



**SIGMA-ALDRICH®**

**NAPHTHOL AS-D CHLOROACETATE  
ESTERASE AND  
α-NAPHTHYL ACETATE ESTERASE**  
(Eljárás száma: 91)

## FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A specifikus és nem specifikus leukocita észteráz citológiai bemutatásához. Az Esterase reagensek in vitro diagnosztikai felhasználásra javalltak.

A sejt észterázok mindenütt jelen vannak, és válogatott szubsztrátokra ható különböző enzimek sorozatát képviselik. Meghatározott reakció körülmények között, lehetséges a hemopoietikus sejt típusok meghatározása bizonyos észteráz szubsztrátokat használva. A leírt módszerek biztosítják a granulociták és monociták megkülönböztetésének hematológiai és hematopatológiai átlagát.<sup>1-9</sup>

A vizsgálat elvégzéséhez a vér, csontvelő hártlyákat vagy szövét jellegű preparátumokat vagy naftol-AS-D-klór-acetátban (NCAE) vagy α-naftil-acetátban (NAE) inkubálják egy frissen kialakított diazónium só jelenlétében. Az észterázok enzimátikus hidrolízise szabad naftol vegyületeket szabadít fel. Ez kapcsolódik a diazónium sóhoz, és nagyon színes lerakódást képez az enzim aktivitás helyein.

A legtöbb mai eljárás, a Sigma-Aldrich félt is beleértve, stabil diazónium sókat alkalmaz. Ezek aril-amin nátrium-nitrittel való reakciója során képződnek savas közegben.<sup>9</sup> A kapott diazónium-klorid (általában instabil) ezután olyan vegyületekkel kezelhető, mint például a cink-klorid, a cink-szulfát vagy a naftalin-1-6-diszulfonát, melyekkel stabil sókat alkot. Ezek a stabilizátorok észrevehetően gátolnak néhány enzimátikus rendszert, mivel a diazónium-kloridok kevésbé tiltók.<sup>9</sup> Ezért a Sigma-Aldrich Fast Red Violet LB Base-t, Fast Blue BB Base-t és nátrium-nitrites stabil oldatokat biztosít az észteráz citokémához. A módszerek további egyszerűsítéséhez Naphthol AS-D Chloroacetate és α-Naphthyl Acetate stabil oldatokat is használják. Ezen stabil oldatok rendelkezésre állása lehetővé teszi a vevőknek a munka reagensek térfogatának beállítását a szükségesnek megfelelően, hulladék nélkül.

## REAGENSEK

**NAPHTHOL AS-D CHLOROACETATE SOLUTION,**  
Katalógus száma: 91-1

Naftol-AS-D-klór-acetát, 8 mg/ml és stabilizátor.

**FAST RED VIOLET LB BASE SOLUTION,** Katalógus  
szám: 91-2

Fast red violet LB bázis, 15 mg/ml, 0,4 mol/l sósavban, stabilizátorral.

**TRIZMAL™ 6,3 CONCENTRATE,** Katalógus száma: 91-3  
TRIZMA® maleát, 1 mol/l, felületaktív anyaggal. 6,3 ± 0,15  
25 °C-on.

**SODIUM NITRITE SOLUTION,** Katalógus száma: 91-4  
Nátrium-nitrit, 0,1 mol/l

**CITRATE SOLUTION,** Katalógus száma: 91-5  
Citromsav, 18 mmol/l, nátrium-citrát, 9 mmol/l, nátrium-klorid,  
12 mmol/l, felületkezelő anyaggal. pH=3,6± 0,1-en 25 °C-on.

**α-NAPHTHYL ACETATE SOLUTION,** Katalógus száma: 91-6  
α-naftil-acetát, 12,5 mg/ml, metanol oldatban stabilizátorokkal.

**FAST BLUE BB BASE SOLUTION,** Katalógus száma: 91-7  
Fast blue BB bázis, 15 mg/ml, 0,4 mol/l sósavban,  
stabilizátorokkal.

**TRIZMAL™ 7,6 CONCENTRATE,** Katalógus száma: 91-8  
TRIZMA® maleát, 1 mol/l, felületaktív anyaggal.  
pH= 7,6 ± 0,15 25 °C-on.

