

TILSIGTET ANVENDELSE

Retikulocytfarvestof er beregnet til påvisning af retikulocytter i blodfilm. Retikulocytfarvestof er til in vitro diagnostisk brug.

I 1949 introducerede Brecher¹ den nye methylenblå metode til påvisning af retikulocytter baseret på udfældning af ribosomalt RNA med det kationiske farvestof. Denne metode har nu erstattet andre metoder og er den anerkendte procedure til kvantificering af retikulocytter i perifert blod.²

Sigma-Aldrich fører en stabil opløsning til farvning af retikulocytter i blodfilm. Blodet og retikulocytfarveopløsningen blandes og inkuberes et øjeblik ved stuetemperatur. Der laves manuelle eller centrifugeudstrygninger på mikroskopobjektglas, som lufttørres og evalueres under olieimmersion på et lysmikroskop. En rød blodlegemescore er positiv, når der observeres mindst to blåfarvede granula.

REAGENS

RETIKULOCYTFARVESTOF, katalognr. R 4132

Nyt methylenblåt (1 % vægt/vol), natriumklorid (0,9 % vægt/vol) og kaliumoxalat, 1,6 % (vægt/vol).

OPBEVARING OG STABILITET:

Retikulocytfarvestof opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C). Reagenset er stabilt indtil udløbsdatoen.

KLARGØRING:

Retikulocytfarvestof leveres klar til brug.

FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatabladet angående opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

Risiko- og sikkerhedserklæringer i USA og EU (Advarsel: Stofferne er endnu ikke fuldt ud testet).

Retikulocytfarvestof er LOKALIRRITERENDE. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

PROCEDURE

PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29–A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøver eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver behandles som potentielt infektiøse.

Blod kan indsamles i almindelige lufttomme rør til klinisk laboratoriebrug. Alle almindelige antikoagulanter (f.eks. heparin, citrat og oxalat) er acceptable. Trikaliumsalt af ethylendiamintetraeddikesyre (K₃ EDTA) er det foretrukne antikoagulant. Hvis proceduren ikke udføres i løbet af 2–3 timer efter indsamling, opbevares blodet ved 4 °C. Blodet skal opvarmes til stuetemperatur og blandes grundigt inden farvning. Det anbefales ikke at anvende blod, der er over et døgn gammelt.

SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER:

Mikroskop
Blodudstrygningsinstrument eller cytocentrifuge
Glasrør, 10 x 75 eller 12 x 5 mm
Laboratoriedråbetæller eller Pasteur-pipetter
Mikroskopobjektglas og dækglass

BEMÆRKNINGER:

Det anbefales, at der som normale kontroller behandles blodudstrygninger klargjort fra sunde donorer sammen med patientprøver.

Der kan dannes en lille smule bundfald i retikulocytfarvestoffet. Hvis der konstateres bundfald, skal det filtreres gennem filterpapir af laboratoriekvalitet.

De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA, tlf. +1 314 771 5765
Teknisk service: tlf. +1 314 771 3122
eller e-mail clintech@sial.com
Bestilling: tlf. +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

PROCEDURE:

- Overfør tre dråber blod, der er blandet grundigt, og to dråber retikulocytfarvestof til et glasrør, og bland det godt. Lad det stå i 10 minutter ved stuetemperatur (18–26 °C).
- Klargør en almindelig manuel eller centrifugeudstrygning, og lad den lufttørre i mindst 15 minutter. Kontrastfarvning anbefales ikke.
- Anbring på dækglass, og undersøg under mikroskop.

RESULTATKARAKTERISTIKA

Farvede blodfilm evalueres subjektivt mht. tilstedeværelse eller fravær af retikulocytter. En retikulocyt defineres som et hvilket som helst rødt blodlegeme, der indeholder mindst to blåfarvede partikler.²

Ved hjælp af en 100x olieimmersionslinse og et 10x okular vælges vilkårlige områder af filmen, hvor røde blodlegemer er tæt på hinanden uden at røre eller overlape hinanden. Optæl 1000 røde blodlegemer inkl. retikulocytter. Retikulocytforholdet kan beregnes på følgende måde:

$$\text{Retikulocytantal (\%)} = \frac{\text{totalt antal retikulocytter}}{10}$$

Normalværdi hos voksne ved havets overflade er $1,0 \pm 0,5$ %.²

Pga. hæmatokritværdiers variabilitet kan det være nødvendigt at korrigere det observerede retikulocytantal efter en normal hæmatokritværdi på 45 %:

$$\text{Korrigeret retikulocytantal (\%)} = \text{observeret tal} \times \frac{\text{målt hæmatokrit (\%)}}{45 \%}$$

Hos normale patienter uden anæmi findes der retikulocytter i cirkulerende blod den fjerde dag efter tre dages modning i marven. Faktorer, der øger erythropoiese, kan afkorte knoglemarvsmodningstiden, men forlænge blodmodningstiden. Dette skifte fører til, at der cirkulerer store antal "skifteretikulocytter" i blodet, og de skal ikke tages i betragtning ved kvantificering af retikulocytter som afspejling af dannelse af røde blodlegemer.^{2,3} Skifteceller kan påvises vha. en Wright-farvet film² og et retikulocytproduktionsindeks², der etableres efter det korrigerede retikulocytantal og hæmatokritværdi:

$$\text{Retikulocytproduktionsindeks} = \frac{\text{korrigeret retikulocytantal (\%)}}{\text{forventet modningstid (dage)}}$$

Med følgende forventede modningstid:

Dage	Hæmatokrit
1	45 %
1,5	35 %
2	25 %
3	15 %

Et retikulocytproduktionsindeks på 3 eller derover betragtes som normalt, mens et indeks på under 2 er under normalt.²

Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes angående yderligere hjælp.

HENVISNINGER

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

Sigma-Aldrich, Inc. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel angående yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedure nr. R 4132
Tidligere revision: 2003-03
Revideret: 2003-09



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

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