



SIGMA-ALDRICH®

**NAFTOL AS-D CHLORACETÁT
ESTERÁZA A
FTYL ACETÁT ESTERÁZA**
(Postup č. 91)

POUŽITÍ

Pro cytologickou demonstraci specifické a nespecifické leukocytické esterázy. Reagencie pro průkaz esterázy jsou určeny k "diagnostice in vitro."

Buněčné esterázy jsou vsudypřítomné a zřejmě reprezentují sérii různých enzymů aktivovaných vybranými substráty. Na základě definovaných podmínek reakce lze určit typy hemopoietických buněk, podle použití specifických substrátů pro esterázy. Popsaná metoda poskytuje hematologům a hematopatologům návod k rozlišení granulocytů od monocytů.¹⁻⁹

K provedení testu je třeba krevní filmy, filmy kostní dřeně nebo otiskové tkáňové preparáty inkubovat buď naftol AS-D chloracetátem (NCAE) nebo α -naftyl acetátem (NAE) za přítomnosti čerstvě připravené diazoniové sole. Enzymatická hydrolyza esterové vazby uvolňuje volné naftolové sloučeniny. Ty se spojují s diazoniovou solí a vytvářejí silně kolorované usazeniny v oblastech enzymatické aktivity.

Většina postupů, včetně těch, které provádí Sigma-Aldrich, využívají stabilní diazoniové sole. Ty se vytvářejí reakcí arylaminu s nitridem sodným v kyselém médiu.⁹ Výsledný diazochlorid (obvykle nestabilní) lze upravovat sloučeninami, jako například chloridem zinečnatým, síránem zinečnatým nebo napřítalen-1-6-disulfonátem, vytvářejících stabilní sole. Tyto stabilizátory využívají výrazné inhibice některých enzymatických systémů, přičemž diazochloridy jsou méně inhibiční.⁹ Proto společnost Sigma-Aldrich nyní poskytuje stabilní roztoky fast red violet LB báze, fast blue BB báze a nitrat sodný pro cytochemii esterázy. Pro další zjednodušení těchto metod jsou připojeny stabilní roztoky naftol AS-D chloracetát a α -naftyl acetát. Tyto stabilní roztoky umožňují zákazníkovi upravovat množství pracovní reagentie podle potřeb a bez zbytků.

REAGENCIE

ROZTOK NAFTOL AS-D CHLOROACETÁT, katalogové č. 91-1

Naftol AS-D chloracetát, 8 mg/mL a stabilizátor.

ROZTOK FAST RED VIOLET LB BASE, katalogové č. 91-2
Fast red violet LB báze, 15 mg/mL, v 0,4 mol/l kyseliny chlorovodíkové, se stabilizátorem.

KONCENTRÁT TRIZMAL™ 6,3, katalogové č. 91-3
TRIZMA® maleate, 1 mol/l, s detergentem. pH 6,3 ± 0,15 při 25 °C.

ROZTOK NITRIDU SODNÉHO, katalogové č. 91-4
Nitrid sodný, 0,1 mol/l.

CITRÁTOVÝ ROZTOK, katalogové č. 91-5
Kyselina citrónová, 18 mmol/l, citrát sodný, 9 mmol/l, chlorid sodný, 12 mmol/l s detergentem. pH 3,6 ± 0,1 při 25 °C.

α -NAFTYL ACETÁT, ROZTOK katalogové č. 91-6
 α -Naftyl acetát, 12,5 mg/mL, v roztoku methanolu se stabilizátory.

ROZTOK FAST BLUE BB BASE, katalogové č. 91-7
Fast blue BB báze, 15 mg/mL, v kyselině chlorovodíkové, 0,4 mol/l, se stabilizátorem.

KONCENTRÁT TRIZMAL™ 7,6, katalogové č. 91-8
TRIZMA® maleate, 1 mol/l, s detergentem. pH 7,6 ± 0,15 při 25 °C.

ROZTOK HEMATOXYLINU, GILL Č. 3, katalogové č. GHS-3
Certifikovaný hematoxylin, 6,0 g/l, jodičnan sodný, 0,6 g/l, síran hliníkový, 52,8 g/l, se stabilizátory.

