

هماتوکریت طبیعی برای آقایان ۴۵٪ و برای خانمها ۴۲٪ و برای کودکان و شیرخواران بسته به سن لحاظ می‌گردد.
 زمان بلوغ رتیکولوسیت‌ها طبق جدول ذیل تعیین می‌گردد.

Hct	Maturation Time (day)
45%	1
35%	1.5
25%	2.0
15%	2.5

پایداری و ذخیره:

باید در دمای ۲۶-۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود و پایداری آن‌ها تا تاریخ انقضای قید شده بر روی برچسب می‌باشد.

هشدارها و احتیاط‌ها:

- این فرآورده تنها برای استفاده *In-vitro* می‌باشد.
- قبل از استفاده حتماً پرورشور را مطالعه فرمایید.
- از استفاده پس از تاریخ انقضا بپرهیزید.
- هنگام انجام آزمون از دستکش و پوشاننده‌های مناسب استفاده کنید.
- تمام موارد احتیاطی که در حمل مواد آزمایشگاهی عمل می‌شود، رعایت کنید.
- معرف رنگ رتیکولوسیت سوزش آور است. این ماده باعث سوزش چشم دستگاه تنفسی و پوست می‌شود. در صورت تماس با چشم، سریعاً با مقدار زیاد آب شستشو دهید و به توصیه‌های پزشک توجه کنید.
- تمامی نمونه‌ها باید به‌عنوان بالقوه عفونی در نظر گرفته شود و احتیاط لازم برای آن نمونه‌ها به‌عمل آید.

نتیجه‌گیری:

به هنگام شک بالینی نسبت به انواع آنمی، از رتیکولوسیت‌ها

می‌توان استفاده کرد. شمارش رتیکولوسیت‌ها یا به‌صورت نسبی (روش میکروسکوپی) یا ترجیحاً به‌صورت میزان مطلق بیان می‌گردد که از ابهام کمتری در تفاسیر بالینی برخوردار است.

دقت در شمارش رتیکولوسیت از زمان شروع به‌کارگیری آنالیزهای هماتولوژی و فلوسایتومتری به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافته است. علاوه بر شمارش رتیکولوسیت‌ها می‌توان از دستگاه‌هایی جهت برآورد نسبت رتیکولوسیت‌های نارس (IRF) Immature Reticulocyte Fraction استفاده کرد. IRF در ارزیابی عملکرد مغز استخوان در پاسخ به درمان و موارد بالینی دیگر مفید است.

مراجع:

- Lewis SM, Bain BJ, Bates I. *Dacie & Lewis Practical Haematology, 9th ed, Churchill Livingstone; PP: 27-30, 2001.*
- NCCLS Infobase 2004, H44-A.

علائم جهانی مربوط به فرآورده‌های تشخیص آزمایشگاهی

IVD	Product Code	فقط برای مصرف در آزمایشگاه
REF	Lot Number	شماره سفارش فرآورده
LOT	Use by/ Expiry date	شماره ساخت فرآورده
تاریخ پایداری	Store at	
درجه حرارت نگهداری فرآورده	Consult instructions for use	برای روش استفاده فرآورده یا سازنده تماس بگیرید

Hematologic stain and Reagents

محصولات جدید بیمار افشان

نوع محصول	مورد مصرف
BRECHER'S REAGENT	For microscopic of Platelets
DRABKIN'S REAGENT	For hemolobin determination, cyanmethemoglobin method
GIEMSA	Hematologic stain for blood films
GOWERS' REAGENT	For turbidimetric determination of red blood cell count
HAYEM's REAGENT	Hematologic reagent for microscopic RBC count
Wright - Giemsa	Hematologic Stain for blood films
BUFFER CONCENTRAT FOR PAPPENHEIM METHOD MAYER'S REAGENT	For staining procedure following Pappenheim method
MAY-GRUNWALD STAIN	Hematologic stain for blood films
Na2-EDTA, 10% solution	Anticoagulant
SODIUM CITRATE 3.2% 0	Anticoagulant
PAPPENHEIM KIT - MAY- GRUNWALD - GIEMSA - BUFFER CONCENTRATE	Kit for staining blood films
RETICULOCYTE STAIN	Hematologic stain, for microscopic reticulocyte
PLATELET STAIN	For microscopic count of platelets
TURK'S REAGENT	Hematologic reagent, for microscopic WBC count

پیمان بخشی و شایسته



بهار افشان

عضو انجمن تخصصی برائز تحقیق و توسعه
صنعت، معدن و تجارت



شمارش رتیکولوسیت

رنگ بریلیانت کرزیل بلو

"Reticulocyte"

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
 شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
 تلفن: ۸۸۹۶۲۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵
 کارخانه: کرج، شهرک صنعتی بهارستان، خیابان گلستان چهارم، پلاک ۵۷



فراورده پرومید
کوشش
خرد جمعی

مقدمه:

رتیکولوسیت‌ها (*Reticulocyte*) گلبول قرمز جوانی هستند که بعد از خارج شدن هسته از ارتوکروماتیک نروموبلاست در مغز استخوان تشکیل می‌شوند.

