



**SIGMA-ALDRICH®**

**ΝΑΦΘΟΛΗ AS-D ΧΛΩΡΟΞΙΚΗ  
ΕΣΤΕΡΑΣΗ ΚΑΙ  
α-ΝΑΦΘΥΛ ΟΞΙΚΗ ΕΣΤΕΡΑΣΗ**  
(Αρ. Διαδικασίας 91)

## ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Για τον κυτταρολογικό εντοπισμό της ειδικής και μη ειδικής εστερικής λευκοκυττάρων. Τα αντιδραστήρια εστεράσης προορίζονται για "In Vitro Διαγνωστική Χρήση".

Οι χημικές εστεράσεις είναι ευρέως διαδεδομένες και προφανώς αντιπροσωπεύουν μια σειρά διαφορετικών ενζύμων που δρουν σε επιλεγμένα υποστρώματα. Υπό συγκεκριμένες συνθήκες αντίδρασης, είναι εφικτός ο προσδιορισμός του τύπου των αιμοποιητικών κυττάρων, χρησιμοποιώντας ειδικά υποστρώματα εστεράσης. Οι μέθοδοι που περιγράφονται παρέχουν στους αιματολόγους και αιματοπαθολόγους τρόπους διάκρισης των κοκκιοκυττάρων από τα μονοκύτταρα.<sup>1,8</sup>

Για την εκτέλεση αυτής της εξέτασης, αίμα, λεπτές στρώσεις μυελού των οστών ή παρασκευασμένα ιστών επωάζονται είτε με χλωροξική ναφθόλη AS-D (NCAE) είτε με α-ναφθόλη οξική (NAE) παρουσία νωπού σταθερού διαζωμιακού άλατος. Η ενζυματική υδρόλυση των εστερικών δεσμών απελευθερώνει ελεύθερες ενώσεις ναφθόλης. Αυτές ενώνονται με το διαζωμιακό άλας, σχηματίζοντας έντονα χρωματισμένες αποθέσεις στις θέσεις ενζυμικής δραστηριότητας.

Οι περισσότερες πρόσφατες διαδικασίες, μεταξύ των οποίων και εκείνες που παρέχονται από τη Sigma-Aldrich, χρησιμοποιούν διαζωμιακά άλατα. Τα άλατα αυτά σχηματίζονται με αντίδραση αρυλαμίνης με νιτρώδες νάτριο σε όξινο μέσο.<sup>9</sup> Το χλωριούχο διαζώλιο που προκύπτει (συνήθως ασταθές) μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε κατεργασία με ενώσεις όπως ο χλωριούχος ψευδάργυρος, ο θειικός ψευδάργυρος ή 1-6-δισουλφονική ναφθαλίνη, σχηματίζοντας σταθερά άλατα. Οι σταθεροποιητές αυτοί πιθανόν να ασκήσουν έντονη αναστολή σε μερικά ενζυματικά συστήματα, ενώ τα χλωριούχα διαζώλια είναι λιγότερο ανασταλτικά.<sup>9</sup> Για το λόγο αυτό, η Sigma-Aldrich παρέχει τώρα σταθερά διαλύματα για Βάση Ανθ. Ερυθροϊώδους LB, Βάση Ανθ. Μπλε ΒΒ και Νιτρώδες Νάτριο για την κυτταροχημεία της εστεράσης. Για την περαιτέρω απλοποίηση των μεθόδων αυτών, περιλαμβάνονται σταθερά διάλυμα χλωροξικής ναφθόλης AS-D και α-Ναφθόλη Οξικού. Η διαθεσιμότητα των σταθερών αυτών προϊόντων επιτρέπει στον πλάτη να προσαρμόσει τους όγκους εργασίας των αντιδραστηρίων σύμφωνα με τις ανάγκες, περιορίζοντας τη σπατάλη.

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

### ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΛΩΡΟΞΙΚΗΣ ΝΑΦΘΟΛΗΣ AS-D,

Αρ. Καταλόγου 91-1  
Χλωροξική Ναφθόλη AS-D 8 mg/mL και σταθεροποιητής.

### ΔΙΑΛΥΜΑ ΒΑΣΗΣ ΑΝΘ. ΕΡΥΘΡΟΪΩΔΕΣ LB,

Αρ. Καταλόγου 91-2  
Βάση Ανθ. Ερυθροϊώδους LB 15 mg/mL σε 0,4 mol/L υδροχλωρικού οξέος με σταθεροποιητή.

