



SIGMA-ALDRICH®

**NAPHTHOL AS-D Kloracetat-
ESTERASE OG
α-NAPHTHYLACETATERASE**
(Procedure nr. 91)

TILSIGTET ANVENDELSE

Til cytologisk påvisning af specifik og uspecifik leukocytesterase. Esteraser reagenser er til in vitro diagnostisk brug.

Cellulære esteraser er ubikvitære og synes at repræsentere en række forskellige enzymer, der reagerer på givne stoffer. Under definerede reaktionsbetingelser kan det være muligt at bestemme hæmopoietiske celletyper ved hjælp af specifikke esterasestoffer. De beskrevne metoder giver hæmatologer og hæmatopatologer metoder til at skelne granulocytter fra monocytter.^{1,9}

Testen udføres ved at inkubere blod, knoglemarvsfilm eller vævskontaktpræparater i enten naphthol AS-D kloracetat (NCAE) eller α-naphthylacetat (NAE) ved tilstedeværelse af friskdannet diazoniumsalt. Enzymatisk hydrolyse af esterbindinger frigør frie naphtholforbindelser. Disse forbindelser kobles med diazoniumsalt og danner kraftigt farvede aflejringer på steder med enzymaktivitet.

De nyeste procedurer, der omfatter Sigma-Aldrichs procedurer, anvender stabile diazoniumsalte. Disse salte dannes ved at lade et arylamin reagerer med natriumnitrit i et syremedium.⁹ Reaktionsproduktet diazoniumklorid (der som regel er ustabil) kan behandles med forbindelser, såsom zinkklorid, zinksulfat eller naftalen-1,6-disulfonat, så der dannes stabile salte. Disse stabilisatorer kan i udpræget grad hæmme visse enzymatiske systemer, hvorimod diazoniumklorid er mindre hæmmende.⁹ Derfor fører Sigma-Aldrich nu stabile opløsninger til Fast Red Violet LB basis, Fast Blue BB basis og natriumnitrit til esterascytokemi. Til yderligere forenkling af disse metoder følger der stabile opløsninger af naphthol AS-D kloracetat og α-naphthylacetat med. Disse stabile opløsninger gør det muligt at justere brugsreagensmængder efter behov, så der ikke spildes materialer.

REAGENSER

NAPHTHOL AS-D Kloracetat, katalognr. 91-1

Naphthol AS-D kloracetat, 8 mg/ml, og stabilisator.

FAST RED VIOLET LB BASISOPLØSNING, katalognr. 91-2

Fast red violet LB basis, 15 mg/ml, i 0,4 mol/l saltsyre med stabilisator.

TRIZMAL™ 6,3 KONCENTRAT, katalognr. 91-3

TRIZMA® maleat, 1 mol/l, med overfladeaktivt stof. pH 6,3 ± 0,15 ved 25 °C.

NATRIUMNITRITOPLØSNING, katalognr. 91-4

Natriumnitrit, 0,1 mol/l.

CITRATOPLØSNING, katalognr. 91-5

Citronsyre, 18 mmol/l, natriumcitrat, 9 mmol/l, natriumklorid, 12 mmol/l, og overfladeaktivt stof. pH 3,6 ± 0,1 ved 25 °C.

α-NAPHTHYLACETATOPLØSNING, katalognr. 91-6

α-naphthylacetat, 12,5 mg/ml, i methanolopløsning med stabilisatorer.

FAST BLUE BB BASISOPLØSNING, katalognr. 91-7

Fast blue BB basis, 15 mg/ml, i 0,4 mol/l saltsyre med stabilisatorer.

TRIZMAL™ 7,6 KONCENTRAT, katalognr. 91-8

TRIZMA® maleat, 1 mol/l, med overfladeaktivt stof. pH 7,6 ± 0,15 ved 25 °C.

HEMATOXYLINOPLØSNING, GILL NR. 3, katalognr. GHS-3

Certificeret hematoxylin, 6,0 g/l, natriumjodat, 0,6 g/l, og aluminiumsulfat, 52,8 g/l med stabilisatorer.

NATRIUMFLUORIDOPLØSNING, katalognr. 91-9

Natriumfluorid, 20 g/l

OPBEVARING OG STABILITET:

Hematoxylinopløsning, Gill nr. 3, opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C), beskyttet mod lys. De andre reagenser opbevares i køleskab (2–8 °C).

