

# $\alpha$ -NAPHTHYL ACETATE ESTERASE LEUCOCYTE

Colorazione citochimica su strisci di sangue o di midollo per la diagnosi differenziale delle leucemie

10 x 4 test

REF 3089

## PREMESSA

Il kit è stato realizzato in modo da diminuire i volumi dei reagenti e il contatto tra il laboratorista ed i reagenti tossici, facilitarne lo smaltimento e semplificare l'esecuzione del test

Per il kit sono stati impiegati quei reagenti che in base alle attuali conoscenze risultano essere i meno tossici ed inquinanti.

## PRINCIPIO DELLA REAZIONE

Gli strisci di sangue o di midollo vengono incubati con  $\alpha$ -naftil acetato e pararosanilina. In presenza della  $\alpha$ -naftil acetato esterasi si forma nel citoplasma delle cellule un precipitato di colore rosso.

Questa reazione è positiva a moderata intensità nei monociti, nelle cellule reticolari e nei megacariociti, debolmente positiva nei linfociti e ancor meno negli elementi plasma-cellulari.

La reazione è negativa nelle cellule della linea granulocitica.

La presenza del precipitato colorato è valutata al microscopio ottico.

Il kit viene impiegato per riconoscere le cellule di origine monocitica e quindi differenziare le leucemie granulocitiche da quelle monocitiche.

## REAGENTI E MATERIALI

Contenuto del kit:

\* REAGENT 1 Sodio nitrito (liofilo)

REF 3089

10 flaconi

TOSSICITÀ: sostanza tossica per ingestione.

\* REAGENT 2 Pararosanilina 1,5 g/L

1 x 10 mL

TOSSICITÀ: sostanza nociva per contatto ed ingestione.

Conservare al riparo dalla luce

\* REAGENT 3 Tampone 60 mmol/L

1 x 45 mL

\* REAGENT 4  $\alpha$ -naftil acetato

1 x 2 mL

TOSSICITÀ: sostanza nociva per inalazione.

PIASTRE multi-vaschette (4 vaschette per piastra)

10

COPERCHIO nero per le piastre

1

(\*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.

STABILITÀ: a 2-8°C e ben chiusi si conservano inalterati fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

## REAGENTI NECESSARI NON FORNITI

FISSATIVO:

preparazione della soluzione formaldeide 37% 1 volume

di fissaggio dello striscio: etanolo assoluto 9 volumi

CONTROCOLORAZIONE: soluzione Giemsa.

## STRUMENTI E MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Microscopio ottico 400x o 1000x per la lettura dei vetrini.

Pipette con puntale monouso o pipette Pasteur per il prelievo e la distribuzione dei reagenti.

Termostato a 37°C, utile per ridurre i tempi di incubazione del test.

Timer.

Acqua deionizzata.

## CAMPIONE

Strisci di sangue (preferibilmente capillare) o di midollo.

I campioni di sangue possono essere raccolti con EDTA o eparina.

Gli strisci di sangue o di midollo possono essere conservati a temperatura ambiente (18-26°C), protetti dalla polvere, per alcuni giorni senza che si verifichino apprezzabili cambiamenti di attività.

I vetrini fissati si conservano per molte settimane.

## PROCEDIMENTO

### A) FISSAGGIO DEI VETRINI (vedi osservazioni)

1. Fissare gli strisci seccati all'aria mettendoli a contatto per 1 minuto con il fissativo.

2. Lavare entrambi i lati del vetrino con abbondante acqua deionizzata, scolarlo ed attendere che sia asciutto.

Il fissativo consigliato contiene formaldeide.

Anche una piccola quantità di formaldeide presente sui vetrini può provocare l'inibizione dell'enzima.

### B) PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI LAVORO

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima di utilizzarli.

Svitare il tappo a vite e togliere delicatamente il tappo in gomma ad un flacone di Reagent 1.