**HEMATOXYLIN SOLUTION, GILL NO. 3,** Katalógus  
száma: GHS-3  
lgazolt hematoxin, 6,0 g/l, nátrium-jodát, 0,6 g/l, és  
alumínium-szulfát, 52,8 g/l stabilizátorokkal.

**SODIUM FLUORIDE SOLUTION, Katalógus száma: 91-9**  
nátrium-fluorid, 20 g/l

### TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:

A Hematoxylin Solution, Gill No. 3 szobahőmérsékleten (18-26 °C), fénytől védve tárolandó. Az egyéb reagensek hűtőszekrényben (2-8 °C) tárolandók.

A TRIZMAL™ 6,3 Concentrate, a TRIZMAL™ 7,6 Concentrate és a Citrate Solution mikrobás növekedés hiányában használatra alkalmasak. Az egyéb reagensek a címkén feltüntetett lejárati időn belül felhasználhatók.

### TÖNKREMENETEL:

Semmisíték meg a TRIZMAL™ Concentrate-t és a Citrate Solution-t ha a mikrobás növekedés nyilvánvaló. Ha a Hematoxylin Solution Gill No. 3 barna (levegő oxidálódott) vagy bíborszínű (elvesztette a savasságát), meg kell semmisíteni.

### ELŐKÉSZÍTÉS:

Használat előtt minden reagenst melegítsenek szobahőmérsékletre (18-26 °C). Az észteráz reagensek használatra készek.

**CITRATE-ACETONE-FORMALDEHYDE FIXATIVE:**  
25 ml Citrate Solution-hoz, Katalógus száma: 91-5, adjanak 65 ml acetont és 8 ml 37 %-os formaldehidet. Helyezzék üveg palackba és szorosan zárják le kupakkal. Hűtőszekrényben (2-8 °C) tárolandó. Használat előtt szobahőmérsékletre (18-26 °C-ra) melegítendő. Maximum 4 hétig stabil, ha szorosan lezárva hűtőszekrényben tárolják.

### ÖVINTÉZKEDÉSEK:

A laboratóriumi reagensekkel történő munka során a szokásos övintézkedéseket be kell tartani. Hulladék-megsemmisítés az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével. A legfrissebb kockázati, veszély vagy biztonsági információkat lásd az Anyagbiztonsági adatlapban.

### US Kockázati és biztonsági mondatok

A Naphthol AS-D Chloroacetate Solution IRRITATÍV. Robbanékony peroxidokat alkothat. Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A Fast Red Violet LB Base Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Lenyelve ártalmas. Belélegezve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Célszerek: Máj és vesék.

TRIZMAL™ 6,3 Concentrate. Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

Az α-Naphthyl Acetate Solution GYŰLÉKONY ÉS MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Szem- és bőrizgató hatású. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező: nagyon súlyos, maradóan egészségkárosodást okozhat. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Fast Blue BB Base Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Lenyelve ártalmas. Belélegezve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Célszerek: Máj és vesék.

A Gill féle 3 hematoxin oldat ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas. Szem- és bőrizgató hatású, izgatja a légutakat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

Az acetone GYŰLÉKONY és IRRITATÍV. Szemizgató hatású. Ismételt expozíció a bőr kiszáradását vagy megrepedezését okozhatja. Gőzök álmosságot vagy szédülést okozhatnak. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Célszerek: Máj és vesék.

2 % Sodium Fluoride Solution. Figyelem: Kerüljék az anyag érintését és belélegzését. Célszerek: Vesék és csontok.

A formaldehid oldat MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Örökítő genetikai károsodást okozhat (mutagén hatású lehet!) Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Jól szellőző helyen tartandó.

### EU Kockázati és biztonsági mondatok

A Naphthol AS-D Chloroacetate Solution IRRITATÍV. Robbanékony peroxidokat alkothat. Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A Fast Red Violet LB Base Solution ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas.

TRIZMAL™ 6,3 Concentrate. Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

Az α-Naphthyl Acetate Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Gyűlékony. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező: nagyon súlyos, maradóan egészségkárosodást okozhat. Szem- és bőrizgató hatású. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha

szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Fast Blue BB Base Solution ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas.

