



SIGMA-ALDRICH®

**NAFTOL AS-D CLOROACETATO
ESTERASE E**

α-NAFTIL ACETATO ESTERASE
(Procedimento N.º 91)

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Para a demonstração citológica de esterase leucocitária específica e não específica. Os reagentes de esterase destinam-se à "utilização em diagnóstico in vitro".

As esterases celulares são ubíquas e representam, aparentemente, uma série de enzimas diferentes que actuam sob substratos seleccionados. Em condições de reacção definidas, poderá ser possível determinar os tipos de células hematopoiéticas, utilizando substratos de esterase específicos. Os especialistas em hematologia e hematopatologia podem utilizar os métodos descritos para distinguir os granulócitos dos monócitos.¹⁻⁸

Para realizar a análise, os esfregaços do sangue e da medula óssea ou as preparações de tecido duro são incubados com naftol AS-D cloroacetato (NCAE) ou α-naftil acetato (NAE) na presença de um sal de diazónio acabado de ser preparado. A hidrólise enzimática de ligações éster liberta compostos de naftol livres. Estes compostos acoplam-se ao sal de diazónio, formando depósitos fortemente coloridos nos locais de actividade enzimática.

A maioria dos procedimentos recentes, incluindo os procedimentos fornecidos pela Sigma-Aldrich, utiliza sais de diazónio estáveis. Estes sais são formados a partir da reacção de uma arilamina com nitrito de sódio num meio ácido.⁹ O cloreto de diazónio resultante (normalmente instável) pode, em seguida, ser tratado com compostos como, por exemplo, cloreto de zinco, sulfato de zinco ou naftaleno-1-6-dissulfonato, formando sais estáveis. Estes estabilizadores poderão dar origem a uma inibição acentuada em alguns sistemas enzimáticos, enquanto os cloretos de diazónio são menos inibidores.⁹ Por esta razão, a Sigma-Aldrich fornece actualmente soluções estáveis para as soluções violeta permanente LB, base, azul permanente BB, base e nitrito de sódio para a citocimica da esterase. Para simplificar ainda mais estes métodos, foram incluídas soluções estáveis de naftol AS-D cloroacetato e α-naftil acetato. A utilização destas soluções estáveis permite ao cliente ajustar os volumes dos reagentes de trabalho de acordo com as suas necessidades, eliminando os resíduos.

REAGENTES

SOLUÇÃO DE NAFTOL AS-D CLOROACETATO,
N.º de Catálogo 91-1

Naftol AS-D cloroacetato, 8 mg/mL, e estabilizador.

SOLUÇÃO VIOLETA PERMANENTE LB, BASE,
N.º de Catálogo 91-2

Solução violeta permanente LB, base, 15 mg/mL, em 0,4 mol/L de ácido clorídrico com estabilizador.

CONCENTRADO DE TAMPÃO TRIZMAL™ 6,3,
N.º de Catálogo 91-3

TRIZMA® maleato, 1 mol/L, com surfactante. pH 6,3 ± 0,15 a 25°C.

SOLUÇÃO DE NITRITO DE SÓDIO, N.º de Catálogo 91-4
Nitrito de sódio, 0,1 mol/L.

SOLUÇÃO DE CITRATO, N.º de Catálogo 91-5

Ácido cítrico, 18 mmol/L, citrato de sódio, 9 mmol/L, cloreto de sódio, 12 mmol/L, com surfactante. pH 3,6 ± 0,1 a 25°C.

SOLUÇÃO DE α-NAFTIL ACETATO, N.º de Catálogo 91-6

α-naftil acetato, 12,5 mg/mL, em solução de metanol com estabilizadores.

SOLUÇÃO AZUL PERMANENTE BB, BASE,
N.º de Catálogo 91-7

Azul permanente BB, base, 15 mg/mL em 0,4 mol/L de ácido clorídrico com estabilizadores.

CONCENTRADO DE TAMPÃO TRIZMAL™ 7,6,
N.º de Catálogo 91-8

TRIZMA® maleato, 1 mol/L, com surfactante. pH 7,6 ± 0,15 a 25°C.

SOLUÇÃO DE HEMATOXILINA, N.º 3 DE GILL, N.º de

Catálogo GHS-3
Hematoxilina certificada, 6,0 g/L, iodato de sódio, 0,6 g/L, e sulfato de alumínio, 52,8 g/L, com estabilizadores.

SOLUÇÃO DE FLUORETO DE SÓDIO, N.º de Catálogo 91-9
Fluoreto de sódio, 20 g/L

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Armazenar a solução de hematoxilina N.º 3 de Gill à temperatura ambiente (18–26°C) ao abrigo da luz. Armazenar os restantes reagentes no frigorífico (2–8°C).