1 Aggiungere 1 mL di Reagent 2 al flacone di Reagent 1.

Rimettere il tappo in gomma e agitare per inversione fino a completa solubilizzazione del liofilo. Attendere 2 minuti.

2. Riaprire il flacone di Reagent 1 e aggiungere 4 mL di Reagent 3.

3. Infine aggiungere 0,1 mL di Reagent 4.

Rimettere il tappo in gomma e agitare per inversione.

**STABILITÀ: la soluzione di lavoro va utilizzata subito dopo la preparazione.**

### C) REAZIONE DELLA $\alpha$ -NAFTILACETATO ESTERASI

1. Disporre su un piano le piastre multi-vaschette necessarie.

Ciascuna piastra e ciascun flacone di soluzione di lavoro consentono di eseguire 4 determinazioni.

2. Appoggiare sulla piastra i vetrini con lo striscio rivolto verso il basso, cioè verso il fondo della vaschetta, altrimenti la soluzione di lavoro non andrà a contatto con lo striscio.

3. Far scivolare il vetrino contro uno dei due bordi lunghi della vaschetta. Tra l'altro lato maggiore del vetrino e quello della vaschetta si avrà una lunga fessura nella quale si inietterà la soluzione di lavoro.

4. Prelevare 1 mL di soluzione di lavoro con una pipetta o con una Pasteur. Inserire la punta della pipetta o della Pasteur nella zona centrale della fessura e iniettarvi lentamente la soluzione di lavoro.

La soluzione si distribuirà nella vaschetta entrando a contatto con lo striscio. Meno di 1 mL è sufficiente per riempire la vaschetta.

Procedere allo stesso modo con gli altri vetrini.

5. Porre la piastra in termostato a 37°C e coprirlo con il coperchio per ripararla dalla luce. Se si utilizzano più piastre, disporle una sull'altra prima di coprirle con il coperchio. Incubare per 15 minuti.

In alternativa, non disponendo di un termostato, incubare per 20 minuti a temperatura ambiente (18-26°C).

6. Prelevare i vetrini con una pinzetta o con le dita (indossando guanti monouso) e sciacquarli con acqua corrente.

Per facilitare il prelievo premere leggermente un'estremità del vetrino in modo che si sollevi l'altra estremità.

Le piastre lavate ed asciugate possono essere utilizzate per la conservazione dei vetrini.

### D) CONTROCOLORAZIONE (vedi osservazioni)

1. Controcolorare con la soluzione Giemsa per 10 minuti.

2. Sciacquare con acqua corrente, asciugare e leggere al microscopio. Acquisendo esperienza nelle tecniche di citochimica è possibile valutare i vetrini al microscopio ottico senza controcolorazione.

## RISULTATI

L'attività enzimatica si manifesta con la presenza di granuli di colore rosso nel citoplasma cellulare.

## PATOLOGIA

Per il riconoscimento dei monociti e della differenziazione dei diversi tipi di leucemia acuta.

Risulta positivo nelle reticulosi ed in alcuni linfomi non Hodgkin.

## OSSERVAZIONI

Le piastre possono essere utilizzate anche per il fissaggio e la controcolorazione.

In questo caso disporre i vetrini come descritto nel paragrafo C) ed iniettare nella fessura la soluzione di fissaggio o il colorante invece della soluzione di lavoro. Per i tempi di fissaggio, di controcolorazione e dei relativi lavaggi seguire i procedimenti descritti ai paragrafi A) e D).








## SMALTIMENTO RIFIUTI

Smaltire i liquidi e i materiali usati secondo le normative del paese.

## BIBLIOGRAFIA

Disponibile su richiesta.

## LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni per l'uso

IVD

CE

Ed. 03 - 12.2023 RR

## PRODUTTORE

 FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870 - sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: [order@farddiag.com](mailto:order@farddiag.com) - e-mail: [farddiag@farddiag.com](mailto:farddiag@farddiag.com)