A Gill féle 3 hematoxin oldat ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas. Szem- és bőrizgató hatású, izgatja a légutakat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

Az acetone RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY és IRRITATÍV. Rendkívül gyűlékony. Szemizgató hatású. Ismételt expozíció a bőr kiszáradását vagy megrepedezését okozhatja. Gőzök álmosságot vagy szédülést okozhatnak. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni.

2 % Sodium Fluoride Solution. A keletkező gőzt nem szabad belélegezni. Kerülni kell a bőrrel való érintkezést és a szembejutást.

A formaldehid oldat MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Jól szellőző helyen tartandó.

## ELJÁRÁSOK

### MINTA BEGYŰJTÉSE:

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2 NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmiféle vizsgálati módszer nem ismert, mely teljes bizonyossággal kimutathatja, hogy a vérminták vagy a szövet nem terjeszt fertőzést. Ezért, minden vér származék vagy szövetminta esetlegesen fertőzőnek tekintendő.

Vér, csontvelő hártlyák, szövet jellegű preparátumok és citocentrifuga preparátumok használhatók az α-naftil-acetát-észterázál és a naftol-AS-D-klór-acetát-észterázál. Az antikoaguláns EDTA vagy heparin.<sup>10</sup> Fagyasztott és paraffinba ágyazott szövetek használhatók a naftol-AS-D-klór-acetát-észterázál. Az α-naftil-acetát-észterázál sikeresen használható fagyasztott szövetmintákon esetében.<sup>11</sup> A vér és csontvelő hártlyák szobahőmérsékleten (18-26 °C), fixálva több hétig tárolhatók vagy fixálás nélkül több napig anélkül, hogy az aktivitásukban észrevehető változás következne be.<sup>5,10</sup> Ne szállítsanak teljes vért más laboratóriumba vizsgálatra. Küldjenek fixált vagy nem fixált tárgylemezeket. Szállítás közben a tárgylemezek hűvösön tárolandók. Fixálás előtt hagyják a hártlyákat legalább 1 óráig száradni.

### SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK:

Aceton, ACS reagens  
FORMALDEHYDE, 37 % ACS  
Sodium Fluoride Solution, katalógus száma: 91-9 (az α-Naphthyl Acetate Esterase with Fluoride Inhibition Procedure-hoz szükséges.)

### AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI:

A leírásart 37 °C-on végzik. Ha a reagensek nem ilyen hőmérsékletűek, gyenge vagy negatív reakciókat kaphatnak. Javaslott a hőmérséklet ellenőrzése pontos hőmérővel. Az ellenőrzött hőmérsékletű vízfürdők hatékonyabbak a forró levegős inkubátoroknál, ezért az enzim citokémiai módszereknél ezek használandók. Az üvegen történő hőtávitel gyorsabb, mint a műanyagban át, tehát, üveg Coplin edényt kell használni.

Sok enzimerendszer még a kis nyomokban előforduló mosószerre is érzékeny. Az üvegedényeket mossák híg fehérítőszerben, majd öblítsék bőséges ioncserélt vízben, ezzel megakadályozva, hogy a mosószer hatással legyen a sejtenzimekre.

A "Reagens" részben leírt fixatív rendszer formaldehidet tartalmaz. Ha a fixálószer nem teljesen távolítja el az erőteljes öblítéssel, akkor bármilyen mennyiségű aldehid, koncentrált levegőn szárított tárgylemezekre vagy nyomnyi mennyiségű nedves tárgylemezekről, melyet az inkubációs rendszerhez adnak enzim inhibíciót eredményezhet. A vérhártlyák veszteségének megakadályozásához az öblítési folyamat során, irányításnak vizsgálat tárgylemezekre a hajszálal felett. A tárgylemezek mindkét oldalát öblítsék le.

Az eredmények bizonyos fokú subjektív értelmezésen alapulnak. Az adott laboratóriumoknak meg kell határozniuk a normál tartományokat.

Jelen eljárás során kapott adatok csak segítségként szolgálnak és azokat egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell nézni.

