones en los colorantes Nº 2 y Nº 3 según se desee destacar las tonalidades rosas o las azules.

Las cubetas que contengan los colorantes, especialmente la del colorante Nº 1, deberán guardarse tapadas, a fin de evitar una evaporación excesiva, que podría inducir a desviaciones de color respecto a las tinciones habituales.

Antes de agotar el contenido de una cubeta, ir adicionando nueva cantidad de disolución colorante para mantener, día a día, un nivel apropiado. De vez en cuando renovar todo el contenido.

Para los procesos de lavado se recomienda utilizar agua tamponada en lugar de agua corriente. Ésta tiene un pH y un contenido en sales variables que, junto con concentraciones elevadas de cloro, pueden alterar los resultados de la tinción y dar lugar a resultados no consistentes.

Cada usuario puede aplicar las diversas variantes de este procedimiento, tanto manual como automático, que se ajuste a su metodología estándar.

## BIBLIOGRAFÍA

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Gurr, E. (1965) "The rational use of dyes in Biology", p. 115. Leonard Hill, Londres.

Gurr, E. (1971) "Synthetic dyes in Biology, Medicine and Chemistry". Academic Press. London & New York.

Maree, L.; du Plessis, S.S.; Menkvels, R. and van der Horst, G. Human Reproduction, 25 (6), 1369 – 1382 (2010).

# QUICK PANOPTIC CONCENTRATED (1:10)

For in vitro diagnostic

## PRINCIPLE

The stains which make up the Quick Panoptic stain combine polychromy and the quality of classic haematology staining methods (May-Grünwald, Giemsa, Wright) with a very quick execution time of just 15 seconds. The technique is performed by immersion in the staining solutions.

As with the other Romanowsky stains, the basic dyes bind to the acidic components of cells, nucleic acids, granules in neutrophils and acidic proteins which are stained a relatively deep red-purple colour, while the acid dyes bind to haemoglobin, basic components of cell structures and eosinophil granules.

Its use allows the differential staining of blood cells. The result of the staining may be influenced by several factors, such as the fixation, the staining time and the pH value of the rinsing water. If the pH is too basic the staining will be more blue, and if the pH is too acidic, the staining will be more pink.

## DIAGNOSTIC USE

For the differential staining of peripheral blood and bone marrow smears. It can also be used for the staining of semen samples.

## REAGENTS

### Kit 3 x 100 mL

Contains:

A.- Reagent No. 1	1 x 10 mL	Ref. 99 03 50
B.- Reagent No. 2	1 x 100 mL	Ref. 99 03 52
C.- Reagent No. 3	1 x 100 mL	Ref. 99 03 54

## PREPARATION OF THE WORKING REAGENT:

Reagent No. 1: Dilute the vial to 1,000 mL with methanol.

Reagent No. 2: Dilute the vial to 1,000 mL with deionised water.

Reagent No. 3: Dilute the vial to 1,000 mL with deionised water.

Once diluted to 1,000 mL, the 3 reagents are ready for use.

## REAGENT COMPOSITION

A. Aqueous solution of hexamethyl-p-rosaniline

B. Buffered aqueous solution of xanthene.

C. Buffered aqueous solution of thiazine

## STORAGE AND STABILITY

Reagents which are stored at 15-30°C and protected from light are stable until the expiry date stated on the label. Containers must always be kept tightly closed. Once diluted they are stable at room temperature (15 - 30°C), for at least three months, if contamination and excessive evaporation is prevented.

Over time, a light precipitate may form in some reagents. This does not affect their functionality.

## MATERIAL REQUIRED (NOT SUPPLIED)

General-purpose laboratory material.

Slides for blood smears.

Manual or automated staining system.

Microscope.

## PRECAUTIONS

The products are for professional use. All the reagents must be handled with care by trained technicians. The safety data sheet should be consulted before using the reagents.

Waste disposal must be carried out according to the local regulations in force.

## SAMPLE

Air-dried blood smears. It is recommended that they are thin and homogeneous in order to obtain a better fixation of the dye without overstaining.

