



NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASA Y

α NAFTIL ACETATO ESTERASA
(Procedimiento número 91)

APLICACIÓN

Para la demostración citológica de esterasa leucocitaria específica y no específica. Los reactivos de esterasa son para uso diagnóstico *in vitro*.

Las esterases 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 a los hematólogos y hematopatólogos distinguir los granulocitos de los monocitos¹⁻⁴.

Para realizar el análisis, se incuban frotis de sangre o médula ósea, o improntas de tejido, con naftol AS-D cloroacetato (NCAE) o α -naftil acetato (NAE) en presencia de una sal de diazonio recién formada. 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.

Los procedimientos más recientes, incluyendo los de Sigma-Aldrich, utilizan sales de diazonio estables. Estas se forman haciendo reaccionar una arilamina con nitrito sódico en un medio ácido⁵. El cloruro de diazonio resultante (generalmente inestable) puede tratarse con compuestos tales como el cloruro de zinc, el sulfato de zinc o el naftaleno-1,6-disulfonato, formando sales estables. Estos estabilizadores pueden ejercer una marcada inhibición sobre algunos sistemas enzimáticos, mientras que los cloruros de diazonio son menos inhibidores⁶. Por este motivo, ahora Sigma-Aldrich proporciona soluciones estables para la base de Fast Red Violet LB, base de Fast Blue BB y nitrito sódico para la citología de esterases. Para simplificar más estos métodos, se incluyen las soluciones estables de naftol AS-D cloroacetato y α -naftil acetato. La disponibilidad de estas soluciones estables permite al cliente ajustar los volúmenes de los reactivos de trabajo según sus necesidades, eliminando los residuos.

REACTIVOS

SOLUCIÓN DE NAFTOL AS-D CLOROACETATO, número de catálogo 91-1
Naftol AS-D cloroacetato, 8 mg/ml, y estabilizante.

SOLUCIÓN BASE DE FAST RED VIOLET LB, número de catálogo 91-2
Base de Fast Red Violet LB, 15 mg/ml, en 0,4 mol/l de ácido clorhídrico y estabilizante.

TAMPÓN TRIZMAL™ 6,3 CONCENTRADO, número de catálogo 91-3
Maleato TRIZMA®, 1 mol/l, con surfactante. pH 6,3 \pm 0,15 a 25 °C.

SOLUCIÓN DE NITRITO SÓDICO, número de catálogo 91-4
Nitrito sódico, 0,1 mol/l.

SOLUCIÓN DE CITRATO, número de catálogo 91-5
Ácido cítrico, 18 mmol/l, citrato sódico, 9 mmol/l, cloruro sódico, 12 mmol/l, y surfactante. pH 3,6 \pm 0,1 a 25 °C

SOLUCIÓN DE α -NAFTIL ACETATO, número de catálogo 91-6
 α -naftil acetato, 1,25 mg/ml, en solución de metanol y estabilizantes.

SOLUCIÓN BASE DE FAST BLUE BB, número de catálogo 91-7
Base de Fast Blue BB, 15 mg/ml, en 0,4 mol/l de ácido clorhídrico y estabilizante.

TAMPÓN TRIZMAL™ 7,6 CONCENTRADO, número de catálogo 91-8
Maleato TRIZMA®, 1 mol/l, con surfactante. pH 7,6 \pm 0,15 a 25 °C.

SOLUCIÓN DE HEMATOXILINA DE GILL N° 3, número de catálogo GHS-3
Hematoxilina certificada, 6,0 g/l, yodato sódico, 0,6 g/l, sulfato de aluminio, 52,8 g/l, y estabilizantes.

SOLUCIÓN DE FLUORURO SÓDICO, número de catálogo 91-9
Fluoruro sódico, 20 g/l

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar la solución de hematoxilina de Gill N° 3 a temperatura ambiente (18–26 °C), protegida de la luz. Almacenar los otros reactivos en el frigorífico (2–8 °C).

El tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado, el tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado y la solución de citrato son adecuados para uso en ausencia de crecimiento microbiano. Los demás reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas.

DETERIORO:

Desechar el tampón TRIZMAL™ concentrado y la solución de citrato, si el crecimiento microbiano es evidente. Desechar la solución de hematoxilina de Gill N° 3 si se vuelve marrón (sobrexoxidación por aire) o púrpura (pérdida de acidez).

PREPARACIÓN:

Calentar todos los reactivos a temperatura ambiente (18–26 °C) antes de su uso. Los reactivos de esterasa se suministran listos para su uso.

Fijador de citrato-acetona-formaldehído: A 25 ml de solución de citrato, número de catálogo 91-5, añadir 65 ml de acetona y 8 ml de formaldehído al 37 %. Colocarlo en una botella de vidrio bien tapada. Almacenar en el frigorífico (2–8 °C). Estabilizar a temperatura ambiente (18–26 °C) antes de su uso. La solución es estable hasta 4 semanas si se almacena en el frigorífico, bien tapada.

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 naftol AS-D cloroacetato es IRRITANTE. Puede formar peróxidos explosivos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. Mantener el envase bien cerrado. Llevar ropa protectora adecuada.

La solución base de Fast Red Violet LB es TÓXICA. Perjudicial en caso de ingestión. Tóxica por inhalación. 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). Órganos a los que afecta: hígado y riñones.

Tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado. Precaución: sustancia en proceso de prueba.

La solución de α -naftil acetato es INFLAMABLE y TÓXICA. Tóxica por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos y la piel. Tóxica: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener alejada de las llamas – no fumar. 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).

La solución base de Fast Blue BB es TÓXICA. Perjudicial en caso de ingestión. Tóxica por inhalación. 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). Órganos a los que afecta: hígado y riñones.

La solución de hematoxilina de Gill N° 3 es PERJUDICIAL. Perjudicial 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. Llevar ropa protectora adecuada.

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.

La solución de formaldehído es TÓXICA. Tóxica por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Provoca quemaduras. Evidencia escasa de efectos carcinógenos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. Puede causar daños genéticos hereditarios. 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). Utilizar sólo en zonas bien ventiladas.

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.)

La solución de naftol AS-D cloroacetato es IRRITANTE. Puede formar peróxidos explosivos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. Mantener el envase bien cerrado. Llevar ropa protectora adecuada.

La solución base de Fast Red Violet LB es PERJUDICIAL. Perjudicial en caso de ingestión.

Tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado. Precaución: sustancia en proceso de prueba.

La solución de α -naftil acetato es TÓXICA. Inflamable. Tóxica por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxica: 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 alejada de las llamas – no fumar. 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).

La solución base de Fast Blue BB es PERJUDICIAL. Perjudicial en caso de ingestión.

La solución de hematoxilina de Gill N° 3 es PERJUDICIAL. Perjudicial 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. Llevar ropa protectora adecuada.

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 %. No inhalar los vapores. Evitar el contacto con la piel y los ojos.

La solución de formaldehído es TÓXICA. Tóxica por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Provoca quemaduras. Evidencia escasa de efectos carcinógenos. Puede causar sensibilización por contacto con la piel. 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). Utilizar sólo en zonas bien ventiladas.

PROCEDIMIENTOS

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 citocentrífugadas, tanto con el α -naftil acetato esterasa y el naftol AS-D cloroacetato esterasa. Puede utilizarse EDTA o heparina como anticoagulante¹⁰. 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 congelados¹¹. 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 actividad^{12,13}. 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:

Acetona, reactivo ACS
Formaldehído, 37 %, ACS
Solución de fluoruro sódico, número de catálogo 91-9 (necesario para el procedimiento con α -naftil acetato esterasa con inhibición por fluoruro).

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO:

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 citocinéticos 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.

