

Sigma-Aldrich®

Instructions for Use

Periodic Acid-Schiff (PAS) Staining System

Procedure No. 395



MERCK

Intended Use

The PAS staining system offers standard and microwave procedures for the histochemical demonstration of lymphocytes and mucopolysaccharides. The PAS reaction in tissue sections is useful for the demonstration of mucopolysaccharides. The Diastase (α -amylase) digestion procedure, followed by the PAS stain is useful as an aid in the diagnosis of glycogen storage diseases. Periodic Acid Schiff (PAS) reagents are for "In Vitro Diagnostic Use". For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure identifies lymphocytes and mucopolysaccharides in blood or bone marrow films as well as Formalin-Fixed Paraffin Embedded tissue from human specimens. This data when reviewed in conjunction with other diagnostic tests and information may be used as an aid to diagnosis of fungal infections and glycogen storage diseases. Histological visualization of lymphocytes and mucopolysaccharides is a unique technique currently commonly used in medicine.

When treated with periodic acid, glycols are oxidized to aldehydes. After reaction with Schiff's reagent, the released fuchsin stains the cellular components containing the oxidizable compounds.³ This reaction can be performed on blood or bone marrow films, tissue touch preparations or tissue sections.^{1,2}

Diastase (α -amylase) digestion may be employed as an aid in the diagnosis of glycogen storage disease. Diastase hydrolyzes starch, glycogen and degradation products originating in these polysaccharides present in tissue. The resultant by-products of the digestion process are rinsed away prior to PAS staining.⁴

A technique for rapid PAS staining using microwave ovens is included.⁵⁻⁷

Reagents

Periodic Acid Solution (Cat. No. 3951-100ML and 395132-1L)

Periodic acid, 1 g/dL

Schiff's Reagent (Cat. No. 3952-50ML and 3952016-500ML)

Pararosaniline HCl, 1%, and sodium metabisulfite, 4%, in hydrochloric acid, 0.25 mol/L. Danger. Causes severe skin burns and eye damage. May cause cancer.

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (Cat. No. GHS3-100ML)

Certified hematoxylin, 6 g/L, C.I. 75290 sodium iodate, 0.6 g/L, aluminum sulfate, 52.8 g/L and stabilizer

Special Materials Required but Not Provided

- Formaldehyde solution, 37%
- Reagent Alcohol
- Positive PAS control slides, such as PAS TISSUE-TROL™ (Cat. No. TTR009-25EA) should be included in each run
- Xylene or xylene substitute

Microwave Procedures Only

- Microwave Oven
- Coplin jar with vented lids
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (Cat. No. S5134-6x100ML)
- α -Amylase (for Diastase Extraction Procedure only) (Cat. No. A3176)

Storage and Stability

Store Periodic Acid Solution, and Schiff's Reagent in refrigerator (2–8°C). Store Hematoxylin Solution, Gill No. 3 at room temperature (18–26°C). Reagents are stable until expiration date shown on labels. Formation of a precipitate in Schiff's Reagent does not affect performance.

Deterioration

Discard Hematoxylin Solution, Gill No. 3, if solution turns brown (over oxidized from air) or purple (loss of acidity) or when time required for suitable staining exceeds the time recommended in the procedure by more than 5 minutes.

Preparation

Periodic Acid Solution, Schiff's Reagent and Hematoxylin Solution, Gill No. 3 are supplied ready to use. Warm reagents to room temperature (18–26°C) before use.

Filter Schiff's Reagent if precipitate is present. NOTE: A slight pink coloration due to leaching of color from slides does not interfere with test.

Scott's Tap Water Substitute working solution is prepared by diluting 1 part of Scott's Tap Water Substitute Concentrate with 9 parts deionized water.

Formalin-Ethanol Fixative Solution is prepared by mixing 5 mL of formaldehyde with 45 mL of 95% ethanol (Reagent Alcohol). Prepare fresh daily and keep tightly capped.

Precautions

The IVDs included in this kit are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

PAS TISSUE-TROL™ control slides are paraffin embedded human tissue containing PAS and should be considered potentially infectious.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Freshly prepared whole, EDTA or heparinized blood or bone marrow films are used. Fix as soon as possible.³

For polysaccharides, tissue fixed in 10% neutral buffered formalin, Zenker's or Bouin's may be used.¹ It should be noted that some carbohydrates are water soluble.² For the demonstration of glycogen, Carnoy's fluid, Gendre's fluid or acid alcoholic formalin are recommended.¹ Time required for diastase extraction may be prolonged when tissue is fixed in a picric acid containing fixative.¹ Cut tissue sections at 5 microns.