Staining should be carried out during the two hours following preparation in order to obtain good results. Old smears may stain irregularly.

The ideal sample is capillary blood, but if venous blood is used then EDTA should be used as an anticoagulant. The use of Heparin is not advised.

Handle the samples with care due to their potentially infectious nature.

## QUALITY CONTROL

Following the quality control practices defined by the CLSI (formerly NCCLS) is recommended. The staining method indicated is the one which is used routinely in our laboratories.

## PROCEDURE

### HAEMATOLOGY STAIN

1. Leave to air dry.
2. Set out stains No. 1, No. 2 and No. 3 in Wertheim (or similar) cuvettes.
3. Immerse the rack with the slides for 5 seconds (5 immersions lasting 1 second each) in staining solution No. 1 and drain.
4. Immerse for another 5 seconds (5 immersions lasting 1 second each) in staining solution No. 2 and drain again.
5. Immerse for another 5 seconds (5 immersions lasting 1 second each) in staining solution No. 3.
6. Rinse with tap water and leave to dry.
7. Examine under the microscope.

### SPERM CELLS' STAIN

8. Prepare a smear with 15 µl of fresh semen on a standard slide and leave to air dry for at least 10 minutes.
9. Set out stains No. 1, No. 2 and No. 3 in Wertheim (or similar) cuvettes.
10. Immerse the rack with the slides for 5 seconds (5 immersions lasting 1 second each) in staining solution No. 1 and drain.
11. Immerse for another 5 seconds (5 immersions lasting 1 second each) in staining solution No. 2 and drain again.
12. Immerse for another 5 seconds (5 immersions lasting 1 second each) in staining solution No. 3.
13. Rinse with tap water and leave to dry.
14. Examine under the microscope.

## RESULTS

Red blood cells: Pale or deep pink.

Platelets: Pale violet or purple.

Neutrophils: Dark blue nucleus. Pink cytoplasm with red-violet granulations.

Eosinophils: Blue nucleus. Blue cytoplasm with red or red-orange granules.

Basophils: Dark blue or purple nucleus. Purple, almost black, granules.

Lymphocytes: Violet nucleus. Sky blue cytoplasm.

Monocytes: Very pale violet nucleus. Sky blue cytoplasm.

Head of sperm cell: Dark violet.

Acrosome of sperm cell: Violet, but a lighter shade of violet than the head.

Mid-piece and tail of the sperm cell: Dark violet.

Background: Pale pink.

## NOTES

The staining intensity is proportional to the staining time. The stain must be kept away from moisture in order to obtain optimal results. The staining intensity can be varied by modifying the number of immersions in stains No. 2 and No. 3, depending on whether it is wished to emphasise the pink or blue shades.

The cuvettes containing the stains, especially that of stain **No. 1**, should be kept covered, in order to prevent excessive evaporation, which could lead to colour deviations compared to normal staining.

Before the content of the cuvette is depleted, add new quantities of the staining solution on a daily basis in order to maintain an adequate level. Renew all the content from time to time. Using buffered water instead of running tap water is recommended for the rinsing processes. Running tap water has a varied pH and salt content, which, along with the high concentrations of chlorine, may alter the results of the staining and produce inconsistent results.

Each user may apply the different versions of this procedure, both manual and automated, adapting it to their standard method.

## REFERENCES

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Gurr, E. (1965) "The rational use of dyes in Biology", p. 115. Leonard Hill, London.

Gurr, E. (1971) "Synthetic dyes in Biology, Medicine and Chemistry". Academic Press. London & New York.

Maree, L.; du Plessis, S.S.; Menkvels, R. and van der Horst, G. Human Reproduction, 25 (6), 1369 – 1382 (2010).

# PANOPTIQUE RAPIDE CONCENTRÉ 1:10

Pour diagnostic in vitro

## PRINCIPE

Les colorants constituant le panoptique rapide associent la polychromie et la qualité des méthodes classiques de coloration hématologique (May Grünwald, Giemsa, Wright) à une grande rapidité d'exécution, à savoir 15 secondes seulement. Il s'agit d'une technique d'immersion dans les solutions colorantes.