### MEGJEGYZÉSEK:

A Sigma Kits 390-A és 91-C felhasználóinak óvatosan kell eljárniuk, ha TRIZMA® Buffer Concentrates-t, katalógus számok: 91-3 és 90-3C, használnak, mivel ezek nem

felcserélhetők. Nem megfelelő puffer használata negatív reakciót eredményez.

#### ELJÁRÁS:

A leírt eljárást 37 °C-on végzik.

#### NAPHTHOL AS-D CHLOROACETATE ESTERASE

##### ELJÁRÁS:

- Melegítsenek fel előre a szubsztrát használatához elegendő ioncserélt vizet 37 °C-ra. Használat előtt ellenőrizzék a hőmérsékletet.
- Közvetlenül a fixálás előtt adjanak 1 ml Sodium Nitrite Solution-t 1 ml Fast Red Violet LB Base Solution-hoz egy kémcsőben. Óvatosan forgatgatta keverjék össze és hagyják állni 2 percig. A gázbuborékok aktív képződése kerülendő.
- A 2. lépés oldatát adják hozzá 40 ml előmelegített ioncserélt vízhez.
- Adjanak hozzá 5 ml TRIZMAL™ 6,3 Buffer Concentrate-t. (lásd „Megjegyzés”)
- Adjanak hozzá 1 ml Naphthol AS-D Chloroacetate Solution-t. Az oldat vörös lesz. Alaposan keverjék össze és öntsék Coplin edénybe.
- A Citrate-Acetone-Formaldehyde (CAF) Solution legyen szobahőmérsékletű (23-26 °C). Fixálják a tárgylemezeket 30 másodpercre belemérítve a CAF oldatba.
- Öblítsék a tárgylemezeket alaposan 45-60 másodpercig folyó ioncserélt vízben, majd tegyék bele az 5. lépés oldatát. Ne hagyják a tárgylemezeket megszáradni.
- Inkubálják 15 percig 37 °C-on, fénytől védve.
- 15 perc múlva vegyék ki a tárgylemezeket és alaposan öblítsék ioncserélt vízben legalább 2 percig.
- Fessék után 2 percig Hematoxylin Solution-ban, Gill No. 3.
- Öblítsék csapvízben és levegőn szárítsák.
- Értékeljék mikroszkópiusan. Ha fedőlemezekre van szükség, használjanak vizes fedő médiumot.

#### MEGJEGYZÉSEK:

- Columbia edénnyel való használathoz, osszák el a reagens térfogatait 5-tel.
- Ha a szubsztrát zavaros (lásd 5. lépés) melegítsék szobahőmérsékletűre (23-26 °C) és keverjék össze jól.
- Ha tárgylemezek előfixáltak és tárolták azokat, ugorják át a fixálást (6. és 7. lépés) és kezdjék a száraz, előfixált tárgylemezek festését a 8. lépéssel.

#### α-NAPHTHYL ACETATE ESTERASE ELJÁRÁS:

- Melegítsenek fel előre a szubsztrát használatához elegendő ioncserélt vizet 37 °C-ra. Használat előtt ellenőrizzék a hőmérsékletet.
- Közvetlenül a fixálás előtt adjanak 1 ml Sodium Nitrite Solution-t 1 ml Fast Blue BB Base Solution-hoz egy kémcsőben. Óvatosan forgatgatta keverjék össze és hagyják állni legalább 2 percig. A szín megváltozik koszos barnáról mélyszárgára. A gázbuborékok aktív képződése kerülendő.
- A 2. lépés oldatát adják hozzá 40 ml előmelegített ioncserélt vízhez.
- Adjanak hozzá 5 ml TRIZMAL™ 7,6 Buffer Concentrate-t.
- Adjanak hozzá 1 ml α-Naphthyl Acetate Solution-t. Az oldat zöldes lesz. Alaposan keverjék össze és öntsék Coplin edénybe.
- A Citrate-Acetone-Formaldehyde (CAF) Solution legyen szobahőmérsékletű (23-26 °C). Fixálják a tárgylemezeket 30 másodpercre belemérítve a CAF oldatba. Keverjék a tárgylemezeket erőteljesen az utolsó 5 másodpercben.
- Öblítsék a tárgylemezeket alaposan 45-60 másodpercig folyó ioncserélt vízben, majd tegyék bele az 5. lépés oldatát. Ne hagyják a tárgylemezeket megszáradni.
- Inkubálják 30 percig 37 °C-on, fénytől védve.
- 30 perc múlva vegyék ki a tárgylemezeket és alaposan öblítsék le a folyó ioncserélt vízben legalább 2 percig.
- Fessék után 2 percig Hematoxylin Solution-ban, Gill No. 3.
- Öblítsék csapvízben és levegőn szárítsák.
- Értékeljék mikroszkópiusan. Ha fedőlemezekre van szükség, használjanak vizes fedő médiumot.

