

**NAFTOL AS-D KLORACETATESTERAS OCH  
α-NAFTYLACETATESTERAS**  
(Procedurnummer 91)

**AVSEDD ANVÄNDNING**

För cytologisk påvisning av specifik och ospecifik leukocytesteras. Esterasreagenser är avsedda för "in vitro-diagnostik".

Cellulära esteraser förekommer överallt och verkar representera en serie olika enzymer som verkar på utvalda substrat. Under definierade reaktionsförhållanden kan det vara möjligt att bestämma hematopoetiska celltyper med användning av specifika esterassubstrat. De beskrivna metoderna tillhandahåller medel för hematologer och hematopatologer att särskilja granulocyter från monocytter.<sup>1-8</sup>

För att utföra testet inkuberas blod, benmärgsfilmer eller vävnadsberöringspreparat med antingen naftol AS-D-kloracetat eller α-naftylacetat i närvaro av färskt framställt diazoniumsalt. Enzymatisk hydrolys av esterbindningar frisätter fria naftolföreningar. Dessa binder till diazoniumsaltet och bildar starkt färgade avlagringar vid enzymaktivitetsställen.

De flesta senare procedurer, inklusive de som tillhandahålls av Sigma-Aldrich, använder stabila diazoniumsalter. Dessa framställs genom att reagera en arylamin med natriumnitrit i ett surt medium.<sup>9</sup> Den resulterande diazoniumkloriden (vanligen instabil) kan sedan behandlas med föreningar såsom zinkklorid, zinksulfat eller naftalen-1-6-disulfonat, för att bilda stabila salter. Dessa stabiliseringsmedel kan utöva markant inhibition på vissa enzymatiska system, medan diazoniumkloriderna är mindre hämmande.<sup>9</sup> Av denna anledning tillhandahåller Sigma-Aldrich nu stabila lösningar för Fast Red Violet LB standard, Fast Blue BB standard och natriumnitrit för esterascytokemi. För att vidare förenkla dessa metoder, inkluderas stabila lösningar av naftol AS-D-kloracetat och α-naftylacetat. Tack vare dessa stabila lösningar kan kunden justera bramsfärdiga reagensvolymen enligt behov och eliminera spill.

**REAGENSER**

**NAFTOL AS-D KLORACETATLÖSNING,**

katalognummer 91-1

Naftol AS-D kloracetat, 8 mg/ml, och stabiliseringsmedel.

**FAST RED VIOLET LB STANDARDLÖSNING,**

katalognummer 91-2

Fast Red Violet LB standard, 15 mg/ml, i 0,4 mol/l saltsyra med stabiliseringsmedel

**TRIZMAL™ 6,3 KONCENTRAT,** katalognummer 91-3

TRIZMA® maleat, 1 mol/l, med ytaktiv substans. pH 6,3 ± 0,15 vid 25 °C.

**NATRIUMNITRITLÖSNING,** katalognummer 91-4

Natriumnitrit, 0,1 mol/l.

**CITRATLÖSNING,** katalognummer 91-5

Citronsyra, 18 mmol/l, natriumcitrat, 9 mmol/l, natriumklorid, 12 mmol/l, med ytaktiv substans. PH 3,6 ± 0,1 vid 25 °C.

**α-NAFTYLACETATLÖSNING,** katalognummer 91-6

α-naftylacetat, 12,5 mg/ml, i metanolösning med stabiliseringsmedel.

**FAST BLUE BB STANDARDLÖSNING,** katalognummer 91-7

Fast blue BB standard, 15 mg/ml, i 0,4 mol/l saltsyra med stabiliseringsmedel.

**TRIZMAL™ 7,6 KONCENTRAT,** katalognummer 91-8

TRIZMA® maleat, 1 mol/l, med ytaktiv substans. pH 7,6 ± 0,15 vid 25 °C.

**HEMATOXYLINLÖSNING, GILLNUMMER 3,**

katalognummer GHS-3

Certifierat hematoxylin, 6,0 g/l, natriumjodat, 0,6 g/l, och aluminiumsulfat, 52,8 g/l, med stabiliseringsmedel.