Comme les autres colorants de type Romanowsky, les colorants basiques s'unissent aux composants acides des cellules, acides nucléiques, granules des neutrophiles et protéines acides qui prennent une couleur rouge pourpre plus ou moins intense, tandis que les colorants acides s'unissent à l'hémoglobine, aux composants basiques des structures cellulaires et aux granules des éosinophiles.

Leur utilisation permet la coloration différentielle des cellules sanguines. Le résultat de la coloration peut être influencé par différents facteurs comme la fixation, la durée de la coloration et la valeur du pH de l'eau de lavage. Si le pH est trop basique, la coloration sera plus bleue et si le pH est trop acide, la coloration sera plus rosée.

## UTILITÉ DIAGNOSTIQUE

Pour la coloration différentielle de frottis de sang périphérique et de moelle osseuse. Peut également être utilisé pour la coloration d'échantillons de sperme.

## RÉACTIFS

### Kit 3 x 100 mL

Réf. 99 03 45

Contient

A.- Réactif N° 1	1 x 10 mL	Réf. 99 03 50
B.- Réactif N° 2	1 x 100 mL	Réf. 99 03 52
C.- Réactif N° 3	1 x 100 mL	Réf. 99 03 54

## PRÉPARATION DU RÉACTIF DE TRAVAIL :

Réactif N° 1 : Diluer le flacon jusqu'à 1 000 mL dans le méthanol.

Réactif N° 2 : Diluer le flacon jusqu'à 1 000 mL dans l'eau déminéralisée.

Réactif N° 3 : Diluer le flacon jusqu'à 1 000 mL dans l'eau déminéralisée.

Une fois dilués à 1 000 mL, les 3 réactifs sont prêts à l'emploi.

## COMPOSITION DU REACTIFS

A. Solution aqueuse d'hexaméthyl-p-rosaniline

B. Solution aqueuse tamponnée de xanthène

C. Solution aqueuse tamponnée de thiazines

## CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservés à une température comprise entre 15 et 30 °C et à l'abri de la lumière, les réactifs restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Les emballages doivent toujours rester bien fermés. Une fois dilués, les réactifs sont stables à température ambiante (15 - 30 °C) pendant au moins trois mois si les contaminations et l'évaporation excessive sont évitées.

Un léger précipité peut apparaître dans les réactifs avec le temps, mais cela n'affecte pas la fonctionnalité du produit.

## MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Matériel utilisé habituellement en laboratoire.

Lames pour le frottis sanguin.

Système, manuel ou automatique, de coloration.

Microscope.

## PRÉCAUTIONS

Les produits sont destinés à un usage professionnel. Tous les réactifs doivent être manipulés avec précaution par le personnel technique formé. Il est conseillé de consulter la fiche des données de sécurité avant utilisation.

L'élimination des déchets doit être réalisée conformément aux réglementations locales en vigueur.

## ÉCHANTILLON

Frottis sanguins séchés à l'air libre. Il est recommandé qu'ils soient fins et homogènes pour obtenir une meilleure fixation du colorant sans coloration excessive.

Pour de meilleurs résultats, il est conseillé de réaliser la coloration dans les deux heures suivant la préparation. Les frottis anciens sont susceptibles de se colorer de façon irrégulière. L'échantillon idéal est un échantillon de sang capillaire, mais si du sang veineux est utilisé, il est conseillé d'utiliser l'EDTA en tant qu'anticoagulant. L'utilisation d'héparine est déconseillée.

Manipuler les échantillons avec précaution car ils sont potentiellement infectieux.

## CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Il est recommandé de suivre les pratiques de contrôle de la qualité établies par le CLSI (anciennement NCCLS). La méthode de coloration indiquée est celle utilisée couramment par nos laboratoires.