O concentrado TRIZMAL™ 6,3, concentrado TRIZMAL™ 7,6 e a solução de citrato são adequados para utilização na ausência de crescimento bacteriano. Os restantes reagentes permanecem estáveis até ao final do prazo de validade indicado nos rótulos.

DETERIORAÇÃO:

Eliminar o concentrado TRIZMAL™ e a solução de citrato se existirem indícios de crescimento microbiano. Eliminar a solução de hematoxilina N.º 3 de Gill, se a solução ficar castanha (oxidação excessiva pelo ar) ou púrpura (perda de acidez).

PREPARAÇÃO:

Aquecer todos os reagentes até chegarem à temperatura ambiente (18–26°C) antes de utilizar. Os reagentes de esterase estão prontos para serem utilizados.

Fixador de citrato, acetona e formaldeído: Adicionar 65 mL de acetona e 8 mL de formaldeído a 37% a 25 mL de solução de citrato, N.º de Catálogo 91-5. Colocar em frasco de vidro e fechar bem a tampa. Armazenar no frigorífico (2–8°C). Deixar atingir a temperatura ambiente (18–26°C) antes de utilizar. Estável até 4 semanas se armazenado, bem tapado no frigorífico

PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

Declarações de riscos e segurança dos EUA

A solução de naftol AS-D cloroacetato é IRRITANTE. Pode formar peróxidos explosivos. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Usar vestuário de protecção adequado.

A solução violeta permanente LB, base, é TÓXICA. Nociva em caso de ingestão. Tóxica por inalação. Provoca queimaduras. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Órgãos alvo: Fígado e rins.

Concentrado TRIZMAL™ 6,3. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

A solução de α-naftil acetato é INFLAMÁVEL e TÓXICA. Tóxica por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Irritante para os olhos e pele. Tóxica: possibilidade de efeitos irreversíveis bastante graves por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

A solução azul permanente BB, base, é TÓXICA. Nociva em caso de ingestão. Tóxica por inalação. Provoca queimaduras. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Órgãos alvo: Fígado e rins.

A solução de hematoxilina N.º 3 de Gill é NOCIVA. Nociva em caso de ingestão. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

A acetona é INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Irritante para os olhos. A exposição repetida pode causar secura ou gretas na pele. Os vapores podem causar sonolência e tonturas. Conservar o recipiente num local bem ventilado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Órgãos alvo: Fígado e rins.

Solução de fluoreto de sódio a 2%. Atenção: Evitar o contacto e inalação. Órgãos alvo: Rins e ossos.

A solução de formaldeído é TÓXICA. Tóxica por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Provoca queimaduras. Prova limitada de um efeito cancerígeno. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Pode causar alterações genéticas hereditárias. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Utilizar apenas em áreas bem ventiladas.

Declarações de riscos e segurança da UE

A solução de naftol AS-D cloroacetato é IRRITANTE. Pode formar peróxidos explosivos. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Usar vestuário de protecção adequado.

A solução violeta permanente LB, base, é NOCIVA. Nociva em caso de ingestão.

Concentrado TRIZMAL™ 6,3. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

A solução de α-naftil acetato é TÓXICA. Inflamável. Tóxica por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Tóxica: possibilidade de efeitos irreversíveis bastante graves por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Irritante para os olhos e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

A solução azul permanente BB, base, é NOCIVA. Nociva em caso de ingestão.

A solução de hematoxilina N.º 3 de Gill é NOCIVA. Nociva em caso de ingestão. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção adequado.

A acetona é ALTAMENTE INFLAMÁVEL e IRRITANTE. Altamente inflamável. Irritante para os olhos. A exposição repetida pode causar secura ou gretas na pele. Os vapores podem causar sonolência e tonturas. Conservar o recipiente num local bem ventilado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico.

Solução de fluoreto de sódio a 2%. Não respirar os vapores. Evitar o contacto com a pele e os olhos.

A solução de formaldeído é TÓXICA. Tóxica por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Provoca queimaduras. Prova limitada de um efeito cancerígeno. Pode provocar sensibilização em contacto com a pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção, luvas e equipamento de protecção para os olhos/face adequados. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Utilizar apenas em áreas bem ventiladas.