**NATRIUMFLUORIDLÖSNING,** katalognummer 91-9

Natriumfluorid, 20 g/dl

**FÖRVARING OCH STABILITET:**

Förvara hematoxylinlösning, Gillnummer 3 i rumstemperatur (18–26 °C) skyddad mot ljus. Förvara andra reagenser i kylskåp (2–8 °C).

TRIZMAL™ 6,3 koncentrat, TRIZMAL™ 7,6 koncentrat och citratlösning är lämpliga för användning i avsaknad av mikrobiell tillväxt. Reagenser är stabila till det utgångsdatum som visas på etiketten.

**FÖRSÄMRING:**

Kasta TRIZMAL™ koncentrat och citratlösning vid tecken på mikrobiell tillväxt. Kasta hematoxylinlösning, Gillnummer 3, om lösningen färgas brun (överoxiderad av luft) eller purpur (förlust av aciditet).

**BEREDNING:**

Värm alla reagenser till rumstemperatur (18–26 °C) före användning. Esterasreagenser tillhandahålls bruksfärdiga.

Citratetonformaldehydfixativ: till 25 ml citratlösning, katalognummer 91-5, tillsätts 65 ml acetone och 8 ml 37 % formaldehyd. Placera i glasflaska och förslut väl. Förvaras i kylskåp (2–8 °C). Värm till rumstemperatur (18–26 °C) före användning. Stabil upp till 4 veckor om den förvaras väl försluten i kylskåp.

**FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER:**

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser ska iakttas. Kasta avfall enligt lokala lagar och bestämmelser. Se Faktablad om materialsäkerhet för uppdaterad information om risker, faror eller säkerhet.

Amerikanska risk- och säkerhetsbestämmelser

Naftol AS-D kloracetatlösning är IRRITERANDE. Kan bilda explosiva peroxider. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Använd lämpliga skyddskläder.

Fast Red Violet LB standardlösning är GIFTIG. Farligt vid förtäring. Giftig vid inandning. Frätande. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Målorgan: lever och njurar.

TRIZMAL™ 6,3 koncentrat. Försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

α-naftylacetatlösning är BRANDFARLIG och GIFTIG. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Irriterar ögon och hud. Giftigt: risk för mycket svåra bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Fast Blue BB standardlösning är GIFTIG. Farligt vid förtäring. Giftig vid inandning. Frätande. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Målorgan: lever och njurar.

Gills 3 hematoxylinlösning är FARLIG. Farligt vid förtäring. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Aceton är BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Irriterar ögonen. Upprepad exponering kan orsaka torr hud eller hudsprickor. Ångor kan göra att man blir dåsig och omtöcknad. Förpackningen förvaras på väl ventilerad plats. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Målorgan: lever och njurar.

2 % natriumfluoridlösning. Försiktighet: Undvik kontakt och inandning. Målorgan: njurar och skelett.

Formaldehydlösning är GIFTIG. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Frätande. Misstänks kunna ge cancer. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Kan ge årtliga genetiska skador. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Sörj för god ventilation.

Risk- och säkerhetsbestämmelser enligt EU

Naftol AS-D kloracetatlösning är IRRITERANDE. Kan bilda explosiva peroxider. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Använd lämpliga skyddskläder.

Fast Red Violet LB standardlösning är FARLIG. Farligt vid förtäring.

TRIZMAL™ 6,3 koncentrat. Försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

α-naftylacetatlösning är GIFTIG. Brandfarligt. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Giftigt: risk för mycket svåra bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Irriterar ögon och hud. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Fast Blue BB standardlösning är FARLIG. Farligt vid förtäring.

Gills 3 hematoxylinlösning är FARLIG. Farligt vid förtäring. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder.

Aceton är MYCKET BRANDFARLIGT och IRRITERANDE. Mycket brandfarligt. Irriterar ögonen. Upprepad exponering kan orsaka torr hud eller hudsprickor. Ångor kan göra att man blir dåsig och omtöcknad. Förpackningen förvaras på väl ventilerad plats. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare.

