



**SIGMA-ALDRICH®**

**NAPHTOL AS-D CHLOROACÉTATE  
ESTÉRISE ET  
α-NAPHTYL ACÉTATE ESTÉRISE**  
(Protocole N° 91)

## INDICATIONS

Pour la mise en évidence cytochimique de l'estérase leucocytaire spécifique et non spécifique. Les estérases sont à « usage diagnostique in vitro ».

Les estérases cellulaires sont omniprésentes et représentent une série de différentes enzymes agissant sur des substrats particuliers. Dans des conditions de réaction définies, il est possible de déterminer les types de cellules hématopoïétiques, à l'aide de substrats d'estérase spécifiques. Les méthodes décrites permettent aux hématologues et aux hématopathologistes de distinguer les granulocytes des monocytes.<sup>1-8</sup>

Pour effectuer ce test, des frottis de sang et de moelle osseuse ou des préparations de tissus sont mis en incubation dans du naphthol AS-D chloroacétate (NCAE) ou dans de l'α-naphtyl acétate (NAE) en présence d'un sel de diazonium fraîchement formé. L'hydrolyse enzymatique des liaisons ester libre des composés de naphthol libres. Ceux-ci se couplent avec le sel de diazonium, formant des dépôts très colorés sur les sites d'activité enzymatique.

Les procédures les plus récentes, y compris celles de Sigma-Aldrich, utilisent des sels de diazonium stables. Ceux-ci se forment en faisant réagir une arylamine avec du nitrite de sodium dans un milieu acide.<sup>9</sup> Le chlorure de diazonium (généralement instable) qui en résulte peut ensuite être traité avec des composés tels que le chlorure de zinc, le sulfate de zinc ou le naphthalène-1-6-disulfonate, formant des sels stables. Ces stabilisants peuvent exercer une inhibition marquée sur certains systèmes enzymatiques, tandis que les chlorures de diazonium ont une capacité d'inhibition plus faible.<sup>9</sup> C'est pourquoi Sigma-Aldrich propose à présent des solutions stables pour la base Fast Red Violet LB, la base Fast Blue BB et le nitrite de sodium pour la cytochimie de l'estérase. Pour simplifier davantage ces méthodes, le kit comprend des solutions stables de naphthol AS-D chloroacétate et d'α-naphtyl acétate. La disponibilité de ces solutions stables permet au client d'adapter les volumes de réactifs en fonction de ses besoins, sans gaspillage.

## RÉACTIFS

**SOLUTION DE NAPHTOL AS-D CHLOROACÉTATE**,  
référence N° 91-1

Naphthol AS-D chloroacétate, 8 mg/ml, et stabilisant.

**SOLUTION DE BASE FAST RED VIOLET LB**, référence  
N° 91-2

Base Fast Red Violet LB, 15 mg/ml, dans 0,4 mol/l d'acide chlorhydrique avec stabilisant.

**CONCENTRÉ TRIZMAL™ 6,3**, référence N° 91-3

TRIZMA® maléate, 1 mol/l, avec surfactant. pH 6,3 ± 0,15 à 25 °C.

**SOLUTION DE NITRITE DE SODIUM**, référence N° 91-4

Nitrite de sodium, 0,1 mol/l.

**SOLUTION DE CITRATE**, référence N° 91-5

Acide citrique, 18 mmol/l, citrate de sodium, 9 mmol/l, chlorure de sodium, 12 mmol/l, avec surfactant. pH 3,6 ± 0,1 à 25 °C.

**SOLUTION D'α-NAPHTYL ACÉTATE**, référence N° 91-6

α-naphtyl acétate, 12,5 mg/ml, dans une solution de méthanol avec stabilisants.

**SOLUTION DE BASE FAST BLUE BB**, référence N° 91-7

Base Fast Blue BB, 15 mg/ml, dans 0,4 mol/l d'acide chlorhydrique avec stabilisants.

**CONCENTRÉ TRIZMAL™ 7,6**, référence N° 91-8

TRIZMA® maléate, 1 mol/l, avec surfactant. pH 7,6 ± 0,15 à 25 °C.

