

**B-Retikulocyter\_ Rtc-MCH\_ Sysmex XN-10 samt XN-20****B-Retikulocyter, Rtc-MCH, Sysmex XN-10 samt XN-20****B-Retikulocyter**      **NPU08694****Rtc-MCH**              **NPU26879****Bakgrund, indikation och tolkning****Retikulocyter**

Retikulocytantalet i perifert blod är en indikator på den erytropoetiska aktiviteten i benmärgen. Utmognaden av erythrocyter i benmärgen tar 5-7 dygn och under denna tid förlorar cellen sin kärna varefter den släpps ut i cirkulationen som en retikulocyt. I cellen finns då förutom hemoglobin en del mitokondrier, golgiapparat, ribosomer och ribosomalt RNA.

Erytropoesen regleras av insöndringen av erytropoetin i blodet. Vid ökad erytropoetin-aktivitet, som vid anemi orsakad av t.ex. svår blodförlust eller hemolys, förläggs en större andel av retikulocytens utmognadstid till perifert blod. Retikulocytosen vid anemi förorsakas initialt av ett utsläpp av benmärgsretikulocyter, som istället får mogna i det perifera blodet. Senare i förloppet avspeglar retikulocytosen en ökad erytropoes. Retikulocytos vid anemi är således ett tecken på att benmärgen fungerar tillfredsställande och att erytropoesen inte hämmas av brist på t.ex. järn.

Låga retikulocytvärden talar för minskad nybildning av erythrocyter och ses vid bl.a. Pure red cell anemia (PRCA), benmärgsskada och bristsyndrom [8].

**Rtc-MCH**

Rtc-MCH (Ret-He, *retikulocyte hemoglobin equivalent*) är ett direkt mått på retikulocyternas hemoglobinnehåll. Analysen kan användas för att detektera järnbrist i ett tidigt stadium, men framför allt för att diagnostisera s.k. funktionell järnbrist, ett tillstånd då järnet i kroppen inte är tillgängligt trots goda depåer [11]. Detta ses bl.a. vid kroniska inflammatoriska tillstånd som t.ex. reumatoid artrit. Funktionell järnbrist ses också vid ökad efterfrågan på järn, som t.ex. vid livlig erytropoes under erytropoetinbehandling. Analysen har visat sig vara värdefull för att optimera järnsubstitutionen vid erytropoetinbehandling av dialyspatienter [13].

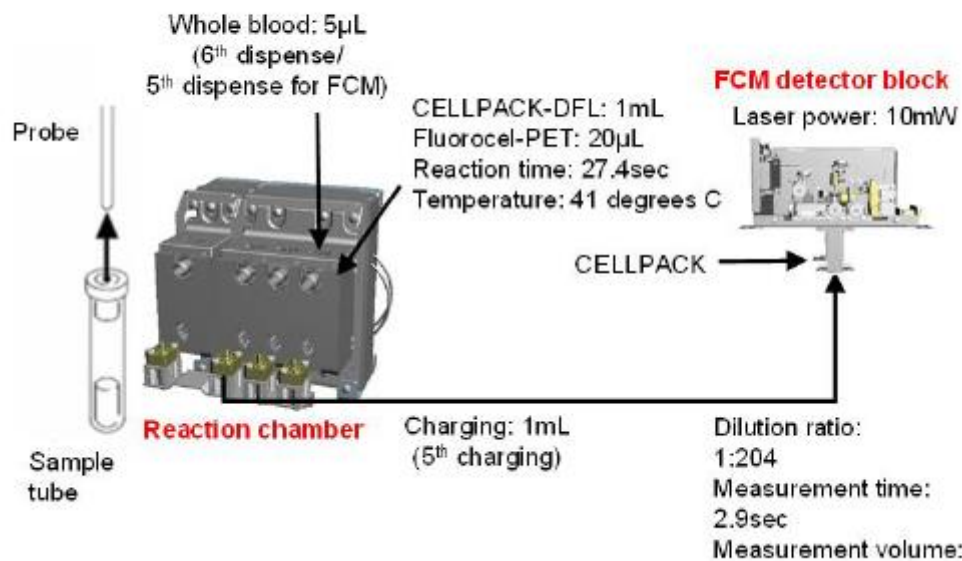
## Analysprincip

Flödescytometri med halvledarlaser i RET kanalen, se figur 1.

Figur 1.

