



SIGMA-ALDRICH®

**NAFTOL AS-D CLOROACETATO
ESTERASA y
 α -NAFTIL ACETATO ESTERASA**
(Procedimiento número 90)

APLICACIÓN

Los reactivos de Sigma-Aldrich se utilizan para la demostración citológica de naftol AS-D cloroacetato esterasa y α -naftil acetato esterasa en frotis de sangre o médula ósea, o en improntas de tejidos. Los reactivos de esterasa son para uso diagnóstico *in vitro*.

Las esterasas celulares son ubicuas y parecen representar una serie de diferentes enzimas que actúan sobre determinados sustratos. En condiciones específicas, es posible determinar los tipos de células hemopoyéticas, mediante ciertos sustratos de esterasa. Los métodos descritos permiten distinguir los granulocitos de los monocitos⁸.

Para realizar el análisis, se incuban frotis de sangre o médula ósea, o improntas de tejido, con naftol AS-D cloroacetato o α -naftil acetato en presencia de una sal de diazonio estable. La hidrólisis enzimática de los enlaces de ésteres libera los compuestos de naftol. Estos compuestos se acoplan a la sal de diazonio para formar depósitos muy coloreados en los puntos de actividad enzimática.

REACTIVOS

DIMETIL FORMAMIDA, número de catálogo 90-10

MONOMETILÉTER DE ETILENGLICOL, número de catálogo 90-11

NAFTOL AS-D CLOROACETATO, número de catálogo 90-5
Cápsula de 20 mg.

α -NAFTIL ACETATO, número de catálogo 90-6
Cápsula de 20 mg.

TAMPÓN TRIZMAL™ 6,3 CONCENTRADO, número de catálogo 90-3C
Maleato TRIZMA®, 200 mmol/l, con cloroformo como conservante.

TAMPÓN TRIZMAL™ 7,6 CONCENTRADO, número de catálogo 90-2C
Maleato TRIZMA®, 200 mmol/l, con cloroformo como conservante.

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA DE MAYER, número de catálogo MHS-1
Hematoxilina, certificada, 0,1 % (p/v), con estabilizantes.

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA ÁCIDA, número de catálogo 285-2
Hematoxilina certificada, 1 g/l, y estabilizantes, pH 3,3 a 25 °C.

SAL FAST BLUE RR, número de catálogo FBS-25
Cápsulas ya pesadas. El peso de cada cápsula puede variar con la pureza del lote de tinción, y ha sido optimizado según el análisis.

SAL FAST CORINTH V, número de catálogo 90-15
El contenido de tinción consta en la etiqueta del reactivo.

CITRATO CONCENTRADO, número de catálogo 386-1
Tampón de citrato, 0,383 mol/l, pH 5,4 cuando se diluye según el procedimiento.

GELATINA DE GLICEROL, número de catálogo GG-1
Mezcla de glicerol y gelatina, con fenol al 1 %.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar las soluciones de dimetil formamida, etilenglicol monometil éter, tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado, tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado, solución de hematoxilina de Mayer y solución hematoxilina ácida, a temperatura ambiente (18–26 °C).

Almacenar el naftol AS-D cloroacetato, α -naftil acetato y sal Fast Blue RR a una temperatura inferior a 0 °C.

Almacenar la sal de Fast Corinth V y el citrato concentrado en refrigeración (2–8 °C).

El naftol AS-D cloroacetato, el α -naftil acetato, la sal Fast Blue RR y la sal Fast Corinth V permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas.

La solución de citrato diluida es estable durante 1 semana si se almacena cerrada a temperatura ambiente (18–26 °C).

El tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado, el tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado y el citrato concentrado son adecuados para uso en ausencia de crecimiento microbiano.

Fluoruro de sodio, 2 g/dl. Almacenar a temperatura ambiente (18–26 °C). Se utiliza si se realiza el procedimiento de " α -naftil acetato esterasa con inhibición por fluoruro.