Notes

If a microwave oven is used, please see the Owner's Manual for instructions.

Blood films prepared from clinically healthy individuals may be included for control purposes. Polymorphonuclear leukocytes will show an intense red cytoplasmic stain. Tissue sections known to be PAS positive and/or contain glycogen should be included each time a stain sequence is performed.

Procedure

Blood, Bone Marrow, or Tissue Touch Preparations

Standard Procedure

- Fix air dried films for **1 minute** at **room temperature** in Formalin-Ethanol Fixative Solution.
- Rinse slides **1 minute** in slowly running tap water.
- Immerse slides in Periodic Acid Solution for **5 minutes** at **room temperature**.
- Rinse slides in several changes of distilled water.
- Immerse slides in Schiff's Reagent for **15 minutes** at room temperature.
NOTE: Immediately after use, cap Schiff's Reagent and return to refrigerator (2–8°C).
- Wash slides in running tap water for **5 minutes**.
- Counterstain slides in Hematoxylin Solution, Gill No. 3, for **90 seconds**.
- Rinse slides in running tap water for **15–30 seconds**, air dry and examine microscopically under oil immersion (900x) lens. Slides may be mounted in toluene or xylene based mounting media.

Microwave Procedure

- Fix air dried films at **room temperature** for **1 minute** in Formalin-Ethanol Fixative Solution.
- Rinse slides for **1 minute** in slowly running tap water.
- Place slides in **40 mL** of Periodic Acid Solution contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave on **800 watts** for **10 seconds**.
- Rinse well in several changes of deionized water.
- Place slides in **40 mL** Schiff's Reagent contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave at **800 watts** for **15 seconds**. Mix solution with a beral pipet or applicator stick and let incubate for **1 minute**.
- Rinse in warm, gently running tap water for **5 minutes**.
- Place slides in **40 mL** of Hematoxylin Solution Gill No. 3 contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave on **800 watts** for **10 seconds**.
- Rinse in running tap water for **1–2 minutes**, then blue in Scott's Tap Water Substitute working solution at **room temperature**.
- Rinse in running tap water. Air dry.
- Slides may be mounted in toluene or xylene based mounting media.

Tissue Sections

Standard Procedure

- Deparaffinize and hydrate sections to deionized water.
- Immerse slides in Periodic Acid Solution for **5 minutes** at **room temperature** (18–26°C).
- Rinse slide in several changes of distilled water.
- Immerse slides in Schiff's Reagent for **15 minutes** at **room temperature** (18–26°C).
- Wash slides in running tap water for **5 minutes**.
- Counterstain slides in Hematoxylin Solution, Gill No. 3, for **90 seconds**.
- Rinse slides in running tap water.
- Dehydrate, clear and mount sections in toluene or xylene based mounting media.

Microwave Procedure

- Deparaffinize and hydrate to deionized water.
- Place slides in **40 mL** of Periodic Acid Solution contained in a plastic Coplin jar. Loosely cover jar with lid, or use lids with holes drilled into them.
- Microwave at **800 watts** for **10 seconds**.
- Rinse well in several changes of deionized water.
- Place slides in **40 mL** Schiff's Reagent contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave at **800 watts** for **15 seconds**. Mix solution with a beral pipet or applicator stick and let incubate for **1 minute**.
- Rinse in warm, gently running tap water for **5 minutes**.
- Place slides in Hematoxylin Solution, Gill No. 3, contained in a plastic Coplin jar.
- Microwave on **800 watts** for **10 seconds**.
- Rinse in running tap water for **1–2 minutes**, then blue in Scott's Tap Water Substitute working solution at **room temperature**. Rinse in running tap water. Dehydrate, clear and mount.