2 % natriumfluoridlösning. Undvik inandning av ångor. Undvik kontakt med hud och ögon.

Formaldehydlösning är GIFTIG. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Frätande. Misstänks kunna ge cancer. Kan orsaka sensibilisering vid hudkontakt. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder, skyddshandskar och skyddsglasögon eller ansiktsskydd. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Sörj för god ventilation.

**PROCEDURER**

**PROVTAGNING:**

Provtagningen bör utföras i enlighet med NCCLS dokument M29-A2. Ingen känd testmetod ger fullständig garanti för att blodprov eller vävnad inte överför infektion. Alla blodderivat och vävnadsprov bör därför anses vara potentiellt smittsamma.

Blod, benmärgsfilmer, vävnadsberöringspreparat och cytocentrifugpreparat kan användas med både α-naftylacetatesteras och naftol-AS-D-kloracetatesteras. Antingen EDTA eller heparin kan användas som antikoagulant.<sup>10</sup> Frusen och paraffinbäddad vävnad kan användas med naftol-AS-D-kloracetatesteras. α-naftylacetatesteras kan användas på frusna vävnadsnitt.<sup>11</sup> Blod- eller benmärgsfilmer kan förvaras fixerade i rumstemperatur (18–26 °C) i flera veckor eller ofixerade i flera dagar utan märkbar förändring av aktivitet.<sup>5,10</sup> Sänd inte ut helblod för analys vid andra laboratorier. Sänd fixerade eller ofixerade objektglas. Objektglas bör förvaras svalt under transporten. Låt filmerna torka minst 1 timme före fixering.

**SPECIELLA MATERIAL SOM BEHÖVS, MEN INTE**

**MEDFÖLJER:**

Aceton, ACS-reagens

Formaldehyd, 37 %, ACS

Natriumfluoridlösning, katalognummer 91-9 (forordas för α-naftylacetatesteras med fluoridinhibitionsprocedur.)

**BEGRÄNSNINGAR AV PROCEDUREN:**

De beskrivna procedurerna utförs vid 37 °C. Om reagenserna inte håller denna temperatur, kan man få svaga eller negativa reaktioner. Temperaturerna bör kontrolleras med en exakt termometer. Vattenbad med kontrollerad temperatur är effektivare än inkubatorer med varmluft och bör användas för enzymcytokemiska metoder. Värmeöverföring genom glas är snabbare än genom plast och Coplinburkar av glas bör därför användas.

Många enzymsystem är känsliga för minsta spår av tvättnedel. Diskning av glas med utspätt blekmedel, följt av sköljning i stora mängder avjoniserat vatten, förhindrar tvättnedelseffekt på cellulära enzymer.

Fixativsystemet, som beskrivs i avsnittet "Reagenser", innehåller formaldehyd. Om fixativet inte avlägsnas helt genom noggrann sköljning kan vilken som helst mängd aldehyd, antingen koncentrerad på lufttorkade objektglas eller spärmängder från blöta objektglas, som tillsätts inkubations-systemet, resultera i enzyminhibition. För att förhindra förlust av blodfilm under sköljningsprocessen skall vattenstrålen riktas mot objektglaset ovanför "fjäderkanten". Skölj båda sidorna av objektglaset.

Resultaten baseras på en viss grad av subjektiv tolkning. Individuella laboratorier bör etablera sina egna normalområden.

Data som erhållits från denna procedur tjänar endast som ett hjälpmedel vid diagnos och bör granskas tillsammans med andra kliniska, diagnostiska tester eller information.

**ANMÄRKNINGAR:**

Användare av Sigma satsar 390-A och 91-C bör vidta försiktighetsåtgärder vid användning av TRIZMA® buffertkoncentrat, katalognummer 91-3 och 90-3C eftersom de inte är utbytbara. Användning av felaktigt buffert kommer att resultera i en negativ reaktion.

## PROCEDUR:

De beskrivna procedurerna utförs vid 37 °C.