ROZTOK FLUORIDU SODNÉHO, katalogové č. 91-9
Fluorid sodný, 20 g/l

ULOŽENÍ A STABILITA:

Skladujte roztok Hematoxylinu, Gill č. 3 při pokojové teplotě (18-26 °C) chráněný před světlem. Skladujte ostatní reagentie v lednici (2-8 °C).

Koncentrovaný pufr TRIZMAL™ 6,3, koncentrovaný pufr TRIZMAL™ 7,6 a citrátový roztok lze používat, pokud není viditelně mikrobiálně znečištěn. Reagentie jsou stabilní po dobu použitelnosti uvedené na štítcích.

ZHORŠENÍ:

Zlíkvidujte koncentrát TRIZMAL™ a citrátový roztok pokud je mikrobiálně znečištěn. Zlíkvidujte roztok

hematoxylinu Gill č. 3, pokud zhnědne (oxidací vzduchem) nebo zrudne (ztráta kyselosti).

PŘÍPRAVA:

Před použitím všechny reagentie zahřejte na pokojovou teplotu (18-26 °C). Reagentie esterázy jsou dodávána připravená k okamžitému použití.

Fixativum - Citrát-Acetonovýformaldehyd: K 25 mL citrátového roztoku, katalogové č. 91-5, přidejte 65 mL acetonu a 8 mL 37 % formaldehydu. Umístěte do skleněné láhve a pevně uzavřete. Skladujte v lednici (2-8 °C). Před použitím zahřejte na 18-26 °C. Roztok je stabilní až 4 týdny, je-li skladován těsně uzavřen v lednici.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagentiemi. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a bezpečnosti.

US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok naftol AS-D chloracetát je DRÁŽDIVÝ. Může tvořit výbušné peroxidy. Může způsobit přecitlivělost kontaktem s pokožkou. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Roztok Fast Red Violet LB Base je TOXICKÝ. Škodlivé při požití. Při vdechnutí jedovatý. Způsobuje popáleniny. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zasažené orgány: Játra a ledviny.

Koncentrovaný Pufr TRIZMAL™ 6,3 Upozornění: Látká ještě nebyla zcela otestována.

α -Roztok naftyl acetát je HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Dráždí oči a pokožku. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Roztok Fast Blue BB Base je TOXICKÝ. Škodlivé při požití. Při vdechnutí jedovatý. Způsobuje popáleniny. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zasažené orgány: Játra a ledviny.

Roztok Hematoxylin Gill 3 je ŠKODLIVÝ. Škodlivé při požití. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Aceton je HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Dráždí oči. Opakovaná expozice může způsobit vysušení a praskání pokožky. Výpary mohou způsobit otupělost a závratě. Udržujte nádobu na dobře větraném místě. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Zasažené orgány: Játra a ledviny.

2 % roztok fluoridu sodného. Upozornění: Zamezte kontaktu a vdechnutí. Zasažené orgány: Ledviny a kosti.

Roztok formaldehydu je TOXICKÝ. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Způsobuje popáleniny. Omezené důkazy o karcinogenním vlivu. Může způsobit dědičné genetické poškození. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Používejte pouze v dobře větraných prostorách.

EU prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Roztok naftol AS-D chloracetát je DRÁŽDIVÝ. Může tvořit výbušné peroxidy. Může způsobit přecitlivělost kontaktem s pokožkou. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Roztok Fast Red Violet LB Base je ŠKODLIVÝ. Škodlivé při požití.

Koncentrovaný Pufr TRIZMAL™ 6,3 Upozornění: Látká ještě nebyla zcela otestována.

α -Roztok naftyl acetát je TOXICKÝ. Hořlavý. Toxický při vdechnutí, v kontaktu s kůží a při požití. Toxický: možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči a pokožku. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a

vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

Roztok Fast Blue BB Base je ŠKODLIVÝ. Škodlivé při požití.

Roztok Hematoxylin Gill 3 je ŠKODLIVÝ. Škodlivé při požití. Dráždí oči, dýchací systém a pokožku. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy.

Aceton je VYSOCE HOŘLAVÝ a DRÁŽDIVÝ. Vysoce hořlavý. Dráždí oči. Opakovaná expozice může způsobit vysušení a praskání pokožky. Výpary mohou způsobit otupělost a závratě. Udržujte nádobu na dobře větraném místě. Chraňte před zdrojem zapálení - zákaz kouření. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc.