Microwave Procedure for Diastase (α -Amylase) Digestion

- Use duplicate test slides. Label one for digestion with diastase and one for PAS staining only. NOTE: Slides coated with a tissue adhesive are recommended. Do not collodionize sections when doing diastase digestion.¹
- Deparaffinize and hydrate slides to deionized water.
- Prepare Diastase (α -amylase) Working Solution by dissolving 0.2 g α -Amylase, (Cat. No. A3176), to 40 mL of deionized water. Mix well and place in plastic Coplin jar. Prepare just prior to use.
- Microwave at **600 watts** for **25 seconds**.
- Remove slides from Coplin jar and rinse digested slide in running tap water for **5 minutes**.
- Using both the digested and the undigested slides, proceed with the Microwave Procedure for Tissue, step 2.

Performance Characteristics

PAS positive substances stain pink to red and nuclei are blue. A Diastase (α-Amylase) Extraction slide will have no visible PAS staining of glycogen when compared to the undigested glycogen positive control slide.

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
3951	Periodic Acid Solution	Monocytes	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Granulocytes	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Glycogen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Basement Membrane	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3952	Schiff's Reagent	Monocytes	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Granulocytes	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Glycogen	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		Basement Membrane	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
GHS3-50ML	Hematoxylin Solution, Gill No. 3	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

395B:



- H290: May be corrosive to metals.
- H302: Harmful if swallowed.
- H314: Causes severe skin burns and eye damage.
- H350: May cause cancer.
- H373: May cause damage to organs (Kidney) through prolonged or repeated exposure if swallowed.
- H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.
- P273: Avoid release to the environment.
- P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P301 + P312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell.
- P303 + P361 + P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P310: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer
	Indicates the Authorised Representative in Switzerland		

References

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980

2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985

3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977

4. Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966

5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986

6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983

7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Contact Information

To place an order, please visit our web site at [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revision History

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Moved aid to diagnosis statement to intended use. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Added Warnings and Hazards.
Rev. 7.0	2024
	Updated naming conventions. Revised Inteded Use statement. Added CH-REP and importer information



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Gebrauchsanweisung

PAS-Reaktion (Periodic Acid-Schiff) Färbesystem

Verfahren Nr. 395



Verwendungszweck

Das PAS-Färbesystem bietet Standard- und Mikrowellenverfahren für den histochemischen Nachweis von Lymphozyten und Mukopolysacchariden. Die PAS-Reaktion in Gewebeschnitten ist für den Nachweis von Mukopolysacchariden geeignet. Das Diastase-Aufschlussverfahren (α -Amylase) mit anschließender PAS-Färbung ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von Glykogenspeicherkrankheiten geeignet. Die Reagenzien für die PAS-Reaktion (Periodic Acid-Schiff) sind für die „*In-vitro*-Diagnostik“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die Daten, die mit diesem manuellen, qualitativen Verfahren erzielt werden, identifizieren Lymphozyten und Mukopolysaccharide in Blut- oder Knochenmarksausstrichen sowie in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe aus menschlichen Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose von Pilzinfektionen und Glykogenspeicherkrankheiten verwendet werden. Die histologische Visualisierung von Lymphozyten und Mukopolysacchariden ist eine einzigartige Technik, die derzeit in der Medizin häufig eingesetzt wird.

Bei Behandlung mit Periodsäure werden Glykole zu Aldehyden oxidiert. Nach der PAS-Reaktion färbt das freigesetzte Fuchsin die zellulären Komponenten, die die oxidierbaren Verbindungen enthalten.³ Diese Reaktion kann auf Blut- oder Knochenmarksausstrichen, Gewebetupfpräparaten oder Gewebeschnitten durchgeführt werden.^{1,2}

Der Aufschluss durch Diastase (α -Amylase) kann als Hilfsmittel bei der Diagnose von Glykogenspeicherkrankheiten eingesetzt werden. Diastase hydrolysiert Stärke, Glykogen und Abbauprodukte, die aus diesen im Gewebe vorhandenen Polysacchariden stammen. Die resultierenden Nebenprodukte dieses Aufschlussverfahrens werden vor der PAS-Färbung abgespült.⁴

Ein Verfahren zur schnellen PAS-Färbung im Mikrowellenofen ist enthalten.⁵⁻⁷

Reagenzien

Periodsäurelösung (Art.-Nr. 3951-100ML und 395132-1L)

Periodsäure, 1 g/dl

PAS-Reagenz (Art.-Nr. 3952-50ML und 3952016-500ML)

Pararosanilin-HCl, 1 % und Natriumdisulfid, 4 %, in Salzsäure, 0,25 mol/l. Gefahr. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. Kann Krebs verursachen.

Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 (Art.-Nr. GHS3-100ML)

Zertifiziertes Hämatoxylin, 6,0 g/l, C.I. 75290 Natriumiodat 0,6 g/l, Aluminiumsulfat 52,8 g/l und Stabilisator.

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Formaldehydlösung, 37 %
- Reagenzalkohol
- Objektträger zur PAS-Positivkontrolle, z. B. PAS-TISSUE-TROL™ (Art.-Nr. TTR009-25EA) müssen bei jedem Verfahren eingesetzt werden
- Xylol oder Xylolersatz

Nur für das Mikrowellenverfahren

- Mikrowellenofen
- Coplin-Trog mit belüftetem Deckel
- Leitungswassersersatz-Konzentrat nach Scott (Art.-Nr. S5134-6x100ML)
- α -Amylase (nur für das Diastase-Extraktionsverfahren) (Art.-Nr. A3176)

Lagerung und Stabilität

Periodsäurelösung und PAS-Reagenz im Kühlschrank (2 bis 8 °C) lagern. Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 bei Raumtemperatur (18 bis 26 °C) lagern. Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Bildung eines Präzipitats im PAS-Reagenz hat keinen Einfluss auf die Leistung.

Zerfall

Die Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 entsorgen, wenn sich die Lösung braun (Überoxidation durch Luft) oder violett (Säureverlust) färbt oder wenn die für eine geeignete Färbung benötigte Zeit die im Verfahren empfohlene Zeit um über 5 Minuten überschreitet.

Vorbereitung

Periodsäurelösung, PAS-Reagenz und Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 werden gebrauchsfertig geliefert. Alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur (18 bis 26 °C) erwärmen.

Das PAS-Reagenz filtern, wenn ein Präzipitat vorhanden ist. HINWEIS: Eine leichte Rosafärbung durch Auslaugen der Farbe auf den Objektträgern beeinträchtigt den Test nicht.

Die Leitungswassersersatz-Gebrauchslösung nach Scott wird durch Verdünnen von 1 Volumen Leitungswassersersatz-Konzentrat nach Scott mit 9 Volumina deionisiertem Wasser hergestellt.

Die Formaldehyd-Ethanol-Fixierlösung wird durch Mischen von 5 ml Formaldehyd mit 45 ml 95%igem Ethanol (Reagenzalkohol) hergestellt. Täglich frisch herstellen und fest verschlossen halten.

Vorsichtsmaßnahmen

Die in diesem Kit enthaltenen IVDs sind für die *In-vitro*-Diagnostik in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Labormaterialien bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

PAS-TISSUE-TROL™-Kontroll-Objektträger sind in Paraffin eingebettetes menschliches Gewebe, das PAS enthält und als potenziell infektiös betrachtet werden sollte.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Verwendet werden frisch zubereitetes oder heparinisiertes Vollblut oder Knochenmarksausstriche. So bald wie möglich fixieren.³

Für Polysaccharide kann Gewebe verwendet werden, das in 10%igem neutral gepuffertem Formalin, Zenker- oder Bouin- Lösung fixiert wurde.¹ Es muss beachtet werden, dass einige Kohlenhydrate wasserlöslich sind.² Für den Nachweis von Glykogen werden Carnoy-Lösung, Gendre-Lösung oder saures alkoholisches Formalin empfohlen.¹ Die für die Diastase-Extraktion erforderliche Zeit kann länger ausfallen, wenn das Gewebe in Pikrinsäure mit Fixiermittel fixiert wird.¹ Gewebeschnitte mit 5 Mikron anfertigen.

Anmerkungen

Zur Verwendung des Mikrowellenofens sind Anweisungen im Benutzerhandbuch zu finden.

Von klinisch gesunden Personen stammende Blutaussstriche können zu Kontrollzwecken einbezogen werden. Polymorphkernige Leukozyten zeigen eine intensiv rote zytoplasmatische Färbung. Gewebeschnitte, die bekanntermaßen PAS-positiv sind und/oder Glykogen enthalten, sollten bei jeder Durchführung einer Färbesequenz aufgenommen werden.

