

Färbekit: Brillantkresylblau für Retikulozyten

REF 15891

siehe

Verwendungszweck:

Färben von Retikulozyten im Blut

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verwendungszweck

Die Brillantkresylblau-Lösung wird für die humanmedizinische Zelldiagnostik verwendet und dient der hämatologischen Untersuchung von Proben humanen Ursprungs. Es handelt sich um eine Farbstofflösung welche Zielstrukturen in hämatologischem Untersuchungsgut für die Diagnostik auswertbar macht.

Prinzip

Die Regenerationsfähigkeit der Erythrozyten kann man mit der Retikulozytenzählung erfassen. Die Bestimmung der Ribonucleoproteine (*Substantia granulo-filamentosa*) ist mit frischem, nicht-fixierten jungen Erythrozyten möglich (in einer Supravitralfärbung).

Je nach Entwicklungszustand der Retikulozyten unterscheidet man vier Reifungsformen der *Substantia granulo-filamentosa*: Knäulform (I), unvollständige Netzform (II), vollständige Netzform (III) und Körnchenform (IV). Im peripherem Blut finden sich meist nur die Entwicklungsstufen III und IV. Mit Brillantkresylblau zeigen die Retikulozyten ein schwarzblaues Netzwerk und eine schwarzblaue Punktierung.

Reagenz

Wirksame Bestandteile

1000 ml Natriumchlorid 0,9 %ig (CAS-Nr.:)
100 ml Brillantkresylblau Stammlösung (CAS-Nr.:)

Besondere Hinweise

Bereits geöffnete Flaschen müssen stets fest verschlossen aufbewahrt werden.

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Erwartete Ergebnisse:

Retikulozyten: schwarzblaues Netzwerk und schwarzblaue Punktierung

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:

Wir empfehlen vor der diagnostischen Verwendung die Lösungen über einen Referenzvergleich zu prüfen. Dies kann über das Mitführen einer bekannten Referenzprobe erfolgen.

Vorsichtsmaßnahmen:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Personal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Probennahme:

Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen. Hierbei ist zu gewährleisten, dass frische Proben unmittelbar nach Probennahme ordnungsgemäß verarbeitet werden müssen.

Hinweise zur Durchführung:

Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik behandelt werden. Die visuelle Auswertung sollte nur von geeignetem und geschultem Personal durchgeführt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Wir empfehlen das Ergebnis mit anderen Methoden/Untersuchungen zu bestätigen.

Empfehlung:

Eventuell auftretende Niederschläge oder Ausfällungen bei häufiger Anwendung können durch Filtration über übliche Faltenfilter beseitigt werden.

Herstellen der Gebrauchslösung:

Die Brillantkresylblau Stammlösung im Verhältnis 1:80 bis 1:200 mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnen. Die optimale Verdünnung muss in einem Vorversuch bestimmt werden. Die verdünnte Farbstofflösung ist vor Gebrauch zu filtrieren.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

Färbekit: Brillantkresylblau für Retikulozyten

REF 15891

siehe

Verwendungszweck:

Färben von Retikulozyten im Blut

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0

Verfahren

Verwendung:

Das Reagenz wird als Farbstoff für Reticulozyten in der Zytologie angewendet. Eine Färbung wird bei unfixierten Proben von antikoaguliertem Venenblut oder in Ausnahmefällen Kapillarblut erzielt.

Ein Beispiel für ein Verfahren sieht wie folgt aus:

Einzeluntersuchung:

20 µl Blut und 20 µl Brillantkresylblau-Arbeitslösung mit einer Hämoglobin-Pipette aufnehmen und in ein kleines verschließbares Gefäß einfüllen. Nach gründlicher Durchmischung etwa 30 min später einen dünnen Ausstrich herstellen.

Reihenuntersuchungen:

Mit einem Glasstab Brillantkresylblau-Arbeitslösung in dünner Schicht auf einem Objektträger ausstreichen. So vorbereitete, luftgetrocknete Objektträger sind 2 - 3 Wochen haltbar.

Für die Retikulozytenzählung einen kleinen Tropfen Blut rasch über die Farbschicht ausstreichen und das noch feuchte Präparat sofort für 5 - 10 min in eine feuchte Kammer (z. B. Petrischale mit feuchtem Filterpapier) einlegen. Danach an der Luft trocknen.

Auszählung unter dem Mikroskop:

Die Retikulozyten auf jeweils 1000 Erythrozyten unter dem Mikroskop in mäanderförmigen Touren mit Ölimmersion auszählen.

Um beim Zählen die Übersicht im Blickfeld nicht zu verlieren, ein in kleine Quadrate unterteiltes Retikulozyten-Zählnetz (oder eine quadratische Papierblende) in eines der beiden Okulare einlegen.

Im peripherem Blut finden sich meist nur die Entwicklungsstufen III und IV. Mit Brillantkresylblau zeigen die Retikulozyten ein schwarzblaues Netzwerk und eine schwarzblaue Punktierung. Für die Analyse von gefärbten Präparaten mit einer mikroskopischen Vergrößerung > 40x, wird die Verwendung von Immersionsöl empfohlen.

Berechnung:

Retikulozytenzahl [Zellen/µl] = (Erythrozytenzahl/µl x Retikulozytenzahl(%)) / 1000

Normbereich:

	%	Retikulozytenzahl/µl
Erwachsene:	5 - 15	25 000 - 75 000
Neugeborene:	20 - 60	100 000 - 300 000

Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheit des Labors und den jeweils zu bearbeitenden Fragestellungen des Anwenders orientieren.

Weitere mögliche Verwendungen der Komponente wurden im Rahmen der Leistungsbewertung nicht getestet.

Literaturangaben

Literatur zu diesem Verfahren

Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

Ergebnisbeispiel

