

APLICACIÓN

La tinción de reticulocitos se utiliza para la identificación de éstos en frotis de sangre. Los reactivos de tinción de reticulocitos son "para uso diagnóstico *in vitro*."

En 1949, Brecher¹ introdujo el método de nuevo azul de metileno para la identificación de reticulocitos, basado en la precipitación del RNA ribosómico mediante el colorante catiónico. Actualmente, este método ha sustituido a otros y constituye el procedimiento reconocido para la cuantificación de reticulocitos en la sangre periférica².

Sigma-Aldrich proporciona una solución estable para la tinción de reticulocitos en frotis de sangre. La sangre y la solución de tinción de reticulocitos se mezclan y se incuban brevemente a temperatura ambiente. Las extensiones periféricas o centrifugadas se hacen en portaobjetos microscópicos, se secan al aire y se evalúan mediante inmersión de aceite en un microscopio óptico. Un hematíe positivo mostraría dos o más gránulos teñidos de azul.

REACTIVO

TINCIÓN DE RETICULOCITOS, número de catálogo R 4132

Nuevo azul de metileno, 1 % (p/v), cloruro sódico, 0,9 % (p/v), y oxalato potásico, 1,6 % (p/v).

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar la tinción de reticulocitos a temperatura ambiente (18–26 °C). El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN:

La tinción de reticulocitos se suministra lista para su uso.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshacerse de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consultar la Hoja de datos de seguridad del material para obtener cualquier información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU. y U.E.) (Precaución: sustancias en proceso de prueba)

El reactivo de tinción de reticulocitos es IRRITANTE. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar ropa protectora adecuada.

PROCEDIMIENTO

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS:

Se recomienda que la recogida de las muestras se lleve a cabo de acuerdo con las directrices del documento M29-A2 de la NCCLS. Ningún método de prueba puede garantizar la completa seguridad de que las muestras de sangre o tejido no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

La sangre puede recogerse en tubos evacuados de laboratorio clínico. Todos los anticoagulantes habituales son aceptables (p.ej., heparina, citrato y oxalato). La sal de tripotasio de etilendiamina-ácido tetraacético (K₃ EDTA) es el anticoagulante preferido. Si el procedimiento no se lleva a cabo dentro de las 2–3 horas de la recogida, almacenar la sangre a 4 °C. Ésta debe estabilizarse a temperatura ambiente y mezclarse antes de la tinción. No se recomienda utilizar sangre que tenga más de 24 horas.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Microscopio
Instrumento de extensión de sangre o citocentrífuga
Tubos de vidrio de 10x75 ó 12x75 mm
Cuentagotas de laboratorio o pipetas de Pasteur
Portaobjetos de microscopio y cubreobjetos

NOTAS:

Se recomienda procesar las extensiones de sangre procedentes de donantes sanos junto con las muestras de paciente como controles normales.

En la tinción de reticulocitos puede formarse una pequeña cantidad de precipitado. En caso de observarse precipitado, filtrar con papel de filtro de grado de laboratorio.

Los datos obtenidos mediante este procedimiento sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben ser revisados junto con otras pruebas clínicas o información de diagnóstico.

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EE.UU. +1 314 771 5765

Servicio Técnico: a cobro revertido al +1 314 771 3122

o por correo electrónico a clintech@sial.com

Para realizar pedidos: a cobro revertido al +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

PROCEDIMIENTO:

1. Poner tres gotas de sangre bien mezclada y dos gotas de tinción de reticulocitos en un tubo de vidrio y mezclar bien. Dejar reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente (18–26 °C).
2. Preparar una extensión periférica o centrifugada convencional, y secar al aire durante al menos 15 minutos. No se recomienda la contratinción.
3. Colocar el cubreobjetos y examinar con el microscopio.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los frotis de sangre teñidos se evalúan subjetivamente para detectar la presencia o ausencia de reticulocitos. Se considera un reticulocito cualquier hematíe con dos o más partículas teñidas de azul².

Utilizando un objetivo de inmersión de aceite de 100x y un ocular de 10x, escoger aleatoriamente zonas del frotis en las que los hematíes están cerca unos de otros, pero sin tocarse ni solaparse. Contar 1000 hematíes que incluyan reticulocitos. La proporción de reticulocitos puede calcularse como:

$$\text{Recuento de reticulocitos (\%)} = \frac{\text{Número total de reticulocitos}}{10}$$

Los valores normales en adultos al nivel del mar son del 1,0 ± 0,5 %².

Debido a la variabilidad del hematocrito, puede ser necesario corregir el recuento de reticulocitos observado a un hematocrito normal del 45 %:

$$\text{Recuento de reticulocitos corregido (\%)} = \frac{\text{Recuento observado} \times \text{Hematocrito medido (\%)}}{45 \%$$

En los pacientes normales no anémicos, los reticulocitos se encuentran en la sangre circulante en el cuarto día, tras tres días de maduración, dentro de la médula. Los factores que aumentan la eritropoyesis pueden acortar el tiempo de maduración de la médula ósea, y aumentar el de la sangre. Este cambio da como resultado grandes cantidades de reticulocitos "cambiantes" circulando en la sangre. Éstos no deben ser considerados al cuantificar los reticulocitos como reflejo de la producción de hematíes^{2,3}. Las células cambiantes pueden detectarse mediante un frotis sometido a tinción de Wright³, y un índice de producción de reticulocitos² establecido en el recuento de reticulocitos corregido y el hematocrito:

$$\text{Índice de producción de reticulocitos} = \frac{\text{Recuento de reticulocitos corregido (\%)}}{\text{Tiempo de maduración previsto (en días)}}$$

Con el tiempo de maduración previsto como sigue:

Días	Hematocrito
1	45 %
1,5	35 %
2	25 %
3	15 %

Un índice de producción de reticulocitos superior o igual a 3 se considera normal, mientras que un índice inferior a 2 se considera por debajo de lo normal².

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

REFERENCIAS

1. Brecher G: New methylene blue as a reticulocyte stain. Am J Clin Pathol 19:895, 1949
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method for Reticulocyte Counting, Proposed Standard. H16-P, Vol 5, No. 10, 1985
3. Perrotta AL, Finch CA: The polychromatophilic erythrocyte. Am J Clin Pathol 57:471, 1972

Sigma-Aldrich, Inc. garantiza que sus productos concuerdan con la información contenida en ésta y otras publicaciones de Sigma-Aldrich. El comprador debe determinar la idoneidad de los productos para su uso particular. Es posible que deban aplicarse términos y condiciones adicionales. En el reverso de la factura o del albarán se incluyen los términos adicionales y las condiciones de venta.

Procedimiento número R 4132

Revisión anterior: 2003-03

Revisión: 2003-09



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD Reino Unido