El sistema de fijador descrito en la sección "Reactivos" contiene formaldehído. Si no se elimina todo el fijador mediante un aclarado vigoroso, la adición al sistema de incubación de cualquier cantidad de aldehído, tanto si es concentrado en portaobjetos secados al aire como si son trazas de portaobjetos húmedos, puede dar como resultado la inhibición de las enzimas. Para evitar la pérdida de frotis de sangre durante el proceso de aclarado, dirigir el chorro de agua hacia el portaobjetos, más allá del borde más fino del frotis. Aclarar ambos lados del portaobjetos.

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.

NOTAS:

Los usuarios de los kits 390-A y 91-C de Sigma deben tener mucho cuidado al utilizar los tampones concentrados TRIZMA®, números de catálogo 91-3 y 90-3C, ya que no son intercambiables. El uso de un tampón incorrecto dará como resultado una reacción negativa.

PROCEDIMIENTOS:

Los procedimientos descritos se realizan a 37 °C.

PROCEDIMIENTO CON NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASA:

1. Precalentar a 37 °C una cantidad suficiente de agua desionizada para usar como sustrato. Comprobar la temperatura antes del uso.
2. Inmediatamente antes de la fijación, añadir 1 ml de solución de nitrato sódico a 1 ml de solución base de Fast Red Violet LB, en un tubo de ensayo. Mezclar con cuidado mediante inversión y dejar reposar durante 2 minutos. Debe evitarse la evolución activa de las burbujas de gas.
3. Añadir la solución del paso 2 a 40 ml del agua desionizada precalentada.
4. Añadir 5 ml de tampón TRIZMAL™ 6,3 concentrado (véase la Nota).
5. Añadir 1 ml de solución de naftol AS-D cloroacetato. La solución debe volverse roja. Mezclar bien y decantar en un vaso de Coplin.
6. Estabilizar la solución de citrato-acetona-formaldehído (CAF) a temperatura ambiente (23–26 °C). Fijar los portaobjetos sumergiéndolos en solución CAF durante 30 segundos.
7. Aclarar bien los portaobjetos durante 45-60 segundos con agua desionizada corriente, y colocarlos en la solución del paso 5. No dejar que se sequen.
8. Incubar durante 15 minutos a 37 °C, protegidos de la luz.
9. Después de 15 minutos, extraer los portaobjetos y aclararlos bien con agua desionizada durante al menos 2 minutos.
10. Contrateñir durante 2 minutos en solución de hematoxilina de Gill N° 3.
11. Aclarar con agua del grifo y secar al aire.
12. Comprobar con el microscopio. Si es necesario cubrirlos, utilizar sólo un medio de montaje acuoso.

NOTAS:

1. Para uso con vasos de Columbia, dividir los volúmenes de los reactivos por 5.
2. Si el sustrato (véase el paso 5) aparece turbio, estabilizar a temperatura ambiente (23–26 °C) y mezclar bien.
3. Si los portaobjetos han sido fijados previamente y almacenados, omite la fijación (pasos 6 y 7) y empiece con la tinción de los portaobjetos secos y prefijados en el paso 8.

PROCEDIMIENTO CON α -NAFTIL ACETATO ESTERASA:

1. Precalentar a 37 °C una cantidad suficiente de agua desionizada para usar como sustrato. Comprobar la temperatura antes del uso.
2. Inmediatamente antes de la fijación, añadir 1 ml de solución de nitrato sódico a 1 ml de solución base de Fast Blue BB, en un tubo de ensayo. Mezclar mediante inversión y dejar reposar durante al menos 2 minutos. El color cambiará de marrón sucio a amarillo intenso. Debe evitarse la evolución activa de las burbujas de gas.
3. Añadir la solución del paso 2 a 40 ml del agua desionizada precalentada.
4. Añadir 5 ml de tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado
5. Añadir 1 ml de solución de α -naftil acetato. La solución debe volverse verdosa. Mezclar bien y decantar en un vaso de Coplin.
6. Estabilizar la solución de citrato-acetona-formaldehído (CAF) a temperatura ambiente (23–26 °C). Fijar los portaobjetos sumergiéndolos en solución CAF durante 30 segundos. Agitar los portaobjetos vigorosamente durante los últimos 5 segundos.
7. Aclarar bien los portaobjetos durante 45-60 segundos con agua desionizada corriente, y colocarlos en la solución del paso 5. No dejar que se sequen.
8. Incubar durante 30 minutos a 37 °C, protegidos de la luz.
9. Después de 30 minutos, extraer los portaobjetos y aclararlos bien con agua desionizada corriente durante al menos 2 minutos.
10. Contrateñir durante 2 minutos en solución de hematoxilina de Gill N° 3.
11. Aclarar con agua del grifo y secar al aire.
12. Comprobar con el microscopio. Si es necesario cubrirlos, utilizar sólo un medio de montaje acuoso.