این سلول‌ها دارای مقادیر قابل توجه اسید ریبونوکلئیک (ریبوزومی - غیرریبوزومی) هستند که می‌تواند با رنگ‌های بازی خاص مثل **آزور B**، **بریلیانت کرزیل بلو** و یا **متیلن بلو جدید** واکنش داده و به صورت گرانول‌ها یا **رشته‌های آبی پررنگ** یا **بنفش رنگ** در سلول رسوب کنند. چنین واکنشی فقط در **رنگ‌آمیزی حیاتی** اتفاق می‌افتد.

هر چه رتیکولوسیت‌ها نارس‌تر باشند **دارای تعداد بیشتری گرانول** یا **رشته آبی‌رنگ** و هر چه رسیده‌تر باشند **تعداد کم گرانول** یا **رشته‌های کوتاه خواهند داشت**.

هدف:

رتیکولوسیت‌ها در مغز استخوان تولید شده و پس از ۲۴ الی ۴۸ ساعت وارد خون محیطی شده و در عرض ۲۴ ساعت به گلبول قرمز رسیده تبدیل می‌شوند.

لذا هدف از رنگ‌آمیزی و شمارش رتیکولوسیت ارزیابی میزان ساخت گلبول‌های قرمز (*Erythropoiesis*) در طی ۲۴ ساعت است. شمارش رتیکولوسیت روشی ساده، ارزان و در صورتی که استانداردهای لازم رعایت گردد از دقت و صحت خوبی برخوردار بوده و روشی قابل اعتماد برای ارزیابی اریتروپوئز است.

معرف رنگ رتیکولوسیت:

متیلن بسو جدید رشته‌ها و دانه‌های رتیکولوسیت را پررنگ‌تر و یکنواخت‌تر از بریلیانت کرزیل بلورنگ می‌کند.

آزور B خالص را نیز به علت عدم رسوب و در دسترس بودن شکل خالص آن به عنوان جایگزین مناسب متیلن بلو جدید می‌دانند.

در ایران بیشترین رنگ مورد استفاده **بریلیانت کرزیل بلو** می‌باشد.

روش:

۱. جمع آوری نمونه:

بهترین نمونه برای آزمایش رتیکولوسیت خون تام جمع‌آوری شده با ضدانعقاد EDTA (1.5-2.2mg/ml) است.

EDTA به شکل دی‌پتاسیک، تری‌پتاسیک و دی‌سدیک قابل استفاده است. ضدانعقادهای دیگر مثل هپارین یا سیترات سدیم برای شمارش رتیکولوسیت مورد ارزیابی قرار نگرفته‌اند (NCCLS).

۲. نگهداری نمونه:

توصیه بر این است که آزمایش رتیکولوسیت سریعاً بعد از جمع‌آوری خون انجام شده و یا نمونه را در شرایطی نگهداری کرد که تعداد رتیکولوسیت‌ها تغییر نیابد.

در صورتی که نمونه خون در **درجه حرارت اتاق نگهداری شود** شمارش رتیکولوسیت‌ها باید در عرض **شش ساعت** از زمان جمع‌آوری ارزیابی شود.

نمونه‌هایی که در 6°C -۲ نگهداری شوند ممکن است تا ۷۲ ساعت پایدار باشند اما توصیه بر نگهداری کمتر از ۲۴ ساعت است. رسیده شدن رتیکولوسیت‌ها در لوله آزمایش (*In-Vitro*) نیز اتفاق می‌افتد که وابسته به دو عامل **درجه حرارت** و **زمان نگهداری** نمونه است که منجر به کاهش کاذب تعداد رتیکولوسیت می‌گردد. در صورتی که نمونه خون در درجه حرارت اتاق نگهداری شود پس از ۲۴ ساعت تا ۲۰٪ کاهش در شمارش رتیکولوسیت‌ها ممکن است مشاهده گردد.

۳. روش رنگ‌آمیزی:

۱. دو تا سه قطره از محلول رنگ را به لوله شیشه‌ای یا پلاستیکی (۷۵×۱۰mm) با **پی‌پت** یا **استور** منتقل کنید.

۲. دو تا چهار قطره از خون بیمار را پس از اینکه خوب مخلوط شد به لوله اضافه نموده و مخلوط کنید.

۳. لوله را به مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه در 37°C انکوبه نمایید.