Verfahren

Blut-, Knochenmark- oder Gewebetupf-Präparate

Standardverfahren

- An der Luft getrocknete Ausstriche **1 Minute** bei **Raumtemperatur** in Formalin-Ethanol-Fixierlösung fixieren.
- Die Objektträger **1 Minute** unter langsam fließendem Leitungswasser abspülen.
- Die Objektträger **5 Minuten** bei **Raumtemperatur** in Periodsäurelösung eintauchen.
- Die Objektträger in mehreren Spülgängen mit destilliertem Wasser spülen.
- Die Objektträger **15 Minuten** bei Raumtemperatur in PAS-Reagenz eintauchen. HINWEIS: Das PAS-Reagenz sofort nach der Verwendung verschließen und wieder in den Kühlschrank (2 bis 8 °C) stellen.
- Objektträger unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** waschen.
- Für **90 Sekunden** in Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 gegenfärben.
- Die Objektträger **15 bis 30 Sekunden** unter fließendem Leitungswasser abspülen, dann an der Luft trocknen lassen und unter dem Ölimmersionsobjektiv (900x) mikroskopisch untersuchen. Die Objektträger können in Einbettungsmitteln auf Toluol- oder Xylol-Basis eingebettet werden.

Mikrowellenverfahren

- Luftgetrocknete Ausstriche bei **Raumtemperatur 1 Minute** in Formalin-Ethanol-Fixierlösung fixieren.
- Die Objektträger **1 Minute** unter langsam fließendem Leitungswasser abspülen.
- Die Objektträger in **40 ml** Periodsäurelösung in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- In mehreren Spülgängen mit deionisiertem Wasser gründlich abspülen.
- Die Objektträger in **40 ml** PAS-Reagenz in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen mischen und **1 Minute** inkubieren lassen.
- 5 Minuten** unter warmem, leicht fließendem Leitungswasser abspülen.
- Die Objektträger in **40 ml** Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- Unter fließendem Leitungswasser **1–2 Minuten** spülen und dann mit der Leitungswassersersatz-Gebrauchslösung nach Scott bei **Raumtemperatur** bläuen.
- Unter fließendem Leitungswasser abspülen. An der Luft trocknen.
- Die Objektträger können in Einbettungsmitteln auf Toluol- oder Xylol-Basis eingebettet werden.

Gewebeschnitte

Standardverfahren

- Die Schnitte in deionisiertem Wasser entparaffinieren und rehydrieren.
- Die Objektträger **5 Minuten** bei **Raumtemperatur** (18 bis 26 °C) in Periodsäurelösung eintauchen.
- Die Objektträger in mehreren Spülgängen mit destilliertem Wasser spülen.
- Die Objektträger **15 Minuten** bei **Raumtemperatur** (18 bis 26 °C) in PAS-Reagenz eintauchen.
- Objektträger unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** waschen.
- Für **90 Sekunden** in Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 gegenfärben.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser abspülen.
- Die Schnitte in Einbettungsmitteln auf Toluol- oder Xylol-Basis dehydrieren, klären und einbetten.

Mikrowellenverfahren

- Entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
- Die Objektträger in **40 ml** Periodsäurelösung in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben. Den Färbetrog lose mit dem Deckel abdecken, oder vorherverförmte Deckel verwenden.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- In mehreren Spülgängen mit deionisiertem Wasser gründlich abspülen.
- Die Objektträger in **40 ml** PAS-Reagenz in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen mischen und **1 Minute** inkubieren lassen.
- 5 Minuten** unter warmem, leicht fließendem Leitungswasser abspülen.

- 8. Die Objektträger in Hämatoxylin-Lösung nach Gill Nr. 3 in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
- 9. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- 10. Unter fließendem Leitungswasser **1–2 Minuten** spülen und dann mit der Leitungswassersersatz-Gebrauchslösung nach Scott bei **Raumtemperatur** bläuen. Unter fließendem Leitungswasser abspülen. Dehydrieren, klären und einbetten.