### 2.8.7 RET Analysis

#### RET analysis



**B-Retikulocyter:** EDTA-blod (5µL) späds med med CELLPACK DFL (1mL). Infärgning av nukleinsyror sker med ett fluorescerande färgämne, polymetin, vid 41°C i 27,4 sekunder. Provet injiceras i flödescellen där vätskestrålen fokuseras med s.k. sheath fluid så att bara en cell ryms i strålens bredd. I flödescellen med röd halvledarlaser (635nm) görs tre mätningar varje gång en cell passerar laserljuset. Dels mäts ljusspridningen framåt (forward scatter, FSC) och åt sidan (side scatter, SSC). Dels mäts fluorescens vinkelrätt från laserstrålen (side fluorescens, SFL), se figur 2. FSC d.v.s. cellens skugga ger information om cellstorlek och hemoglobinnehåll. SFL ger information om retikulocyternas innehåll av RNA. Retikulocyter skiljs från andra blodceller genom skillnader i storlek och fluorescensintensitet, se figur 3. Resultaten presenteras i scattergram med olika storlek på axlarna för retikulocyter och trombocyter, figur 4. Antal (#) och andel (%) retikulocyter, antal erythrocyter och antal trombocyter kan räknas ut. Arealen med retikulocyter delas in i LFR (Low Fluorescence Ratio), MFR (Middle Fluorescence Ratio) och HFR (High Fluorescence Ratio). IRF (Immature Retikulocyte Fraction) = MFR+HFR [1, 2, 4].

**Retikulocyt MCH:** Cellernas individuella hemoglobinnehåll kan beräknas från FSC och SSC genom användning av en patenterad Sysmex ekvation [4]. Resultatet redovisas som *Ret-He* i retikulocyter respektive *RBC-He* (*research parameter*) i erythrocyter. Retikulocyterna ska alltid ha högre optiskt MCH än de mogna erythrocyterna. Skillnaden beräknas som Delta-He och är en kontrollparameter för den optiska bestämningen av MCH.