TRIZMAL™ 6,3 koncentrat, TRIZMAL™ 7,6 koncentrat og citratopløsning er velegnet til anvendelse ved fravær af mikrobiel vækst. De andre reagenser er stabile, indtil udløbsdatoen, som er angivet på etiketterne.

FORRINGELSE:

TRIZMAL™ koncentrat og citratopløsning skal kasseres ved åbenlys mikrobiel vækst. Hematoxylinopløsning, Gill nr. 3, skal kasseres, hvis opløsningen bliver brun (overoxidering med luft) eller lilla (syretab).

KLARGØRING:

Opvarm alle reagenser til stuetemperatur (18–26 °C) inden brug. Esteraser reagenser leveres klar til brug.

Citrat-acetone-formaldehydfiksativ: Tilsæt 65 ml acetone og 8 ml 37 % formaldehyd til 25 ml citratopløsning, katalognr. 91-5. Hæld fiksativet i en glasflaske, og sæt låg på, der lukker tæt. Opbevares i køleskab (2–8 °C). Skal bringes på stuetemperatur (18–26 °C) inden brug. Stabil i op til 4 uger ved opbevaring tæt lukket i køleskab

FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatabladet angående opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

Amerikanske risiko- og sikkerhedserklæringer

Naphthol AS-D kloracetatopløsning er LOKALIRITERENDE. Kan danne eksplosive peroxider. Kan give allergi ved hudkontakt. Emballagen skal holdes tæt lukket. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Fast Red Violet LB basisopløsning er GIFTIG. Farlig ved indtagelse. Giftig ved indånding. Ætsningsfare. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt). Målorganer: lever og nyrer.

TRIZMAL™ 6,3 koncentrat. Advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

α-naphthylacetatopløsning er BRÆNDBAR og GIFTIG. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjnene og huden. Giftig: fare for alvorlig varig skade for helbred ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt).

Fast Blue BB basisopløsning er GIFTIG. Farlig ved indtagelse. Giftig ved indånding. Ætsningsfare. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt). Målorganer: lever og nyrer.

Gills 3 hematoxylinopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Acetone er BRÆNDBAR og LOKALIRITERENDE. Irriterer øjnene. Gentagen kontakt kan medføre udtørring af eller revner i huden. Dampe kan forårsage sløvhed og svimmelhed. Emballagen skal opbevares på et godt ventileret sted. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Målorganer: lever og nyrer.

2 % natriumfluoridopløsning. Advarsel: Undgå kontakt og indånding. Målorganer: nyrer og knogler.

Formaldehydopløsning er GIFTIG. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Ætsningsfare. Begrænset dokumentation for kræftfremkaldende virkning. Kan give allergi ved hudkontakt. Kan forårsage arvelige genetiske skader. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt). Må kun bruges på steder med god ventilation.

Risiko- og sikkerhedserklæringer i EU

Naphthol AS-D kloracetatopløsning er LOKALIRITERENDE. Kan danne eksplosive peroxider. Kan give allergi ved hudkontakt. Emballagen skal holdes tæt lukket. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Fast Red Violet LB basisopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indtagelse.

TRIZMAL™ 6,3 koncentrat. Advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

α-naphthylacetatopløsning er GIFTIG. Brandfarlig. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Giftig: fare for alvorlig varig skade for helbred ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjnene og huden. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning og -

handsker. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt).

Fast Blue BB basisopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indtagelse.

Gills 3 hematoxylinopløsning er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Acetone er MEGET BRANDFARLIG og LOKALIRITERENDE. Meget brandfarlig. Irriterer øjnene. Gentagen kontakt kan medføre udtørring af eller revner i huden. Dampe kan forårsage sløvhed og svimmelhed. Emballagen skal opbevares på et godt ventileret sted. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges.

2 % natriumfluoridopløsning. Undgå indånding af dampe. Undgå kontakt med huden og øjnene.

Formaldehydopløsning er GIFTIG. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Ætsningsfare. Begrænset dokumentation for kræftfremkaldende virkning. Kan give allergi ved hudkontakt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt). Må kun bruges på steder med god ventilation.

PROCEDURER

PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29-A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøve eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver behandles som potentielt infektiøse.

