

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS DE COLORAÇÃO PANÓTICO RÁPIDO E GIEMSA DENTRO DE UMA ROTINA LABORATORIAL

Rafaela Camargo Schützler

Graduanda de Biomedicina, Centro Universitário Sociesc São Bento do Sul

Email: rafa.camargu59@gmail.com / Tel: (+55 47 996131825)

Resumo:

O hemograma é um dos exames mais solicitados pelos médicos, sendo indispensável a análise manual para verificação de alterações nas células sanguíneas, portanto, é necessário uma técnica de coloração que proporcione a diferenciação dos elementos sanguíneos. O objetivo do presente estudo foi avaliar comparativamente os métodos de coloração Giemsa e panótico rápido em lâminas com esfregaços sanguíneos, em busca da melhor técnica dentro de uma rotina laboratorial. A análise dos dados foi realizada pelo método de pesquisa comparativo entre as técnicas Giemsa e panótico em amostras hematológicas. As diferentes colorações apresentaram a distinção entre as células sanguíneas, o método de coloração Giemsa resultou em uma melhor caracterização de leucócitos e o panótico apresentou uma diferenciação satisfatória das células de forma rápida.

Palavras-chave: métodos de coloração, hemograma, esfregaço sanguíneo.

Abstract:

The blood count is one of the most requested exams by the doctors, the manual analysis is essential to verify changes in blood cells, therefore, a staining technique that provides the differentiation of blood elements is necessary. The aim of the present study was to comparatively evaluate the Giemsa and rapid panoptic staining methods on slides with blood smears, in search of the best technique within a laboratory routine. Data analysis was performed by the comparative research method between the Giemsa and panotic techniques in hematological samples. The different stains presented the distinction between blood cells, the Giemsa staining method resulted in a better characterization of leukocytes and the panoptic one showed a satisfactory differentiation of the cells in a fast way.

Keywords: staining methods, blood count, blood smear.

1. INTRODUÇÃO

O hemograma é um exame laboratorial que avalia de forma quantitativa e qualitativa as células sanguíneas, como as células da série vermelha (hemácias), da série branca (leucócitos) e plaquetária (MEIRELES et al., 2018). Em um levantamento realizado em um laboratório de Porto Alegre, segundo Failace (2015) 62,3% das requisições de exames dentre mais de 200 mil pacientes ambulatoriais continham hemograma, ou seja, é um dos exames mais solicitados pelos médicos, visto que, os dados fornecidos pelo hemograma auxiliam na avaliação clínica geral e no diagnóstico de diversas doenças (ALVES, 2020).

Atualmente, a maior parte dos laboratórios utiliza o método automatizado para a realização do hemograma, uma vez que, a automação na medicina laboratorial possibilita que o laboratório seja mais produtivo, oferecendo uma análise mais rápida, precisa e com elevado grau de exatidão e reprodutibilidade (LAUZIN, 2017). Com o avanço da tecnologia, os inúmeros contadores e equipamentos que estão sendo utilizados mostram rapidez e confiabilidade nos seus resultados, permitindo que as empresas de diferentes portes tenham automação em alguma etapa de sua rotina (FARIAS et al., 2019).

Apesar dos contadores automatizados, ainda é indispensável a análise manual por meio de esfregaço sanguíneo, em algumas amostras, para confirmação de anormalidades morfológicas e alterações, a análise microscópica é realizada em casos selecionados por parâmetros anteriormente estabelecidos pelos profissionais habilitados em análises clínicas (BANDEIRA et al., 2014). Os contadores hematológicos quando identificam uma amostra com alguma anormalidade, emitem alerta (flags) que tornam necessária a revisão de microscopia, pois apenas através dela pode-se escalonar os neutrófilos em segmentados, bastões, metamielócitos, mielócitos e promielócitos, examinar a existência de alterações displásicas nos leucócitos e descrever os linfócitos atípicos (LAUZIN, 2017).

A técnica do esfregaço sanguíneo, também denominada distensão sanguínea, permite a contagem e identificação de anormalidades, essa técnica consiste no estiramento de uma gota de sangue em uma lâmina de vidro, com a finalidade de formar uma fina película de sangue sobre a superfície da lâmina (MEIRELES et al., 2018). Para coloração de todas as células sanguíneas, são usadas variações de coloração com base nos corantes de Romanowsky, que consiste em misturas dos corantes azul de metileno e eosina, preparadas por autores como Leishman, Giemsa, Wright e May-Grunwald, outro método utilizado é a coloração por panótico rápido que se baseia no princípio de Romanowsky, onde as lâminas são imersas em cada componente da coloração, agindo em segundos (ZEBRAL, 2011).

A técnica de coloração é muito importante na avaliação hematológica, uma vez que os corantes hematológicos auxiliam na identificação de diversas doenças e acompanhamento da evolução das mesmas, por este motivo, para que a análise seja ideal, é indispensável uma técnica de coloração que proporcione a visibilidade e diferenciação dos elementos sanguíneos, facilitando a análise microscópica (MEIRELES et al., 2018; CARVALHO, 2019).

Diante destas informações, o objetivo deste estudo foi avaliar comparativamente os métodos de coloração Giemsa e Panótico em lâminas com esfregaços sanguíneos, em busca da melhor técnica dentro de uma rotina laboratorial, assim contribuir para um melhor conhecimento, descrevendo cada método de coloração e correlacionando os resultados obtidos com os dados da literatura.

