



SIGMA-ALDRICH®

**ΧΡΩΣΤΙΚΗ
ΔΙΚΤΥΟΕΡΥΘΡΟ-
ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

(Αρ. Διαδικασίας R 4132)

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η Χρωστική Δικτυοερυθροκυττάρων προορίζεται για τον εντοπισμό των δικτυοερυθροκυττάρων σε στρώσεις αίματος. Τα αντιδραστήρια της Χρωστικής Δικτυοερυθροκυττάρων προορίζονται για "In Vitro Διαγνωστική Χρήση."

Το 1949, ο Brecher¹ εισήγαγε τη μέθοδο του νέου μπλε μεθυλενίου για εντοπισμό των δικτυοερυθροκυττάρων χρησιμοποιώντας την καθίζηση του ριβοσωμικού RNA από την κατιονική χρωστική. Η μέθοδος αυτή έχει αντικαταστήσει σήμερα τις υπόλοιπες και αποτελεί την αναγνωρισμένη διαδικασία για την ποσοτικοποίηση των δικτυοερυθροκυττάρων στο περιφερικό αίμα.²

Η Sigma-Aldrich παρέχει ένα σταθερό διάλυμα για την χρώση των δικτυοερυθροκυττάρων σε στρώσεις αίματος. Το αίμα και το διάλυμα χρώσης δικτυοερυθροκυττάρων αναμιγνύονται και επώζονται σύντομα σε θερμοκρασία δωματίου. Σφηνοειδή ή σπειροειδή επιχρίσματα δημιουργούνται σε αντικειμενοφόρους πλάκες μικροσκοπίου, Ξηραίνονται στον αέρα και αξιολογούνται με ελαικοκαταδυτικό φακό σε κοινό μικροσκόπιο. Ερυθρά αιμοσφαίρια που περιέχουν δύο ή περισσότερους κόκκους χρωματισμένους μπλε χαρακτηρίζονται θετικά.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ

ΧΡΩΣΗ ΔΙΚΤΥΟΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ, Αρ. Καταλόγου R 4132

Νέο μπλε μεθυλενίου 1 % (w/v), χλωριούχο νάτριο 0,9 % (w/v), και οξαλικό κάλιο 1,6 % (w/v).

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ:

Αποθηκεύστε τη Χρωστική Δικτυοερυθροκυττάρων σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C). Το αντιδραστήριο είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ:

Η Χρωστική Δικτυοερυθροκυττάρων παρέχεται έτοιμη για χρήση.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνηθισμένες προφυλάξεις που εφαρμόζονται κατά το χειρισμό αντιδραστηρίων στο εργαστήριο. Απορρίψτε τα απόβλητα λαμβάνοντας υπόψη όλους τους τοπικούς, κρατικούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς. Ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού για οποιαδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνου, ατυχήματος ή ασφάλειας.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στις ΗΠΑ και στην ΕΕ (Προσοχή: Οι Ουσίες αυτές δεν έχουν δοκιμαστεί ακόμα πλήρως)

Το αντιδραστήριο Χρωστικής Δικτυοερυθροκυττάρων είναι ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Ερεθιστικό για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Συνιστάται η συλλογή δειγμάτων να διεξάγεται σύμφωνα με το έγγραφο M29-A2 του NCCLS. Καμία γνωστή μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν μεταδίδουν λοιμώξεις. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή δείγματα ιστών πρέπει να θεωρούνται ενδεχομένως λοιμώδη.

Το αίμα μπορεί να συλλέγεται σε συνήθεις κλινικούς εργαστηριακούς σωλήνες υπό κενό. Όλα τα συνήθη αντιπηκτικά είναι αποδεκτά (π.χ. ηπαρίνη, κιτρικό και οξαλικό). Το άλας αιθυλοδιαμινοτετραοξικού οξέος με τρία λόντα καλίου (K₃ EDTA) αποτελεί το αντιπηκτικό επιλογής. Αν η διαδικασία δεν εκτελεστεί μέσα σε 2-3 ώρες από την συλλογή, αποθηκεύστε το αίμα στους 4 °C. Το αίμα πρέπει να θερμαίνεται σε θερμοκρασία δωματίου και να αναμιγνύεται σχολαστικά πριν από τη χρώση. Δεν συνιστάται η χρήση αίματος που έχει συλλεχθεί πριν από περισσότερο από 24 ώρες.

ΕΙΔΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

Μικροσκόπιο
Όργανο επιχρισμάτων αίματος ή κυτταροφυγόκεντρος
Γυάλινοι σωλήνες, 10x75 ή 12x75 mm
Εργαστηριακά σταγονόμετρα ή πιπέτες Pasteur
Αντικειμενοφόροι μικροσκοπίου και καλυπτρίδες

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

Συνιστάται τα επιχρίσματα αίματος που παράγονται από υγιείς δότες να επεξεργάζονται με δείγματα ασθενών ως φυσιολογικοί μάρτυρες.

Ένα μικρό ποσοστό ζήτησης ενδέχεται να σχηματιστεί στην Χρωστική Δικτυοερυθροκυττάρων. Αν παρατηρηθεί ζήμα, διηθήστε με διηθητικό χαρτί εργαστηριακό βαθμού.