Blod, knoglemarvsfilm, vævskontaktpræparater og cytotentrifugeringspræparater kan anvendes med både α-naphthylacetaterase og naphthol AS-D kloracetaterase. Der kan enten anvendes EDTA eller heparin som antikoagulanter.¹⁰ Frosne og paraffinindstøbte vævssnit kan anvendes med naphthol AS-D kloracetaterase. α-naphthylacetaterase er velegnet til anvendelse på frosne vævssnit.¹¹ Blod og knoglemarvsfilm kan opbevares fikseret ved stuetemperatur (18–26 °C) i flere uger og ufikseret i flere dage uden nævneværdig ændring i aktivitet.^{5,10} Der må ikke sendes fuldblod til analyse på andre laboratorier. Send fikserede eller ufikserede objektglas. Objektglas skal opbevares køligt under transport. Film skal tørre mindst 1 time før fiksering.

SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE

MEDFØLGER:

Acetone, ACS-reagens

Formaldehyd, 37 %, ACS

Natriumfluoridopløsning, katalognr. 91-9 (er påkrævet til procedure med α-naphthylacetaterase med fluorid-hæmmer).

BEGRÆNSNINGER I PROCEDUREN:

De beskrevne procedurer udføres ved 37 °C. Hvis reagenserne ikke har denne temperatur, kan det resultere i svage eller negative reaktioner. Det anbefales, at temperaturen kontrolleres med et nøjagtigt termometer. Vandbade med temperaturregulering er mere effektive end varmluftinkubatorer og skal anvendes til enzymcytokemiske metoder. Varmeoverførsel går hurtigere gennem glas end gennem plast, så der skal anvendes Coplin-skåle.

Mange enzymssystemer er følsomme over for ganske små mængder detergent. Indvirkning af detergent på cellulære enzymer forhindres ved at vaske glas med fortyndet blegemiddel og dernæst skylle dem i rigelige mængder deioniseret vand.

Fikseringssystemet, der beskrives i afsnittet "Reagenser" indeholder formaldehyd. Hvis fiksativet ikke fjernes ved grundig skylning, kan selv den mindste mængde aldehyd, der tilføres inkubationssystemet enten i koncentreret form på lufttørrede objektglas eller i små mængder fra våde objektglas, medføre enzymhæmning. Tab af blodfilm under skylningen kan undgås ved at rette vandstrålen mod objektglassene over den flade facet. Skyl begge sider af objektglasset.

Resultaterne er til en vis grad baseret på subjektiv fortolkning. De enkelte laboratorier bør etablere deres egne normalområder.

De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

BEMÆRKNINGER:

Hvis der anvendes Sigmasæt 390-A og 91-C, skal der udvises stor omhu ved anvendelse af TRIZMA® bufferkoncentrat, katalognr. 91-3 og 90-3C, da de ikke må forbyttes. Hvis der anvendes forkert buffer, bliver reaktionen negativ.

PROCEDURE:

De beskrevne procedurer udføres ved 37 °C

PROCEDURE MED NAPHTHOL AS-D

KLORACETATERASE:

- Forvarm nok deioniseret vand til stoffet til 37 °C. Kontroller temperaturen inden brug.
- Tilsæt 1 ml natriumnitritopløsning til 1 ml Fast Red Violet LB basisopløsning i et prøverør umiddelbart før fiksering. Bland opløsningen forsigtigt ved at vende den, og lad den stå i 2 minutter. Aktiv udvikling af luftbobler skal undgås.
- Tilsæt opløsningen fra trin 2 til 40 ml forvarmet deioniseret vand.
- Tilsæt 5 ml TRIZMAL™ 6,3 bufferkoncentrat. (Se "Bemærkninger")
- Tilsæt 1 ml naphthol AS-D kloracetatopløsning. Opløsningen skal blive rød. Bland opløsningen godt, og hæld den i en Coplin-skål.
- Bring citrat-acetone-formaldehydopløsning (CAF) på stuetemperatur (23–26 °C). Fikser objektglassene ved at anbringe dem i CAF-opløsning i 30 sekunder.
- Skyl objektglassene grundigt i rindende deioniseret vand i 45–60 sekunder, og anbring dem dernæst i opløsningen fra trin 5. Objektglassene må ikke tørre.
- Inkuber i 15 minutter ved 37 °C, beskyttet mod lys.
- Efter 15 minutter tages objektglassene op og skylles grundigt i deioniseret vand i mindst 2 minutter.
- Kontrastfarv i 2 minutter i hematoxylinopløsning, Gill nr. 3.
- Skyl under vandhanen, og lufttør.
- Evaluer under mikroskop. Hvis der kræves dækglas, skal der anvendes vandigt monteringsmedie.