Gelatina de glicerol, número de catálogo GG-1. Almacenar en frigorífico (2–8 °C).

DETERIORO:

Desechar la dimetil formamida y el etilenglicol monometil éter si presentan coloración o turbidez.

La solución de tampón TRIZMAL™ 6,3 diluida, y la solución de tampón TRIZMAL™ 7,6 diluida, deben utilizarse sólo una vez y luego desecharse.

Desechar la solución de hematoxilina de Mayer y la solución de hematoxilina ácida cuando el tiempo requerido para obtener la tinción adecuada supere en más de 5 minutos el tiempo recomendado en el procedimiento.

PREPARACIÓN:

La solución de NAFTOL AS-D CLOROACETATO se prepara disolviendo el contenido de 1 cápsula de Naftol AS-D cloroacetato en 2 ml de dimetil formamida, número de catálogo 90-10. Retirar 1 cápsula del congelador cuando sea necesario. Preparar inmediatamente antes de su uso.

La solución de α -NAFTIL ACETATO se prepara disolviendo el contenido de 1 cápsula de α -naftil acetato en 2 ml de etilenglicol monometil éter, número de catálogo 90-11. Retirar la cápsula del congelador según sea necesario. Preparar inmediatamente antes de su uso.

La SOLUCIÓN DE TAMPÓN TRIZMAL™ 6,3 DILUIDA se prepara diluyendo 1 parte de tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado en 9 partes de agua desionizada. El pH debe ser 6,3 a una temperatura de 25 °C.

La SOLUCIÓN DE TAMPÓN TRIZMAL™ 7,6 DILUIDA se prepara diluyendo 1 parte de tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado en 9 partes de agua desionizada. El pH debe ser de 7,6 a una temperatura de 25 °C.

Las soluciones de hematoxilina de Mayer y hematoxilina ácida deben ser filtradas antes de su uso.

La SOLUCIÓN DE CITRATO DILUIDA se prepara diluyendo 1 parte de citrato concentrado, número de catálogo 386-1, en 9 partes de agua desionizada. pH 5,4 después de la dilución.

FIJADOR DE CITRATO-ACETONA-METANOL: A 18 ml de solución de citrato diluido, añadir 27 ml de acetona de grado ACS y 5 ml de metanol, número de catálogo M 1775. Almacenar bien cerrada a temperatura ambiente (18–26 °C). Desechar después de 8 horas.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshacerse de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consultar la Hoja de datos de seguridad del material para obtener cualquier información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU.)

La solución de dimetil formamida es TÓXICA. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para los ojos y la piel. Puede causar daños al feto. No inhalar los vapores. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Combustible - Se absorbe fácilmente a través de la piel. Órganos a los que afecta: hígado y riñones.

El etilenglicol monometil éter es COMBUSTIBLE y TÓXICO. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Posible riesgo de infertilidad. Puede causar daños al feto. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Evitar la exposición - solicitar instrucciones especiales antes de su uso. Órganos a los que afecta: sangre y riñones.

Naftol AS-D cloroacetato y α -naftil acetato. Precaución: Evitar el contacto y la inhalación.

El tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado y el tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado son PERJUDICIALES. Perjudiciales en caso de ingestión. Evidencia escasa de efectos carcinógenos. Perjudiciales: peligro de daños graves a la salud por exposición prolongada, inhalación o ingestión. Llevar ropa protectora adecuada. Posibles carcinógenos. Calificados como PROP 65 (carcinógenos).

La solución de hematoxilina de Mayer es TÓXICA. Tóxica en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

La solución de hematoxilina ácida es TÓXICA. Tóxica en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso

de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

Sal de Fast Blue RR. Evitar el contacto y la inhalación.