۴. بلافاصله قبل از تهیه گستره محتویات لوله را به آرامی مخلوط و

گستره را به روش معمول (Two slides Method) تهیه نمایید.

۵. گستره را بلافاصله در محیط گرم کاملاً خشک نمایید. **اوجود رطوبت و دیر خشک شدن گستره منجر به ظهور ارتیفکت به صورت خطوط براق (هنگام تنظیم میکروسکوپ) خواهد شد.**

۶. گستره پس از خشک شدن بدون نیاز به ثبوت و رنگ‌آمیزی زمینه قابل ارزیابی توسط میکروسکوپ است (بزرگنمایی ۱۰۰۰).

توجه: نسبت حجم خون به حجم محلول رنگ برای **به‌دست آوردن** رنگ‌آمیزی ایده‌آل بستگی به شمارش گلبول قرمز بیمار دارد. در موارد کم‌خونی حجم خون بیشتر و در موارد پلی‌سیمی حجم خون کمتری باید افزوده گردد.

۴. شمارش رتیکولوسیت‌ها:

سلولی به‌عنوان رتیکولوسیت در نظر گرفته می‌شود که در یک فوکوس میکروسکوپی حداقل دو یا بیش از دو گرانول یا دانه آبی‌رنگ باشد.

این گرانول‌ها به منظور تفکیک از اجسام هاینز از حاشیه سلول باید فاصله داشته باشند با استفاده از لنز شیئی 100x و عدس چشمی 10x منطقه مناسبی از گستره را که گلبول‌های قرمز تغییر شکل نداده و رویهم قرار نگرفته باشند (مجاور هم باشند) را انتخاب نموده و هزار گلبول قرمز را به همراه رتیکولوسیت‌ها بشمارید و شمارش رتیکولوسیت‌ها را به‌صورت درصد گزارش نمایید. روش جابه‌جایی فیلدهای گستره هنگام مشاهده میکروسکوپی مشابه شمارش افتراتی گلبول‌های سفید (Battlement Method) است. برای محاسبه شمارش مطلق رتیکولوسیت می‌توان از فرمول زیر استفاده کرد:

$$\text{شمارش گلبول‌های قرمز (RBC} \times 10^{12}/\text{l)} \times \text{شمارش نسبی رتیکولوسیت (\%)} \\ = \\ \text{شمارش مطلق رتیکولوسیت (Absolute Retic.count)}$$

۵. تمایز رتیکولوسیت‌ها از دیگر انگلوزیون‌های گلبول قرمز:

اجسام پاپن هایمر (دارای آهن) معمولاً به‌صورت یک دانه منفرد کوچک و کمتر به صورت چندین دانه دیده شده و از دانه‌های رتیکولوسیت پررنگ‌تر است. در صورت شک می‌توان گستره مزبور را با رنگ‌آمیزی آهن رنگ‌آمیزی نمود.

هموگلوبین H در حضور بریلیانت کرزیل بسو و متیلن بلو جدید دنا توره شده و به شکل اجسام انگلوزیونی گرد به رنگ سبز آبی دیده می‌شود که به راحتی از دانه‌های رتیکولوسیت به‌خاطر رنگ (آبی پررنگ)، قوام (متراکم‌تر) و تعداد (کمتر از انگلوزیون‌های هموگلوبین H) و شکل مشخصه شبیه توپ گلف (Golf ball appearing) قابل تمایز است.

اجسام هاینز با متیلن بلو جدید و بریلیانت کرزیل بلو رنگ می‌شود اما معمولاً به‌صورت منفرد، معمولاً نزدیک به غشاء سلول و کم‌رنگ‌تر از دانه‌های رتیکولوسیت دیده می‌شود. اجسام هاینز به‌خوبی با رنگ متیل و یوله رنگ‌شده و قابل تمایز خواهند بود.

۶. محدوده مرجع:

محدوده طبیعی در افراد بالغ سالم در سطح دریا: $0/5 \pm 1\%$

محدوده طبیعی نوزادان ۶/۵ - ۲/۵٪

۷. محاسبه اندکس تولید رتیکولوسیت:

در صورتی که بیمار مبتلا به کم‌خونی باشد و به خصوص در مواردی که کم‌خونی بارز باشد $\text{Hct} < 30\%$ شمارش نسبی رتیکولوسیت (%) قابل اعتماد نبوده بلکه باید اندکس تولید رتیکولوسیت با فرمول زیر برای بیمار محاسبه و گزارش شود.

Reticulocyte Production Index = (RPI)

$$\text{(RPI)} = \% \text{ Retic.} \times \frac{\text{Hct Patient}}{\text{Hct Normal}} \times \frac{1}{\text{Maturation Time}}$$