## NAFTOL AS-D KLORACETAT-ESTERASPROCEDUR:

- Förvärm tillräckligt mycket avjoniserat vatten för substrat till 37 °C. Kontrollera temperaturen före användning.
- Omedelbart före fixering tillsätts 1 ml natriumnitritlösning till 1 ml Fast Red Violet LB standardlösning i ett provrör. Blanda varsamt genom inversion och låt stå i 2 minuter. Aktiv utveckling av gasbubblor bör undvikas.
- Tillsätt lösningen från steg 2 till 40 ml förvämt avjoniserat vatten.
- Tillsätt 5 ml TRIZMAL™ 6,3 buffertkoncentrat. (Se "Anmärkning")
- Tillsätt 1 ml naftol AS-D kloracetatlösning. Lösningen bör färgas röd. Blanda väl och håll i Coplinburk.
- Värm citratetonformaldehydylösningen till rumstemperatur (23–26 °C). Fixera objektglaset genom immersion i CAF-lösning i 30 sekunder.
- Skölj objektglaset noggrant i rinnande avjoniserat vatten i 45–60 sekunder och placera sedan i lösningen från steg 5. Låt inte objektglaset torka.
- Inkubera i 15 minuter, vid 37 °C, skyddat mot ljus.
- Efter 15 minuter, ta ut objektglaset och skölj noggrant i avjoniserat vatten i minst 2 minuter.
- Motfärga i 2 minuter i hematoxylinlösning, Gillnummer 3.
- Skölj i kranvatten och luftorka.
- Undersök i mikroskop. Om täckglas krävs, använd endast vattenhaltigt monteringsmedium.

## ANMÄRKNINGAR:

- För användning med Columbiaburkar delas reagensvolymerna med 5.
- Om substratet (se steg 5) verkar grumligt, bör det värmas till rumstemperatur (23–26 °C) och blandas väl.
- Om objektglaset har prefixerats och lagrats, uteslut fixering (steg 6 och 7) och börja med färgning av torra, prefixerade objektglas i steg 8.

## α-NAFTYLACETATESTERASPROCEDUR:

- Förvärm tillräckligt mycket avjoniserat vatten för substrat till 37 °C. Kontrollera temperaturen före användning.
- Omedelbart före fixering tillsätts 1 ml natriumnitritlösning till 1 ml Fast Blue BB standardlösning i ett provrör. Blanda varsamt genom inversion och låt stå i 2 minuter. Färgen kommer att ändras från smutsbrun till mörkgul. Aktiv utveckling av gasbubblor bör undvikas.
- Tillsätt lösningen från steg 2 till 40 ml förvämt avjoniserat vatten.
- Tillsätt 5 ml TRIZMAL™ 7,6 buffertkoncentrat.
- Tillsätt 1 ml α-naftylacetatlösning. Lösningen bör bli grönaktig. Blanda väl och håll i Coplinburk.
- Värm citratetonformaldehydylösningen till rumstemperatur (23–26 °C). Fixera objektglaset genom immersion i CAF-lösning i 30 sekunder. Skaka objektglaset kraftigt i minst 5 sekunder.
- Skölj objektglaset noggrant i rinnande avjoniserat vatten i 45–60 sekunder och placera sedan i lösningen från steg 5. Låt inte objektglaset torka.
- Inkubera i 30 minuter, i 37 °C, skyddat mot ljus.
- Efter 30 minuter, ta ut objektglaset och skölj noggrant i minst 2 minuter i rinnande avjoniserat vatten.
- Motfärga i 2 minuter i hematoxylinlösning, Gillnummer 3.
- Skölj i kranvatten och luftorka.
- Undersök mikroskopiskt. Om täckglas krävs, använd endast vattenhaltigt monteringsmedium.

## ANMÄRKNINGAR:

- För användning med Columbiaburkar delas reagensvolymerna med 5.
- Om substratet (se steg 5) verkar grumligt, bör det värmas till rumstemperatur (23–26 °C) och blandas väl.
- Om objektglaset har prefixerats och lagrats, uteslut fixering (steg 6 och 7) och börja med färgning av torra, prefixerade objektglas i steg 8.

