

FINALIDAD

La reacción enzimática que se produce empleando sustrato alfa naftil acetato esterasa(ANAE) es útil para la identificación de células de estirpe monocítica, tanto las más maduras como sus precursores leucemias monolíticas y mielomonocíticas, la actividad enzimática se pone de manifiesto en forma de un precipitado marrón en el citoplasma de diversas células, entre las que destacan los monocitos, las células plasmáticas y los eritroblastos. Aproximadamente un 25 % de las leucemias agudas promielocíticas son positivas para esterases no específicas, sin embargo, los eritroblastos en la leucemia tipo M5 también tienen positividad intensa, que necesita diferenciarse de la que presentan los monocitos.

Agente de diagnóstico para uso *in vitro*. Exclusivo de laboratorio.

FUNDAMENTO

Las esterases leucocitarias hidrolizan un éster derivado del naftaleno que libera un compuesto naftílico que se acopla a una sal diazónica presente en la mezcla, lo que produce un precipitado de color brillante en la zona de actividad enzimática o en sus proximidades.

CONTENIDO

Producto	Cat.	Presentación	
		6	12
Rvo 1 Alfa naftil acetato (ANAE)	64331	6 x 20 mg	12 x 20 mg
Rvo 2 Buffer pH 7.6 de Tris-maleato	64332	60 mL	125 mL
Rvo 3 Pararosanilina 4 %	64333	5 mL	10 mL
Rvo 4 Nitrito de sodio 4 %	64334	5 mL	10 mL
Rvo 5 Verde de metilo 1 %	64335	100 mL	

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

- Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta a temperatura 2-8 °C.
- El reactivo de la esterasa no exponer a la luz y mantenerlo a temperatura de refrigeración.
- Un ligero sedimento en el colorante no interfiere en su funcionalidad, filtrar con papel filtro.

EQUIPO Y MATERIAL REQUERIDO NO INCLUIDO

- Fijador formol- etanol Cat. 7932
- Metanol Cat. 912
- Agua destilada Cat. 7577
- Aceite de inmersión Cat. 64287
- Portaobjetos Cat. 75511

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- El buffer se mezcla con agua destilada, para una cubeta de tinción Hellendahl con volumen aproximado 60 mL, mezclar 6 mL de buffer y 54 mL de agua destilada.
- El reactivo 1, acetato alfa naftil se disuelve en 2 mL de metanol ó acetona, mezclar hasta disolución.
- Los reactivos 3 pararosanilina y 4 nitrito de sodio, se mezclan al momento de usarse.
- El colorante verde de metilo se contiene en un frasco adecuado para sumergir el frotis.

NOTA: seguir con precaución el procedimiento, teniendo especial cuidado en el orden de los reactivos.

MANEJO DE LA MUESTRA

Frotis sanguíneos y médula ósea

- Realizar frotis con su metodología habitual.
- Secar al aire en posición vertical.
- Fijar los frotis con fijador formol-etanol 1 minuto, enjuagar con agua destilada.
- Dejar secar los frotis.

Para tejido: Emplear cortes obtenidos en criostato y tejidos congelados ya que el proceso de deshidratación e inclusión inactivaría las enzimas cuya presencia se quiere demostrar, seguir el mismo procedimiento descrito.

MODO DE EMPLEO:

- Utilizar los frotis previamente fijados y secos
- En la cubeta de tinción, hacer una dilución 6 mL del buffer con 54 mL de agua destilada
- Adicionar el reactivo 1 alfa naftil acetato disuelto, mezclar.
- En un tubo mezclar 5 gotas de reactivo 3 pararosanilina y 5 gotas de reactivo 4 nitrito de sodio dejar reaccionar 1 minuto y enseguida vaciarlo a la cubeta de tinción, mezclar perfectamente.
- Sumergir el frotis en esta mezcla, desde los 30 minutos se observa actividad de la enzima, los frotis toman una tonalidad ocre-marrón, si no percibe el cambio de color dejar reaccionar hasta 1 hora.
- Enjuagar con agua destilada, absorber la mayor cantidad de agua del frotis antes de introducir al colorante de contra-tinción.
- Contra-teñir con verde metilo, sumerja la placa en el frasco durante 5 minutos.
- Enjuague con agua destilada,
- Dejar secar las placas.
- Observe al microscopio con objetivo de 100 X, en muestras de tejido montar usando un medio acuoso.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Este método de tinción evaluado ha dado resultados satisfactorios, cada laboratorio debe realizar ajustes en el método de acuerdo a su preferencia.

CÉLULAS	COLOR
Citoplasma de linfocitos T, monocitos e histocitos	Rojo-Marrón

BIBLIOGRAFIA

- Métodos Histotecnológicos, Edna B. Prophet, Bob Mills Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los EUA
- The sigma-aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators, 2nd Ed. 1991 Floyd J. Green..
- H.J. Conn's Biological Stains R.D. Lillie.

FABRICADO Y ACONDICIONADO POR: HYCEL DE MÉXICO, S.A. DE C.V.

www.hycel.com.mx

VENTAS, ASESORIA Y ALMACEN

Calle Ferrocarril de Acámbaro # 3

Zona Industrial Alce Blanco

53370 Naucalpan de Juárez Edo de México Tel: (55) 5208 0026 con 6 líneas

PLANTA VENTAS Y ASESORIA

Zoquiapan 154, Col. Atemajac del Valle

45190 Zapopan Jal., Tel. (33) 38531722 con 6 líneas

Pag. 1 de 1

Versión: 3 Clave: 020315 VR/BG

Fecha de aprobación: 25-Mar-25

Aprobado por: Responsable Sanitario