## PROCÉDURE

### COLORATION HÉMATOLOGIQUE

1. Laisser sécher à l'air libre.
2. Verser les colorants N° 1, N° 2 et N° 3 dans des cuvettes Wertheim ou des cuvettes similaires.
3. Plonger le panier contenant les supports pendant 5 secondes (5 immersions d'1 seconde) dans la solution colorante N° 1, égoutter.
4. Plonger 5 secondes de plus (5 immersions d'1 seconde) dans la solution colorante N° 2, égoutter à nouveau.
5. Plonger 5 secondes de plus (5 immersions d'1 seconde) dans la solution colorante N° 3.
6. Laver à l'eau du robinet et laisser sécher.
7. Examiner au microscope.

### COLORATION DE SPERMATOZOÏDES

8. Préparer un frottis avec 15 µl de sperme récent sur un support standard et laisser sécher à l'air libre au moins 10 minutes.
9. Verser les colorants N° 1, N° 2 et N° 3 dans des cuvettes Wertheim ou des cuvettes similaires.
10. Plonger le panier contenant les supports pendant 5 secondes (5 immersions d'1 seconde) dans la solution colorante N° 1, égoutter.
11. Plonger 5 secondes de plus (5 immersions d'1 seconde) dans la solution colorante N° 2, égoutter à nouveau.
12. Plonger 5 secondes de plus (5 immersions d'1 seconde) dans la solution colorante N° 3.
13. Laver à l'eau du robinet et laisser sécher.
14. Examiner au microscope.

## RÉSULTATS

Érythrocytes : Couleur rose pâle ou intense.

Plaquettes : Couleur violet pâle ou pourpre.

Neutrophiles : Noyau bleu foncé. Cytoplasme rosé avec grains rouge-violet.

Éosinophiles : Noyau bleu. Cytoplasme bleu, avec grains rouges ou rouge-orangé.

Basophiles : Noyau bleu foncé ou pourpre. Grains pourpres presque noirs.

Lymphocytes : Noyau violet. Cytoplasme bleu ciel.

Monocytes : Noyau violet clair. Cytoplasme bleu ciel.

Tête du spermatozoïde : Violet foncé.

Acrosome du spermatozoïde : Violet d'une tonalité plus claire que le violet de la tête.

Partie intermédiaire et queue du spermatozoïde : Violet foncé

Fond : Rose pâle.

## REMARQUES

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la durée de la coloration. Pour obtenir des résultats optimaux, le colorant doit être préservé de l'humidité. L'intensité de la coloration peut varier, en modifiant la quantité d'immersions dans les colorants N° 2 et N° 3 suivant que l'on souhaite souligner les tonalités roses ou bleues.

Les cuvettes contenant les colorants, en particulier celle du colorant N° 1, devront rester fermées, afin d'éviter une évaporation excessive qui pourrait provoquer des modifications de la couleur par rapport aux colorations habituelles.

Ajouter de nouvelles quantités de solution colorante avant épuisement du contenu d'une cuvette pour conserver un niveau adéquat au jour le jour. Changer tout le contenu de temps à autre.

Pour les processus de nettoyage, il est recommandé d'utiliser de l'eau tamponnée plutôt que de l'eau courante. Celle-ci a un pH et une teneur en sels variables qui, s'ajoutant à des concentrations élevées de chlore, peuvent altérer les résultats de la coloration et donner lieu à des résultats incohérents.

Chaque utilisateur peut appliquer les différentes variantes de cette procédure, manuelles ou automatiques, adaptées à sa méthode standard.

## BIBLIOGRAPHIE

CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

Gurr, E. (1965) "The rational use of dyes in Biology", p. 115. Leonard Hill, Londres.

Gurr, E. (1971) "Synthetic dyes in Biology, Medicine and Chemistry". Academic Press. London & New York.

Maree, L.; du Plessis, S.S.; Menkveld, R. and van der Horst, G. Human Reproduction, 25 (6), 1369 – 1382 (2010).

# PANÓTICO RÁPIDO CONCENTRADO 1:10

Para diagnóstico “in vitro”

## PRINCÍPIO

Os corantes que formam o panótico rápido combinam a policromia e a qualidade dos métodos clássicos de coloração hematológica (May Grünwald, Giemsa, Wright) com uma grande rapidez de execução, apenas 15 segundos. Trata-se de uma técnica que se realiza por imersão nas soluções corantes.