#### MEGJEGYZÉSEK:

- Columbia edénnyel való használathoz, osszák el a reagens térfogatait 5-tel.
- Ha a szubsztrát zavaros (lásd 5. lépés) melegítsék szobahőmérsékletűre (23-26 °C) és keverjék össze jól.
- Ha tárgylemezek előfixáltak és tárolták azokat, ugorják át a fixálást (6. és 7. lépés) és kezdjék a száraz, előfixált tárgylemezek festését a 8. lépéssel.

#### KETTŐS FESTÉS ÉSZTERÁZ ELJÁRÁS

- Végezzék el az α-naftil-acetát-észteráz vizsgálatot az eljárásban leírt módon. Ne fessék után!
- Öblítsék le a tárgylemezeket ioncserélt vízben 5 percig.
- Végezzék el a Naphthol AS-D Chloroacetate Esterase vizsgálatot az eljárás 1-12. lépésében leírtak szerint. Hagyják ki a 6. lépést.

#### α-NAPHTHYL ACETATE ESTERASE FLUORIDOS INHIBICÓVAL ELJÁRÁS

Habár az α-naftil-acetát-észteráz elsősorban a monocitikus származású sejtekben található, amikor a leírtak szerint végzik el a vizsgálatot, felismerhető, hogy a megakariociták és eritroid prekurzorok pozitívak erre az enzimre.<sup>12</sup> A limfociták és néhány érett granulocita szintén pozitív néha.<sup>5</sup> A sejtek monocitáktól való meggyőző megkülönböztetéséhez, nátrium-fluoridot tesznek az inkubáló rendszerbe. A monocita enzim inaktivált ezen vegyület jelenlétékor.<sup>13</sup> A következő eljárás használható a fluoridos inhibíciós vizsgálat elvégzéséhez.

- Adjanak 2 ml Fast Blue BB Base Solution-hoz 2 ml Sodium Nitrite Solution-t. Keverjék össze óvatosan megfordítgatta. Hagyják állni 2 percig.
- Címkezzenek fel 2 főzőpoharat A-val és B-vel és tegyék bele a következőket:

	A főzőpohár	B főzőpohár
37 °C-ra előmelegített ioncserélt víz	40 ml	40 ml
diázotizált Fast Blue BB az 1. lépésből	2 ml	2 ml
TRIZMAL™ 7,6 Concentrate	5 ml	5 ml
α-Naphthyl Acetate Solution	1 ml	1 ml
Nátrium-fluorid oldat	—	1 ml

- Keverjék össze jól és öntsék Coplin edényekbe, melyek A-val és B-vel jelölnek.
- Járjanak el az α-Naphthyl Acetate Esterase eljárás 6-12. lépései szerint.

### TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

#### ÉRTÉKELÉSI MÓD:

Vizsgálják meg a hártját és válasszanak ki egy vékony területet kevés eritrocitával. A Naphthol AS-D Chloroacetate Esterase aktivitás helyei élénk vörös granulátumként látható, az α-Naphthyl Acetate Esterase pedig fekete granulátumként. Ösztályozzák 0-4+ között a vonatkozó sejt típusok citoplazmáin belüli adott festék mennyisége és intenzitása alapján. A pontozás jellemzői valamelyest szubjektív értelmezésen alapulnak. Egy javasolt pontozási formátum található az 1. táblázatban. A következtetések a festés relatív jelenlétére vagy hiányára összpontosítanak.