No entanto, embora esse tema seja importante para a rotina laboratorial conforme estudos de Carvalho (2019), até agora há poucos trabalhos que discutam esse tema. A revisão bibliográfica para o estudo comparativo foi realizada através de buscas por artigos científicos, livros e dissertações nas bases de dados Science Direct, Scielo, Google Acadêmico e Periódicos Capes. Como critério de inclusão definiu-se o período de publicação desde 2011 pela maior probabilidade de encontrar artigos científicos sobre o assunto.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Hemograma

O hemograma é um dos exames mais solicitados por causa da diversidade de informações fornecidas, mostrando aspectos quantitativos e qualitativos dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas, composto por eritrograma, leucograma e plaquetograma. Assim, o hemograma ajuda no diagnóstico e controle de diversas doenças, tipos de anemia, condição imunológica, alterações e presença de infecções (FAILACE, 2015; LAUZIN, 2017).

O eritrograma avalia as hemácias, ou seja, o perfil hematológico da série vermelha no sangue periférico, analisando os parâmetros quantitativos e a morfologia das hemácias. Os principais parâmetros quantitativos avaliados nessa etapa do hemograma são: contagem de eritrócitos (RBC), dosagem de hemoglobina (Hgb), hematócrito (Htc), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os parâmetros VCM, HCM e CHCM são chamados de índices hematimétricos, calculados ou obtidos pela análise dos valores RBC, Hgb e Htc. A avaliação morfológica é feita analisando os tamanhos como microcitose, normocitose e macrocitose, analisando a forma ou

poiquilocitose como hemácias “em alvo”, drepanócitos, esferócitos e outras, conteúdo de hemoglobina, por exemplo, normocromia e hipocromia, inclusões citoplasmáticas e distribuição das hemácias nos esfregaços sanguíneos (LAUZIN, 2017).

O plaquetograma é a contagem de plaquetas, a avaliação da sua morfologia e identificação e diferenciação de plaquetopenias das pseudoplaquetopenias. Já o leucograma avalia os leucócitos, chamada de série branca, constituído pela contagem total de leucócitos na amostra e diferencial de leucócitos e pela análise das suas alterações morfológicas (LAUZIN, 2017).

2.2. Contadores automatizados

Atualmente, a maior parte dos laboratórios utiliza o método automatizado para a realização do hemograma, uma vez que, a automação na medicina laboratorial possibilita que o laboratório seja mais produtivo, oferecendo uma análise mais rápida, precisa e com elevado grau de exatidão e reprodutibilidade (LAUZIN, 2017). Com o avanço da tecnologia, os inúmeros contadores e equipamentos que estão sendo utilizados mostram rapidez e confiabilidade nos seus resultados, permitindo que as empresas de diferentes portes tenham automação em alguma etapa de sua rotina (FARIAS et al., 2019).

Os analisadores hematológicos emitem alarmes, também chamadas de flags, quando a amostra apresenta alguma alteração ou na presença de células que geralmente não são encontradas no sangue periférico, como linfócitos atípicos, blastos e neutrófilos imaturos, restringindo a revisão da lâmina apenas em amostras com alarmes emitidos pelos contadores. Em relação ao leucograma, existem dois tipos de contadores utilizados nos laboratórios, a contagem diferencial dos leucócitos em três ou cinco partes, os analisadores de três partes exercem a contagem total dos monócitos, linfócitos e granulócitos (neutrófilos, basófilos e eosinófilos), e os contadores com contagem de cinco partes geram as contagens dos neutrófilos, monócitos, linfócitos, eosinófilos e basófilos (LAUZIN, 2017).

Existem vários contadores hematológicos disponíveis, como instrumentos Coulter, Cell Dyn (Abbott), e Sysmex (Roche), Advia Siemens, eles aplicam o método da impedância para contar eritrócitos, leucócitos e plaquetas; a definição da hemoglobina por espectrofotometria fornece a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Assim como, utilizam a tecnologia de citometria de fluxo que traz a sensibilidade necessária para quantificar e diferenciar as classes celulares no sangue total, tendo como finalidade contar, examinar e classificar partículas em meios líquidos em fluxo e é considerada a melhor técnica para diferenciar populações de células (BANDEIRA et al., 2014; FAILACE, 2015).

Estes analisadores possuem algumas vantagens em relação aos métodos manuais na realização dos hemogramas, como o aumento da segurança, menor volume de sangue, sendo importante em amostras de crianças, pela dificuldade de coleta, diminuição no tempo de emissão de laudos, pois os analisadores mais utilizados processam mais de 100 hemogramas por hora, interfaceamento dos resultados liberados pelo equipamento e o sistema, evitando erros de digitação, avaliação de outros parâmetros que não podem ser avaliados de forma manual como, por exemplo, o RDW - distribuição das hemácias por volume, que verifica a presença de anisocitose; o PDW - amplitude de distribuição das plaquetas e MPV - volume médio plaquetário (LAUZIN, 2017).

Entretanto, ainda é necessária a análise microscópica manual por meio de esfregaço sanguíneo, geralmente os critérios são estabelecidos pelos profissionais habilitados em análises clínicas, para confirmação de anormalidades morfológicas e alterações (BANDEIRA et al., 2014), pois apenas através da microscopia podem-se escalonar os neutrófilos em segmentados, bastões, metamielócitos, mielócitos e promielócitos, examinar a existência de alterações displásicas nos leucócitos e descrever os linfócitos atípicos (LAUZIN, 2017).