NOTAS:

1. Para uso con vasos de Columbia, dividir los volúmenes de los reactivos por 5.
2. Si el sustrato (véase el paso 5) aparece turbio, estabilizar a temperatura ambiente (23–26 °C) y mezclar bien.
3. Si los portaobjetos han sido fijados previamente y almacenados, omite la fijación (pasos 6 y 7) y empiece con la tinción de los portaobjetos secos y prefijados en el paso 8.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN DOBLE DE ESTERASA:

1. Realizar el ensayo de α -naftil acetato esterasa, tal y como se describe en la sección del procedimiento correspondiente. No contrateñir.
2. Aclarar el portaobjetos durante 5 minutos con agua desionizada.
3. Realizar el ensayo de naftol AS-D cloroacetato esterasa tal y como se describe en la sección del procedimiento correspondiente, pasos 1 a 12. Omitir el paso 6.

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 enzima¹². 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 compuesto¹³. El siguiente procedimiento puede utilizarse para realizar el ensayo de inhibición por fluoruro.

1. A 2 ml de solución base de Fast Blue BB, añadir 2 ml de solución de nitrato sódico. Mezclar con cuidado mediante inversión. Dejar reposar durante 2 minutos.
2. Etiquetar como A y B dos cubetas y añadir lo siguiente:

	Cubeta A	Cubeta B
Agua desionizada precalentada a 37 °C	40 ml	40 ml
Fast Blue BB diazotada del paso 1	2 ml	2 ml
Tampón TRIZMAL™ 7,6 concentrado	5 ml	5 ml
Solución de α -naftil acetato	1 ml	1 ml
Solución de fluoruro sódico	—	1 ml

3. Mezclar bien y verter en vasos de Coplin etiquetados A y B.
4. Proceder tal y como se describe en los pasos 6 a 12 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 una 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		
Célula Puntuación	Intensidad de la tinción	Interpretación
0	Ninguna	—
1+	De débil a moderada	±
2+	De moderada a fuerte	+
3+	Fuerte	+
4+	Muy fuerte	+

OBSERVACIONES PREVISTAS:

NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASA:

(Fast Red Violet LB) – Generalmente, esta enzima se considera específica de las células de linaje granulocítico. Los puntos de actividad muestran una granulación roja. La actividad es débil o ausente en monocitos y linfocitos.

α -NAFTIL ACETATO ESTERASA:

(Fast Blue BB) – 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 enzimática.

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 sódico¹¹.

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.

NOTA: La solución base de Fast Blue BB, número de catálogo 91-7, puede ser sustituida por la solución base de Fast Red Violet LB, número de catálogo 91-2, si se prefiere una granulación azul para el naftol AS-D cloroacetato esterasa.

CONTROL DE CALIDAD:

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 el procedimiento correcto 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

1. Beard MEJ, Fairly GH: Acute leukemia in adults. Semin Hematol 11:5, 1974
2. Beckmann J, Neth R, Gaedcke 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, Fliegerman 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 Hematologic 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 es marca registrada y TRIZMAL es marca comercial de Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, EE.UU.

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 91
Revisión anterior: 2003-02
Revisión: 2003-09



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