**ΠΥΚΝΟ TRIZMAL™ 6,3**, Αρ. Καταλόγου 91-3  
TRIZMA® μηλικού 1 mol/L με επιφανειοδραστικό. pH 6,3 ± 0,15 στους 25 °C.

**ΔΙΑΛΥΜΑ ΝΙΤΡΩΔΟΥΣ ΝΑΤΡΙΟΥ**, Αρ. Καταλόγου 91-4  
Νιτρώδες νάτριο 0,1 mol/L.

**ΔΙΑΛΥΜΑ ΚΙΤΡΙΚΟΥ**, Αρ. Καταλόγου 91-5  
Κιτρικό οξύ 18 mmol/L, νιτρώδες νάτριο 9 mmol/L, χλωριούχο νάτριο 12 mmol/L με επιφανειοδραστικό. pH 3,6 ± 0,1 στους 25 °C.

**ΔΙΑΛΥΜΑ α-ΝΑΦΘΥΛ ΟΞΙΚΟΥ**, Αρ. Καταλόγου 91-6  
α-Ναφθόλη οξικό 12,5 mg/mL σε διάλυμα μεθανόλης με σταθεροποιητές.

**ΔΙΑΛΥΜΑ ΒΑΣΗΣ ΑΝΘ. ΜΠΛΕ ΒΒ**, Αρ. Καταλόγου 91-7  
Βάση Ανθ. Μπλε ΒΒ 15 mg/mL σε 0,4 mol/L υδροχλωρικού οξέος με σταθεροποιητή.

**ΠΥΚΝΟ TRIZMAL™ 7,6**, Αρ. Καταλόγου 91-8  
TRIZMA® μηλικού 1 mol/L με επιφανειοδραστικό. pH 7,6 ± 0,15 στους 25 °C.

**ΔΙΑΛΥΜΑ ΑΙΜΑΤΟΞΥΛΙΝΗΣ GILL AP. 3**, Αρ. Καταλόγου GHS-3  
Πιστοποιημένη αιματοξυλίνη 6,0 g/L, ιωδικό νάτριο 0,6 g/L και θειικό αλουμίνιο 52,8 g/L, με σταθεροποιητές.

**ΔΙΑΛΥΜΑ ΦΘΟΡΙΟΥΧΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ**, Αρ. Καταλόγου 91-9  
Φθοριούχο Νάτριο 20 g/L

### ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ:

Αποθηκεύστε το Διάλυμα Αιματοξυλίνης Gill AP. 3 σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C) προστατευμένο από το φως. Φυλάξτε τα άλλα αντιδραστήρια στο ψυγείο (2-8 °C).

Το Πυκνό TRIZMAL™ 6,3, το Πυκνό TRIZMAL™ 7,6 και το Διάλυμα Κιτρικών είναι κατάλληλα για χρήση εφόσον δεν υπάρχει μικροβιακή ανάπτυξη. Τα άλλα αντιδραστήρια παραμένουν σταθερά, μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στις ετικέτες.

### ΑΠΟΣΥΝΘΕΣΗ:

Απορρίψτε το Πυκνό TRIZMAL™ και το Διάλυμα Κιτρικών αν υπάρχουν ενδείξεις για μικροβιακή ανάπτυξη. Απορρίψτε το Διάλυμα Αιματοξυλίνης Gill AP. 3 αν το διάλυμα μετατραπεί σε καφέ χρώμα (υπερ-οξειδωμένο από τον αέρα) ή ιώδες (απόλεια της οξειδωσης).

### ΠΡΟΕΤΙΜΑΣΙΑ:

Θερμάνετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C) πριν τη χρήση. Τα αντιδραστήρια εστεράσης παρέχονται έτοιμα για χρήση.

Στερωτικό Κιτρικού-Ακετόνης-Φορμαλδεΐδης: Στα 25 mL Διαλύματος Κιτρικών, Αρ. Καταλόγου 91-5, προσθέστε 65 mL Ακετόνης και 8 mL 37 % Φορμαλδεΐδης. Τοποθετήστε σε γυάλινη φιάλη και πωμάστε σφικτά. Φυλάσσεται σε ψυγείο (2-8 °C). Αφίστε να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C) πριν τη χρήση. Σταθερά έως 4 εβδομάδες αν φυλαχτούν πωματισμένα σφικτά στο ψυγείο

### ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ:

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνηθισμένες προφυλάξεις που εφαρμόζονται κατά το χειρισμό αντιδραστηρίων στο εργαστήριο. Απορρίψτε τα απόβλητα λαμβάνοντας υπόψη όλους τους τοπικούς, κρατικούς, επαρχιακούς ή εθνικούς κανονισμούς. Ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνου, ατυχήματος ή ασφάλειας.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στις Η.Π.Α

Το διάλυμα Ναφθόλης AS-D Χλωροξικού είναι ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Είναι δυνατόν να σχηματίσει εκρηκτικά υπεροξειδία. Είναι πιθανόν να προκαλέσει ευαισθητοποίηση κατά την επαφή με το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Το Διάλυμα Βάσης Ανθ. Ερυθροϊώδους LB είναι ΤΟΞΙΚΟ. Βλαβερό αν το καταπιείτε. Τοξικό αν το εισπνεύσετε. Προκαλεί εγκαύματα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείξτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Όργανα στόχοι: Ήπαρ και νεφρά.