2. 3. Técnica de esfregaço sanguíneo

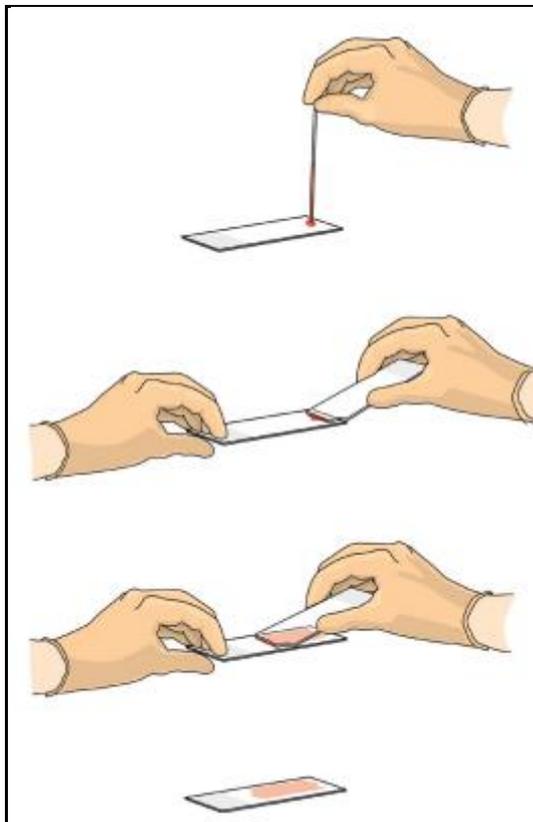
A disposição do esfregaço sanguíneo, também chamada distensão sanguínea, apesar de ser preparada somente em uma parte dos hemogramas, é muito importante para produzir resultados confiáveis. A técnica consiste em espalhar uma gota de sangue em um movimento suave e uniforme sobre a superfície de uma lâmina de vidro, com a utilização de uma lâmina extensora mais estreita do que a lâmina, em um ângulo de 25° a 45°, formando uma fina película de sangue (ALVES, 2020; MEIRELES, 2018).

A distensão ideal não pode conter falhas, portanto, as lâminas devem estar limpas e desengorduradas, e também, se o ângulo da lâmina distensora for muito grosseiro ou muito rápido, a distensão será muito curta, geralmente, o sangue com hematócrito alto é necessário um ângulo mais agudo, e para o sangue com hematócrito baixo é preciso um ângulo mais obtuso, a demora na realização do esfregaço pode acarretar na formação de coágulos. Depois de cada utilização é importante limpar a lâmina distensora, pois pode ocorrer transferência de células de uma distensão para outra (BAIN, 2016).

A lâmina pode ser feita de sangue sem anticoagulante ou de sangue anticoagulado com EDTA. Com o EDTA, que é o anticoagulante mais utilizado na hematologia, as plaquetas se distribuem de forma homogênea no esfregaço, visto que, ele impede a agregação plaquetária, porém, é preciso se atentar, pois o excesso de EDTA altera a morfologia das hemácias, e as

distensões de sangue venoso ou de sangue capilar são livres de artefatos provocados pela conservação e pelo anticoagulante, porém, são formados agregados de plaquetas, dificultando a análise, em razão disso, poucos laboratórios usam este método como rotina (BAIN, 2016).

Figura 1. Técnica do esfregaço sanguíneo.



Fonte: BAIN, Barbara J. (2016) p. 21.

2.4. Técnicas de coloração

Os corantes para esfregaços sanguíneos, também chamados de pancrômicos, baseiam-se no princípio de Romanowsky, que no fim do século XIX idealizou um método no qual uma solução de corantes poderia colorir estruturas (BAIN, 2016). As misturas dos corantes eosina e azul de metileno são formuladas de acordo com vários autores: Leishman, May-Grunwald, Giemsa, Wright, entre outros, levando o nome de cada autor em sua formulação, o uso de misturas entre os corantes também é muito comum, sendo o mais utilizado o Giemsa com May-Grunwald. O método panótico rápido também é utilizado tendo como base o mesmo princípio, entretanto, com mais agilidade, sendo realizado em 15 segundos (CARVALHO, 2019).

Todos os corantes são neutros, atuando do mesmo modo, eles são dependentes do pH da solução para demarcar as estruturas, as estruturas ácidas são coradas com tons vermelhos (acidófilas) e as estruturas básicas com tons de azul (basófilas), o azul de metileno se oxida em gradações diferentes, quando dissolvido no álcool, originando diversos azules de metileno, as

estruturas com o pH neutro, a coloração torna-se intermediária entre azul (azurófilas) e vermelho (neutrófilas) (CARVALHO,2019; ZEBRAL, 2011). Sendo assim, quando a estrutura se torna da mesma cor do corante é chamada de coloração ortocromática, e quando torna-se de cor diferente é uma coloração metacromática (LABORCLIN, 2018).

A coloração das células torna-as visíveis e diferenciáveis, permitindo a avaliação do tamanho das células, o formato do núcleo, a presença dos nucléolos, a presença de granulações, vacúolos, dentre outras alterações morfológicas (CARVALHO, 2019). Para que a coloração seja excepcional ela deve ser realizada no o pH certo. Quando o pH é muito alto, acontece a captação intensa do corante básico, tornando difícil a distinção da policromatofilia dos eritrócitos, os grânulos dos neutrófilos ficam muito corados, simulando granulações tóxicas e os grânulos dos eosinófilos coram-se de azul escuro ou cinza. E quando o pH é baixo, os componentes basófilos não são corados de forma efetiva, os leucócitos ficam pálidos, e os grânulos dos eosinófilos ficam vermelho-brilhante (BAIN,2016).

2.4.1. Fixação

A fixação deve acontecer sempre antes da coloração, o fixador mais usado é o metanol, devendo ser aplicado na lâmina de 1 a 3 minutos. Quando o corante é preparado em solução alcoólica também é classificado como fixador (CARVALHO, 2019).

