



# Erythrozytenresistenz (osmotisch)

Produktinformation für die Prüfung der Erythrozyten auf osmotische Resistenz.

## Prinzip

Es wird die Widerstandsfähigkeit der Erythrozyten gegenüber der hämolyierenden Wirkung hypotoner Lösung getestet. Der diagnostisch wichtige Bereich liegt bei 0,30 ... 0,70 % NaCl

## Reagenzien

### Gefahren und Sicherheit

Beachten Sie die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen im Gebrauch von Laborreagenzien und Körperflüssigkeiten. Der Umgang sollte durch sachkundiges Personal erfolgen. Nationale und interne Labor-Richtlinien für Arbeitssicherheit und Infektionsschutz sind zu befolgen. Tragen Sie geeignete Schutzkleidung und Einmalhandschuhe während der Arbeit. Es ist auf wirksamen Infektionsschutz entsprechend der Laborrichtlinien zu achten. Benutzen Sie einen Kapillaren-Halter für die Volumen-Kapillaren.



Für weitere und allgemeine Sicherheitshinweise beachten Sie bitte auch die Angaben auf dem Etikett und das entsprechende Sicherheitsdatenblatt (SDB). Download über QR-Code oder Link: [www.sds-id.com/100136-9](http://www.sds-id.com/100136-9)

### Inhalt/Hauptbestandteile

004031-... [Cont.] NaCl 318,0 ± 0,5 mosm/kg H<sub>2</sub>O

004031-... Erythrozytenresistenz - Stammlösung  
004031-0500 1x 500 ml Erythrozytenresistenz - Stammlösung.

### Zusätzlich benötigte oder empfohlene Materialien

- 099920-0001 \* Kapillarenhalter \*4)
+ 5 ml Einmalspritze mit Kanüle
099101-0100.10.R \* + Natriumcitratlösung 0,11 mol/l, ungepuffertes Antikoagulum \*
+ Blutabnehmeröhrchen mit 0,11 mol/l tri-Natrium-Citrat und Verdünnung 1:5.; ungepuffert
+ Pipetten oder Dilutor, transparente Röhrchen mit Volumen für 1 ml mit gleicher Größe in einer Serie.

\* Erhältlich bei Bioanalytic GmbH.

## Probenmaterial

Citrat-Blut 1:5 (1 ml tri-Natrium-Citrat 0,11 mol/l + 4 ml Venenblut) \*2), \*3) oder entsprechende Blutentnahmeröhrchen mit dem gleichen Verdünnungsverhältnis.

Verwenden Sie kein gepuffertes tri-Natrium-Citrat, dieses kann die Osmolalität verändern.

Eine frische Blutentnahme ist erforderlich (max. 2 Std.)

### Blutentnahme

Beachten Sie die gesetzlichen und berufsgenossenschaftlichen Vorschriften.

Füllen Sie eine 5 ml Einmalspritze mit 1 ml Natriumcitratlösung 0,11 mol/l, ungepuffertes Antikoagulum. Ziehen Sie dazu mit einer neuen sterilen Nadel 4 ml Venenblut auf. Ziehen Sie etwa 0,5 ml Luft nach und entfernen Sie die Nadel. Mischen Sie den Inhalt der Spritze sorgfältig. Überführen sie das Citrat-Blut in ein leeres, verschließbares Probenröhrchen.

Alternativ verfahren Sie mit einem Citrat-Blutabnehmeröhrchen für Verdünnung 1:5.

## Referenzbereiche

### Normalbereich [1]:

Beginnende Hämolyse bei ..... 0,46 ... 0,42% NaCl.
Erkennlich am gelblichen Überstand (nicht aufschütteln!).

Komplette Hämolyse bei ..... 0,34 ... 0,30% NaCl
Beim Aufschütteln tritt keine Trübung mehr durch aufgewirbelte Erythrozyten ein.

## Durchführung

Das Reagenz soll bei Raumtemperatur (20 ... 25 °C) verwendet werden.

### Vorbereitung der Gefäße

Es ist eine Verdünnungsreihe mit einem Konzentrationsintervall von 0,02 % zu erstellen.

Hierzu werden zunächst 21 Röhrchen in einer Reihe aufgestellt. Dann werden mittels einer 1 ml - Messpipette von außen nach innen jeweils gegenüberliegende Röhrchen paarweise mit genau 1 ml Reagenzlösung in folgender Weise beschickt:

- In das erste Röhrchen 0,30 ml und den Rest von 0,70 ml in das 21. Röhrchen.
• Mit einer neuen Pipettenfüllung gibt man in das 2. Röhrchen 0,32 ml und den Rest von 0,68 ml in das 20. Röhrchen. So fährt man fort bis alle Röhrchen lt. Tabelle gefüllt sind.
• In Umgekehrter Weise werden nun alle Röhrchen auf exakt 1 ml mit dest. Wasser (z. B. Bioanalytic REF 005100) aufgefüllt, in dem man zu 0,30 ml Reagenzlösung 0,70 ml Aqua p.a. dazu pipettiert usw.
• Alle Röhrchen müssen nun verschlossen und ausreichend gemischt werden um eine homogene Osmolalität zu erhalten (sonst falsche Ergebnisse!).
Damit ist die Testreihe vorbereitet.

### Anmerkung:

Die Testreihe lässt sich einfacher mit einem programmierbaren Dilutor-System herstellen, mit dem die Verdünnung nach Programmierung automatisch aus dest. Wasser und der 1 % NaCl hergestellt werden.

Table with 21 columns (Gefäß # 1-21) and 4 rows (NaCl [%], Aqua dest., mmol/l, mosm/kg) showing osmolarity values for each dilution.

