

## INDICATIONS

Le colorant des réticulocytes est destiné à être utilisé dans la mise en évidence des réticulocytes dans les frottis sanguins. Les réactifs du colorant des réticulocytes sont destinés à un « usage diagnostique in vitro ».

En 1949, Brecher<sup>1</sup> a introduit la nouvelle méthode du bleu de méthylène permettant d'identifier les réticulocytes en se basant sur la précipitation de l'ARN ribosomique par le colorant cationique. Cette dernière a remplacé les autres méthodes et constitue à présent la procédure de référence en matière de quantification des réticulocytes dans le sang périphérique.<sup>2</sup>

Sigma-Aldrich fournit une solution stable de coloration des réticulocytes dans les frottis sanguins. Le sang et la solution de coloration des réticulocytes sont mélangés et incubés un court instant à température ambiante. Des frottis minces ou centrifugés sont préparés sur des lames de microscope, séchés à l'air libre et examinés à l'aide d'un microscope optique à huile. On observe qu'un globule rouge noté comme positif contient plusieurs granules colorés en bleu.

## RÉACTIF

### COLORANT DES RÉTICULOCYTES, référence N° R 4132

Nouveau bleu de méthylène à 1 % (p/v), chlorure de sodium à 0,9 % (p/v), et oxalate de potassium à 1,6 % (p/v).

### CONSERVATION ET STABILITÉ :

Conserver le colorant des réticulocytes à température ambiante (18–26 °C). Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption.

### PRÉPARATION :

Le colorant des réticulocytes est prêt à l'emploi.

### PRÉCAUTIONS :

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour des informations actualisées sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Informations sur les risques et la sécurité (États-Unis et Europe) (Attention : ces substances n'ont pas encore été testées entièrement)

Le colorant des réticulocytes est IRRITANT. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié.

## PROTOCOLE

### PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément au document M29-A2 du NCCLS. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Le sang peut être prélevé dans des tubes à vide de laboratoire clinique standard. Tous les anticoagulants habituels peuvent être utilisés (ex. : héparine, citrate et oxalate). Le sel tripotassique d'acide éthylènediaminetétracétique (K<sub>3</sub> EDTA) est l'anticoagulant utilisé de préférence. Si la procédure n'est pas effectuée dans les 2 à 3 heures suivant le prélèvement, conserver le sang à 4 °C. Le sang doit être amené à température ambiante et bien mélangé avant la coloration. Il est déconseillé d'utiliser du sang de plus de 24 heures.

### MATÉRIELS SPÉCIFIQUES REQUIS MAIS NON FOURNIS :

Microscope  
Instrument de préparation de frottis sanguins ou cytocentrifugeuse  
Tubes en verre, 10x75 ou 12x75 mm  
Compte-gouttes de laboratoire ou pipettes Pasteur  
Lames de microscope et lamelles de protection

### REMARQUES :

Il est recommandé de tester les frottis sanguins préparés à partir de sang provenant de donneurs sains en même temps que les échantillons des patients utilisés comme contrôles normaux.

Un léger précipité peut se former dans le colorant des réticulocytes. Si un précipité est observé, filtrer à travers un papier filtre pour laboratoire.

Les données obtenues par cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement à d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Service technique : en PCV au +1 314 771 3122

ou adresser un email à [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Pour commander : en PCV au +1 314 771 5750

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

### PROTOCOLE :

1. Ajouter trois gouttes de sang bien mélangé et deux gouttes de colorant de réticulocytes dans un tube en verre et bien mélanger. Laisser reposer 10 minutes à température ambiante (18-26 °C).
2. Préparer un frottis mince traditionnel ou centrifugé et laisser sécher à l'air libre au moins 15 minutes. La contre-coloration est déconseillée.
3. Recouvrir d'une lamelle de protection et examiner au microscope.

## PERFORMANCE

La présence ou l'absence de réticulocytes dans les frottis sanguins colorés sont déterminées de manière subjective. Un réticulocyte est un globule rouge qui contient plusieurs particules colorées en bleu.<sup>2</sup>

À l'aide d'un objectif à huile 100x et d'un oculaire 10x, choisir au hasard des zones du frottis où les globules rouges sont proches les uns des autres mais ne se touchent pas et ne se chevauchent pas. Compter 1000 globules rouges, réticulocytes compris. La proportion de réticulocytes peut être calculée comme suit :

$$\text{Nombre de réticulocytes (en \%)} = \frac{\text{Le Nombre total de réticulocytes}}{10}$$

Les valeurs normales pour un adulte au niveau de la mer sont de  $1,0 \pm 0,5 \%$ .<sup>2</sup>

En raison de la variabilité de l'hématocrite, il peut être nécessaire de corriger le nombre de réticulocytes observés à un hématocrite normal de 45 % :

$$\text{Nombre de réticulocytes corrigé (en \%)} = \text{Nombre observé} \times \frac{\text{hématocrite mesuré (en \%)}}{45 \%$$

Chez les sujets sains non anémiques, des réticulocytes sont retrouvés dans le sang circulant le quatrième jour de maturation suivant trois jours de maturation dans la moelle osseuse. Certains facteurs d'accroissement de l'érythropoïèse peuvent réduire le temps de maturation de la moelle osseuse tout en allongeant le temps de maturation dans le sang. Cette modification produit un nombre important de réticulocytes « modifiés » circulant dans le sang. Ceux-ci ne doivent pas être pris en compte lors de la quantification des réticulocytes aux fins de contrôle de la production de globules rouges.<sup>2,3</sup> Les cellules modifiées peuvent être détectées à l'aide d'un frottis coloré avec le colorant de Wright<sup>3</sup> et d'un indice<sup>2</sup> de production des réticulocytes établi à partir du nombre de réticulocytes corrigé et de l'hématocrite :

$$\text{Indice de production des réticulocytes} = \frac{\text{Nombre de réticulocytes corrigé (en \%)}}{\text{Temps de maturation escompté (en jours)}}$$

Avec le temps de maturation escompté suivant :

Jours	Hématocrite
1	45 %
1,5	35 %
2	25 %
3	15 %

Un indice de production des réticulocytes supérieur ou égal à 3 est considéré comme normal, tandis qu'un indice inférieur à 2 est inférieur à la normale.<sup>2</sup>

Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le service technique Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

## RÉFÉRENCES

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. garantit la conformité de ses produits avec les informations contenues dans la présente notice et dans les autres notices Sigma-Aldrich. L'utilisateur doit s'assurer que le(s) produit(s) est/sont adapté(s) à l'utilisation qu'il souhaite en faire. D'autres conditions générales peuvent s'appliquer. Voir au verso de la facture ou du bordereau de commande les conditions générales de vente et autres informations.

Protocole N° R 4132  
Révision précédente : 2003-03  
Révision : 2003-09



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