2.4.2. May-Grunwald Giemsa (Laborclin)

May-Grunwald Giemsa são corantes com características neutras, que coram os componentes nucleares e citoplasmáticos das células, destinados principalmente à coloração de células sanguíneas em esfregaços de sangue periférico, de medula ou de outra natureza. Podem ser utilizados em conjunto ou separados, porém, a coloração completa é a mais recomendada, visto que a coloração simples pode não revelar todas as tonalidades das células coradas.

Tabela 1. Composição do May-Grunwald

Formulação	Concentração/L
May Grunwald	2g
Metanol	1000mL

Fonte: LABORCLIN (2018)

Tabela 2. Composição do Giemsa

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

Fonte: LABORCLIN (2018)

O princípio da coloração simples é que a lâmina é fixada pela ação de metanol puro e posteriormente corada pelo corante de Giemsa diluído para uso. Já o da 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.

Para a técnica de coloração May Grunwald Giemsa, primeiramente, cobre-se a lâmina com o corante de May Grunwald e deixa-se atuar por 2 minutos, acrescenta-se 20 gotas (1mL) de água destilada tamponada pH 7,0-7,2, depois, deixa-se atuar por 1 minuto e homogeneiza, escorre sem lavar e cobre com a solução de Giemsa diluída (1 gota de corante Giemsa para cada 1 mL de água destilada) e deixa-se atuar por 13-15 minutos, por último lava-se com água destilada e deixa secar em posição vertical.

Para a coloração de Giemsa simples a lâmina é coberta com metanol puro e atua por 3 minutos, deixa-se escorrer e cobre com solução de Giemsa diluída (1 gota de corante Giemsa para cada 1 mL de água destilada) por 13-15 minutos, depois, lava-se com água destilada e deixa-se secar em posição vertical.

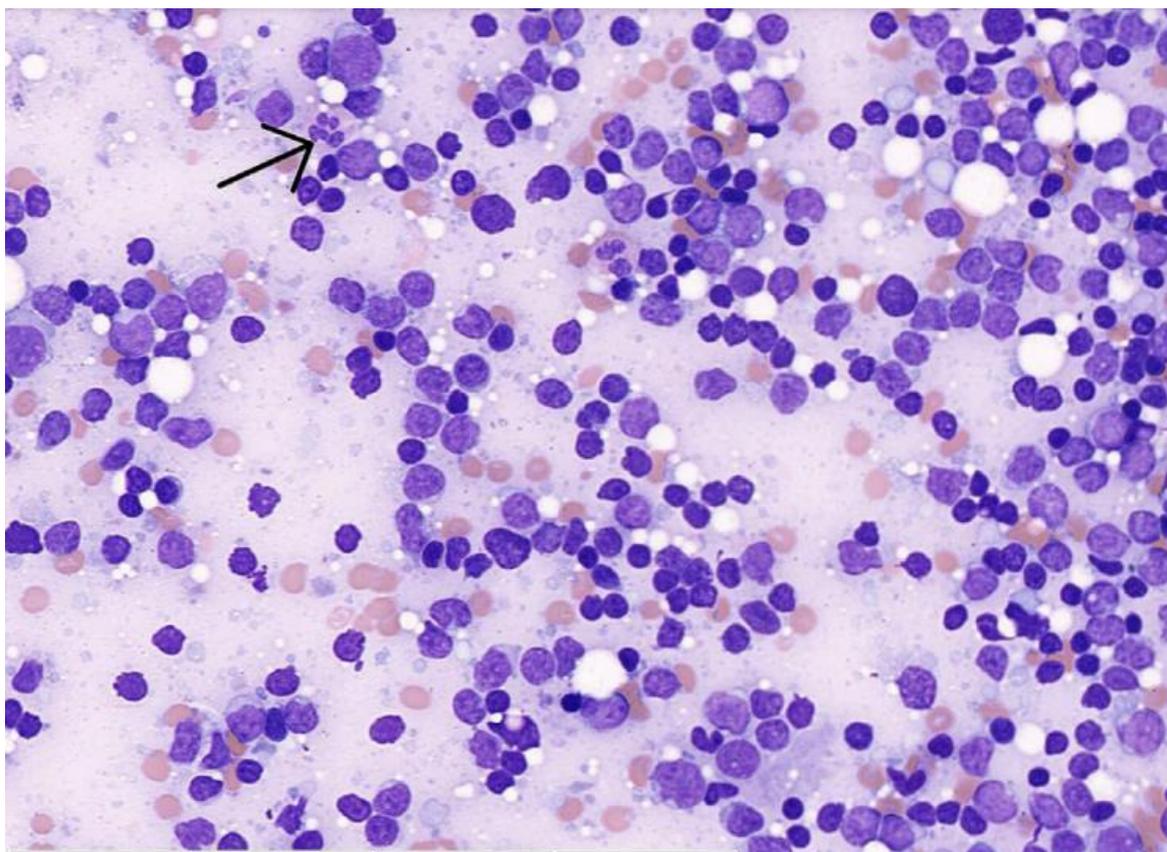
Macroscopicamente a lâmina deve apresentar uma tonalidade rosa-mate uniforme. Microscopicamente as plaquetas devem se apresentar púrpuras com pontos avermelhados visíveis.

Tabela 3. Resultados de coloração May-Grunwald Giemsa esperados

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

Fonte: LABORCLIN (2018)

Figura 2. Coloração May-Grunwald Giemsa considerada correta: os glóbulos vermelhos são rosa alaranjado e o citoplasma é rosado (seta preta).



Fonte: PIATON et al. (2015) p. 301

2.4.3. Panótico Rápido (Laborclin)

O panótico rápido é um kit usado para execução de coloração rápida principalmente em hematologia e em outros materiais biológicos, o método baseia-se no princípio de Romanowsky, atuando em 15 segundos.