2 % roztok fluoridu sodného. Nevdechujte výpary. Zamezte kontaktu s kůží a očima.

Roztok formaldehydu je TOXICKÝ. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Způsobuje popáleniny. Omezené důkazy o karcinogenním vlivu. Může způsobit přecitlivělost kontaktem s pokožkou. V případě kontaktu s očima, ihned promyjte velkým množstvím vody a vyhledejte lékařskou pomoc. Používejte vhodné ochranné oděvy, rukavice a ochranu obličeje / očí. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Používejte pouze v dobře větraných prostorách.

POSTUPY

ODBĚR VZORKŮ:

Doporučuje se provádět odběr vzorků v souladu s dokumentem M29-A2 směrnice NCCLS. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplné zajištění, že krevní vzorky nebo tkáň nebudou přenášet infekci. Proto všechny krevní deriváty nebo tkáňové vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční.

Krevní filmy, filmy kostní dřeně, otiskové tkáňové preparáty a cytocentrifugované preparáty lze použít jak pro α -naftyl acetát esterázu, tak pro naftol AS-D chloracetát esterázu. Jako antikoagulant lze použít EDTA nebo heparin.¹⁰ Zmrazené a parafinové tkáňové řezy je možné použít s naftol AS-D chloracetát esterázou. α -Naftyl acetát esterázu lze úspěšně použít na zmrazených tkáňových řezech.¹¹ Krevní filmy a filmy kostní dřeně lze skladovat fixované při pokojové teplotě (18-26 °C) po dobu několika týdnů nebo nefixované několik dnů, aniž by se změnila účinnost.^{5,10} Neopísejte plnou krev na testování do jiných laboratorí. Posílejte ustálená nebo nestálená sklíčka. Během přepravy by se sklíčka měla udržovat v chladu. Nechte filmy schnout asi hodinu před fixací.

POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUCÁSTÍ DODÁVKY:

Aceton, ACS reagentie
FORMALDEHYD, 37 % ACS
Roztok fluoridu sodného, katalogové č. 91-9 (potřebný pro postup α -naftyl acetát esterázy s inhibicí fluoridem.)

OMEZENÍ POSTUPU:

Zde popisovaný postup se provádí při 37 °C. Pokud reagentie nejsou zpracovávány při této teplotě, mohou reakce vést ke slabému nebo negativnímu zabarvení. Doporučuje se kontrolovat teplotu správným teploměrem. Vodní lázeň s řízenou teplotou je mnohem účinnější než teplo vzdušné inkubátory a je doporučována pro cytochemické enzymatické metody. Přenos tepla je rychlejší přes sklo než přes umělou hmotu, z tohoto důvodu se doporučuje použít skleněné nádoby Coplin.

Většina enzymatických systémů je citlivá na stopy detergentu. Umyjte skleněné nádoby roztokem odbarvovače a vypláchněte dostatečným množstvím deionizované vody, tak zamezíte působení detergentu na buněčné enzymy.

Fixační systém popsaný v části "Reagentie" obsahuje formaldehyd. Pokud není fixační prostředek zcela odstraněn důkladným promýváním, může se stát, že zbytky aldehydu koncentrovaného na usušených podložních sklech nebo zbytky na vlhkých sklech v inkubačním systému způsobí inhibici enzymu. Aby se zabránilo ztrátě krevního filmu během procesu promývání, nasměrujte proud vody nad okraj podložního skla. Opláchněte obě strany sklíčka.

Výsledky jsou závislé od určité míry na subjektivní interpretaci. Jednotlivé laboratoře musí stanovit vlastní běžný rozsah.

Údaje získané z tohoto postupu slouží pouze jako diagnostická pomůcka a měly by se prověřit ve spojení s jinými klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

POZNÁMKY:

Uživatelé kítu Sigma 390-A a 91-C musí dávat pozor při použití pufrového koncentrátu TRIZMA®, katalogová č. 91-3

a 90-3C, protože je lze snadno zaměnit. Použití nesprávného pufru může vést k negativní reakci.

POSTUP:

Popisované postupy je třeba provádět při teplotě 37 °C.