PROCEDIMENTOS

COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

Poderão ser utilizados esfregaços do sangue e medula óssea, preparações de tecido duro e preparações citocentrífugas com α-naftil acetato esterase e naftol AS-D cloroacetato esterase. É possível utilizar EDTA ou heparina como anticoagulante.¹⁰ Os tecidos congelados e embebidos em parafina podem ser utilizados com a naftol AS-D cloroacetato esterase. A α-naftil acetato esterase poderá ser utilizada com sucesso em secções de tecido congeladas.¹¹ Os esfregaços de sangue ou da medula óssea podem ser armazenados fixados à temperatura ambiente (18–26°C) durante várias semanas ou sem estarem fixados durante vários dias, sem que se verifique uma alteração significativa na actividade.^{5,10} Não enviar amostras de sangue total para serem analisadas noutros laboratórios. Enviar lâminas fixadas ou sem estarem fixadas. Durante o transporte as amostras deverão ser conservadas num ambiente refrigerado. Antes de se proceder à fixação, deixar secar as lâminas durante, pelo menos, uma hora.

MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

Acetona, Reagente ACS

Formaldeído, 37%, ACS

Solução de fluoreto de sódio, N.º de Catálogo 91-9 (Necessária para o procedimento de α-naftil acetato esterase com inibição de fluoreto.)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO:

Os procedimentos descritos são realizados a 37°C. Se os reagentes não se encontrarem a esta temperatura, poderão obter-se reacções insuficientes ou negativas. Recomenda-se a verificação das temperaturas com um termómetro preciso. Os banhos-maria com controlo de temperatura são mais eficazes do que as incubadoras de ar quente e deverão ser utilizados para os métodos citocimicos de enzimas. Uma vez que a transferência de calor através do vidro é mais rápida do que através do plástico, deverão utilizar-se jarras de Coplin de vidro.

Muitos sistemas enzimáticos são sensíveis a vestígios mínimos de detergente. A lavagem dos materiais de vidro com hipoclorito de sódio diluído seguida de uma lavagem em quantidades copiosas de água desionizada irá impedir o efeito do detergente sobre as enzimas celulares.

O sistema de fixação descrito na secção "Reagentes" contém formaldeído. Se o fixador não for completamente retirado através de uma lavagem vigorosa, qualquer quantidade de aldeído, quer seja concentrado em lâminas que tenham secado ao ar ou vestígios das lâminas a fresco, adicionada ao sistema de incubação poderá resultar na inibição enzimática. Para impedir a perda do esfregaço sanguíneo durante o processo de lavagem, direccionar o fluxo de água sobre a lâmina por cima da área em bisel. Lavar ambos os lados da lâmina.

Os resultados baseiam-se num determinado grau de interpretação subjectiva. Os laboratórios individuais deverão estabelecer os seus próprios intervalos normais.

Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

NOTAS:

Os utilizadores dos kits da Sigma 390-A e 91-C deverão tomar cuidados na utilização dos concentrados de tampão TRIZMA® N.ºs de Catálogo 91-3 e 90-3C uma vez que não são intercambiáveis. A utilização do tampão incorrecto resultará numa reacção negativa.

PROCEDIMENTO:

Os procedimentos descritos são realizados a 37°C

PROCEDIMENTO DE NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASE:

1. Pré-aquecer uma quantidade suficiente de água desionizada a 37°C para utilizar com substrato. Verificar a temperatura antes de utilizar.
2. Imediatamente antes da fixação, adicionar 1 mL de solução de nitrito de sódio a 1 mL de solução violeta permanente LB, base, num tubo de ensaio. Misturar cuidadosamente, invertendo e deixar assentar durante 2 minutos. Deverá evitar-se o desenvolvimento activo de bolhas de gás.
3. Adicionar a solução do passo 2 a 40 mL de água desionizada pré-aquecida.
4. Adicionar 5 mL de concentrado de tampão TRIZMAL™ 6,3. (Consultar "Nota")
5. Adicionar 1 mL de solução de naftol AS-D cloroacetato. A solução deverá ficar vermelha. Misturar bem e colocar numa jarra de Coplin.
6. Deixar a solução de citrato-acetona-formaldeído (CAF) atingir a temperatura ambiente (23–26°C). Fixar as lâminas, imergindo-as na solução CAF durante 30 segundos.
7. Lavar abundantemente as lâminas com água desionizada corrente durante 45–60 e, em seguida, colocá-las na solução do passo 5. Não deixar as lâminas secar.
8. Incubar durante 15 minutos, a 37°C ao abrigo da luz.
9. Após decorridos 15 minutos, retirar as lâminas e lavar bem com água desionizada durante, pelo menos, 2 minutos.
10. Realizar uma contracoloração durante 2 minutos em solução de hematxilina N.º 3 de Gill.
11. Passar por água da torneira e deixar secar ao ar.
12. Examinar microscopicamente. Caso seja necessária uma solução de protecção, utilizar apenas um meio de montagem aquoso.