Tabela 4. Composição do Panótico Rápido

Formulação Panótico Rápido nº1	Concentração/L
Triarilmetano	1,0 g
Metanol	1000mL
Formulação Panótico Rápido nº2	Concentração/L
Xantenos	1,0 g
Água deionizada	1000mL
Formulação Panótico Rápido nº2	Concentração/L
Tiazinas	1,0 g
Água deionizada	1000mL

Fonte: LABORCLIN (2018)

Para o procedimento as lâminas com extensões sanguíneas devem ser preparadas e secas em temperatura ambiente, após essa secagem, a lâmina deve ser imersa no fixador (solução 1), mantendo um movimento consecutivo de cima para baixo ou para os lados durante 5 segundos e deixar escorrer bem. Depois, mergulhar a lâmina na solução 2, mantendo o mesmo movimento consecutivo por 5 segundos, após escorrer bem, mergulhar a lâmina na solução 3, também no mesmo movimento por 5 segundos e deixar escorrer bem, em seguida lavar com água deionizada pH 7, deixar secar ao ar na posição vertical, com o final da extensão para cima.

Macroscopicamente a coloração deve ser na tonalidade rosa-mate. Microscopicamente as plaquetas devem ter coloração púrpura com um ponto vermelho visível. Lâminas muito vermelhas mostram acidez excessiva e muito azulada, alcalinidade excessiva.

Tabela 5. Resultados de coloração Panótico Rápido esperados

Parâmetros	Resultado esperado
Lâminas	Coloração rosa-mate uniforme, mais escura na região mais densa do esfregado
Eritrócitos ortocromáticos	Coloração 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 azurófilas e núcleo basofílico
Eosinófilos citoplasma acidófilo	Núcleo basofílico e granulações eosinofílicas (alaranjadas) grosseiras
Plaquetas basofílicas	Granulações azurófilas visíveis

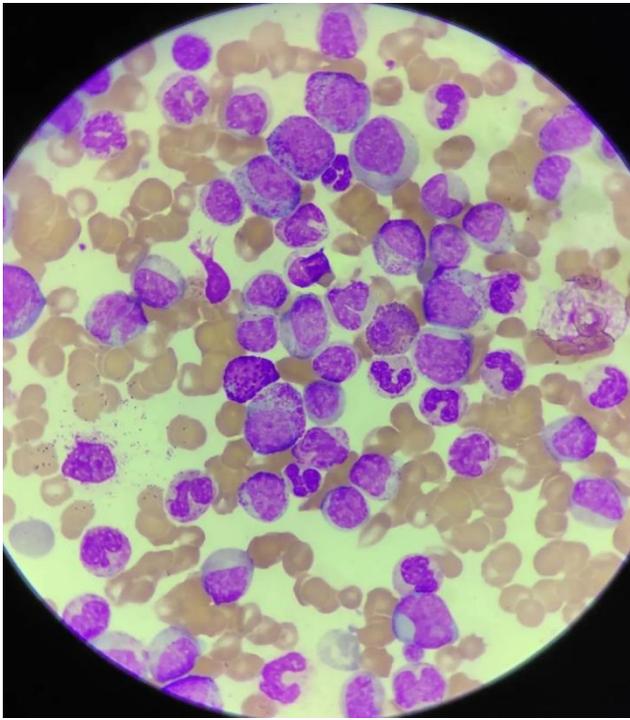
Fonte: LABORCLIN (2018)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As colorações panótico rápido e May-Grunwald Giemsa possuem diferentes características, de acordo com Piaton et al. (2015) para uma boa coloração MGG, em relação à coloração dos basófilos, os grânulos basofílicos (metacromáticos) devem ser mais escuros e, em relação aos mastócitos, os grânulos de Giemsa têm uma cor que varia do roxo escuro ao vermelho roxo. O mais importante é o aparecimento de granulações de neutrófilos e eosinófilos, que devem ser róseas alaranjadas, bem como um citoplasma de fundo quase incolor para polimorfonucleares, quanto aos

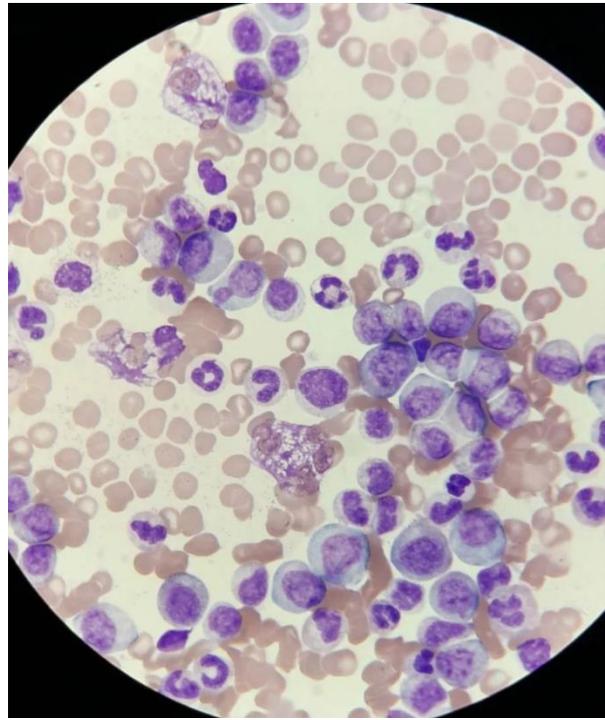
nucléolos devem ser do mesmo tom do núcleo, porém mais pálido, com borda geralmente bastante clara, eles fazem parte da interpretação do esfregaço patológico, mas não podem ser objeto de uma avaliação de qualidade do MGG.