POSTUP NAFTOL AS-D CHLORACETÁT ESTERÁZA

1. Předem zahřejte dostatečné množství deionizované vody pro substrát na 37 °C. Před použitím zkontrolujte teplotu.
2. Těsně před fixací přidejte 1 mL roztoku nitrátu sodného do 1 mL roztoku Fast Red Violet LB Base ve zkumavce. Opatrně obracením promíchejte a nechtej ustát 2 minuty. Je třeba zabránit vzniku plynových bublinek.
3. Přidejte roztok z kroku 2 do 40 mL deionizované přehřáté vody.
4. Přidejte 5 mL koncentrovaného pufru TRIZMAL™ 6,3. (Viz "Poznámka")
5. Přidejte 1 mL roztoku naftol AS-D chloracetát. Roztok musí zčervenat. Opatrně promíchejte a vlijte do nádoby Coplin.
6. Vyrovnajte teplotu fixačního roztoku citrát-acetonového formaldehydu (CAF) na pokojovou teplotu (23-26 °C). Fixujte sklíčka ponořením do fixačního roztoku CAF na dobu 30 sekund.
7. Propláchněte sklíčka pečlivě v tekoucí deionizované vodě na 45-60 sekund, potom vložte do roztoku z kroku 5. Nenechtej sklíčka vyschnout.
8. Inkubujte 15 minut, při 37 °C, chraňte před světlem.
9. Po 15 minutách sklíčka vyjměte a důkladně propláchněte v deionizované vodě na nejméně 2 minuty.
10. Proveďte kontrastní barvení po dobu 2 minut v roztoku hematoxylinu, Gill č. 3.
11. Propláchněte ve vodovodní vodě a usušte na vzduchu.
12. Mikroskopicky vyhodnoťte. Je-li potřeba sklíčka zakrýt, použijte pouze vodné montážní médium.

POZNÁMKY:

1. Použijete-li nádoby Columbia, podělte množství reagensů 5.
2. Jestliže se substrát (viz krok 5) zakalí, dejte do pokojové teploty (23-26 °C) a dobře promíchejte.
3. Pokud byla sklíčka fixována a skladována, vynechtej krok fixace (kroky 6 a 7) a začněte barvit suchá předem fixovaná sklíčka podle kroku 8.

POSTUP α-NAFTYL ACETÁT ESTERÁZA

1. Předem zahřejte dostatečné množství deionizované vody pro substrát na 37 °C. Před použitím zkontrolujte teplotu.
2. Těsně před fixací přidejte 1 mL roztoku nitrátu sodného do 1 mL roztoku Fast Blue BB Base ve zkumavce. Opatrně obracením promíchejte a nechtej ustát 2 minuty. Barva se změni ze špinavě hnědé na tmavě žlutou. Je třeba zabránit vzniku plynových bublinek.
3. Přidejte roztok z kroku 2 do 40 mL deionizované přehřáté vody.
4. Přidejte 5 mL koncentrovaného pufru TRIZMAL™ 7,6.
5. Přidejte 1 mL roztoku α-Naftyl Acetát Roztok musí zezelenat. Opatrně promíchejte a vlijte do nádoby Coplin.
6. Vyrovnajte teplotu fixačního roztoku citrát-acetonového formaldehydu (CAF) na pokojovou teplotu (23-26 °C). Fixujte sklíčka ponořením do fixačního roztoku CAF na dobu 30 sekund. Sklíčka důkladně protřepejte nejméně 5 sekund.
7. Propláchněte sklíčka pečlivě v tekoucí deionizované vodě na 45-60 sekund, potom vložte do roztoku z kroku 5. Nenechtej sklíčka vyschnout.
8. Inkubujte 30 minut, při 37 °C, chraňte před světlem.
9. Po 30 minutách sklíčka vyjměte a důkladně propláchněte v tekoucí deionizované vodě na nejméně 2 minuty.
10. Proveďte kontrastní barvení po dobu 2 minut v roztoku hematoxylinu, Gill č. 3.
11. Propláchněte ve vodovodní vodě a usušte na vzduchu.
12. Mikroskopicky vyhodnoťte. Je-li potřeba sklíčka zakrýt, použijte pouze vodné montážní médium.