NOTAS:

1. Para utilização com as jarras Columbia, dividir os volumes de reagente por 5.
2. Se o substrato (Consultar passo 5) apresentar indícios de turvação deixar que este atinja a temperatura ambiente (23–26°C) e misturar bem.
3. Caso as lâminas tenham sido pré-fixadas e armazenadas, ignorar o processo de fixação (passos 6 e 7) e iniciar a coloração das lâminas secas, pré-fixadas no passo 8.

PROCEDIMENTO DE α -NAFTIL ACETATO ESTERASE:

1. Pré-aquecer uma quantidade suficiente de água desionizada a 37°C para utilizar com substrato. Verificar a temperatura antes de utilizar.
2. Imediatamente antes da fixação, adicionar 1 mL de solução de nitrito de sódio a 1 mL de solução azul permanente BB, base, num tubo de ensaio. Misturar cuidadosamente, invertendo e deixar assentar durante 2 minutos. A cor irá mudar de castanho sujo para amarelo forte. Deverá evitar-se o desenvolvimento activo de bolhas de gás.
3. Adicionar a solução do passo 2 a 40 mL de água desionizada pré-aquecida.
4. Adicionar 5 mL de concentrado de tampão TRIZMAL™ 7,6.
5. Adicionar 1 mL de solução de α -naftil acetato. A solução deverá apresentar uma cor esverdeada. Misturar bem e colocar numa jarra de Coplin.
6. Deixar a solução de citrato, acetona e formaldeído (CAF) atingir a temperatura ambiente (23–26°C). Fixar as lâminas, imergindo-as na solução CAF durante 30 segundos. Agitar as lâminas vigorosamente durante, pelo menos, 5 segundos.
7. Lavar abundantemente as lâminas com água desionizada corrente durante 45–60 e, em seguida, colocá-las na solução do passo 5. Não deixar as lâminas secar.
8. Incubar durante 30 minutos a 37°C ao abrigo da luz.
9. Após decorridos 30 minutos, retirar as lâminas e lavar bem durante, pelo menos, 2 minutos em água desionizada corrente.
10. Realizar uma contracoloração durante 2 minutos em solução de hematxilina N.º 3 de Gill.
11. Passar por água da torneira e deixar secar ao ar.
12. Examinar microscopicamente. Caso seja necessária uma solução de protecção, utilizar apenas um meio de montagem aquoso.

NOTAS:

1. Para utilização com as jarras Columbia, dividir os volumes de reagente por 5.
2. Se o substrato (Consultar passo 5) apresentar indícios de turvação deixar que este atinja a temperatura ambiente (23–26°C) e misturar bem.
3. Caso as lâminas tenham sido pré-fixadas e armazenadas, ignorar o processo de fixação (passos 6 e 7) e iniciar a coloração das lâminas secas, pré-fixadas no passo 8.

PROCEDIMENTO DE ESTERASE DE DUPLA COLORAÇÃO:

1. Realizar o teste de α -naftil acetato esterase, conforme descrito em Procedimento. Não realizar uma contracoloração.
2. Lavar a lâmina durante 5 minutos em água desionizada.
3. Realizar o teste de naftol AS-D cloroacetato esterase, conforme descrito nos passos 1 a 12 do procedimento. Omitir o passo 6.

PROCEDIMENTO DE α -NAFTIL ACETATO ESTERASE COM INIBIÇÃO DE FLUORETO:

Embora a α -naftil acetato esterase seja detectada principalmente em células de estirpes monocíticas quando o teste é realizado conforme descrito deverá reconhecer-se que os megacariócitos e precursores eritróides são positivos para esta enzima.¹² Os linfócitos e alguns granulócitos maduros também apresentam ocasionalmente uma positividade.² Para diferenciar estas células de uma forma convincente dos monócitos, incorpora-se fluoreto de sódio com o sistema de incubação. A enzima de monócitos é inactivada na presença deste composto.¹³ É possível utilizar o procedimento seguinte para realizar o teste de inibição de fluoreto.