I. TÁBLAZAT Pontozás jellemzői		
Sejt osztályozás	Intenzitás festése	értelmezés
0	Semmi	-
1+	halvány-közepes	±
2+	közepes-erős	+
3+	erős	+
4+	élénk	+

#### VÁRT MEGFIGYELÉSEK:NAPHTHOL AS-D CHLOROACETATE ESTERASE

(Fast Red Violet LB) - Ez az enzim általában specifikusnak tekinthető a granulocitikus származású sejtekre. Az aktivitási helyek élénk-vörös granulációt mutatnak. Az aktivitás gyenge vagy hiányzik a monocitákban és a limfocitákban.

#### α-NAPHTHYL ACETATE ESTERASE:

(Fast Blue BB) - Az enzimet elsősorban monocitákban, makrofágokban és hosztocitákban észlelik és virtuálisan hiányoznak a granulocitákban. A monociták fekete granulátumot mutatnak. Néha a limfociták mutathatnak enzim aktivitást.

#### α-NAPHTHYL ACETATE ESTERASE FLUORIDOS INHIBICÓVAL

Minden monocitikus származású sejt negatív enzim aktivitású, kivéve a szövetekben lévő megkülönböztetett hisztiocitákat vagy differenciált makrofágokat, melyek ellenállhatnak a nátrium-fluoridnak.<sup>11</sup>

#### DOUBLE STAINING ESTERASE

A kettős festési eljárás során kereszülmenő minták vörös granulációként mutatják a granulocitákat és feketeként a monocitákat.

MEGJEGYZÉS: A Fast Blue BB Base Solution, katalógus szám: 91-7, helyettesíthető a Fast Red Violet LB Base Solution-nal, katalógus szám: 91-2, ha inkább kék granulációt szeretnének a Naphthol AS-D Chloroacetate Esterase esetén.

#### MINŐSÉGELLENŐRZÉS:

A reagens rendszert pozitív és negatív kontrollok használatával kell figyelni.

A pozitív kontroll lemezek leukémiás mintákból vagy specifikus sejtvonalakból készíthetők, melyek ismert pozitívak. A sejtvonalak az American Type Culture Collection-

ból (ATCC) kaphatók, kibővíve kultúrában, folyékony nitrogénben fagyaszta és tárolva. Megfelelő pozitív kontrollok lehetnek: A-937, humán hisztiocitikus limfómából származó, nem specifikus észterázhoz; HL-60 egy promielocitikus vonal, naftol-AS-D-klor-acetát észterázhoz; és Molt-4, T-sejt leukémiából származó az α-naftil-acetát-észterázhoz. A sejtvonalakra vonatkozó irodalmat nézzék át a megfelelő bánásmód megismeréséhez.

Alternatívaként antikoagulált, normál mintákból (ha α-naftil-acetát-észteráz eljárást használnak elsősorban megnövekedett monocita számúakból) származó vér is használható, azonban kevésbé intenzív festést mutatnak és kevesebb pozitív sejt lesz.

Ismert negatív betegektől származó tárgylemezek használhatók negatív kontrollként. Ha nincs ilyen, akkor a szubsztrát nélküli inkubációs keverékben történő minta festés a kívánt eredményt adja. Azonban az első változat használatát jobban javasolt.

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várttól, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma Aldrich műszaki szolgálatával.

### IRODALOMJEGYZÉK

- 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, Fliegerman 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 Febriger, 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 a Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO bejegyzett védjegye, a TRIZMAL pedig a védjegye.

Sigma-Aldrich, Inc. garantálja, hogy termékei megfelelnek a jelen és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban közölt információkkal. A vevő köteles a termék(ek) megfelelőségét az adott felhasználáshoz meghatározni. További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Lásd a számla vagy csomagolás hátsó oldalát a további eladási kikötések és feltételek tekintetében.

Eljárás száma: 92

Korábbi felülvizsgálás: 2003-02

Felülvizsgálva: 2003-09

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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA

314-771-5765

Műszaki szolgálat: 800-325-0250

vagy hívják 314-771-3122

vagy küldjenek e-mailt a [clintech@sial.com-ra](mailto:clintech@sial.com-ra)

Megrendelés: 800-325-3010

vagy hívják 314-771-5750

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

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

P.O. 1120, 89552 Steinheim, Németország

49-7329-970