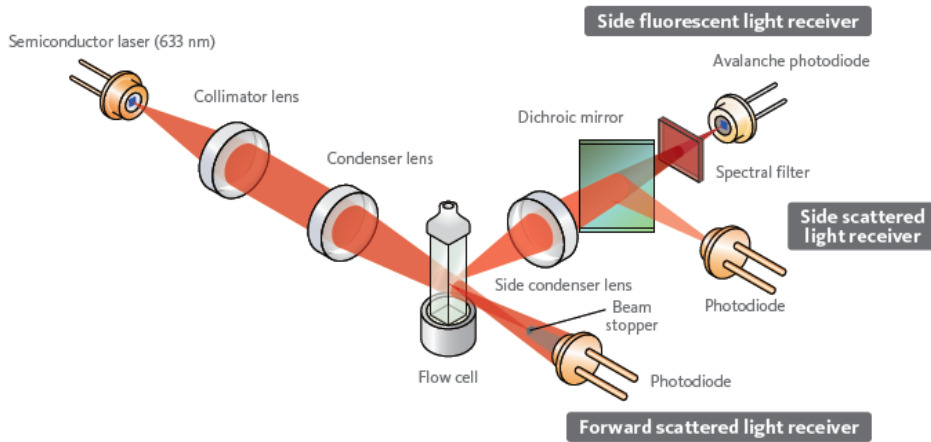
Metodbeskrivning

**B-Retikulocyter\_ Rtc-MCH\_ Sysmex XN-10 samt XN-20**

Gäller för  
Klinisk kemi

SKÅNE

Figur 2

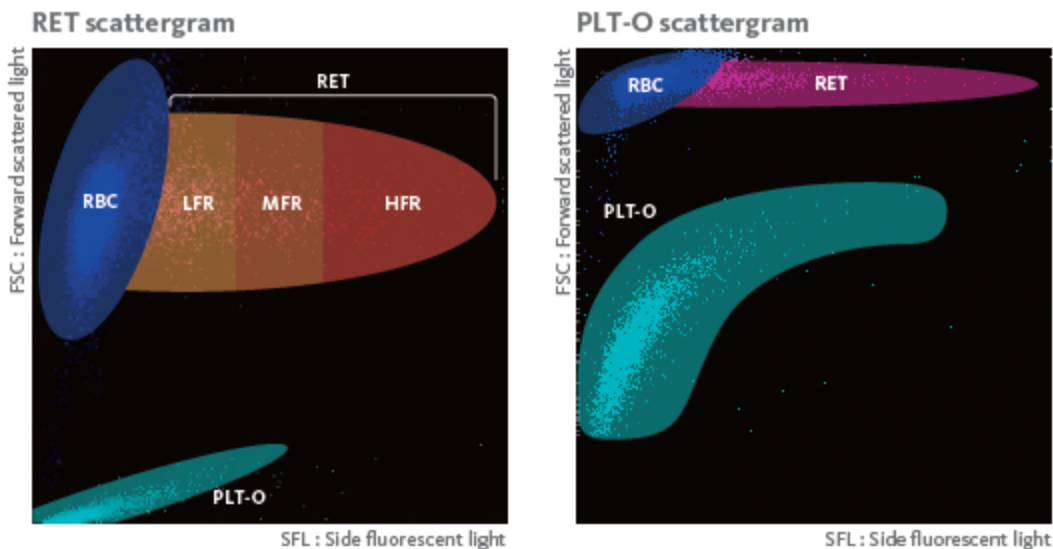


Figur 3

	Staining	Side fluorescent light (SFL)	Forward scattered light (FSC)
White blood cells			Strong
Reticulocytes			Strong
Red blood cells			Strong

※ This is a conceptual drawing.

Figur 4



Metodbeskrivning

**B-Retikulocyter\_ Rtc-MCH\_ Sysmex XN-10 samt XN-20**Gäller för  
Klinisk kemi

SKÅNE

**Referensintervall****B-Retikulocyter [3]**Vuxna: 28-120 x 10<sup>9</sup>/LBarn: 30-95 x 10<sup>9</sup>/L**Rtc-MCH [11]**

28-35 pg

**Metodkaraktistika****Interferenser och felkällor**

Falskt för höga retikulocyter vid erythrocytaggregation, stora trombocyter, trombocyttaggregat, fragmenterade leukocyter, malaria och Howell-Jollykroppar [4].

**Mätområde [4].**

B-Retikulocyter %: 0.00 - 30.00%

B-Retikulocyter #: 0 - 720 x 10<sup>9</sup>/L**Detektionsgräns**

B-Retikulocyter %: 0

B-Retikulocyter #: <1 x 10<sup>9</sup>/L**Mätosäkerhet**

Utvärdering från inkörning av metod på Sysmex XN-10 våren 2012.

Nivå	XN-L Kristianstad Imprecision CV%	XN-R Lund Imprecision CV%	Antal
Retikulocyter x10 <sup>9</sup> /L (%)			30
118 (5,32)	2,3 (2,7)	2,9 (2,8)	
90 (2,11)	3,2 (3,2)	2,7 (2,7)	
47 (0,89)	4,7 (4,9)	6,8 (6,5)	
Ret-He pg			30
24,9	0,7	1,7	
25,7	1,0	1,7	
27,6	1,4	2,1	

**Spårbarhet**

Retikulocyter: Som referensmetod för fastställande av kalibratorvärde används cellräknare, flödescytometri och supravitalfärgning, Guideline- andra upplagan manuell metod CLSI H44-A2 [9].

**Ackreditering**

Metoderna är ej ackrediterade.

Metodbeskrivning

**B-Retikulocyter\_ Rtc-MCH\_ Sysmex XN-10 samt XN-20**Gäller för  
Klinisk kemi

SKÅNE

---

**Referenser**

1. Sysmex XN-Series Clinical Case Report Vol 1.
2. Inert Reagens, Fluorocell PLT, Fluorocell Ret 08/2011.
3. Hematology: Basic Principles and Practice, 5th ed. On-line version 2008 av Hoffmann.
4. XN-2000 Instructions for use, Maj 2011.
5. Sysmex produktblad FluorocellITM RET BN-337-547
6. Instrumenthandledning Sysmex XN-Serien aktuell version.
7. Instrumenthandledning EPU aktuell version.
8. Blodsjukdomar, Gösta Gahrton och Bengt Lundh Tredje upplagan 1997.
9. Sysmex produktblad XN CAL 02/2011.
10. Sysmex produktblad XN CHECK 02/2011.
- 11 Thomas and Thomas Clin chem volym 48 s1066 - 1076, 2002
12. Säkerhetsdatablad Fluorocell 3.1.0.
13. Mast A, Blinder M and Dietzen D. Reticulocyte hemoglobin content, test of the month.  
Am J Hematology 2008;83:307-310.
14. Extended IPU, regelverk Skåne.