Πυκνό TRIZMAL™ 6,3. Προσοχή: Η ουσία αυτή δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα πλήρως.

Το Διάλυμα α-Νάφθου Οξικού είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ και ΤΟΞΙΚΟ. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν το καταπιείτε. Ερεθιστικό για τα μάτια και το δέρμα. Τοξικό: κίνδυνος πολύ σοβαρών μη αντιστρεψίμων επιπτώσεων αν ληφθεί με εισπνοή, επαφή με το δέρμα και αν το καταπιείτε. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείξτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Όργανα στόχοι: Ήπαρ και νεφρά.

Το Διάλυμα Βάσης Ανθ. Ερυθροϊώδους BB είναι ΤΟΞΙΚΟ. Βλαβερό αν το καταπιείτε. Τοξικό αν το εισπνεύσετε. Προκαλεί εγκαύματα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείξτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Όργανα στόχοι: Ήπαρ και νεφρά.

Το διάλυμα αιματοξυλίνης Gill's 3 είναι ΒΛΑΒΕΡΟ. Βλαβερό αν το καταπιείτε. Ερεθιστικό για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Η ακetonή είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Ερεθιστική για τα μάτια. Η επαναλαμβανόμενη έκθεση ενδοχόμενης να προκαλέσει ξηρότητα ή σκάσιμο του δέρματος. Οι αναθυμιάσεις ενδοχόμενης να προκαλέσουν ναύση και ζάλη. Διατηρείτε το δοχείο σε χώρο που αερίζεται καλά. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα

μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Όργανα στόχοι: Ήπαρ και νεφρά.

Διάλυμα Φθοριούχου Νατρίου 2 %. Προσοχή: Αποφύγετε επαφή και εισπνοή. Όργανα στόχοι: Νεφροί και οστά.

Το διάλυμα της φορμαλδεΐδης είναι ΤΟΞΙΚΟ. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν το καταπιείτε. Προκαλεί εγκαύματα. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Είναι πιθανόν να προκαλέσουν ευαισθητοποίηση κατά την επαφή με το δέρμα. Πιθανό αίτιο κληρονομιάς γενετικής βλάβης. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείξτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Χρησιμοποιήστε μόνο σε μέρη με καλό αερισμό.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στην ΕΕ

Το διάλυμα Χλωροξικής Ναφθόλης AS-D είναι ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Είναι δυνατόν να σχηματίσει εκρηκτικά υπεροξειδία. Είναι πιθανόν να προκαλέσουν ευαισθητοποίηση κατά την επαφή με το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Το Διάλυμα Βάσης Ανθ. Ερυθροϊώδους LB είναι ΒΛΑΒΕΡΟ. Βλαβερό αν το καταπιείτε.

Πυκνό TRIZMAL™ 6,3. Προσοχή: Η ουσία αυτή δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα πλήρως.

Το διάλυμα α-Ναφθόλη Οξικού είναι ΤΟΞΙΚΟ. Εύφλεκτο. Τοξικό κατά την εισπνοή, στην επαφή με το δέρμα ή στην κατάποση. Τοξικό: κίνδυνος πολύ σοβαρών μη αντιστρεψίμων επιπτώσεων μέσω εισπνοής, επαφής με το δέρμα και κατάποσης. Ερεθιστικό για τα μάτια και το δέρμα. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείξτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

Το Διάλυμα Βάσης Ανθ. Ερυθροϊώδους BB είναι ΒΛΑΒΕΡΟ. Βλαβερό αν το καταπιείτε.

Το διάλυμα αιματοξυλίνης Gill's 3 είναι ΒΛΑΒΕΡΟ. Βλαβερό αν το καταπιείτε. Ερεθιστικό για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Η Ακετόνη είναι ΠΟΛΥ ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Πολύ εύφλεκτο. Ερεθιστική για τα μάτια. Η επαναλαμβανόμενη έκθεση ενδοχόμενης να προκαλέσει ξηρότητα ή σκάσιμο του δέρματος. Οι αναθυμιάσεις ενδοχόμενης να προκαλέσουν ναύση και ζάλη. Διατηρείτε το δοχείο σε χώρο που αερίζεται καλά. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή.