Τα δεδομένα που λαμβάνονται από τη διαδικασία αυτή εξυπηρετούν μόνο ως βοήθημα στη διάγνωση και πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές διαγνωστικές εξετάσεις ή πληροφορίες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

1. Προσθέστε τρεις σταγόνες σχολαστικά αναμεμιγμένου αίματος και δύο σταγόνες Χρωστικής Δικτυοερυθροκυττάρων σε γυάλινο σωλήνα και αναμίξτε καλά. Αφήστε να σταθεί 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C).
2. Παρασκευάστε συμβατικό σφηνοειδές ή σπειροειδές επίχρισμα και αφήστε να στεγνώσει στον αέρα επί τουλάχιστον 15 λεπτά. Δεν συνιστάται αντίχρωση.
3. Τοποθετήστε την καλυπτρίδα και εξετάστε με μικροσκόπιο.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Οι χρωματισμένες στρώσεις αίματος αξιολογούνται υποκειμενικά για παρουσία ή απουσία δικτυοερυθροκυττάρων. Ως δικτυοερυθροκύτταρο θεωρείται κάθε ερυθρό αιμοσφαίριο που περιέχει δύο ή περισσότερα σωματίδια χρωματισμένα μπλε.²

Χρησιμοποιώντας ελαικοκαταδυτικό αντικειμενικό φακό 100x και προσοφθάλμιο φακό 10x, επιλέξτε τυχαία περιοχές της στρώσης, στις οποίες τα ερυθρά αιμοσφαίρια βρίσκονται κοντά το ένα στο άλλο, χωρίς όμως να έρχονται σε επαφή ή να επικαλύπτονται. Μετρήστε 1000 ερυθρά αιμοσφαίρια συμπεριλαμβανομένων και των δικτυοερυθροκυττάρων. Η αναλογία των δικτυοερυθροκυττάρων μπορεί να υπολογιστεί ως:

$$\text{Καταμέτρηση Δικτυοερυθροκυττάρων (\%)} = \frac{\text{Συνολικός Αριθμός Δικτυοερυθροκυττάρων}}{10}$$

Οι φυσιολογικές τιμές ενηλίκων στο επίπεδο θάλασσας είναι 1,0 ± 0,5 %.²

Λόγω της ποικιλίας στον αιματοκρίτη, ενδέχεται να χρειαστεί να διορθώσετε την καταμέτρηση δικτυοερυθροκυττάρων που παρατηρήθηκαν ως προς φυσιολογικό αιματοκρίτη της τάξης του 45 %:

$$\text{Διορθωμένη Καταμέτρηση Δικτυοερυθροκυττάρων (\%)} = \frac{\text{Καταμέτρηση που Παρατηρήθηκε} \times \text{Αιματοκρίτης που Μετρήθηκε (\%)}}{45 \%$$

Σε φυσιολογικούς ασθενείς που δεν πάσχουν από αναιμία, τα δικτυοερυθροκύτταρα εντοπίζονται στην κυκλοφορία του αίματος κατά την τέταρτη ημέρα της ωρίμανσης, μετά από τρεις ημέρες ωρίμανσης μέσα στον μυελό. Οι παράγοντες που αυξάνουν την παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων ενδέχεται να μειώσουν τον χρόνο ωρίμανσης του μυελού των οστών, επιμηκύνοντας παράλληλα τον χρόνο ωρίμανσης του αίματος. Η αλλαγή αυτή έχει ως αποτέλεσμα μεγάλο αριθμό "αλλαγμένων" δικτυοερυθροκυττάρων στην κυκλοφορία του αίματος, τα οποία πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά τον ποσοτικό υπολογισμό των δικτυοερυθροκυττάρων ως παρουσίαση της παραγωγής ερυθρών αιμοσφαιρίων.^{2,3} Τέτοιου είδους κύτταρα μπορούν να ανιχνευθούν από μία στρώση χρωματισμένη κατά Wright³ καθώς και από την καθιέρωση ενός δείκτη παραγωγής δικτυοερυθροκυττάρων² βάσει της διορθωμένης καταμέτρησης δικτυοερυθροκυττάρων και αιματοκρίτη:

$$\text{Δείκτης Παραγωγής Δικτυοερυθροκυττάρων} = \frac{\text{Διορθωμένη Καταμέτρηση Δικτυοερυθροκυττάρων (\%)}}{\text{Αναμενόμενος Χρόνος Ωρίμανσης (Ημέρες)}}$$

Με αναμενόμενο χρόνο ωρίμανσης, ως εξής:

Ημέρες	Αιματοκρίτης
1	45 %
1.5	35 %
2	25 %
3	15 %

Δείκτης παραγωγής δικτυοερυθροκυττάρων μεγαλύτερος ή ίσος με 3 θεωρείται φυσιολογικός, ενώ δείκτης μικρότερος του 2 είναι κάτω του φυσιολογικού.²

Αν τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αποκλίνουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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
- Η Sigma-Aldrich, Inc. εγγυάται ότι τα προϊόντα της συμμορφώνονται με τις πληροφορίες που περιέχονται σε αυτή και σε άλλες εκδόσεις της Sigma-Aldrich. Ο αγοραστής πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα του(ων) προϊόντος(ων) για τη συγκεκριμένη χρήση τους. Πιθανόν να ισχύουν πρόσθετοι όροι και συνθήκες. Βλ. αντίστροφη πλευρά του τιμολογίου ή της ταινίας συσκευασίας για επιπλέον όρους και συνθήκες πώλησης.

Αρ. Διαδικασίας R 4132
Προηγούμενη αναθεώρηση: 2003-03
Αναθεωρημένη: 2003-09



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD United Kingdom

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Τεχνική υπηρεσία: χρεωστική κλήση +1 314 771 3122
ή e-mail στο clintech@sial.com
Για παραγγελία: χρεωστική κλήση +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Germany 49-7329-970