**SOLUTION D'HÉMATOXYLINE GILL N° 3**, référence  
N° GHS-3

Hématoxyline certifiée, 6,0 g/l, iodate de sodium, 0,6 g/l, et sulfate d'aluminium, 52,8 g/l, avec stabilisants.

**SOLUTION DE FLUORURE DE SODIUM**, référence N° 91-9

Fluorure de sodium, 20 g/l.

**CONSERVATION ET STABILITÉ :**

Conserver la solution d'hématoxyline Gill N° 3 à température ambiante (18–26 °C), à l'abri de la lumière. Conserver les autres réactifs au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C).

Le concentré TRIZMAL™ 6,3, le concentré TRIZMAL™ 7,6 et la solution de citrate peuvent être utilisés en l'absence de développement microbien. Les autres réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur les étiquettes.

**ALTÉRATION :**

Jeter le concentré TRIZMAL™ et la solution de citrate en cas de développement microbien visible.

Jeter la solution d'hématoxyline, Gill N° 3 si la solution vire au marron (trop oxydée par l'air) ou au pourpre (perte d'acidité).

**PRÉPARATION :**

Chauffer tous les réactifs à température ambiante (18–26 °C) avant utilisation. Les estérases sont prêtes à l'emploi.

Fixateur citrate-acétone-formaldéhyde : À 25 ml de solution de citrate, référence N° 91-5, ajouter 65 ml d'acétone et 8 ml de formaldéhyde 37 %. Verser dans un flacon en verre et fermer hermétiquement. Conserver au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Amener à température ambiante (18–26 °C) avant utilisation. Stable jusqu'à 4 semaines si conservé au réfrigérateur dans un flacon fermé hermétiquement.

**PRÉCAUTIONS :**

Suivre les précautions habituelles observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets selon les règlements locaux, départementaux, régionaux ou nationaux en vigueur. Pour des informations actualisées sur les risques ou la sécurité, se reporter à la fiche technique du produit.

Informations sur les risques et la sécurité (États-Unis)

La solution de naphthol AS-D chloroacétate est IRRITANTE. Peut former des peroxydes explosifs. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Conserver le récipient bien fermé. Porter un vêtement de protection approprié.

La solution de base Fast Red Violet LB est TOXIQUE. Nocif par ingestion. Toxique par inhalation. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Organes cibles : foie et reins.

Concentré TRIZMAL™ 6,3. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

La solution d'α-naphtyl acétate est INFLAMMABLE et TOXIQUE. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Irritant pour les yeux et la peau. Toxique : possibilité d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

La solution de base Fast Blue BB est TOXIQUE. Nocif par ingestion. Toxique par inhalation. Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Organes cibles : foie et reins.

La solution d'hématoxyline, Gill N°3 est NOCIVE. Nocif par ingestion. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié.

L'acétone est INFLAMMABLE et IRRITANTE. Irritant pour les yeux. L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau. L'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges. Conserver le récipient dans un endroit bien ventilé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Organes cibles : foie et reins.

Solution de fluorure de sodium à 2 %. Attention : Éviter le contact et l'inhalation. Organes cibles : reins et os.

La solution de formaldéhyde est TOXIQUE. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Provoque des brûlures. Effet cancérigène suspecté – preuves insuffisantes. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Peut provoquer des altérations génétiques héréditaires. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Utiliser seulement dans des zones bien ventilées.

Informations sur les risques et la sécurité (Europe)

La solution de naphthol AS-D chloroacétate est IRRITANTE. Peut former des peroxydes explosifs. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Conserver le récipient bien fermé. Porter un vêtement de protection approprié.

La solution de base Fast Red Violet LB est NOCIVE. Nocif par ingestion.

Concentré TRIZMAL™ 6,3. Attention : cette substance n'a pas encore été testée entièrement.

La solution d'α-naphtyl acétate est TOXIQUE. Inflammable. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Toxique : possibilité d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Irritant pour les yeux et la peau. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection et des gants appropriés. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

La solution de base de Fast Blue BB est NOCIVE. Nocif par ingestion.