La sal de Fast Corinth V es TÓXICA. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Puede causar cáncer. Puede causar daños genéticos hereditarios. No inhalar el polvo. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

La solución de citrato concentrado es CORROSIVA. Provoca quemaduras. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

El metanol es INFLAMABLE y TÓXICO. Tóxico por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxico: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos y la piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas - no fumar. Tomar medidas cautelares contra descargas de electricidad estática. Evitar el contacto con la piel. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

La acetona es INFLAMABLE e IRRITANTE. Irritante para los ojos. Una exposición reiterada puede causar sequedad o grietas en la piel. Los vapores pueden causar somnolencia o mareo. Mantener el envase en un lugar bien ventilado. Mantener alejada de las llamas - no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Órganos a los que afecta: hígado y riñones.

Solución de fluoruro sódico al 2 %. Precaución: Evitar el contacto y la inhalación. Órganos a los que afecta: riñones y huesos.

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

La solución de dimetil formamida es TÓXICA. Perjudicial por inhalación y por contacto con la piel. Irritante para los ojos. Puede causar daños al feto. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Uso restringido a profesionales. Atención - Evitar la exposición - solicitar instrucciones especiales antes de su uso.

El etilenglicol monometil éter es TÓXICO. Inflamable. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Posible riesgo de infertilidad. Puede causar daños al feto. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Evitar la exposición - solicitar instrucciones especiales antes de su uso.

Naftol AS-D cloroacetato y α -naftil acetato. No inhalar el polvo. Evitar el contacto con la piel y los ojos.

La solución de hematoxilina de Mayer es perjudicial. Perjudicial en caso de ingestión.

La solución de hematoxilina ácida es perjudicial. Perjudicial en caso de ingestión.

Sal de Fast Blue RR. No inhalar el polvo. Evitar el contacto con la piel y los ojos.

La sal de Fast Corinth V es TÓXICA. Perjudicial por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Puede causar cáncer. Puede causar daños genéticos hereditarios. No inhalar el polvo. Usar ropa protectora adecuada, guantes y protección para los ojos y el rostro. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Evitar la exposición - solicitar instrucciones especiales antes de su uso.

El citrato concentrado es IRRITANTE. Irritante para los ojos y la piel. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

El metanol es ALTAMENTE INFLAMABLE y TÓXICO. Altamente inflamable. Tóxico por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxico: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas - no fumar. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

La acetona es ALTAMENTE INFLAMABLE e IRRITANTE. Altamente inflamable. Irritante para los ojos. Una exposición reiterada puede causar sequedad o grietas en la piel. Los vapores pueden causar somnolencia o mareo. Mantener el envase en un lugar bien ventilado. Mantener alejada de las llamas - no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica.

Solución de fluoruro sódico al 2 %. Evitar el contacto con la piel y los ojos.

PROCEDIMIENTO

RECOGIDA DE LA MUESTRA:

Se recomienda que la recogida de la muestra se lleve a cabo de acuerdo con las directrices del documento M29-A2 de la NCCLS. Ningún método de prueba puede garantizar la completa seguridad de que las muestras de sangre o tejido no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Pueden utilizarse frotis de sangre y médula ósea, improntas de tejidos y preparaciones citocentrífugas, tanto con el α -naftil acetato esterasa como con el naftol AS-D cloroacetato esterasa. Puede utilizarse EDTA o heparina como anticoagulante⁹. Pueden utilizarse tejidos congelados y embebidos en parafina con el naftol AS-D cloroacetato esterasa. El α -naftil acetato esterasa puede utilizarse satisfactoriamente en cortes de tejido congelados¹⁰. Los frotis de sangre o médula ósea pueden almacenarse fijados a temperatura ambiente (18–26 °C) durante varias semanas, y sin fijar durante varios días sin que se aprecien cambios de actividad⁹. No enviar sangre total para ensayos a otros laboratorios. Enviar los portaobjetos fijados o sin fijar. Los portaobjetos deben mantenerse frescos durante el traslado. Los frotis deben dejarse secar al menos 1 hora antes de su fijación.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Metanol absoluto
Acetona, reactivo ACS
Solución de fluoruro sódico, número de catálogo 91-9
Fluoruro sódico, 2 g/dl