Como nas restantes colorações de tipo Romanowsky, os corantes básicos unem-se aos componentes ácidos das células, ácidos nucleicos, grânulos em neutrófilos e proteínas ácidas que se coram com uma cor vermelho-púrpura mais ou menos intensa, enquanto os corantes ácidos se unem à hemoglobina, componentes básicos das estruturas celulares e grânulos dos eosinófilos.

A sua utilização permite a coloração diferencial das células sanguíneas. O resultado da coloração pode ser influenciado por vários fatores como a fixação, o tempo de coloração e o valor do pH da água de lavagem. Se o pH for demasiado básico, a coloração será mais azul e se o pH for demasiado ácido, a coloração será mais rosada.

## UTILIDADE NO DIAGNÓSTICO

Para a coloração diferencial de esfregaços de sangue periférico e medula óssea. Também pode ser utilizado para a coloração de amostras de esperma.

## REAGENTES

### Kit 3 x 100 mL

Contém

A.- Reagente n.º 1	1 x 10 mL	Ref. 99 03 50
B.- Reagente n.º 2	1 x 100 mL	Ref. 99 03 52
C.- Reagente n.º 3	1 x 100 mL	Ref. 99 03 54

## COMPOSIÇÃO DO REAGENTES

- A. Solução aquosa de hexametil-p-rosanilina
- B. Solução aquosa tamponada de xanteno
- C. Solução aquosa tamponada de tiazina

## PREPARAÇÃO DO REAGENTE DE TRABALHO:

- Reagente n.º 1: diluir o frasco até 1000 mL com metanol.
  - Reagente n.º 2: diluir o frasco até 1000 mL com água desionizada.
  - Reagente n.º 3: diluir o frasco até 1000 mL com água desionizada.
- Os 3 reagentes, depois de diluídos até 1000 mL, estão prontos a usar.

## CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Os reagentes armazenados a 15–30 °C e protegidos da luz ficam estáveis até ao prazo de validade indicado no rótulo. As embalagens devem ser sempre mantidas bem fechadas. Depois de diluídos são estáveis à temperatura ambiente (15–30°C) durante um período mínimo de três meses, se forem evitadas as contaminações e a evaporação excessiva.

Com o tempo pode aparecer um ligeiro precipitado em algum reagente que não afeta a funcionalidade do produto.

## MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

- Material de uso geral de laboratório.
- Lâminas para esfregaço do sangue.
- Sistema, manual ou automático, de coloração.
- Microscópio.

## PRECAUÇÕES

Os produtos são para uso profissional. Todos os reagentes devem ser manipulados com precaução pelo pessoal técnico com formação. É aconselhável consultar a ficha de dados de segurança antes da sua utilização. A eliminação dos resíduos deve ser realizada segundo a legislação local em vigor.

## AMOSTRA

Esfregaços de sangue secos ao ar. Recomenda-se que sejam finos e homogêneos para obter uma melhor fixação do corante sem colorações excessivas. Para obter bons resultados, recomenda-se a coloração durante as duas horas seguintes à preparação. Os esfregaços com mais tempo podem adquirir uma coloração irregular. A amostra ideal é sangue capilar, mas caso seja utilizado sangue venoso, recomenda-se a utilização de EDTA como anticoagulante. A utilização de heparina é desaconselhada. Manipular as amostras com precaução pela sua capacidade potencialmente infecciosa.

## CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se seguir as práticas de controlo de qualidade indicadas pelo CLSI (anteriormente NCCLS). A metodologia de coloração indicada é a utilizada rotineiramente nos nossos laboratórios.