Achtung! Eine gleichzeitige Verdünnung mit Blut in einem Arbeitsgang mit Herstellung der Verdünnungsreihe führt zu falschen Ergebnissen, da die osmotische Homogenität der Verdünnungslösung nicht besteht.

### Blutverdünnung

- Mischen Sie das Blutröhrchen vor Gebrauch ausreichend um die Zellen zu resuspendieren (z. B. mittels Rollenmischer).
- Zu jedem Röhrchen der Testreihe pipettiert man nun 25 µl Citratblut. Idealerweise verwendet man eine Dispenser-Pipette die es ermöglicht 25 µl - Steps abzugeben
- Schließen Sie die Gefäße.
- Mischen Sie die Gefäß stark durch schütteln zwischen Daumen und Zeigefinger oder unter Verwendung eines geeigneten Mischers.
- Inkubieren sie bei Raumtemperatur für 1 h.
- Mischen Sie die Gefäße nochmals kurz (2x schütteln).
- Inkubieren Sie bei Raumtemperatur an einem vibrationsfreien Platz (z. B. keine Zentrifuge oder Drucker auf dem gleichen Tisch!).
- Nach 2 bis 6 (oder nach 12) Stunden (entsprechend Ihrer Literatur) \*1) wird das Ergebnis abgelesen.

## Auswertung visuell

### Ohne Zentrifugation

Nach einer absolut vibrationsfreien Standzeit von 2 bis 6 (oder nach 12) Stunden werden die Gefäße visuell beurteilt \*1).

### Mit Zentrifugation

Wird nach Zentrifugation ausgewertet, ist eine erschütterungsfreie Inkubation unbedeutend. Die Gefäße werden 1 min bei 10000 RPM oder 10 min bei 4000 RPM zentrifugiert.

## Auswertung spektralfotometrisch

Für die spektralfotometrische Auswertung wird empfohlen, die Verdünnungsreihe mittels programmierbarem Dilutor herzustellen.

Nach Ablauf der Standzeit werden die Gefäße 1 min bei 10000 RPM oder 10 min bei 4000 RPM zentrifugiert. Danach wird die Extinktion des klaren Überstands fotometrisch gemessen.

Wellenlänge: ..... 540nm

Schichtdicke: ..... 10mm

Leerwert: ..... frisch destilliertes Wasser

Die Ergebnisse können in einer Excel-Tabelle eingetragen werden. Download siehe auf unseren Webseiten oder auf Anforderung per E-Mail [support@bioanalytic.de](mailto:support@bioanalytic.de).

## Interpretation

Als Ergebnis notiert wird die

### Minimalresistenz

= Konzentrationsstufe, bei der die Erythrozyten beginnen zu hämolysieren.  
= minimale Hämolyse

### Maximalresistenz

= erstes Röhrchen, das noch nicht lysierte Erythrozyten enthält  
= Konzentrationsstufe, bei der alle Erythrozyten hämolysiert sind +1.  
= maximale Hämolyse +1

### Verminderung der osmotischen Resistenz:

Typisch z.B. für Sphärozytose (Kugelzellen), erworbene hämolytische Anämien, Benzolvergiftung.

### Erhöhung der osmotischen Resistenz:

Typisch z.B. für Thalassämie und hypochrome Eisenmangel-Anämien (vermindert Hämoglobin enthaltende Erythrozyten nehmen vermehrt Wasser auf bevor die Membranen platzen). Ebenso besitzen juvenile elastische Retikulozyten eine verstärkte osmotische Resistenz.

### Vergrößerte Resistenzbreite:

Typisch auffällig z. B. bei Thalassämie.

### Beachte:

Eine normale osmotische Resistenz schließt eine hämolytische Anämie nicht aus. Eine verminderte osmotische Resistenz ist nicht spezifisch für eine hereditäre Sphärozytose.

## Fehler-Erkennung

Die Gefäße müssen in ihrer Reihenfolge stets eine aufsteigende Reihe (resistente Zellen) bzw. eine absteigende Reihe (Hämolyse) ergeben. Nicht passende Ergebnisse sind Folge von Fehlern und dürfen nicht bewertet werden. In diesem Fall sollte die Testreihe wiederholt werden.

Zur Vermeidung von Vertauschung sind die Gefäße zu nummerieren.

## Hinweise

Überprüfen Sie die Aktualität dieser Produktinformation regelmäßig auf unseren Internetseiten.

### Klassifizierungen

Nicht für die Humandiagnostik.

### Unterstützung / Infoservice

Methodische und technische Unterstützung erhalten Sie per E-Mail unter [support@bioanalytic.de](mailto:support@bioanalytic.de).

Überprüfen Sie die Aktualität dieser Produktinformation regelmäßig auf unseren Internetseiten.

### Rückmeldungen

Hinweise der Anwender können an [support@bioanalytic.de](mailto:support@bioanalytic.de) berichtet werden. Vorschläge werden für weitere Entwicklungen berücksichtigt.

### Entsorgung

Bitte beachten Sie die gesetzlichen Vorschriften Ihres Landes.

Gebrauchte und verfallene Lösungen sind entsprechend der lokalen Vorschriften zu entsorgen.

Innerhalb der EU gelten die Vorschriften auf der Grundlage Richtlinie 67/548/EWG des Rates der Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe, in der jeweils gültigen Fassung.

Dekontaminierte Verpackungen können dem Hausmüll oder Recycling zugeführt werden, soweit nicht anders geregelt.

## Literatur & Fußnoten

Verwendete grafische Symbole und Kennzeichnungen sind entsprechend der Norm bzw. auf unseren Internetseiten verfügbar.

- [1] Kompendium der praktischen Hämatologie; G. Zeile et al; 2. Aufl. 1983; Git-Verlag Ernst Giebeler, Darmstadt, Germany.

\*1) Es bestehen unterschiedliche Angaben in den Literaturen.