La solution d'hématoxyline, Gill N°3 est NOCIVE. Nocif par ingestion. Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié.

L'acétone est FACILEMENT INFLAMMABLE et IRRITANTE. Facilement inflammable. Irritant pour les yeux. L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau. L'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges. Conserver le récipient dans un endroit bien ventilé. Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles – Ne pas fumer. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste.

Solution de fluorure de sodium à 2 %. Ne pas respirer les vapeurs. Éviter tout contact avec la peau et les yeux.

La solution de formaldéhyde est TOXIQUE. Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Provoque des brûlures. Effet cancérigène suspecté – preuves insuffisantes. Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau, et consulter un spécialiste. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette). Utiliser seulement dans des zones bien ventilées.

## PROCÉDURES

**PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS :**

Il est recommandé de prélever et de conserver les échantillons conformément au document M29-A2 du NCCLS. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit totalement que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettent pas d'agents infectieux. Par conséquent, tous les échantillons de sang ou de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Les frottis de sang, de moelle osseuse, les préparations de tissus et les préparations de cyto centrifugation peuvent être utilisés avec de l'α-naphtyl acétate estérase ou avec du naphthol AS-D chloroacétate estérase. L'EDTA ou l'héparine serviront d'anticoagulant.<sup>10</sup> Des tissus congelés et inclus en paraffine peuvent être utilisés avec le naphthol AS-D chloroacétate estérase. L'α-naphtyl acétate estérase peut être utilisée avec succès sur des coupes de tissus congelés.<sup>11</sup> Les frottis sanguins ou de moelle osseuse peuvent être conservés après fixation à température ambiante (18–26 °C) pendant plusieurs semaines ou non fixés pendant plusieurs jours sans aucun changement d'activité perceptible.<sup>5,10</sup> Ne pas transporter de sang total pour effectuer des dosages dans d'autres laboratoires. Envoyer des lames fixées ou non fixées. Les lames doivent être conservées au frais durant le transport. Laisser sécher les frottis au moins 1 heure avant de les fixer.

**MATÉRIELS SPÉCIFIQUES NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS :**

Acétone, réactif ACS

Formaldéhyde, 37 %, ACS

Solution de fluorure de sodium, référence N° 91-9 (nécessaire pour la procédure utilisant l'α-naphtyl acétate estérase avec inhibition du fluorure.)

**LIMITES DE LA PROCÉDURE :**

Les procédures décrites sont effectuées à 37 °C. Si les réactifs ne sont pas à cette température, il est possible que les réactions soient faibles ou négatives. Il est recommandé de contrôler les températures avec un thermomètre précis. Les bains-marie à température contrôlée sont plus efficaces que les incubateurs à air chaud et doivent être utilisés dans les

méthodes de traitement cytochimique des enzymes. La chaleur se transmet plus rapidement par le verre que par le plastique. Des jarres de Coplin en verre doivent donc être utilisées.

De nombreux systèmes enzymatiques sont sensibles aux traces de détergent les plus infimes. Le lavage de la verrerie avec de l'eau de Javel diluée, suivi d'un rinçage abondant à l'eau déionisée, annule l'effet du détergent sur les enzymes cellulaires.

Le fixateur décrit dans la section « Réactifs » contient du formaldéhyde. S'il reste des traces de fixateur après le rinçage, toute quantité d'aldéhyde, concentrée sur des lames ayant séché à l'air ou sous forme de traces provenant des lames humides, ajoutée au système d'incubation peut entraîner une inhibition des enzymes. Pour éviter la perte du frottis sanguin durant le rinçage, diriger le jet d'eau sur la lame au-dessus du bord frangé. Rincer la lame des deux côtés.

Les résultats se basent sur un certain degré d'interprétation subjective. Chaque laboratoire doit établir ses propres plages normales.

Les données obtenues par cette procédure permettent uniquement de faciliter le diagnostic et doivent être révisées conjointement à d'autres tests ou informations sur les diagnostics cliniques.