POZNÁMKY:

1. Použijete-li nádoby Columbia, vydělte množství reagensů pěti.
2. Jestliže se substrát (viz krok 5) zakalí, dejte do pokojové teploty (23-26 °C) a dobře promíchejte.
3. Pokud byla sklíčka fixována a skladována, vynechtej krok fixace (kroky 6 a 7) a začněte barvit suchá předem fixovaná sklíčka podle kroku 8.

POSTUP DVOJÍHO BARVENÍ ESTERÁZY

1. Proveďte test α-naftyl acetát esterázy, jak je popsáno v návodu k postupu. Neprovádějte kontrastní barvení.
2. Opláchněte sklíčka v deionizované vodě na 5 minut.
3. Proveďte test naftol AS-D chloracetát esterázy podle popsaného postupu, kroky 1-12. Vynechtej krok 6.

POSTUP α-NAFTYL ACETÁT ESTERÁZA S INHIBICÍ FLUORIDEM

Ačkoliv α-naftyl acetát esteráza se nachází zejména v buňkách monocytických linií, pokud je postup proveden podle tohoto návodu, mělo by se prokázat, že megakaryocyty a erytroidní prekurzory jsou na tento enzym pozitivní.¹² Lymfocyty a některé zralé granulocyty vykazují někdy též pozitivitu.⁵ Aby bylo možné tyto buňky přesvědčivě odlišit od monocytů, je do inkubačního systému zapojen fluorid sodný. Enzym monocytu je přítomnost této sloučeniny inaktivován.¹³ Následující postup je určen k provedení inhibičního testu fluoridů.

1. Do 2 mL roztoku Fast Blue BB Base přidejte 2 mL roztoku nitrátu sodného. Převrácením opatrně promíchejte. Nechtej ustát 2 minuty.
2. Opatřete štítkem A a B 2 kádinky a přidejte následující:

	Kádinka A	Kádinka B
Přehřátou, na 37 °C deionizovanou vodu	40 mL	40 mL
Diazotizovanou Fast Blue BB z kroku 1	2 mL	2 mL
Koncentrovaný Pufr TRIZMAL™ 7,6	5 mL	5 mL
Roztok α-Naftyl Acetát	1 mL	1 mL
roztoku fluoridu sodného	—	1 mL

3. Dobře promíchejte a nalijte do nádob Coplin označených A a B.
4. Pokračujte podle kroků 6-12 popsaných v postupu α-Naftyl acetát esterázy.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

BODOVACÍ METODA:

Prohlédněte film a vyberte tenkou oblast s několika erytrocyty. Oblasti s aktivitou Naftol A S-D Chloracetát Esterázy se zobrazí jako světle červené zrnění, α-naftyl acetát esteráza jako černé zrnění. Vyhodnoťte stupnici od 0 do 4 + na základě množství a intenzity konkrétního barvíva uvnitř cytoplazmy těchto typů buněk. Charakteristiky bodování jsou závislé na subjektivní interpretaci. Navrhované uspořádání bodování je uvedeno v tabulce 1. Závěry jsou průměrovány na relativní přítomnost nebo nepřítomnost zbarvení.

TABULKA I Charakteristiky bodování		
Hodnocení buněk	Intenzita zbarvení	Interpretace
0	Žádné	-
1+	Nejasné až střední	±
2+	Střední až silné	+
3+	Silné	+
4+	Velmi silné	+

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY: NAFTOL AS-D CHLORACETÁT ESTERÁZA

(Fast Red Violet LB) - Tento enzym je obvykle považován jako specifický pro buňky granulocytických linií. Oblasti aktivity vykazují jasné červené zrnění. Slabá aktivita nebo její nepřítomnost je v monocytech a lymfocytech.

α-NAFTYL ACETÁT ESTERÁZA:

(Fast Blue BB) - Enzym je detekován zejména v monocytech, makrofázích a histocytech a je nepřítomen téměř ve všech granulocytech. Monocyty musí vykazovat černé zrnění. Lymfocyty mohou aktivitu vykazovat občasně.

POSTUP α-NAFTYL ACETÁT ESTERÁZA S INHIBICÍ FLUORIDU

Všechny monocytické linie jsou na enzymatickou aktivitu negativní, s výjimkou rozlišených histocytů nebo specializovaných makrofágů v tkáni, která může být na fluorid sodný rezistentní.¹¹

DVOJÍ BARVENÍ ESTERÁZY

Vzorky, na kterých byla provedena procedura dvojitého barvení, vykazují granulocyt s červeným zrněním a monocyty s černým zrněním.