Mikrowellenverfahren für Diastase(α-Amylase)-Aufschluss

- 1. Doppelte Test-Objektträger verwenden. Einen für den Aufschluss mit Diastase und einen für die PAS-Färbung etikettieren. HINWEIS: Es werden mit Gewebekleber beschichtete Objektträger empfohlen. Die Schnitte bei dem Diastase-Aufschluss nicht mit Celloidin versehen.¹
- 2. Die Objektträger in deionisiertem Wasser entparaffinieren und rehydrieren.
- 3. Diastase(α-Amylase)-Gebrauchslösung durch Auflösen von 0,2 g α-Amylase (Art.-Nr. A3176) in 40 ml deionisiertes Wasser geben. Gut mischen und in einen Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben. Erst unmittelbar vor dem Gebrauch zubereiten.
- 4. In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **25 Sekunden** erhitzen.
- 5. Die Objektträger aus dem Coplin-Färbetrog nehmen, und den aufgeschlossenen Objektträger **5 Minuten** unter fließendem Leitungswasser abspülen.
- 6. Mit dem aufgeschlossenen und dem nicht aufgeschlossenen Objektträger mit Schritt 2 des Mikrowellenverfahrens für Gewebe fortfahren.

Leistungsmerkmale

PAS-positive Substanzen färben sich rosa bis rot und die Zellkerne sind blau. Ein Diastase(α-Amylase)-Extraktions-Objektträger zeigt im Vergleich zu einem nicht aufgeschlossenen Glykogenobjektträger für die Positivkontrolle keine sichtbare PAS-Färbung von Glykogen.

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Art.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
3951	Periodsäure-lösung	Monozyten	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Granulozyten	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Glycogen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Basalmembran	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3952	PAS-Reagenz	Monozyten	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Granulozyten	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Glycogen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		Basalmembran	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
GHS3-50ML	Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

395B:



- H290: Kann ätzend auf Metalle wirken.
- H302: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
- H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H350: Kann Krebs verursachen.
- H373: Kann bei Verschlucken bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe (Niere) schädigen.
- H412: Schädlich für Wasserorganismen mit lang anhaltenden Auswirkungen.
- P273: Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
- P301 + P312: BEI VERSCHLUCKEN: Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE/einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.
- P303 + P361 + P353: BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder mit dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P305 + P351 + P338: WENN IM AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Kontaktlinsen entfernen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter spülen.

Wenn während der Verwendung dieses Produkts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Anweisungen für den Gebrauch beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
	Bezeichnet den Bevollmächtigten in der Schweiz.		

Referenzen

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2. Auflage. CV Mosby, St. Louis, (MO), S. 52ff, 164–167, 1980
- 2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4. Auflage Butterworths, S. 216–220, 1985
- 3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. In Hematology, 2. Auflage WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, S. 1630–1632, 1977
- 4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), S. 520–539, 1966
- 5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorie

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Die Aussage über die Hilfe bei der Diagnose wurde in den Verwendungszweck verschoben. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Material Sicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Warnungen und Gefahren hinzugefügt.	
Rev. 7.0	2024
Die Namenskonventionen wurden aktualisiert. Erklärung zum Verwendungszweck überarbeitet. Vertreter in der Schweiz und Informationen des Importeurs hinzugefügt	

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Die Initiale M, TISSUE-TROL und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland, oder ihrer Tochtergesellschaften. Alle anderen Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen über Marken sind über öffentlich zugängliche Quellen erhältlich.

Sigma-Aldrich®

Instructions d'utilisation

Système de coloration à l'acide périodique de Schiff (P.A.S.)

Procédure n° 395



Utilisation prévue

Le système de coloration à l'acide périodique de Schiff (P.A.S.) est utilisé en histologie pour mettre en évidence les lymphocytes et les mucopolysaccharides grâce à des procédures standards ou au micro-ondes. La réaction P.A.S. mise en œuvre dans des coupes de tissus permet de démontrer la présence de mucopolysaccharides. La procédure de digestion par la diastase (α -amylase), suivie de la coloration P.A.S., est une aide utile au diagnostic des troubles du stockage du glycogène. Les réactifs P.A.S. sont destinés à un "usage en diagnostic *in vitro*". Réservé à un usage professionnel. La présente procédure qualitative et manuelle fournit des données permettant l'identification des lymphocytes et des mucopolysaccharides sur des frottis sanguins ou médullaires ainsi que dans des tissus fixés au formol et inclus en paraffine provenant d'échantillons humains. Lorsque ces données sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques ou d'autres informations, elles peuvent constituer une aide au diagnostic des infections fongiques et des troubles du stockage du glycogène. La visualisation histologique des lymphocytes et des mucopolysaccharides est une technique spécifique couramment utilisée en médecine.