#### REMARQUES :

Toute personne utilisant les Kits 390-A et 91-C de Sigma doit se montrer prudente lors de l'utilisation des concentrés tampon TRIZMA®, références N° 91-3 et 90-3C, car ceux-ci ne sont pas interchangeables. L'utilisation d'un tampon incorrect peut entraîner une réaction négative.

#### PROCÉDURE :

Les procédures décrites sont effectuées à 37 °C.

#### PROCÉDURE NAPHTOL AS-D CHLOROACÉTATE ESTÉRASE :

1. Préchauffer assez d'eau déionisée pour utilisation du substrat à 37 °C. Vérifier la température avant utilisation.
2. Juste avant la fixation, ajouter 1 ml de solution de nitrite de sodium à 1 ml de solution de base Fast Red Violet LB dans un tube à essais. Mélanger doucement en retournant l'échantillon et laisser reposer 2 minutes. Éviter toute évolution active de bulles de gaz.
3. Ajouter la solution de l'étape 2 à 40 ml d'eau déionisée préchauffée.
4. Ajouter 5 ml de concentré de tampon TRIZMAL™ 6,3. (Voir la section « Remarque »)
5. Ajouter 1 ml de solution de naphthol AS-D chloroacétate. La solution doit virer au rouge. Bien mélanger et verser dans une jarre de Coplin.
6. Amener la solution de citrate-acétone-formaldéhyde (CAF) à température ambiante (23–26 °C). Fixer les lames en les immergeant dans la solution CAF pendant 30 secondes.
7. Rincer minutieusement les lames sous de l'eau déionisée pendant 45–60 secondes, puis les placer dans la solution de l'étape 5. Ne pas laisser sécher les lames.
8. Incuber pendant 15 minutes à 37 °C, à l'abri de la lumière.
9. Au bout de 15 minutes, retirer les lames et les rincer minutieusement dans de l'eau déionisée pendant 2 minutes minimum.
10. Contre-colorer pendant 2 minutes dans la solution d'hématoxyline, Gill N° 3.
11. Rincer dans de l'eau du robinet et laisser sécher à l'air libre.
12. Examiner au microscope. Si l'utilisation de lamelles de protection est nécessaire, utiliser uniquement un milieu de montage aqueux.

#### REMARQUES :

1. Pour une utilisation dans des jarres Columbia, diviser les quantités de réactifs par 5.
2. Si le substrat (voir étape 5) semble trouble, l'amener à température ambiante (23–26 °C) et bien mélanger.
3. Si les lames ont été préfixées et conservées, ne pas procéder à la fixation (étapes 6 et 7) et commencer la coloration des lames sèches préfixées (étape 8).

#### PROCÉDURE α-NAPHTYL ACÉTATE ESTÉRASE :

1. Préchauffer assez d'eau déionisée pour utilisation du substrat à 37 °C. Vérifier la température avant utilisation.
2. Juste avant la fixation, ajouter 1 ml de solution de nitrite de sodium à 1 ml de solution de base de Fast Blue BB dans un tube à essais. Mélanger en retournant l'échantillon et laisser reposer 2 minutes minimum. La couleur doit passer de marron sale à jaune profond. Éviter toute évolution active de bulles de gaz.
3. Ajouter la solution de l'étape 2 à 40 ml d'eau déionisée préchauffée.
4. Ajouter 5 ml de concentré de tampon TRIZMAL™ 7,6.