NOTAS:

Los procedimientos descritos se realizan a 37 °C. Si los reactivos no están a esa temperatura, las reacciones pueden resultar débiles o negativas. Se recomienda comprobar las temperaturas con un termómetro preciso. Los baños de agua con temperatura controlada son mucho más eficaces que las incubadoras de aire caliente, y deben utilizarse con los métodos citoquímicos enzimáticos. La transferencia de calor a través del vidrio es más rápida que a través del plástico, por lo que deben utilizarse vasos de Coplin.

Muchos de los sistemas enzimáticos son sensibles a ínfimas trazas de detergente. Lavar los utensilios de vidrio con un blanqueador diluido y aclararlos con abundantes cantidades de agua desionizada para impedir el efecto del detergente sobre las enzimas celulares.

Los resultados están basados en un cierto grado de interpretación subjetiva. Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos normales.

Los datos obtenidos mediante este procedimiento sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben ser revisados junto con otras pruebas clínicas o información de diagnóstico.

PROCEDIMIENTO CON NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASA:

- Fijar los portaobjetos con fijador de citrato-acetona-metanol durante 1 minuto a temperatura ambiente (18–26 °C).
- Lavar a fondo con agua desionizada y secar al aire durante al menos 20 minutos.
- Removiendo constantemente, añadir a 50 ml de solución de tampón TRIZMAL™ 6,3 diluida, PRECALENTADA A 37 °C, el contenido de 1 cápsula de sal de Fast Corinth V, número de catálogo 90-15.
- Una vez completamente disuelta la sal en el tampón, añadir 2 ml de solución de naftol ASD cloroacetato. La solución tendrá un aspecto bastante turbio.
- Continuar mezclando durante 15–30 segundos y luego verter en un vaso de Coplin. NO FILTRAR.
- Colocar las muestras en la solución de tinción (del paso 5) e incubar a 37 °C durante 5 minutos.
NOTA: PROTEGER DE LA LUZ.
- Retirar los portaobjetos de la solución de tinción y lavarlos con agua desionizada durante 3 minutos. Desechar la solución de tinción.
- Si se desea, contrateñir con solución de hematoxilina ácida, número de catálogo 285-2, durante 5-10 minutos y luego lavar con agua del grifo.
- Secar los portaobjetos al aire y examinarlos con el microscopio. Si es necesario cubrirlos, utilizar sólo un medio de montaje acuoso.

PROCEDIMIENTO CON α -NAFTIL ACETATO ESTERASA:

- Fijar los portaobjetos con fijador de citrato-acetona-metanol durante 1 minuto a temperatura ambiente (18–26 °C).
- Lavar a fondo con agua desionizada y secar al aire durante al menos 20 minutos.

- Removiendo constantemente, añadir a 50 ml de solución de tampón TRIZMAL™ 7,6 diluida, PRECALENTADA A 37 °C, el contenido de 1 cápsula de sal de Fast Blue RR, número de catálogo FBS-25.
- Una vez completamente disuelta la sal en el tampón, añadir 2 ml de solución de α -naftil acetato. La solución tendrá un aspecto amarillo y ligeramente turbio.
- Continuar mezclando durante 15-20 segundos y luego verter en un vaso de Coplin. NO FILTRAR.
- Colocar las muestras en la solución de tinción (del paso 5) e incubar a 37 °C durante 30 minutos.
NOTA: PROTEGER DE LA LUZ.
- Retirar los portaobjetos de la solución de tinción y lavarlos con agua desionizada durante 3 minutos. Desechar la solución de tinción.
- Si se desea, contrateñir con solución de hematoxilina de Mayer, número de catálogo MHS-1, durante 5-10 minutos y luego lavar con agua del grifo.
- Secar los portaobjetos al aire y examinarlos con el microscopio. Si es necesario cubrirlos, utilizar sólo un medio de montaje acuoso.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN DOBLE DE ESTERASA:

- Realizar el ensayo de α -naftil acetato esterasa, tal y como se describe en la sección del procedimiento correspondiente. No contrateñir.
- Aclarar los portaobjetos con agua desionizada durante 5 minutos.
- Realizar el ensayo de naftol AS-D cloroacetato esterasa tal y como se describe en la sección del procedimiento correspondiente, pasos 3 a 9.