POZNÁMKA: Roztok Fast Blue BB Base, katalogové č. 91-7 lze nahradit roztokem Fast Red Violet LB Base, katalogové č. 91-2, jestliže pro naftol AS-D chloracetát esterázu preferujete modře zbarvené zrnění.

KONTROLA KVALITY:

Reagenční systém je třeba monitorovat použitím pozitivních a negativních kontrolních sklíček.

Pozitivní kontrolní sklíčka lze připravit z leukemických vzorků nebo buněčných linií, které jsou prokázány jako pozitivní. Buněčné linie lze získat z Amerického registru kultur (ATCC), kultivované, zmrazené a uchovávané v tekutém nitroenu. Vhodné jako pozitivní kontroly jsou: A-937,

derivovaná z lidského histiocytického lymfomu, pro nespecifickou esterázu; promyelocytická linie HL-60, pro naftol AS-D chloracetát esterázu; a Molt-4, derivovaná z T-buněčné leukémie, pro α-naftyl acetát esterázu. Další buněčné linie pro správné provedení procedur naleznete v literatuře.

Dále lze použít antikoagulovanou krev z normálních vzorků (přednostně se zvýšeným počtem monocytů, když se jedná o postup α-naftyl acetát esterázy); avšak tyto linie budou vykazovat slabší intenzitu zbarvení a budou mít menší počet pozitivních buněk.

Známa negativní sklíčka pacientů lze použít jako negativní kontrolu. Nejsou-li k dispozici, lze, k docelení požadovaných výsledků, vzorky barvit v inkubační směsi s vynečáním substrátu. Doporučuje se však použít výše uvedené.

Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

REFERENCE

1. Beard MEJ, Fairly GH: Acute leukemia in adults. Semin Hematol 11:5, 1974
2. Beckmann J, Neth R, Gaedicke G, et al: Cytology and cytochemistry of the leukemic cell. Haematol Bluttransfus 14:26, 1974
3. Bennet JM, Reed CE: Acute leukemia cytochemical profile: Diagnostic and clinical implications. Blood Cells 1:101, 1975
4. Cawley JC, Hayhoe FGJ: Acute leukemia: Cellular morphology, cytochemistry and fine structure. Clinics in Haematol 1:49, 1972
5. Yam LT, Li CY, Crosby WH: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. Am J Clin Pathol 55:283, 1971
6. Yam LT, Li CY, Wolfe NJ, Moy PW: Histochemical study of acute leukemia. Arch Pathol 97: 129, 1974
7. Burstone MS: The cytochemical localization of esterase. J Natl Cancer Inst 18:167, 1957
8. Moloney WC, McPherson K, Fleglerman L: Esterase activity in leukocytes demonstrated by the use of naphthol AS-D chloroacetate substrate. J Histochem Cytochem 8:200, 1960
9. Burstone MS: IN Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88-113
10. Brown BA: IN Hematology: Principles and Procedures. Leas and Febriger, Philadelphia, 1984, pp 127-130
11. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematological Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 24, 38
12. Hayhoe FGJ, Flemans RJ: IN Color Atlas of Hematological Cytology. John Wiley & Sons, New York, 1982, pp 34, 111
13. Li CY, Lam KW, Lam LT: Esterase in human leukocytes. J Histochem Cytochem 21:1, 1973
14. The Leukemias. A Cytochemical Comparison and Differentiation. Sigma Diagnostics, 1989

TRIZMA je registrovanou ochrannou známkou a TRIZMAL je ochrannou známkou společnosti Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO

Sigma-Aldrich, Inc. garantuje, že její produkty se shodují s informacemi obsaženými v této a jiných publikacích Sigma-Aldrich. Kupující musí stanovit vhodnost produktu(ů) pro dané použití. Mohou platit dodatečné podmínky. Viz zadní strana faktury nebo útržek obalu, kde jsou uvedeny dodatky k prodejním podmínkám.

Postup č. 91
Předchozí revize: 2003-02
Revizované: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA
314-771-5765

Technické služby: 800-325-0250
nebo volejte na 314-771-3122
nebo e-mailujte na clintech@sial.com
Objednávky: 800-325-3010
nebo volejte na 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Německo
49-7329-970