5. Ajouter 1 ml de solution d'α-naphtyl acétate. La solution doit devenir verdâtre. Bien mélanger et verser dans une jarre de Coplin.
6. Amener la solution de citrate-acétone-formaldéhyde (CAF) à température ambiante (23–26 °C). Fixer les lames en les immergeant dans la solution CAF pendant 30 secondes. Agiter vigoureusement les lames pendant les 5 dernières secondes.
7. Rincer minutieusement les lames sous de l'eau déionisée pendant 45–60 secondes, puis les placer dans la solution de l'étape 5. Ne pas laisser sécher les lames.
8. Incuber pendant 30 minutes à 37 °C, à l'abri de la lumière.
9. Au bout de 30 minutes, retirer les lames et les rincer minutieusement dans de l'eau déionisée pendant 2 minutes minimum.
10. Contre-colorer pendant 2 minutes dans la solution d'hématoxyline, Gill N° 3.
11. Rincer dans de l'eau du robinet et laisser sécher à l'air libre.
12. Examiner au microscope. Si l'utilisation de lamelles de protection est nécessaire, utiliser uniquement un milieu de montage aqueux.

#### REMARQUES :

1. Pour une utilisation dans des jarres Columbia, diviser les quantités de réactif par 5.
2. Si le substrat (voir étape 5) semble trouble, l'amener à température ambiante (23–26 °C) et bien mélanger.
3. Si les lames ont été préfixées et conservées, ne pas procéder à la fixation (étapes 6 et 7) et commencer la coloration des lames sèches préfixées (étape 8).

#### PROCÉDURE DE DOUBLE COLORATION À L'ESTÉRASE :

1. Effectuer le test de l'α-naphtyl acétate estérase décrit dans la procédure. Ne pas contre-colorer.
2. Rincer la lame à l'eau déionisée pendant 5 minutes.
3. Effectuer le test du naphthol AS-D chloroacétate estérase décrit dans les étapes 1 à 12 de la procédure. Passer directement de l'étape 5 à l'étape 7.

#### PROCÉDURE α-NAPHTYL ACÉTATE ESTÉRASE AVEC INHIBITION DU FLUORURE :

Bien que l'on trouve surtout l'α-naphtyl acétate estérase dans les cellules de lignée monocytique lorsque l'on effectue la procédure décrite, il faut cependant savoir que les mégacaryocytes et les précurseurs érythroïdes sont positifs à cette enzyme.<sup>12</sup> Les lymphocytes et certains granulocytes matures montrent également une positivité occasionnelle.<sup>5</sup> Pour différencier ces cellules des monocytes sans qu'il n'y ait de doute possible, il convient d'intégrer du fluorure de sodium au système d'incubation. L'enzyme des monocytes est inactivée en présence de ce composé.<sup>13</sup> La procédure suivante peut être utilisée pour effectuer le test d'inhibition du fluorure.

1. À 2 ml de solution de base de Fast Blue BB, ajouter 2 ml de solution de nitrite de sodium. Mélanger doucement en retournant l'échantillon. Laisser reposer 2 minutes.
2. Étiqueter 2 béchers A et B, et ajouter les éléments suivants :

	Bécher A	Bécher B
Eau déionisée préchauffée à 37 °C	40 ml	40 ml
Fast Blue BB diazoté à partir de l'étape 1	2 ml	2 ml
Concentré TRIZMAL™ 7,6.	5 ml	5 ml
Solution d'α-naphtyl acétate	1 ml	1 ml
Solution de fluorure de sodium	—	1 ml

3. Bien mélanger et verser dans des jarres de Coplin étiquetées A et B.
4. Procéder selon les étapes 6 à 12 de la procédure α-naphtyl acétate estérase.

## PERFORMANCE

#### MÉTHODE DE NOTATION :

Analysé le frottis et choisir une zone fine contenant peu d'érythrocytes. Les sites d'activité du naphthol AS-D chloroacétate estérase apparaissent sous la forme d'une granulation rouge vif, et ceux de l'α-naphtyl acétate estérase apparaissent sous la forme d'une granulation noire. Donner une note de 0 à 4+ en se basant sur la quantité et l'intensité de chaque coloration du cytoplasme des types de cellules respectifs. Les caractéristiques de notation se basent plus ou moins sur une interprétation subjective. Le Tableau 1 suggère un format de notation. Les conclusions se concentrent sur la présence ou l'absence relative de coloration.