Διάλυμα Φθοριούχου Νατρίου 2%. Μην εισπνεύετε τις αναθυμιάσεις. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια.

Το διάλυμα της φορμαλδεΐδης είναι ΤΟΞΙΚΟ. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν το καταπιείτε. Προκαλεί εγκαύματα. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Είναι πιθανόν να προκαλέσουν ευαισθητοποίηση κατά την επαφή με το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείξτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Χρησιμοποιήστε μόνο σε μέρη με καλό αερισμό.

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ

### ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Συνιστάται η συλλογή δειγμάτων να διεξάγεται με βάση το έγγραφο NCCLS M29-A2. Καμία γνωστή μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν μεταδίδουν λοιμώξεις. Επομένως, όλα τα παράγοντα αίματος ή δείγματα ιστών πρέπει να θεωρούνται ενδοχόμενης λοίμωξης.

Αίμα, λεπτές στρώσεις μυελού των οστών, παρασκευάσματα ιστών και παρασκευάσματα κυτταροφυσκόκτρου μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για την α-ναφθόλη οξική εστεράση όσο και την χλωροξική εστεράση της χλωροξικής ναφθόλης AS-D. Το EDTA ή η ηπαρίνη χρησιμοποιούνται ως αντιπηκτικά.<sup>10</sup> Με την εστεράση της χλωροξικής ναφθόλης AS-D μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατεψυγμένοι ή εγκλεισμένοι σε

παραφίνη ισοί. Η α-Ναφθυλ οξική εστεράση μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε κατεψυγμένες τομές ιστών.<sup>11</sup> Το αίμα ή οι λεπτές στρώσεις μυελού των οστών μπορούν να αποθηκευτούν στερεωμένα σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C) για αρκετές εβδομάδες ή μη στερεωμένα για αρκετές ημέρες χωρίς ιδιαίτερη μεταβολή της δραστηριότητας.<sup>5,10</sup> Μην μεταφέρετε συνολικό αίμα για ανάλυση σε άλλα εργαστήρια. Στέλνετε στερεωμένες ή μη αντικειμενοφόρους. Οι αντικειμενοφόροι πρέπει να παραμένουν σε σχετικά χαμηλή θερμοκρασία κατά την μεταφορά. Αφήστε τα στρώματα να στεγνώσουν επί τουλάχιστον 1 ώρα πριν από την στερέωση.

#### ΕΙΔΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

Ακετόνη, Αντιδραστήριο ACS

Φορμαλδεΰδη 37 %, ACS

Διάλυμα Φθοριούχου Νατρίου, Αρ. Καταλόγου 91-9 (Απαιτείται για α-Ναφθυλ οξική εστεράση με τη διαδικασία Αναστολής Φθορίου.)

#### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ:

Οι διαδικασίες που περιγράφονται πραγματοποιούνται στους 37 °C. Αν τα αντιδραστήρια δεν βρίσκονται στη θερμοκρασία αυτή, είναι πιθανόν να ληφθούν ασθενείς ή αρνητικές αντιδράσεις. Συνιστάται οι θερμοκρασίες να ελέγχονται με ένα θερμόμετρο ακριβείας. Τα υδατόλυμα ελεγχόμενης θερμοκρασίας είναι αποτελεσματικότερα από τους επωαστές θερμού αέρα και πρέπει να χρησιμοποιούνται για τις ενζυμικές κυτταροχημικές μεθόδους. Η μεταφορά θερμότητας μέσω του υαλιού είναι ταχύτερη από τη μεταφορά μέσω του πλαστικού, γι' αυτό, πρέπει να χρησιμοποιηθούν γυάλινα δοχεία Corlin.

Πολλά ενζυμικά συστήματα είναι ευαίσθητα σε ελάχιστα ίχνη απορρυπαντικού. Το πλύσιμο των υαλικών με αραιό διάλυμα χλωρίνης με επακόλουθο ξέπλυμα με μεγάλη ποσότητα απιονισμένου νερού εμποδίζει την επίδραση του απορρυπαντικού στα κυτταρικά ένζυμα.