PROCEDIMIENTO CON α -NAFTIL ACETATO ESTERASA CON INHIBICIÓN POR FLUORURO:

Aunque el α -naftil acetato esterasa está presente principalmente en células de origen monocítico cuando el ensayo se realiza según se describe, debe tenerse en cuenta que los megacariocitos y precursores eritroides dan positivo para esta enzima¹¹. Los linfocitos y algunos granulocitos maduros ocasionalmente también dan positivo⁵. Para poder diferenciar estas células claramente de los monocitos, se incorpora fluoruro sódico en el sistema de incubación. La enzima monocítica se inactiva en presencia de este compuesto¹². El siguiente procedimiento puede utilizarse para realizar el ensayo de inhibición por fluoruro.

- Fijar los portaobjetos con fijador de citrato-acetona-metanol durante 1 minuto a temperatura ambiente (18–26 °C).
- Lavar a fondo con agua desionizada y secar al aire durante al menos 20 minutos.
- Etiquetar como A y B dos cubetas y añadir lo siguiente:

	Cubeta A	Cubeta B
Tampón TRIZMAL™ 7,6 diluido, precalentado a 37 °C	50 ml	50 ml
Removiendo constantemente, añadir Fast Blue RR	1 cápsula	1 cápsula
Solución de α -naftil acetato	2 ml	2 ml
Solución de fluoruro sódico	—	2 ml

- Mezclar bien y verter en vasos de Coplin etiquetados A y B.
- Proceder tal y como se describe en los pasos 6 a 9 del procedimiento con α -naftil acetato esterasa.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

MÉTODO DE Puntuación:

Explorar el frotis y seleccionar una zona fina con pocos eritrocitos. Las zonas con actividad de naftol AS-D cloroacetato esterasa presentarán una granulación de color rojo brillante, y las de α -naftil acetato esterasa, una granulación negra. Puntuar entre 0 y 4+ basándose en la cantidad e intensidad de las tinciones individuales dentro del citoplasma de los respectivos tipos de células. Las características de la puntuación se basan en cierto modo en la interpretación subjetiva. La tabla 1 es una muestra del formato de puntuación. Las conclusiones se centran en la presencia o ausencia relativa de la tinción.

TABLA I Características de la puntuación		
Puntuación de las células	Intensidad de la tinción	Interpretación
0	Ninguna	—
1+	De débil a moderada	±
2+	De moderada a fuerte	+
3+	Fuerte	+
4+	Muy fuerte	+

RESULTADOS:

NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASA:

Generalmente, esta enzima se considera específica de las células de origen granulocítico. Las células deben presentar una granulación roja. La actividad es débil o ausente en monocitos y linfocitos.

α -NAFTIL ACETATO ESTERASA:

En las condiciones del ensayo (pH 7,6), esta enzima se detecta principalmente en monocitos, macrófagos e histiocitos, encontrándose prácticamente ausente en granulocitos. Los monocitos deben presentar una granulación negra. Los linfocitos ocasionalmente pueden presentar actividad.

α -NAFTIL ACETATO ESTERASA CON INHIBICIÓN POR FLUORURO:

Todas las células de origen monocítico serán negativas en cuanto a la actividad enzimática, con la excepción de los histiocitos diferenciados o macrófagos especializados en el tejido, que también pueden ser resistentes al fluoruro sódico¹⁰.