## PROCEDIMENTO

### COLORAÇÃO HEMATOLÓGICA

- Deixar secar ao ar.
- Disponibilizar os corantes, n.º 1, n.º 2, e n.º 3, em cuvetes Wertheim ou semelhantes.
- Mergulhar o cesto com as lâminas durante 5 segundos (5 imersões de 1 segundo) na solução corante n.º 1, escorrer.
- Mergulhar outros 5 segundos (5 imersões de 1 s) na solução corante n.º 2, escorrer novamente.
- Mergulhar outros 5 segundos (5 imersões de 1 s) na solução corante n.º 3.
- Lavar com água da torneira e deixar secar.
- Examinar ao microscópio.

### COLORAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES

- Preparar um esfregaço com 15 µL de sémen recente numa lâmina padrão e deixar secar ao ar, pelo menos, 10 minutos.
- Disponibilizar os corantes, n.º 1, n.º 2, e n.º 3, em cuvetes Wertheim ou semelhantes.
- Mergulhar o cesto com as lâminas durante 5 segundos (5 imersões de 1 segundo) na solução corante n.º 1, escorrer.
- Mergulhar outros 5 segundos (5 imersões de 1 s) na solução corante n.º 2, escorrer novamente.
- Mergulhar outros 5 segundos (5 imersões de 1 s) na solução corante n.º 3.
- Lavar com água da torneira e deixar secar.
- Examinar ao microscópio.

## RESULTADOS

- Eritrócitos: cor rosa pálido ou intenso.
- Plaquetas: cor violeta-pálido ou púrpura.
- Neutrófilos: núcleo azul-escuro. Citoplasma rosado com granulações vermelho-violeta.
- Eosinófilos: núcleo azul. Citoplasma azul, com grânulos vermelhos ou vermelho-alaranjados.
- Basófilos: núcleo azul-escuro ou púrpura. Grânulos púrpura quase pretos.
- Linfócitos: núcleo violeta. Citoplasma azul-celeste.
- Monócitos: núcleo violeta-claro. Citoplasma azul-celeste.

- Cabeça do espermatozoide: violeta-escuro.
- Acrossoma do espermatozoide: violeta em tonalidade mais clara do que o violeta da cabeça.
- Parte intermédia e cauda do espermatozoide: violeta-escuro
- Fundo: rosa pálido.

## NOTAS

A intensidade da coloração é proporcional ao tempo de coloração. Para obter os melhores resultados, o corante deve ser preservado da humidade. A intensidade da coloração pode variar, modificando o número de imersões nos corantes n.º 2 e n.º 3, conforme se pretenda destacar as tonalidades rosa ou as azuis. As cuvetes que contêm os corantes, especialmente a do corante n.º 1, deverão ser guardadas tapadas, de forma a evitar uma evaporação excessiva, que poderá provocar desvios de cor relativamente às colorações habituais. Antes de terminar o conteúdo de uma cuvette, ir adicionando nova quantidade de solução corante para manter, dia após dia, um nível adequado. De vez em quando, renovar todo o conteúdo. Para os processos de lavagem, recomenda-se a utilização de água tamponada em vez de água corrente. Esta tem um pH e um teor de sais variáveis que, juntamente com concentrações elevadas de cloro, podem alterar os resultados da coloração e dar lugar a resultados não consistentes. Cada utilizador pode aplicar as diversas variantes deste procedimento, tanto manual como automático, que se adaptem à sua metodologia padrão.

## BIBLIOGRAFIA

- CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A
- Gurr, E. (1965) “The rational use of dyes in Biology”, p. 115. Leonard Hill, London.
- Gurr, E. (1971) “Synthetic dyes in Biology, Medicine and Chemistry”. Academic Press. London & New York.
- Maree, L.; du Plessis, S.S.; Menkvels, R. and van der Horst, G. Human Reproduction, 25 (6), 1369–1382 (2010).

## QUÍMICA CLÍNICA APLICADA S.A.

Empresa Certificada ISO 9001 / ISO 13485

A7 Km 1081 – P.O. Box 20 - E43870 AMPOSTA / ESPANHA

Tel. ++ 34 (977) 70. 62. 30 Fax ++ 34 (977) 70. 30. 40

Revisão: 07.2018

PRO4-9\_PRC