Το σύστημα σταθεροποιητή που περιγράφεται στην ενότητα "Αντιδραστήρια" περιέχει φορμαλδεΰδη. Αν το σταθεροποιητικό δεν αφαιρείται εντελώς με καλό ξέπλυμα, οποιαδήποτε ποσότητα αλδεΰδης που παραμένει στις αντικειμενοφόρους που έχουν στεγνώσει στον αέρα ή ίχνη σε υγρές αντικειμενοφόρους, που προστίθενται στο σύστημα επώασης, είναι δυνατόν να επιφέρουν αναστολή ενζύμου. Για να αποφύγετε την απώλεια ταϊνών αίματος κατά τη διάρκεια του ξεπλύματος, κατευθύνετε το νερό προς το τέλος του επιχρίσματος πάνω στην αντικειμενοφόρο. Ξεπλύνετε και τις δύο πλευρές της αντικειμενοφόρου.

Τα αποτελέσματα επιδέχονται κάποιο βαθμό υποκειμενικής ερμηνείας. Το κάθε εργαστήριο πρέπει να καθιερώσει το δικό του φυσιολογικό εύρος.

Τα δεδομένα που λαμβάνονται από τη διαδικασία αυτή εξυπηρετούν μόνο ως βοήθημα στη διάγνωση και πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές διαγνωστικές εξετάσεις ή πληροφορίες.

#### ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

Οι Χρήστες των Kit της Sigma 390-A και 91-C πρέπει να είναι προσεκτικοί όταν χρησιμοποιούν το Πυκνό Ρυθμιστικό Διάλυμα TRIZMA® Αρ. Καταλόγου 91-3 και 90-3C καθώς δεν είναι ανταλλάξιμο. Η χρήση εσφαλμένου ρυθμιστικού διαλύματος έχει ως αποτέλεσμα αρνητική αντίδραση.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

Οι διαδικασίες που περιγράφονται πραγματοποιούνται στους 37 °C.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΟΞΙΚΗΣ ΝΑΦΘΟΛΗΣ AS-D:

1. Προθερμάνετε επαρκή ποσότητα απιονισμένου νερού για χρήση ως υπόστρωμα στους 37 °C. Ελέγξτε τη θερμοκρασία πριν τη χρήση.
2. Αμέσως πριν τη στερέωση, προσθέστε 1 mL Διαλύματος Νιτρώδους Νατρίου σε 1 mL Διαλύματος Βάσης Ανθ. Ερυθροϊώδους LB στο δοκιμαστικό σωλήνα. Αναμίξτε απαλά με αναστροφή και αφήστε το να παραμείνει επί 2 λεπτά. Πρέπει να αποφεύγεται η ενεργή ανάπτυξη φυσαλίδων αερίου.
3. Προσθέστε το διάλυμα από το Βήμα 2 σε 40 mL προθερμασμένου απιονισμένου νερού.
4. Προσθέστε 5 mL Πυκνού Ρυθμιστικού διαλύματος TRIZMAL™ 6,3. (Βλ. "Σημείωση")
5. Προσθέστε 1 mL Διαλύματος Χλωροοξικής Ναφθόλης AS-D. Το διάλυμα πρέπει να γίνει ερυθρό. Αναμίξτε καλά και τοποθετήστε το σε δοχείο Corlin.
6. Αφήστε το Διάλυμα Κιτρικών-Ακετόνης-Φορμαλδεΰδης (CAF) να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου (23-26 °C). Στερεώστε τις αντικειμενοφόρους εμβαπτίζοντας σε διάλυμα CAF επί 30 δευτερόλεπτα.

7. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σχολαστικά σε τρεχούμενο απιονισμένο νερό επί 45-60 δευτερόλεπτα, και μετά τοποθετήστε τις στο διάλυμα του Βήματος 5. Μην τις αφήσετε να στεγνώσουν.
8. Επιάστε επί 15 λεπτά, στους 37 °C μακριά από το φως.
9. Μετά από 15 λεπτά, αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους και ξεπλύνετε σχολαστικά σε απιονισμένο νερό επί τουλάχιστον 2 λεπτά.
10. Αντιχρωματίστε για 2 λεπτά σε Διάλυμα Αιματοξυλίνης, Gill Αρ. 3.
11. Ξεπλύνετε σε νερό βρύσης και στεγνώστε στον αέρα.
12. Αξιολογήστε με μικροσκόπιο. Αν απαιτείται κάλυψη χρησιμοποιήστε μόνο υδατικό στερεωτικό μέσο.

#### ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

1. Για χρήση με τα δοχεία Columbia, διαιρέστε τους όγκους αντιδραστήριου με 5.
2. Αν το υπόστρωμα (Βλ. Βήμα 5) φαίνεται θολό, αφήστε να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου (23-26 °C) και αναμίξτε καλά.
3. Αν οι αντικειμενοφόροι έχουν στερεωθεί εκ των προτέρων και έχουν αποθηκευτεί, παραλείψτε την στερέωση (βήματα 6 και 7) και ξεκινήστε τη χρώση στεγνών, προστερεωμένων αντικειμενοφόρων στο Βήμα 8.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ α-ΝΑΦΘΥΛ ΟΞΙΚΗΣ ΕΣΤΕΡΑΣΗΣ:

1. Προθερμάνετε επαρκή ποσότητα απιονισμένου νερού για χρήση ως υπόστρωμα στους 37 °C. Ελέγξτε τη θερμοκρασία πριν τη χρήση.
2. Αμέσως πριν τη στερέωση, προσθέστε 1 mL Διαλύματος Νιτρώδους Νατρίου σε 1 mL Διαλύματος Βάσης Ανθ. Μπλε ΒΒ στο δοκιμαστικό σωλήνα. Αναμίξτε με αναστροφή και αφήστε το να παραμείνει επί 2 λεπτά. Το χρώμα αλλάζει από σκούρο καφέ σε βαθύ κίτρινο. Πρέπει να αποφεύγεται η ενεργή ανάπτυξη φυσαλίδων αερίου.
3. Προσθέστε το διάλυμα από το Βήμα 2 σε 40 mL προθερμασμένου απιονισμένου νερού.
4. Προσθέστε 5 mL Πυκνού Ρυθμιστικού διαλύματος TRIZMAL™ 7,6.
5. Προσθέστε 1 mL διαλύματος α-Ναφθυλ Οξικού. Το διάλυμα πρέπει να γίνει πρασινωπό. Αναμίξτε καλά και τοποθετήστε το σε δοχείο Corlin.
6. Φέρτε το Διάλυμα Κιτρικών-Ακετόνης-Φορμαλδεΰδης (CAF) σε θερμοκρασία δωματίου (23-26 °C). Στερεώστε τις αντικειμενοφόρους εμβαπτίζοντας σε διάλυμα CAF επί 30 δευτερόλεπτα. Ανακινήστε τις αντικειμενοφόρους έντονα για τα τελευταία 5 δευτερόλεπτα.
7. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σχολαστικά σε τρεχούμενο απιονισμένο νερό επί 45-60 δευτερόλεπτα, μετά τοποθετήστε τις στο διάλυμα από το Βήμα 5. Μην τις αφήσετε να στεγνώσουν.
8. Επιάστε επί 30 λεπτά, στους 37 °C μακριά από το φως.
9. Μετά από 30 λεπτά, αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους και ξεπλύνετε σχολαστικά επί τουλάχιστον 2 λεπτά σε τρεχούμενο απιονισμένο νερό.
10. Αντιχρωματίστε επί 2 λεπτά σε Διάλυμα Αιματοξυλίνης, Gill Αρ. 3.
11. Ξεπλύνετε σε νερό βρύσης και στεγνώστε στον αέρα.
12. Αξιολογήστε με μικροσκόπιο. Αν απαιτείται κάλυψη χρησιμοποιήστε μόνο υδατικό στερεωτικό μέσο.

#### ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

1. Για χρήση με τα δοχεία Columbia, διαιρέστε τους όγκους αντιδραστήριου με 5.
2. Αν το υπόστρωμα (Βλ. Βήμα 5) φαίνεται θολό αφήστε να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου (23-26 °C) και αναμίξτε καλά.
3. Αν οι αντικειμενοφόροι έχουν στερεωθεί εκ των προτέρων και έχουν αποθηκευτεί, παραλείψτε τη στερέωση (βήματα 6 και 7) και ξεκινήστε τη χρώση στεγνών, προστερεωμένων αντικειμενοφόρων στο Βήμα 8.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΔΙΠΛΗΣ ΧΡΩΣΗΣ:

1. Πραγματοποιήστε την ανάλυση της α-Ναφθυλ Οξικής Εστεράσης όπως περιγράφεται στην Διαδικασία. Μην πραγματοποιήσετε αντιχρωση.
2. Ξεπλύνετε την αντικειμενοφόρο επί 5 λεπτά σε απιονισμένο νερό.
3. Πραγματοποιήστε τη δοκιμή Εστεράσης της Χλωροοξικής Ναφθόλης AS-D όπως περιγράφεται στα Βήματα 1-12 της Διαδικασίας. Παραλείψτε το Βήμα 6.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ α-ΝΑΦΘΥΛ ΟΞΙΚΗΣ ΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΜΕ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΦΘΟΡΙΟΥ:

Παρόλο που η α-ναφθυλ οξική εστεράση εντοπίζεται κυρίως σε κύτταρα της μονοκυτταρικής σειράς όταν πραγματοποιείται όπως περιγράφτηκε, πρέπει να