## ESTERASPROCEDUR MED DUBBEL FÄRGNING:

- Utför α-naftylacetatesterastestet enligt beskrivning i proceduren. Motfärga ej.
- Skölj objektglaset i 5 minuter i avjoniserat vatten.
- Utför naftol-AS-D-kloracetatesterastestet enligt beskrivning i procedurstegen 1–12. Uteslut steg 6.

## α-NAFTYLACETATESTERAS

### MED FLUORIDINHIBITIONSPROCEDUR:

Även om α-naftylacetatesteras primärt finns i celler av monocytisk härkomst när proceduren utförs enligt beskrivning, bör man ta hänsyn till att megakaryocyter och erytroidprekursorer är positiva för detta enzym.<sup>12</sup> Lymfocyter och vissa mogna granulocyter visar också tillfällig positivitet.<sup>5</sup> För att slutgiltigt differentiera dessa celler från monocyper, inkorporeras natriumfluorid i inkubationssystemet. Monocytensymmet inaktiveras i närvaro av denna förening.<sup>13</sup> Följande procedur kan användas för att utföra fluoridinhibitionstestet.

- Till 2 ml Fast Blue BB standardlösning tillsätts 2 ml natriumnitritlösning. Blanda varsamt genom inversion. Låt stå i 2 minuter.
- Märk 2 bägare A och B, och tillsätt följande:

	Bägare A	Bägare B
Förvämt 37 °C avjoniserat vatten	40 ml	40 ml
Diazotiserat Fast Blue BB från steg 1	2 ml	2 ml
TRIZMAL™ 7,6 koncentrat	5 ml	5 ml
α-naftylacetatlösning	1 ml	1 ml
Natriumfluoridlösning	—	1 ml

- Blanda väl och håll i Coplinburkar som märkts A och B.
- Fortsätt enligt beskrivning i steg 6–12 i α-naftylacetatesterasproceduren.

## PRESTANDA EGENSKAPER

### POÄNGSÄTTNING:

Skanna filmen och välj ut ett tunt område med få erythrocyter. Ställen med naftol-AS-D-kloracetatesterasaktivitet kommer att framträda som klarröd granulering och α-naftylacetatesteras som svart granulering. Poängsätt från 0 till 4+ på basis av kvantitet och intensitet hos de individuella färgerna i cytoplasman hos respektive celltyp. Poängsättningen baseras i viss mån på subjektiv tolkning. Ett föreslaget poängsättningsformat visas i tabell 1. Slutsatserna koncentreras på relativ närvaro eller frånvaro av färgning.

TABELL I Poängsättning		
Cell-poäng	Färgnings-intensitet	Tolkning
0	Ingen	—
1+	Svag till måttlig	±
2+	Måttlig till stark	+
3+	Stark	+
4+	Lysande	+

### FÖRVÄNTADE OBSERVATIONER:

#### NAFTOL AS-D KLORACETATERAS:

(Fast Red Violet LB) – Detta enzym anses vanligen som specifikt för celler av granulocytisk härkomst. Aktivitetsställen visar klarröd granulering. Aktiviteten är svag eller saknas hos monocyper och lymfocyter.

#### α-NAFTYLACETATESTERAS:

(Fast Blue BB) – Enzym detekteras huvudsakligen i monocyper, makrofager och histiocyter, och är praktiskt taget frånvarande i granulocyter. Monocyter bör uppvisa svart granulering. Lymfocyter kan någon enstaka gång uppvisa enzymaktivitet.

#### α-NAFTYLACETATESTERASPROCEDUR MED FLUORIDINHIBITION:

Alla celler av monocytisk härkomst kommer att vara negativa för enzymaktivitet, utom differentierade histiocyter eller specialiserade makrofager i vävnad som även kan vara resistenta mot natriumfluorid.<sup>11</sup>

#### DUBBELFÄRGNING AV ESTERAS:

Prov, som tagits genom den dubbla färgningsproceduren, kommer att uppvisa granulocyter med röd granulering och monocyper med svart granulering.

