

## AVSEDD ANVÄNDNING

Retikulocytfärg är avsedd för identifiering av retikulocyter i blodfilmer. Retikulocytfärgreagenser är avsedda för "in vitro-diagnostik".

1949 introducerade Brecher<sup>1</sup> den nya metylenblåttmetoden för identifiering av retikulocyter, baserad på utfällning av ribosomalt RNA genom den kationiska färgen. Detta har nu ersatt andra metoder och är den erkända proceduren för kvantifiering av retikulocyter i perifert blod.<sup>2</sup>

Sigma-Aldrich tillhandahåller en stabil lösning för färgning av retikulocyter i blodfilmer. Blodet och retikulocytfärgningslösningen blandas och inkuberas en kort stund vid rumstemperatur. Kil- eller spinnutstryk framställs på objektglas, lufttorkas och utvärderas under oljeimmersion på ett ljusmikroskop. En röd blodkropp, som räknas som positiv, innehåller två eller flera blåfärgade granula.

## REAGENS

**RETIKULOCYTFÄRG**, katalognummer R 4132

Nytt metylenblått, 1 % (v/v), natriumklorid, 0,9 % (v/v), och kaliumoxalat, 1,6 % (v/v).

### FÖRVARING OCH STABILITET:

Förvara retikulocytfärg vid rumstemperatur (18–26 °C). Reagensen är stabil till utgångsdatum.

### BEREDNING:

Retikulocytfärg tillhandahålles bruksfärdig.

### FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER:

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser ska iakttas. Kasta avfall enligt lokala lagar och bestämmelser. Se Faktablad om materialsäkerhet för uppdaterad information om risker, faror eller säkerhet.

Risk- och säkerhetsbestämmelser enligt USA och EU (Försiktighet: substanserna är inte fullständigt testade ännu)

Reticulocytfärgreagens är IRRITERANDE. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

## PROCEDUR

### PROVTAGNING:

Provtagningen bör utföras i enlighet med NCCLS dokument M29-A2. Ingen känd testmetod ger fullständig garanti för att blodprov eller vävnad inte överför infektion. Alla blodderivat och vävnadsprov bör därför anses vara potentiellt smittsamma.

Blod kan tas i standardiserade, tömda, kliniska laboratorierör. Alla vanliga antikoagulanter är godtagbara (t.ex. heparin, citrat och oxalat). Trikaliumsalt av etylendiamintetraättiksyra (K<sub>3</sub> EDTA) rekommenderas som antikoagulant. Om proceduren inte utförs inom 2–3 timmar efter insamling skall blodet förvaras vid 4 °C. Blod bör värmas upp till rumstemperatur och blandas noggrant före färgning. Blod som är mer än 24 timmar gammalt rekommenderas inte för användning.

### SPECIELLA MATERIAL SOM BEHÖVS, MEN INTE MEDFÖLJER:

Mikroskop  
Blodutstrykare eller cytocentrifug  
Glasrör, 10x75 eller 12x75 mm  
Laboratedroppglas eller Pasteur-pipetter  
Objektglas och täckglas

### ANMÄRKNINGAR:

Det rekommenderas att blodutstryk, som framställts från friska givare, behandlas tillsammans med patientprov som normala kontroller.

En liten mängd precipitat kan bildas i retikulocytfärgen. Om precipitat observeras, filtrera genom filterpapper av laboratorie kvalitet.

Data som erhållits från denna procedur tjänar endast som ett hjälpmedel vid diagnos och bör granskas tillsammans med andra kliniska, diagnostiska tester eller information.

### PROCEDUR:

1. Tillsätt tre droppar av noggrant blandat blod och två droppar retikulocytfärg, till ett glasrör och blanda väl. Låt stå i 10 minuter i rumstemperatur (18–26 °C).
2. Framställ ett konventionellt kil- eller spinnutstryk och lufttorka minst 15 minuter. Motfärgning rekommenderas ej.
3. Förse med täckglas och undersök i mikroskop.

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Teknisk service: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 3122

eller e-post till [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

För beställning: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 5750

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

## PRESTANDAEGENSKAPER

Färgade blodfilmer utvärderas subjektivt för närvaro eller frånvaro av retikulocyter. En retikulocyt anses som vilken som helst röd blodkropp som innehåller två eller flera blåfärgade partiklar.<sup>2</sup>

Med användning av ett 100x oljeimmersionsobjektiv och ett 10x okular, utväljs slumpmässigt områden på filmen där röda blodkroppar är nära men inte vidrör eller överlappar varandra. Räkna upp 1000 röda blodkroppar inklusive retikulocyter. Andelen retikulocyter kan beräknas som:

$$\text{retikulocytantal (\%)} = \frac{\text{totalt antal retikulocyter}}{10}$$

Normala värden för vuxna vid havsytan är  $1,0 \pm 0,5 \%$ .<sup>2</sup>

På grund av variabilitet i hematokriten, kan det vara nödvändigt att korrigera det observerade retikulocytantalet till en normal hematokrit på 45 %:

$$\text{korrigerat retikulocytantal (\%)} = \text{observerat antal} \times \frac{\text{uppmätt hematokrit (\%)}}{45 \%}$$

Hos den normala, icke-anemiska patienten finns retikulocyter i blodomloppet fjärde dagen efter mognad, efter 3 dagars mognad inuti märgen. Faktorer som ökar erytropoes kan förkorta tiden för benmärgsmognad medan de förlänger mognadstiden i blodet. Detta skifte resulterar i att ett stort antal "skiftes"-retikulocyter cirkulerar i blodet och dessa bör inte anses som en återspeglning av röd blodkroppsproduktion vid kvantifiering av retikulocyter.<sup>2,3</sup> Skiftesceller kan detekteras av en Wright-färgad film<sup>3</sup> och ett retikulocytproduktionsindex<sup>2</sup>, som fastställts med det korrigerade retikulocytantalet och hematokrit:

$$\text{retikulocytproduktionsindex} = \frac{\text{korrigerat retikulocytantal (\%)}}{\text{förväntad mognadstid (dagar)}}$$

Med förväntad mognadstid enligt följande:

Dagar	Hematokrit
1	45 %
1,5	35 %
2	25 %
3	15 %

Ett retikulocytproduktionsindex som är större än eller lika med 3, anses normalt, medan ett index på mindre än 2 är under normalt.<sup>2</sup>

Om observerade resultat skiljer sig från förväntade resultat, kontakta Sigma-Aldrich tekniska service för assistans.

## REFERENSER

1. 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. garanterar att deras produkter överensstämmer med informationen i denna och andra Sigma-Aldrich-publikationer. Kunden måste avgöra produktens (ernas) lämplighet för deras speciella användning. Ytterligare villkor kan gälla. Se baksidan av fakturan eller packsedeln för ytterligare försäljningsvillkor.

Procedurnummer R 4132  
Föregående revidering: 2003-03  
Reviderad: 2003-09



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