BEMÆRKNINGER:

- Hvis der anvendes Columbia-skåle, skal reagensmængden deles med 5.
- Hvis stoffet (jf. trin 5) ser uklart ud, skal det bringes på stuetemperatur (23–26 °C) og blandes godt.
- Hvis objektglassene er blevet fikseret på et tidligere tidspunkt og opbevaret, springes fiksering over (trin 6 og 7), og der påbegyndes farvning af tørre, forudfikserede objektglas, som anvist i trin 8.

PROCEDURE MED α-NAPHTHYLACETATERASE:

- Forvarm nok deioniseret vand til stoffet til 37 °C. Kontroller temperaturen inden brug.
- Tilsæt 1 ml natriumnitritopløsning til 1 ml Fast Blue BB basisopløsning i et prøverør umiddelbart før fiksering. Bland opløsningen ved at vende den, og lad den stå i mindst 2 minutter. Farven skifter fra snavset brun til dyb gul. Aktiv udvikling af luftbobler skal undgås.
- Tilsæt opløsningen fra trin 2 til 40 ml forvarmet deioniseret vand.
- Tilsæt 5 ml TRIZMAL™ 7,6 bufferkoncentrat.
- Tilsæt 1 ml α-naphthylacetatopløsning. Opløsningen skal blive grønlig. Bland opløsningen godt, og hæld den i en Coplin-skål.
- Bring citrat-acetone-formaldehydopløsning (CAF) på stuetemperatur (23–26 °C). Fikser objektglassene ved at anbringe dem i CAF-opløsning i 30 sekunder. Ryst objektglassene kraftigt i mindst 5 sekunder.
- Skyl objektglassene grundigt i rindende deioniseret vand i 45–60 sekunder, og anbring dem dernæst i opløsningen fra trin 5. Objektglassene må ikke tørre.
- Inkuber i 30 minutter ved 37 °C, beskyttet mod lys.
- Efter 30 minutter tages objektglassene op og skylles grundigt i rindende deioniseret vand i mindst 2 minutter.
- Kontrastfarv i 2 minutter i hematoxylinopløsning, Gill nr. 3.
- Skyl under vandhanen, og lufttør.
- Evaluer under mikroskop. Hvis der kræves dækglas, skal der anvendes vandigt monteringsmedie.

BEMÆRKNINGER:

- Hvis der anvendes Columbia-skåle, skal reagensmængden deles med 5.
- Hvis stoffet (jf. trin 5) ser uklart ud, skal det bringes på stuetemperatur (23–26 °C) og blandes godt.
- Hvis objektglassene er blevet fikseret på et tidligere tidspunkt og opbevaret, springes fiksering over (trin 6 og 7), og der påbegyndes farvning af tørre, forudfikserede objektglas, som anvist i trin 8.

PROCEDURE TIL DOBBELTFARVNING MED ESTERASE:

- Udfør testen med α-naphthylacetateterase, som anvist i proceduren. Der skal ikke kontrastfarves.
- Skyl objektglasset i 5 minutter i deioniseret vand.
- Udfør testen med naphthol AS-D kloracetateterase, som beskrevet i trin 1-12. Udelad trin 6.

PROCEDURE MED α-NAPHTHYLACETATERASE MED FLUORIDHÆMMER:

Skønt α-naphthylacetateterase først og fremmest findes i celler af monocytisk afstamning, når proceduren udføres som anvist, skal det tages i betragtning, at

megakaryocytter og erythroide forløbere er positive over for dette enzym.¹² Lymfocytter og visse modne granulocytter udviser også lejlighedsvis positiv reaktion.⁵ Natriumfluorid inkorporeres i inkubationssystemet til afgørende differentiering af disse celler fra monocytter. Monocytenzymet deaktiveres ved tilstedeværelse af denne forbindelse.¹³ Følgende procedure kan anvendes til at udføre fluoridhæmningsstesten.

- Tilsæt 2 ml natriumnitritopløsning til 2 ml Fast Blue BB basisopløsning. Bland opløsningen forsigtigt ved at vende den. Lad den stå i 2 minutter.
- Mærk 2 bægerglas A og B, og tilsæt følgende:

	Bægerglas A	Bægerglas B
Forvarmet 37 °C deioniseret vand	40 ml	40 ml
Diazoteret Fast Blue BB fra trin 1	2 ml	2 ml
TRIZMAL™ 7,6 koncentrat	5 ml	5 ml
α-naphthylacetatopløsning	1 ml	1 ml
Natriumfluoridopløsning	—	1 ml

- Blandes godt og hældes i Coplin-skåle mærket A og B.
- Gå frem som anvist i trin 6–12 i proceduren med α-naphthylacetateterase.