Le traitement avec de l'acide périodique entraîne l'oxydation des glycols en aldéhydes. Le réactif de Schiff réagit avec ces derniers en libérant de la fuchsine qui colore ainsi les composants cellulaires contenant les composés oxydables³. Cette réaction peut être réalisée sur des frottis sanguins ou médullaires, des empreintes tissulaires ou des coupes de tissus^{1,2}.

La digestion par la diastase (α -amylase) peut être utilisée comme aide au diagnostic d'un trouble du stockage du glycogène. La diastase hydrolyse l'amidon, le glycogène et les produits de dégradation issus de ces polysaccharides présents dans les tissus. Les sous-produits résultant du processus de digestion sont rincés avant la coloration P.A.S.⁴.

Une technique rapide de coloration P.A.S. utilisant un four à micro-ondes est incluse⁵⁻⁷.

Réactifs

Solution d'acide périodique (réf. 3951-100ML et 395132-1L)

Acide périodique, 1 g/dl

Réactif de Schiff (réf. 3952-50ML et 3952016-500ML)

Chlorhydrate de pararosaniline 1 % et métabisulfite de sodium 4 %, dans de l'acide chlorhydrique à 0,25 mol/l. Danger. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer le cancer.

Solution d'hématoxyline de Gill n° 3 (réf. GHS3-100ML)

Hématoxyline certifiée, 6 g/l, C.I. 75290, iodate de sodium, 0,6 g/l, sulfate d'aluminium, 52,8 g/l et stabilisateur.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Solution de formaldéhyde, 37 %
- Alcool de qualité réactif
- Lames de contrôle positives à la coloration P.A.S., comme les lames PAS TISSUE-TROL™ (réf. TTR009-25EA), qui doivent être incluses dans chaque série
- Xylène ou substitut du xylène

Pour les procédures au micro-ondes uniquement

- Four à micro-ondes
- Cuves à coloration de Coplin avec couvercles pourvus d'orifices
- Concentré de substitut à l'eau courante de Scott (réf. S5134-6x100ML)
- α -Amylase (uniquement pour la procédure d'extraction par la diastase) (réf. A3176)

Conservation et stabilité

Conserver la solution d'acide périodique et le réactif de Schiff au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Conserver la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Les réactifs sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur les étiquettes. La formation d'un précipité dans le réactif de Schiff n'a aucune conséquence sur ses performances.

Détérioration

Jeter la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 si la solution devient marron (trop oxydée par l'air) ou violette (perte d'acidité) ou si le temps nécessaire pour obtenir une coloration appropriée dépasse de plus de 5 minutes le temps recommandé dans la procédure.

Préparation

La solution d'acide périodique, le réactif de Schiff et la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 sont fournis prêts à l'emploi. Équilibrer les réactifs à température ambiante (entre 18 et 26 °C) avant de les utiliser.

Filtrer le réactif de Schiff en cas de présence d'un précipité. REMARQUE : une légère coloration rose due à la décoloration des lames n'interfère pas avec le test.

La solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott est préparée en diluant 1 volume de concentré de substitut à l'eau courante de Scott avec 9 volumes d'eau désionisée.

La solution de fixation formol-éthanol est préparée en mélangeant 5 ml de formaldéhyde avec 45 ml d'éthanol à 95 % (alcool de qualité réactif). Préparer une nouvelle solution tous les jours et la conserver dans un récipient fermé.

Précautions

Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* inclus dans ce kit sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Les lames de contrôle PAS TISSUE-TROL™ sont constituées de coupes de tissus humains inclus en paraffine contenant de l'acide périodique de Schiff (P.A.S.) et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissu ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissu doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Il convient d'utiliser des frottis médullaires fraîchement préparés ou bien des frottis sanguins fraîchement préparés à partir de sang total ou de sang anticoagulé à l'EDTA ou à l'héparine. Procéder à la fixation dès que possible³.

Pour les polysaccharides, il est possible d'utiliser des coupes de tissus fixés dans du formol neutre tamponné à 10 %, du liquide de Zenker ou du liquide de Bouin¹. Il convient de noter que certains glucides sont hydrosolubles². Pour la détermination du glycogène, il est recommandé d'utiliser du liquide de Carnoy, du liquide de Gendre ou de l'alcool-formol-acide acétique⁴. Le temps nécessaire à l'extraction par la diastase peut être plus long lorsque le tissu est fixé avec un fixateur contenant de l'acide picrique¹. Réaliser des coupes de tissus de 5 microns d'épaisseur.

