

UTILIZAÇÃO PREVISTA

A coloração de reticulócito destina-se à identificação de reticulócitos em esfregaços sanguíneos. Os reagentes de coloração de reticulócito destinam-se à "utilização em diagnóstico in vitro."

Em 1949, Brecher¹ apresentou o novo método de azul-de-metileno para a identificação de reticulócitos, com base na precipitação do ARN ribossómico pelo corante catiónico. Este processo substitui, actualmente, outros métodos e constitui o procedimento reconhecido para a quantificação dos reticulócitos no sangue periférico.²

A Sigma-Aldrich fornece uma solução estável para a coloração de reticulócitos em esfregaços sanguíneos. A solução de coloração de reticulócito e o sangue são misturados e incubados durante breves momentos à temperatura ambiente. Os esfregaços biselados ou centrifugados são colocados em lâminas para microscópio, secos ao ar e avaliados em imersão em óleo num microscópio de luz. Será observado um glóbulo vermelho com uma classificação positiva contendo dois ou mais grânulos corados a azul.

REAGENTE

COLORAÇÃO DE RETICULÓCITO, N.º de Catálogo R 4132

Azul-de-metileno novo, 1 % (p/v), cloreto de sódio, 0,9 % (p/v) e oxalato de potássio 1,6 % (p/v).

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Armazenar o corante de reticulócito à temperatura ambiente (18–26 °C). O reagente permanece estável até ao final do prazo de validade.

PREPARAÇÃO:

O corante de reticulócito é fornecido pronto para ser utilizado.

PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

Declarações de risco e segurança dos EUA e UE (Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para estas substâncias)

O reagente de coloração de reticulócito é IRRITANTE. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

PROCEDIMENTO

COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

A colheita de sangue pode ser realizada em tubos evacuados padrão do laboratório clínico. Todos os anticoagulantes de rotina são considerados aceitáveis (por exemplo, heparina, citrato e oxalato). O sal tripotássico do ácido etilenodiaminotetracético (K₃ EDTA) foi o anticoagulante escolhido. Se o procedimento não for realizado no espaço de 2 a 3 horas após a colheita, armazenar o sangue a 4 °C. O sangue deverá ser aquecido até atingir a temperatura ambiente e bem misturado antes da coloração. Não se recomenda a utilização de sangue com mais de 24 horas.

MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

Microscópio
Instrumento para esfregaços sanguíneos ou Citocentrífuga
Tubos de vidro, 10x75 ou 12x75 mm
Conta-gotas de laboratório ou pipetas Pasteur
Lâminas para microscópio e soluções de protecção

NOTAS:

Recomenda-se que sejam processados esfregaços sanguíneos preparados a partir de doadores saudáveis, em conjunto com as amostras dos doentes, como controlos normais.

Poderá formar-se uma pequena quantidade de precipitado no corante de reticulócito. Se se verificar a formação do precipitado, filtrar através de um papel filtrante de graduação laboratorial.

Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

PROCEDIMENTO:

1. Adicionar três gotas de sangue devidamente misturado e duas gotas de corante de reticulócito, num tubo de vidro e misturar bem. Deixar assentar durante 10 minutos à temperatura ambiente (18–26 °C).
2. Preparar um esfregaço biselado ou centrifugado convencional e deixar secar ao ar durante, pelo menos, 15 minutos. Não se recomenda a realização de uma contracoloração.
3. Colocar solução de protecção e examinar microscopicamente.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Os esfregaços sanguíneos colorados são avaliados em termos subjectivos quanto à presença ou ausência de reticulócitos. Considera-se um reticulócito qualquer glóbulo vermelho que contenha duas ou mais partículas coradas a azul.²

Utilizando uma objectiva de imersão em óleo de 100x e uma ocular de 10x, seleccionar aleatoriamente uma área do esfregaço onde os glóbulos vermelhos estejam perto uns dos outros mas não se estejam a tocar nem sobrepostos. Proceder à contagem de 1000 glóbulos vermelhos, incluindo reticulócitos. A proporção de reticulócitos pode ser calculada da seguinte forma:

$$\text{Contagem de reticulócitos (\%)} = \frac{\text{Número total de reticulócitos}}{10}$$

Os valores de adultos normais a nível zero são $1,0 \pm 0,5 \%$.²

Devido à variabilidade no hematócrito, poderá ser necessário corrigir a contagem de reticulócitos observada, de modo a se obter um hematócrito normal de 45 %:

$$\text{Contagem de reticulócitos corrigida (\%)} = \text{Contagem observada} \times \frac{\text{Hematócrito calculado (\%)}}{45 \%$$

Num doente não anémico normal, é possível observar os reticulócitos na circulação sanguínea no quarto dia de maturação, após três dias de maturação a nível da medula. Os factores que aumentam a eritropoiese poderão reduzir o tempo de maturação da medula óssea, aumentando ao mesmo tempo o tempo de maturação do sangue. Esta alteração resulta num grande número de reticulócitos "alterados" em circulação no sangue e não deverão ser tidos em conta na quantificação dos reticulócitos como um reflexo da produção de glóbulos vermelhos.^{2,3} As células alteradas podem ser detectadas através de um esfregaço com corante de Wright³ e pode ser estabelecido um índice de produção de reticulócitos² com base na contagem de reticulócitos corrigida e no hematócrito:

$$\text{Índice de produção de reticulócitos} = \frac{\text{Contagem de reticulócitos corrigida (\%)}}{\text{Tempo de maturação esperado (dias)}}$$

Sendo o tempo de maturação esperado:

Dias	Hematócrito
1	45 %
1,5	35 %
2	25 %
3	15 %

Um índice de produção de reticulócitos superior ou igual a 3 é considerado normal, enquanto um índice inferior a 2 está abaixo do normal.²

Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

BIBLIOGRAFIA

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

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º R 4132
Revisão Anterior: 2003-03
Revisto: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Assistência Técnica: chamada paga no destino +1 314 771 3122

ou endereço de correio electrónico: clintech@sial.com

Para encomendar: chamada paga no destino +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Alemanha 49-7329-970