TINCIÓN DOBLE DE ESTERASA:

Las muestras obtenidas mediante el procedimiento de doble tinción presentarán granulocitos con una granulación roja, y monocitos con una granulación negra.

La reactividad celular esperada de los ensayos para actividad de esterasa se resume en la tabla II.

TABLA II Reacciones citoquímicas de las células sanguíneas		
Tipo de célula	Naftol AS-D Cloroacetato esterasa	α -naftil Acetato esterasa
Mieloblastos	±	±
Promielocitos	+	±
Neutrófilos	+	—
Eosinófilos	—	—
Basófilos	±	—
Monocitos	—	+
Linfocitos	—	±
Linfoblastos	—	±
Megacariocitos	—	+
Eritroblastos	—	±
Células plasmáticas	—	±
Mastocitos	+	—
Células pilosas	—	±
Histiocitos	±	+

El sistema de reactivos debe ser monitorizado mediante el uso de portaobjetos de control positivo y negativo. Los portaobjetos de control positivo pueden prepararse con muestras leucémicas o líneas de células específicas que se sabe que son positivas. Las células pueden obtenerse de la ATCC (American Type Culture Collection), ampliarse en cultivos, y congelarse y almacenarse en nitrógeno líquido. Las células adecuadas para controles positivos son: A-937, derivada de un linfoma histiocítico humano, para esterasa no específica; HL-60, una línea promielocítica, para naftol AS-D cloroacetato esterasa; y Molt-4, derivada de una leucemia de células T, para α -naftil acetato esterasa. Consultar la documentación que acompaña a las líneas de células para ver los procedimientos correctos de manipulación.

Como alternativa, puede utilizarse sangre con anticoagulante obtenida de muestras normales (preferiblemente con un mayor recuento de monocitos, si se está utilizando el procedimiento de α -naftil acetato esterasa). Sin embargo, los resultados serán una tinción menos intensa y una menor cantidad de células positivas.

Como control negativo, pueden utilizarse portaobjetos de pacientes que se sabe que son negativos. Si no están disponibles, la tinción de una muestra en una mezcla de incubación sin el sustrato dará los resultados deseados. Sin embargo, se recomienda el uso de la primera opción.

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

REFERENCIAS

- Beard, MEJ, Fairly GH: Acute leukemia in adults. *Semin Hematol* 11:5, 1974.
- Beckmann H, Neth R, Gaedicke G, Lanbeck G, Schoch G, Wieggers U, Winkler K: Cytology and cytochemistry of the leukemic cell. *Haematol Bluttransfus* 14:26, 1974.
- Bennet JM, Bennet 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 HJ, 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, Sliegerman L: Esterase activity in leukocytes demonstrated by the use of naphthol AS-D chloroacetate substrate. J Histochem Cytochem 8:200, 1960.
9. Brown BA: IN Hematology: Principles and Procedures. Lea and Febiger, Philadelphia, PA, 1984, pp 127-130.
10. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, IL, 1985, pp 24, 38.
11. Hayhoe FGJ, Flemans RJ: IN Color Atlas of Hematological Cytology. John Wiley & Sons, New York, NY, 1982, pp 34, 111.
12. Li CY, Lam KW, Lam LT: Esterases in human leukocytes. J Histochem Cytochem 21:1, 1973.

Sigma-Aldrich, Inc. garantiza que sus productos concuerdan con la información contenida en ésta y otras publicaciones de Sigma-Aldrich. El comprador debe determinar la idoneidad de los productos para su uso particular. Es posible que deban aplicarse términos y condiciones adicionales. En el reverso de la factura o del albarán se incluyen los términos adicionales y las condiciones de venta.

Procedimiento número 90
Revisión anterior: 2003-09
Revisión: 2006-04



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Servicio Técnico: a cobro revertido al +1 314 771 3122

o por correo electrónico a clintech@sial.com

Para realizar pedidos: a cobro revertido al +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Alemania 49-7329-970