διατηρείται υπόψη ότι τα μεγακαρυοκύτταρα και οι πρόδρομοι των ερυθροειδών είναι θετικά για αυτό το ένζυμο.<sup>12</sup> Τα λεμφοκύτταρα και μερικά ώριμα κοκκιοκύτταρα εμφανίζουν επίσης ευκαίριακα θετική χρώση.<sup>5</sup> Για να διαφοροποιηθούν οριστικά αυτά τα κύτταρα από τα μονοκύτταρα, ενσωματώνεται φθοριούχο νάτριο στο σύστημα επώασης. Το ένζυμο των μονοκυττάρων απενεργοποιείται παρουσία αυτής της χημικής ένωσης.<sup>13</sup> Για την πραγματοποίηση της εξέτασης αναστολής φθορίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί η ακόλουθη διαδικασία.

1. Σε 2 mL Διαλύματος Βάσης Ανθ. Μπλε ΒΒ προσθέστε 2 mL Διαλύματος Νιτρώδους Νατρίου. Αναμίξτε καλά με αναστροφή. Αφήστε το να σταθεί επί 2 λεπτά.
2. Τοποθετήστε ετικέτες σε 2 ποτήρια ζέσεως Α και Β και προσθέστε τα εξής:

	Ποτήρι Ζέσεως Α	Ποτήρι Ζέσεως Β
Προθερμασμένο απιονισμένο νερό θερμοκρασίας 37 °C	40 mL	40 mL
Διαζωτωμένο Ανθ. Μπλε ΒΒ από το Βήμα 1	2 mL	2 mL
Πυκνό TRIZMAL™ 7,6	5 mL	5 mL
Διάλυμα α-Ναφθυλ Οξικού	1 mL	1 mL
Διάλυμα Φθοριούχου Νατρίου	—	1 mL

3. Αναμίξτε καλά και μεταφέρετέ το στα δοχεία Corlin Α και Β.
4. Προχωρήστε όπως περιγράφεται στα Βήματα 6-12 της διαδικασίας α-Ναφθυλ Οξικής Εστεράσης.

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

#### ΜΕΘΟΔΟΣ ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΣΗΣ:

Εξετάστε το λεπτό στρώμα και επιλέξτε μια λεπτή περιοχή με λίγα ερυθροκύτταρα. Οι θέσεις με δραστηριότητα Ναφθόλης AS-D Χλωροοξικής Εστεράσης εμφανίζονται ως κόκκινη κοκκίωση και με α-Ναφθυλ Οξική Εστεράση ως μαύρη κοκκίωση. Βαθμολογήστε από 0 έως 4+ με βάση την ποσότητα και την ένταση της κάθε χρωστικής εντός του κυτταροπλάσματος των αντίστοιχων τύπων κυττάρων. Τα χαρακτηριστικά της βαθμολόγησης περιέχουν εν μέρει υποκειμενική ερμηνεία. Μια προτεινόμενη μορφοποίηση της βαθμολόγησης παρουσιάζεται στον Πίνακα 1. Τα συμπεράσματα επικεντρώνονται στη σχετική παρουσία ή απουσία χρώσης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Χαρακτηριστικά Βαθμολόγησης		
Κύτταρο Βαθμολόγησης	Ένταση της Χρώσης	Ερμηνεία
0	Καμιά	-
1+	Αμυδρή έως Μέτρια	±
2+	Μέτρια έως Ισχυρή	+
3+	Ισχυρή	++
4+	Φωτεινή	+++

#### ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

#### ΕΣΤΕΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΟΞΙΚΗΣ ΝΑΦΘΟΛΗΣ AS-D:

(Ανθ. Ερυθροϊώδους LB) - Το ένζυμο θεωρείται συνήθως ειδικό για κύτταρα κοκκιοκυτταρικής σειράς. Οι περιοχές δραστηριότητας δίνουν φωτεινή κόκκινη κοκκιοποίηση. Η δραστηριότητα είναι ασθενής ή απουσιάζει σε μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα.

#### α-ΝΑΦΘΥΛ ΟΞΙΚΗ ΕΣΤΕΡΑΣΗ:

(Ανθ. Μπλε ΒΒ) - Το ένζυμο ανιχνεύεται αρχικά σε μονοκύτταρα, μακροφάγα και ιστιοκύτταρα και ουσιαστικά δεν υπάρχει σε κοκκιοκύτταρα. Τα μονοκύτταρα πρέπει να εμφανίζουν μαύρη κοκκίωση. Τα λεμφοκύτταρα μπορεί ευκαίριακα να παρουσιάζουν ενζυμικά δραστηριότητα.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ α-ΝΑΦΘΥΛ ΟΞΙΚΗΣ ΕΣΤΕΡΑΣΗΣ ΜΕ ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΦΘΟΡΙΟΥ:

Όλα τα κύτταρα της μονοκυτταρικής σειράς είναι αρνητικά για ενζυμική δραστηριότητα, με εξαίρεση τα διαφοροποιημένα ιστιοκύτταρα ή τα εξειδικευμένα μακροφάγα σε ιστό που μπορεί να είναι επίσης ανθεκτικός στο φθοριούχο νάτριο.<sup>11</sup>

#### ΕΣΤΕΡΑΣΗ ΔΙΠΛΗΣ ΧΡΩΣΗΣ:

Τα δείγματα που λαμβάνονται από τη διαδικασία διπλής χρώσης εμφανίζουν τα κοκκιοκύτταρα με κόκκινη κοκκίωση και τα μονοκύτταρα με μαύρη κοκκίωση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το διάλυμα Βάσης Ανθ. Μπλε ΒΒ, Αρ.Καταλόγου 91-7, είναι δυνατόν να υποκατασταθεί από το Διάλυμα Βάσης Ανθ. Ερυθροϊώδους LB, Αρ. Καταλόγου 91-2, αν προτιμάται μπλε κοκκιοποίηση για την Εστεράση της Χλωροοξικής Ναφθόλης AS-D.

## ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ:

Το αντιδρόν σύστημα πρέπει να παρακολουθείται με τη χρήση αντικειμενοφόρων θετικού και αρνητικού μάρτυρα.

Οι αντικειμενοφόροι θετικού μάρτυρα μπορεί να προετοιμαστούν από λευχαιμικά δείγματα ή ειδικές κυτταρικές σειρές γνωστές ότι είναι θετικές. Οι κυτταρικές σειρές μπορούν να ληφθούν από την American Type Culture Collection (ATCC), να πολλαπλασιαστούν σε καλλιέργεια, να καταψυχθούν και να αποθηκευτούν σε υγρό άζωτο. Αυτές που είναι κατάλληλες για θετικοί μάρτυρες περιλαμβάνουν: την A-937, που παράγεται από ανθρώπινο ιστιοκυτταρικό λέμφωμα, για μη ειδική εστεράση, την HL-60 μια προμυελοκυτταρική σειρά, για εστεράση της χλωροξικής ναφθόλης AS-D και την Molt-4, που παράγεται από λευχαιμία T-κυττάρων, για α-ναφθυλ οξική εστεράση. Συμβουλευθείτε τη βιβλιογραφία που συνοδεύει τις κυτταρικές σειρές για τις κατάλληλες διαδικασίες χειρισμού.

Εναλλακτικά, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί αίμα με αντιπηκτικό από φυσιολογικά δείγματα (κατά προτίμηση με αυξημένο αριθμό μονοκυττάρων αν χρησιμοποιείται η διαδικασία α-ναφθυλ οξικής εστεράσης). Ωστόσο, παρέχουν χρώση λιγότερης έντασης και έχουν λιγότερα θετικά κύτταρα.

Ως αρνητικός μάρτυρας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντικειμενοφόροι γνωστών αρνητικών ασθενών. Αν δεν υπάρχουν, η χρώση ενός δείγματος σε μίγμα επώασης με παράλειψη του υποστρώματος δίνει τα επιθυμητά αποτελέσματα. Ωστόσο, συνιστάται ιδιαίτερα η χρήση του προηγούμενου.

Αν τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αποκλίνουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Το TRIZMA είναι εμπορικό σήμα και το TRIZMAL σήμα κατατεθέν της Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO

Η Sigma-Aldrich, Inc. εγγυάται ότι τα προϊόντα της συμμορφώνονται με τις πληροφορίες που περιέχονται σε αυτή και σε άλλες εκδόσεις της Sigma-Aldrich. Ο αγοραστής πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα του(ων) προϊόντος(ων) για τη συγκεκριμένη χρήση τους. Πιθανόν να ισχύουν πρόσθετοι όροι και συνθήκες. Βλ. αντίστροφη πλευρά του τιμολογίου ή της ταινίας συσκευασίας για επιπλέον όρους και συνθήκες πώλησης.

Αρ. Διαδικασίας 91

Προηγούμενη αναθεώρηση: 2003-02

Αναθεωρημένη: 2003-09



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

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Beard MEJ, Fairly GH: Acute leukemia in adults. *Semin Hematol* 11:5, 1974
2. Beckmann J, Neth R, Gaedick 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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Τεχνική Υπηρεσία: χρωστική κλήση +1 314 771 3122

ή e-mail στο [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Για παραγγελίες: χρωστική κλήση +1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

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