RESULTATKARAKTERISTIKA

BEDØMMESESMETODE:

Scan filmen, og vælg et tyndt område med få erythrocytter. Steder med naphthol AS-D kloracetateteraseaktivitet fremstår som stærkt rød granulering, og α-naphthylacetateterase som sort granulering. Giv point fra 0 til 4+ på grundlag af de individuelle farvers kvantitet og intensitet inden for de respektive celletypers cytoplasma. Bedømmelsen er til en vis grad baseret på subjektiv fortolkning. Tabel 1 er forslag til et bedømmelsesformat. Konklusioner fokuserer på relativ tilstedeværelse eller fravær af farvning.

TABEL I Bedømmelseskaraktistik		
Celle-point	Farve-intensitet	Fortolkning
0	Ingen	—
1+	Svag til moderat	±
2+	Moderat til kraftig	+
3+	Kraftig	+
4+	Glansfuld	+

FORVENTEDE RESULTATER:

NAPHTHOL AS-D KLORACETATERASE:

(Fast Red Violet LB) – Enzymet betragtes normalt som specifik for celler af granulocytisk afstamning. Aktivitetssteder udviser stærk rød granulering. Aktivitet er svag eller ikke til stede i monocytter og lymfocytter.

α-NAPHTHYLACETATERASE:

(Fast Blue BB) – Enzymet detekteres hovedsageligt i monocytter, makrofager og histocytter og er praktisk talt ikke til stede i granulocytter. Monocytter skal udvise sort granulering. Lymfocytter kan lejlighedsvis udvise enzymaktivitet.

α-NAPHTHYLACETATERASE MED

FLUORIDHÆMMER:

Alle celler af monocytisk afstamning vil være negative over for enzymaktivitet undtagen differentierede histiocytter eller specialiserede makrofager i væv, der også kan være modstandsdygtige over for natriumfluorid.¹¹

DOBBELTFARVNING MED ESTERASE:

I prøver, der gennemgår dobbeltfarvning, fremstår granulocytterne med rød granulering, og monocytter med sort granulering.

BEMÆRK: Fast Blue BB basisopløsning, katalognr. 91-7, kan erstatte Fast Red Violet LB basisopløsning, katalognr. 91-2, hvis der foretrækkes blå granulering til naphthol AS-D kloracetateterase.

KVALITETSKONTROL:

Reagenssystemet skal kontrolleres ved hjælp af positive og negative kontrolobjektglas.

Positive kontrolobjektglas kan fremstilles af leukæmi prøver eller specifikke cellelinjer, der vides at være positive. Cellelinjer, der er udviklet i kultur, frosne og som opbevares i flydende nitrogen, fås hos American Type Culture Collection (ATCC). Cellelinjerne, der egner sig til positive kontroller, omfatter: A-937, der stammer fra et humant histiocytisk lymfom, til uspecificeret esterase, HL-60, der er en promyelocytisk linje, til naphthol AS-D kloracetateterase, og Molt-4, der stammer fra en T-celleleukæmi, til α-naphthylacetateterase. Korrekt håndteringsprocedure står i dokumentationen, der leveres sammen med cellelinjerne.

Antikoagulationsbehandlet blod fra normale prøver (helst med øget monocytal, hvis proceduren med α-naphthylacetateterase anvendes) kan også anvendes, men det giver mindre intens farvning og vil have færre positive celler.

Kendte negative patientobjektglas kan anvendes som negativ kontrol. Hvis sådanne ikke findes kan farvning af en prøve i en inkubationsblanding med stoffet udeladt give det ønskede resultat. Vi anbefaler stærkt at anvende førstnævnte negative kontrol.

Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes angående yderligere hjælp.

HENVISNINGER

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

TRIZMA er et registreret varemærke, og TRIZMAL er et varemærke, der tilhører Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA

Sigma-Aldrich, Inc. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel angående yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedure nr. 91
Tidligere revision: 2003-02
Revideret: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA
+1 314 771 5765

Teknisk service: tlf. +1 314 771 3122

eller e-mail clintech@sial.com

Bestilling: tlf. +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland

49-7329-970