Figura 3. Coloração May-Grunwald Giemsa



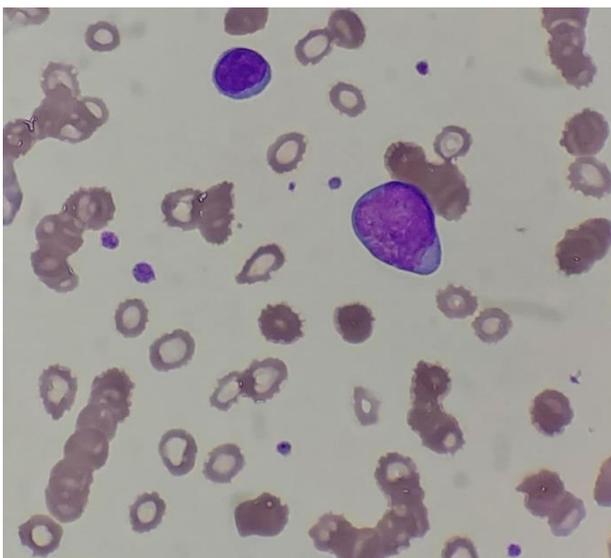
*Mesmo paciente com diagnóstico de leucemia.

Figura 4. Coloração Panótico rápido



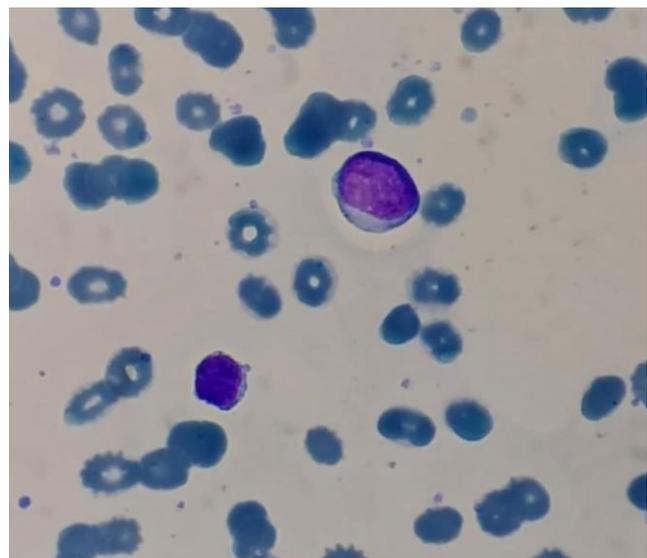
Fonte: VASCONCELOS, Vitor (2022)

Figura 5. Coloração May-Grunwald Giemsa



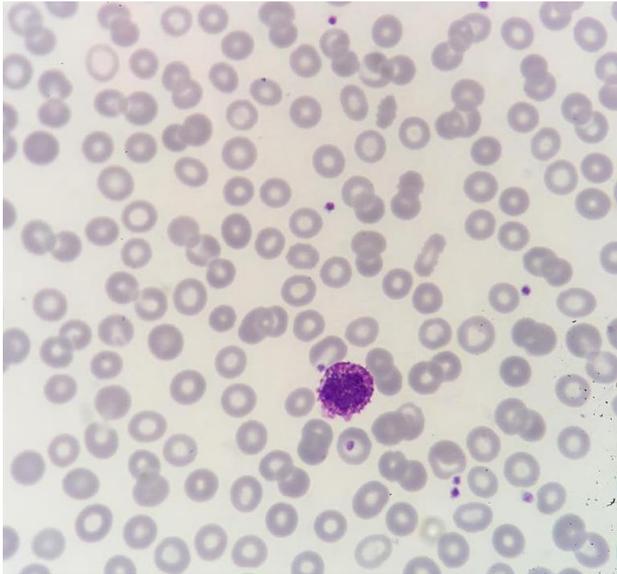
*Mesmo paciente com Rouleaux eritrocitários (empilhamento de hemácias).

Figura 6. Coloração Panótico rápido



Fonte: NETO, Paulo (2021)

Figura 7. Coloração May-Grunwald Giemsa



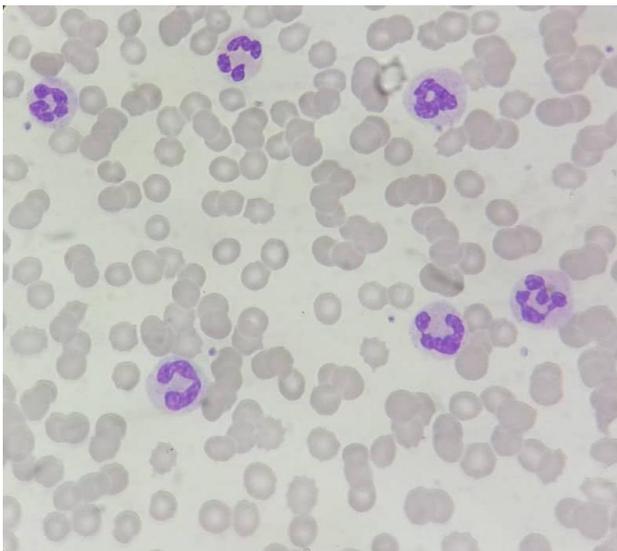
Fonte: SILVA (2018)