1. A 2 mL de solução azul permanente BB, base adicionar 2 mL de solução de nitrito de sódio. Mexer bem, invertendo o recipiente. Deixar assentar durante 2 minutos.
2. Identificar 2 provetas com as letras A e B, e adicionar o seguinte:

	Proveta A	Proveta B
Água desionizada pré-aquecida a 37°C	40 mL	40 mL
Solução azul permanente BB diazotada do passo 1	2 mL	2 mL
Concentrado TRIZMAL™ 7,6	5 mL	5 mL
Solução de α -naftil acetato	1 mL	1 mL
Solução de fluoreto de sódio	—	1 mL

3. Misturar bem e deitar nas jarras de Coplin identificadas com a letra A e B.
4. Continuar conforme descrito nos Passos 6–12 do procedimento de α -naftil acetato esterase.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

MÉTODO DE CLASSIFICAÇÃO:

Observar o esfregaço e seleccionar uma área fina com poucos eritrócitos. Os locais de actividade de naftol AS-D cloroacetato esterase irão apresentar uma granulação vermelha viva e os de α -naftil acetato esterase uma granulação negra. Classificar de 0 a 4+ com base na quantidade e intensidade dos corantes individuais ao longo do citoplasma dos respectivos tipos de células. As características de classificação baseiam-se, de certa forma, na interpretação subjectiva. Na Tabela 1 está apresentada uma sugestão para o formato de classificação. As conclusões baseiam-se na presença ou ausência relativas de coloração.

TABELA 1 Características de classificação		
Classificação das células	Intensidade de coloração	Interpretação
0	Nenhuma	—
1+	Ligeira a moderada	±
2+	Moderada a forte	+
3+	Forte	+
4+	Brilhante	+

OBSERVAÇÕES ESPERADAS:

NAFTOL AS-D CLOROACETATO ESTERASE:

(Violeta permanente LB.) – Esta enzima é normalmente considerada específica das células de séries granulocíticas. Os locais de actividade apresentam uma granulação vermelha viva. A actividade é insuficiente ou ausente nos monócitos ou linfócitos.

α -NAFTIL ACETATO ESTERASE:

(Azul permanente BB) – Esta enzima é detectada principalmente em monócitos, macrófagos e histiócitos, e é praticamente ausente nos granulócitos. Os monócitos deverão apresentar uma granulação negra. Ocasionalmente, os linfócitos poderão demonstrar actividade enzimática.

α -NAFTIL ACETATO ESTERASE COM INIBIÇÃO DE FLUORETO:

Todas as células de estirpes monocíticas serão negativas para a actividade enzimática, à excepção dos histiócitos diferenciados ou macrófagos especializados em tecido que também podem ser resistentes ao fluoreto de sódio.¹¹

ESTERASE DE DUPLA COLORAÇÃO:

As amostras obtidas a partir do procedimento de dupla coloração irão demonstrar os granulócitos com granulação vermelha e os monócitos com granulação negra.

NOTA: É possível substituir a solução azul permanente BB, N.º de Catálogo 91-7, por solução violeta permanente LB, base, N.º de Catálogo 91-2, caso se pretenda uma granulação azul para a naftol AS-D cloroacetato esterase.

CONTROLO DE QUALIDADE:

O sistema de reagentes deverá ser monitorizado através de lâminas de controlo positivo e negativo.

As lâminas de controlo positivo podem ser preparadas a partir de amostras leucémicas ou linhagens celulares específicas conhecidas como positivas. As linhagens celulares poderão ser obtidas a partir da American Type Culture Collection (ATCC), expandidas em cultura, congeladas e armazenadas em nitrogénio

líquido. As linhagens mais adequadas para os controlos positivos são: A-937, derivada a partir de um linfoma histiocítico humano, para esterase não específica; HL-60 uma linhagem promielocítica, para naftol AS-D cloroacetato esterase e Molt-4, derivada a partir de uma leucemia de linfócitos T, para α -naftil acetato esterase. Consultar a literatura que acompanha as linhagens celulares para mais informações sobre os procedimentos de manuseamento adequados.

Em alternativa, é possível utilizar sangue anticoagulado de amostras normais (de preferência com uma contagem elevada de monócitos se se estiver a utilizar o procedimento de α -naftil acetato esterase); no entanto, este tipo de amostras fornecerá uma coloração menos intensa e possuirá um número inferior de células positivas.

As lâminas de doentes negativos conhecidos poderão ser utilizadas como controlo negativo. Caso não estejam disponíveis, a coloração de uma amostra numa mistura de incubação com o substrato omitido irá proporcionar os resultados pretendidos. No entanto, recomenda-se a utilização da primeira.

Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

BIBLIOGRAFIA

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 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 é uma marca comercial registada e TRIZMAL é uma marca comercial da Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º 91
Revisão Anterior: 2003-02
Revisto: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Assistência Técnica: chamada paga no destino
+1 314 771 3122

ou endereço de correio electrónico:
clintech@sial.com

Para encomendar: chamada paga no destino
+1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com
SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Alemanha
49-7329-970