



**SIGMA-ALDRICH®**

## RETIKULOZYTEN-FARBSTOFF

(Verfahren Nr. R 4132)

### VERWENDUNGSZWECK

Der Retikulozyten-Farbstoff dient der Identifizierung von Retikulozyten in Blutfilmen. Die Retikulozyten-Färbereagenzien sind für die „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt.

Im Jahr 1949 führte Brecher<sup>1</sup> eine neue Methylenblau-Methode zur Identifizierung von Retikulozyten ein, die auf der Präzipitation von ribosomaler RNA mit dem kationischen Farbstoff beruht. Diese Methode hat andere Methoden ersetzt und ist nun das anerkannte Verfahren für die Quantifizierung von Retikulozyten in peripherem Blut.<sup>2</sup>

Sigma-Aldrich bietet eine stabile Lösung zum Färben von Retikulozyten in Blutfilmen an. Das Blut und die Retikulozyten-Färbelösung werden vermischt und bei Raumtemperatur kurz inkubiert. Es werden Abstriche nach der Wedge- oder Spun-Methode auf einen mikroskopischen Objektträger aufgetragen, an der Luft getrocknet und unter einer Ölimmersionlinse an einem Lichtmikroskop untersucht. Der positive Wert einer roten Blutzelle wird an den zwei oder mehr blaugefärbten Granula erkannt.

### REAGENZ

**RETIKULOZYTEN-FARBSTOFF**, Bestell-Nr. R 4132

Neues Methylenblau, 1 Gew.%, Natriumchlorid, 0,9 Gew.%, und Kaliumoxalat, 1,6 Gew.%.  
**AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:**

Den Retikulozyten-Farbstoff bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren. Das Reagenz ist bis zum Verfallsdatum stabil.

#### VORBEREITUNG:

Der Retikulozyten-Farbstoff ist gebrauchsfertig.

#### VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

US- und EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben (Vorsicht: Substanzen sind noch nicht vollständig geprüft)

Das Retikulozyten-Farbstoff-Reagenz ist ein REIZMITTEL. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

### VERFAHREN

#### PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Blut kann in leere Standardröhrchen des klinischen Labors entnommen werden. Es eignen sich alle herkömmlichen Antikoagulantien (z.B. Heparin, Zitrat und Oxalat). Das Trikaliumsalz der Ethylendiamintetraessigsäure (K<sub>3</sub> EDTA) ist das bevorzugte Antikoagulant. Wird das Verfahren nicht innerhalb von 2–3 Stunden nach der Blutentnahme durchgeführt, muss das Blut bei 4 °C gelagert werden. Blut, das älter als 24 Stunden ist, eignet sich nicht zur Verwendung.

#### SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

Mikroskop  
Instrument zum Auftragen von Blut oder Zytozentrifuge  
Glasröhrchen, 10x75 oder 12x75 mm  
Tropfenzähler oder Pasteurpipetten  
Mikroskop-Objektträger und Deckgläser

#### HINWEISE:

Es wird empfohlen, Blutfilme von gesunden Spendern zusammen mit Patientenproben als normale Kontrollen zu verarbeiten.

Im Retikulozyten-Farbstoff kann sich ein geringe Menge Präzipitat bilden. Falls ein Präzipitat vorhanden ist, die Lösung durch laborreines Filterpapier filtrieren.

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

#### VERFAHREN:

1. Drei Tropfen gut gemischtes Blut und zwei Tropfen Retikulozyten-Farbstoff in ein Glasröhrchen geben und gut mischen. Bei Raumtemperatur (18–26 °C) 10 Minuten stehen lassen.

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122

oder Email an [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

2. Einen herkömmlichen Quetsch- oder Schleuder-Ausstrich zubereiten und mindestens 15 Minuten an der Luft trocknen lassen. Eine Gegenfärbung wird nicht empfohlen.
3. Mit einem Deckglas versehen und mikroskopisch untersuchen.

### LEISTUNGSMERKMALE

Gefärbte Blutfilme werden subjektiv auf das Vorhandensein oder Fehlen von Retikulozyten untersucht. Als Retikulozyt wird jede rote Blutzelle betrachtet, die zwei oder mehr blaugefärbte Partikel aufweist.<sup>2</sup>

Unter Verwendung eines 100x Ölimmersionobjektivs und eines 10x Okulars willkürlich Teile des Films auswählen, bei denen die roten Zellen nahe beieinander liegen, aber sich nicht berühren oder überlappen. 1000 rote Blutzellen inklusive Retikulozyten zählen. Der Anteil der Retikulozyten kann wie folgt berechnet werden:

Retikulozytenzahl (%) =  $\frac{\text{Gesamtzahl der Retikulozyten}}{10}$

10

Normale Werte für Erwachsene auf Meereshöhe sind  $1,0 \pm 0,5 \%$ .<sup>2</sup>

Wegen Veränderungen im Hämatokrit kann es notwendig sein, die beobachtete Retikulozytenzahl auf einen normalen Hämatokrit von 45 % zu korrigieren:

Korrigierte Retikulozytenzahl (%) =  $\frac{\text{Zählwert} \times \text{Gemessener Hämatokrit} (\%) }{45 \%$

45 %

Beim normalen, nicht-anämischen Patienten befinden sich die Retikulozyten am vierten Tag der Reifung im Blut, nach drei Tagen Reifung im Knochenmark. Faktoren, die die Erythrozytenbildung fördern, können die Reifezeit im Knochenmark verkürzen und die Reifezeit im Blut verlängern. Diese Verlagerung führt zu einer großen Anzahl „verlagerter“ Retikulozyten, die im Blut kreisen und eigentlich bei einer Quantifizierung der Retikulozyten als Wiedergabe der Produktion roter Blutzellen nicht berücksichtigt werden sollten.<sup>2,3</sup> Verlagerte Zellen können anhand eines mit Wright gefärbten Films<sup>3</sup> und eines Retikulozyten-Produktionsindex nachgewiesen werden<sup>2</sup>, der auf der korrigierten Retikulozytenzahl und dem Hämatokrit beruht:

Retikulozyten-Produktionsindex =  $\frac{\text{Korrigierte Retikulozytenzahl} (\% )}{\text{Erwartete Reifezeit (Tage)}}$

Mit folgenden erwarteten Reifezeiten:

| Tage | Hämatokrit |
|------|------------|
| 1    | 45 %       |
| 1,5  | 35 %       |
| 2    | 25 %       |
| 3    | 15 %       |

Ein Retikulozyten-Produktionsindex von 3 oder größer wird als normal betrachtet, während ein Index von 2 oder weniger unter dem Normalwert liegt.<sup>2</sup>

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

### LITERATURANGABEN

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. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. R 4132  
Vorherige Ausgabe: 2003-03  
Revidiert: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH  
Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970