Figura 8. Coloração Panótico rápido



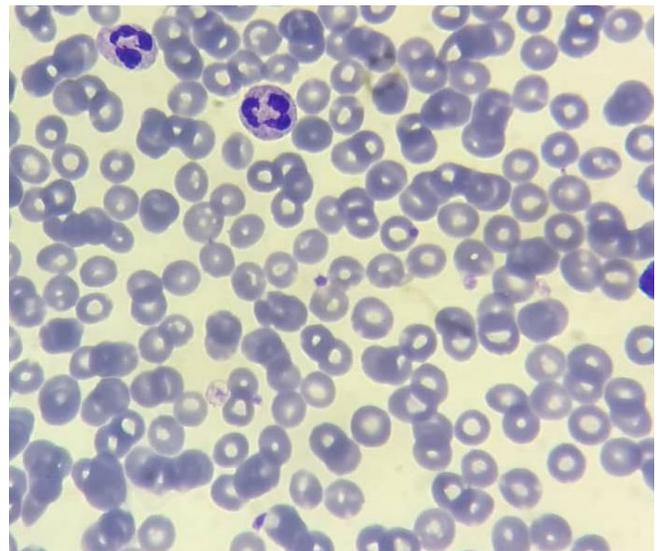
Fonte: FREIRE (2020)

Figura 9. Coloração May-Grunwald Giemsa



*Lâminas do mesmo paciente.

Figura 10. Coloração Panótico rápido



Fonte: MIQUELÃO, Leandro (2021)

No estudo de Zebal (2011) os corantes proporcionaram vários padrões de coloração, possibilitando em diferentes graus a distinção entre os tipos celulares encontrados no sangue periférico, a técnica de coloração com Giemsa 5% resultou em eritrócitos bem diferenciáveis com núcleo corado em roxo claro e o citoplasma em vermelho, ocorrendo o mesmo com os trombócitos, porém como o núcleo ocupa grande parte da célula, a coloração ficou praticamente toda roxa-escuro, e os leucócitos apresentaram núcleo bem azulado ocupando a maioria da célula e seu citoplasma foi corado em tons de azul mais claro. Nas figuras 3, 5, 7 e 9 apresentadas neste estudo a

coloração de May-Grunwald Giemsa apresentou eritrócitos com tonalidade rosa alaranjada, neutrófilos com citoplasma tonalidade em lilás, linfócitos e monócitos com tonalidades azurófilas, mostrando uma coloração excelente, de acordo com o resultado esperado pela Laborclin (tabela 3).

Nos estudos de Piaton et al. (2015) a coloração de May-Grunwald Giemsa obtida é policromada, desse modo, permitindo uma análise detalhada da basofilia, ou seja evidência a riqueza em retículo endoplasmático, ribossomos livres, e granulações citoplasmáticas, em particular de leucócitos, podendo ser evidenciado também na figura 3.

Já a coloração por panótico rápido de Zebal (2011) resultou em células coradas em diferentes tons de azul, os eritrócitos apresentaram citoplasma azul claro e núcleo azul escuro, e os trombócitos foram corados totalmente em azul, nos leucócitos não proporcionou a identificação entre os diferentes tipos, exatamente por corá-las demais, dificultando a distinção entre núcleo e citoplasma. Nas figuras 4, 6, 8 e 10 a coloração por panótico rápido mostrou-se satisfatória com eritrócitos em tonalidade rósea, neutrófilos citoplasma em lilás, linfócitos e monócitos com citoplasma em azul claro, porém com menor definição entre núcleo e citoplasma, e essa diferença de tons na coloração entre o núcleo e o citoplasma é importante na caracterização dos leucócitos.

Zebal (2011) apresentou em seu estudo que o corante panótico proporcionou a distinção satisfatória entre eritrócitos, trombócitos e leucócitos de forma rápida e prática, e recomenda a utilização deste método em trabalhos que não envolvam a contagem diferencial entre leucócitos, pois ele não preserva as características morfológicas das células, cromatina fica mais escura dificultando a identificação celular e tornando-se difícil de identificar inclusões.

As cores também podem ser alteradas pela má qualidade dos corantes, que devem ser filtrados e substituídos em intervalos regulares, pelo uso de água muito ácida ou muito alcalina, pois o pH influencia na qualidade dos resultados, uma solução ácida dará um tom vermelho, enquanto uma básica dará um tom azul, sendo preferível ter um pH global de 6,8 (PIATON et al., 2015).

Tabela 6. Diferenças entre as técnicas de coloração panótico rápido e May-Grunwald Giemsa

Coloração Panótico Rápido	Coloração May-Grunwald Giemsa
Duração média de 15 segundos	Duração média de 15 a 20 minutos
Custo mais baixo	Custo mais alto
Utilização de corantes ácidos e básicos	Utilização de corantes neutros
Difícil visualização para diferencial de leucócitos	Ótima visualização para diferencial de leucócitos
Necessidade de manutenção periódica das soluções pelo uso da imersão nas soluções	

Fonte: PIATON et al. (2015); ZEBRAL (2011)

4. CONCLUSÃO

Tendo em vista os fatos mencionados é possível observar que é essencial a realização da análise microscópica do esfregaço sanguíneo, sendo uma excelente opção para liberar um hemograma de qualidade, correlacionando com os índices disponibilizados pelo contador automatizado, a fim de se obter mais confiança na liberação de resultados. Este estudo mostrou que a técnica de coloração é muito importante na avaliação hematológica, pois os corantes auxiliam na identificação e acompanhamento de diversas doenças, sendo eles responsáveis pela visualização e diferenciação dos elementos sanguíneos na análise microscópica.