OBS: Fast Blue BB standardlösning, katalognummer 91-7, kan användas i stället för Fast Red Violet LB standardlösning, katalognummer 91-2, om blå granulering föredras för naftol-AS-D-kloracetatesteras.

#### KVALITETSKONTROLL:

Reagenssystemet bör övervakas med användning av positiva och negativa kontrollobjektglas.

Positiva kontrollobjektglas kan framställas av känt positiva leukemiprov eller specifika cellinjer. Cellinjer kan erhållas från American Type Culture Collection (ATCC), utvecklas i kultur, frysas och förvaras i flytande kväve. Sådana som lämpar sig för positiva kontroller omfattar: A-937, härledd från ett humant histiocytiskt lymfom, för ospecifika esteras; HL-60, en promyelocytisk linje, för naftol-AS-D-kloracetatesteras; och Molt-4, härledd från en T-cellsleukemi, för α-naftylacetatesteras. Se cellinjernas åtföljande litteratur för lämpliga hanteringsprocedurer.

Alternativt kan antikoagulerat blod från normala prov (företrädesvis med ökad monocythal, om α-naftylacetatesterasproceduren används) även användas, de kommer emellertid att ge mindre intensiv färgning och ha färre positiva celler.

Känt negativa patientprov kan användas som en negativ kontroll. Om sådana inte finns, kan färgning av ett prov i en inkubationsblandning där substratet utesluts, ge önskade

resultat. Användning av negativa patientprov rekommenderas emellertid starkt.

Om observerade resultat skiljer sig från förväntade resultat, kontakta Sigma-Aldrich tekniska service för assistans.

## REFERENSER

- Beard MEJ, Fairly GH: Acute leukemia in adults. *Semin Hematol* 11:5, 1974
- Beckmann J, Neth R, Gaedicke G, et al: Cytology and cytochemistry of the leukemic cell. *Haematol Bluttransfus* 14:26, 1974
- Bennet JM, Reed CE: Acute leukemia cytochemical profile: Diagnostic and clinical implications. *Blood Cells* 1:101, 1975
- Cawley JC, Hayhoe FGJ: Acute leukemia: Cellular morphology, cytochemistry and fine structure. *Clinics in Haematol* 1:49, 1972
- Yam LT, Li CY, Crosby WH: Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Am J Clin Pathol* 55:283, 1971
- Yam LT, Li CY, Wolfe NJ, Moy PW: Histochemical study of acute leukemia. *Arch Pathol* 97: 129, 1974
- Burstone MS: The cytochemical localization of esterase. *J Natl Cancer Inst* 18:167, 1957
- Moloney WC, McPherson K, Fiegerman L: Esterase activity in leukocytes demonstrated by the use of naphthol AS-D chloroacetate substrate. *J Histochem Cytochem* 8:200, 1960
- Burstone MS: IN Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Brown BA: IN Hematology: Principles and Procedures. Leas and Fréger, Philadelphia, 1984, pp 127–130
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 24, 38
- Hayhoe FGJ, Flemans RJ: IN Color Atlas of Hematological Cytology. John Wiley & Sons, New York, 1982, pp 34, 111
- Li CY, Lam KW, Lam LT: Esterase in human leukocytes. *J Histochem Cytochem* 21:1, 1973
- The Leukemias. A Cytochemical Comparison and Differentiation. Sigma Diagnostics, 1989

TRIZMA är ett registrerat varumärke och TRIZMAL är ett varumärke som tillhör Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO

Sigma-Aldrich, Inc. garanterar att deras produkter överensstämmer med informationen i denna och andra Sigma-Aldrich-publikationer. Kunden måste avgöra produktens(ernas) lämplighet för deras speciella användning. Ytterligare villkor kan gälla. Se baksidan av fakturan eller packsedeln för ytterligare försäljningsvillkor.

Procedurnummer 91

Föregående revidering: 2003-02

Reviderad: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Teknisk service: mottagaren betalar samtalet  
+1 314 771 3122

eller e-post till [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

För beställning: mottagaren betalar samtalet:

+1 314 771 5750

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

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