Évaluation des cellules	Intensité de la coloration	Interprétation
0	Aucune	–
1+	Faible à modérée	±
2+	Modérée à forte	+
3+	Forte	+
4+	Brillante	+

#### OBSERVATIONS ESPÉRÉES :

##### NAPHTOL AS-D CHLOROACÉTATE ESTÉRASE :

(Fast Red Violet LB) – Cette enzyme est souvent considérée comme spécifique aux cellules de lignée granulocytaire. Les sites d'activité montrent une granulation rouge vif. L'activité est faible ou absente dans les monocytes et les lymphocytes.

##### α-NAPHTYL ACÉTATE ESTÉRASE :

(Fast Blue BB) – Cette enzyme est détectée principalement dans les monocytes, les macrophages et les histiocytes, et est pratiquement absente des granulocytes. Les monocytes doivent présenter une granulation noire. Les lymphocytes peuvent occasionnellement montrer une activité enzymatique.

##### α-NAPHTYL ACÉTATE ESTÉRASE AVEC INHIBITION DU FLUORURE :

Toutes les cellules de lignée monocytique sont négatives en ce qui concerne l'activité enzymatique, à l'exception des histiocytes différenciés ou des macrophages spécialisés des tissus, qui peuvent également être résistants au fluorure de sodium.<sup>11</sup>

#### DOUBLE COLORATION À L'ESTÉRASE :

Dans les échantillons analysés au cours de la procédure de double coloration, les granulocytes présentent une granulation rouge et les monocytes une granulation noire.

REMARQUE : La solution de base de Fast Blue BB, référence N° 91-7 peut être remplacée par la solution de base Fast Red Violet LB, référence N° 91-2, si une coloration bleue est préférée pour le naphthol AS-D chloroacétate estérase.

#### CONTRÔLE QUALITÉ :

Le réactif doit être contrôlé en utilisant des lames de contrôle positif et négatif.

Les lames de contrôle positif peuvent être préparées à partir d'échantillons leucémiques ou de lignées cellulaires spécifiques connus pour être positifs. Les lignées cellulaires peuvent être obtenues auprès de l'ATCC (American Type Culture Collection), expansées en culture, congelées et conservées dans de l'azote liquide. Celles qui conviennent à des contrôles positifs incluent : du A-937, dérivé d'un lymphome histocytaire humain, pour l'estérase non spécifique ; du HL-60, une lignée promyélocytaire, pour le naphthol AS-D chloroacétate estérase ; et du Molt-4, dérivé d'une leucémie à lymphocytes T, pour l'α-naphtyl acétate estérase. Consulter la documentation jointe aux lignées cellulaires pour connaître les procédures de manipulation appropriées.

On peut également utiliser du sang avec anti-coagulant provenant d'échantillons normaux (de préférence avec un nombre de monocytes plus élevé en cas d'utilisation de la procédure α-naphtyl acétate estérase) ; la coloration sera cependant moins intense et les cellules positives seront moins nombreuses.

Des lames d'échantillons connus comme étant négatifs peuvent être utilisées comme contrôle négatif. Si celles-ci ne sont pas disponibles, les résultats désirés peuvent être obtenus en colorant un échantillon dans un mélange d'incubation dont le substrat a été omis. Il est cependant fortement recommandé d'utiliser la première solution.

Si les résultats observés sont différents des résultats escomptés, contacter le service technique Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

## RÉFÉRENCES

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, 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 Immunochemistry 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 est une marque déposée et TRIZMAL est une marque de Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO

Sigma-Aldrich, Inc. garantit la conformité de ses produits avec les informations contenues dans la présente notice et dans les autres notices Sigma-Aldrich. L'utilisateur doit s'assurer que le(s) produit(s) est/sont adapté(s) à l'utilisation qu'il souhaite en faire. D'autres conditions générales peuvent s'appliquer. Voir au verso de la facture ou du bordereau de commande les conditions générales de vente et autres informations.

Protocole N° 91  
Révision précédente : 2003-02  
Révision : 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 États-Unis +1 314 771 5765  
Service technique : en PCV au +1 314 771 3122  
ou adresser un email à [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Pour commander : en PCV au +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

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