Os corantes analisados apresentam coloração satisfatória, a técnica May-Grunwald Giemsa apresentou em evidência uma diferença nas tonalidades entre o núcleo e o citoplasma, tornando mais fácil a diferenciação da série branca, já o panótico rápido não apresentou essa distinção entre núcleo e citoplasma, e essa diferença é importante na caracterização dos leucócitos, que é de grande importância em uma rotina laboratorial. Em suma, é justificado o uso do panótico quando o objetivo é redução de custos e rapidez no processamento, porém para uma confiabilidade na liberação dos resultados da diferenciação da série leucocitária, o método mais indicado é o May-Grunwald Giemsa.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Francisco Eduardo Ferreira. *Erros pré-analíticos na realização do hemograma: um estudo sobre a diminuição de interferentes*. Campina Grande - PB, 2020. 51 p. Disponível em: <<http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/tede/4071/2/PDF%20-%20Francisco%20Eduardo%20Ferreira%20Alves.pdf>>. Acesso em: 13 abr. 2022.

AMARAL, Priscila da Silva Amaral; BARBOSA, Rayanne dos Santos; CORREIA, Salete Maria Bernardo dos Santos. *A importância da automação nos laboratórios de análises clínicas*. Maceió - AL, 2017. Disponível em: <https://www.newslab.com.br/wp-content/uploads/yumpu_files/A%20IMPORT%C3%82NCIA%20DA%20AUTOMA%C3%87%C3%83O%20NOS%20LABORAT%C3%93RIOS%20DE%20AN%C3%81LISES%20CL%C3%8DNICAS.pdf>. Acesso em: 16 abr. 2022.

BAIN, Barbara J. *Células Sanguíneas: Um Guia Prático*. 5 ed. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda., 2016. 504 p. ISBN 9781118817339 / 1118817338.

BANDEIRA, Ricardo; MAGALHÃES, Andressa Figueiredo; AQUINO, Hugo Bastos da Silva de. *Interpretação dos critérios de liberação dos resultados de hemograma através de contadores automatizados em laboratório de urgência*. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 7, n. 3, p. 403-408, set./dez. 2014 - ISSN 1983-1870. Disponível em: <<https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/3608/2480>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

CARVALHO, Cristiano Brasileiro. *Corantes e anticoagulantes hematológicos*. Academia de Ciência e Tecnologia. 16 set. 2019. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/padronizacoes_hemato/17.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2022.

COLORAÇÃO MAY GRUNWALD - GIEMSA. Reagente. **Bioclin**. Belo Horizonte/MG, jul. 2013. Registro da ANVISA: 10269360112. Disponível em: <https://qui basa.bioclin.com.br/anexos/INSTRUCOES_MAY_GRUNWALD.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2022.

COLORAÇÃO MAY GRUNWALD - GIEMSA. Reagente. Responsável técnico: Elisa Hizuru Uemura. **Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**. Pinhais/PR, set. 2018. Registro da ANVISA: 10097010-105. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/May_GrunWald_Giems a_620487_621221_620491_621220.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2022.

COLORAÇÃO PANÓTICO RÁPIDO. Reagente. Responsável técnico: Elisa Hizuru Uemura. **Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**. Pinhais/PR, dez. 2018. Registro da ANVISA: 10097010-105. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Coloracao_panotico_rapido_620259_620100_620105_620106_620107.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2022.

FAILACE, Renato; FERNANDES, Flavo. *Hemograma: manual de interpretação*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda., 2015. 482 p. ISBN 9788582712290.

FARIAS, Daiane Silva de; SANTOS, Shayanny Andryelly André dos. *Importância do esfregaço sanguíneo paralelo a análise do equipamento automatizado na descoberta de alterações hematológicas: Uma revisão de literatura*. Maceió - AL, jun. 2019. Disponível em: <<https://openrit.grupotiradentes.com/xmlui/bitstream/handle/set/3636/TCC%20FINALIZADO.%20CD.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 21 abr. 2022.

LAUZIN, Débora Danielle Balduino. *Avaliação da acurácia e confiabilidade de dois analisadores hematológicos automatizados*. Rio de Janeiro, 2017. 67 f.; il. Dissertação – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/34521/2/debora_lauzin_ini_mest_2017.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2022.

MEIRELES, Felipe Eliseu; ESTEVAM, Tayenne Lalesca Moreira; LEITE, Leonardo Henrique de Melo. *Sistema embarcado para coloração automática de lâminas hematológicas*. Revista e-Xacta, Belo Horizonte, v. 11, n. 2, p. 9-21, 28 dez. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.18674/exacta.v11i2.2343>. Disponível em: <<https://revistas.unibh.br/dcet/article/view/2343>>. Acesso em: 10 abr. 2022.

PIATON, Eric et al. *Recommandations techniques et règles de bonne pratique pour la coloration de May-Grünwald-Giemsa : revue de la littérature et apport de l'assurance qualité* Technical recommendations and best practice guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining: Literature review and insights from the quality assurance. **Annales de Pathologie**, Elsevier Masson SAS., v. 35, ed. 4, p. 294-305, ago 2015. DOI <http://dx.doi.org/10.1016 /j.annpat.2015.05.019>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article /abs/pii/S0242649815001194?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 abr. 2022.

VELOSO, Wanessa Antonia; ALENCAR, Sibelle Mattos Flores; CARDOZO, Sergian Vianna. *Avaliação dos critérios adotados no interfaceamento dos resultados dos hemogramas automatizados*. **Saúde & Amb. Rev.**, Duque de Caxias, v. 6, ed. 1, p. 4-10, 1 jun. 2011. Disponível em: <<http://publicacoes.unigranrio.edu.br/index.php/sare/article/view/1128/748>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

ZEBRAL, Yuri; ZAFALON-SILVA, Bruna; ROBALDO, Ricardo. *Teste de corantes para análise e identificação de células sanguíneas em *Odontesthes bonariensis**. XX Congresso de Iniciação Científica, III Mostra Científica. Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), 2011. Disponível em: <https://www2.ufpel.edu.br/cic/2011/anais/pdf/CB/CB_00778.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2022.