Remarques

En cas d'utilisation d'un four à micro-ondes, consulter le mode d'emploi du fabricant.

Des frottis sanguins préparés à partir d'individus sains d'un point de vue clinique peuvent être inclus comme témoins. Les leucocytes polymorphonucléaires auront une coloration cytoplasmique rouge intense. Des coupes de tissus connues pour être positives à la coloration P.A.S. et/ou contenant du glycogène doivent être incluses pour toute procédure de coloration.

Procédure

Sang, moelle osseuse ou empreintes tissulaires

Procédure standard

1. Fixer les frottis séchés à l'air libre pendant **1 minute à température ambiante** dans la solution de fixation formol-éthanol.
2. Rincer les lames pendant **1 minute** sous un petit filet d'eau de ville.
3. Plonger les lames dans la solution d'acide périodique pendant **5 minutes à température ambiante**.
4. Rincer les lames dans plusieurs bains d'eau distillée.
5. Plonger les lames dans le réactif de Schiff pendant **15 minutes** à température ambiante. REMARQUE : immédiatement après utilisation, reboucher le réactif de Schiff et le remettre au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C).
6. Laver les lames sous l'eau de ville pendant **5 minutes**.
7. Contre-colorer les lames dans la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 pendant **90 secondes**.
8. Rincer les lames sous l'eau de ville pendant **15 à 30 secondes**, les laisser sécher à l'air libre, puis les examiner au microscope avec un objectif à immersion dans l'huile (900x). Les lames peuvent être montées avec un milieu de montage à base de toluène ou de xylène.

Procédure au micro-ondes

1. Fixer les frottis séchés à l'air libre à **température ambiante** pendant **1 minute** dans la solution de fixation formol-éthanol.
2. Rincer les lames pendant **1 minute** sous un petit filet d'eau de ville.
3. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'acide périodique.
4. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **10 secondes**.
5. Bien rincer dans plusieurs bains d'eau désionisée.
6. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de réactif de Schiff.
7. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **15 secondes**. Mélanger la solution à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet et laisser incuber pendant **1 minute**.
8. Rincer sous un petit filet d'eau chaude pendant **5 minutes**.
9. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'hématoxyline de Gill n° 3.
10. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **10 secondes**.
11. Rincer sous l'eau de ville pendant **1 à 2 minutes**, puis faire bleuir dans la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**.
12. Rincer sous l'eau de ville. Les laisser sécher à l'air libre.
13. Les lames peuvent être montées avec un milieu de montage à base de toluène ou de xylène.

Coupes de tissus

Procédure standard

1. Déparaffiner et réhydrater les coupes dans de l'eau désionisée.
2. Plonger les lames dans la solution d'acide périodique pendant **5 minutes à température ambiante** (18 à 26 °C).
3. Rincer les lames dans plusieurs bains d'eau distillée.
4. Plonger les lames dans le réactif de Schiff pendant **15 minutes à température ambiante** (18 à 26 °C).
5. Laver les lames sous l'eau de ville pendant **5 minutes**.
6. Contre-colorer les lames dans la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 pendant **90 secondes**.
7. Rincer les lames sous l'eau de ville.
8. Déshydrater, éclaircir et monter les coupes avec un milieu de montage à base de toluène ou de xylène.

Procédure au micro-ondes

1. Déparaffiner et réhydrater dans de l'eau désionisée.
2. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'acide périodique. Couvrir la cuve avec un couvercle sans le fermer hermétiquement ou bien utiliser un couvercle pourvu d'orifices.
3. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **10 secondes**.
4. Bien rincer dans plusieurs bains d'eau désionisée.

- 5. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de réactif de Schiff.
- 6. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **15 secondes**. Mélanger la solution à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet et laisser incuber pendant **1 minute**.
- 7. Rincer sous un petit filet d'eau chaude pendant **5 minutes**.
- 8. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant la solution d'hématoxyline de Gill n° 3.
- 9. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **10 secondes**.
- 10. Rincer sous l'eau de ville pendant **1 à 2 minutes**, puis faire bleuir dans la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**. Rincer sous l'eau de ville. Déshydrater, éclaircir et procéder au montage.

Procédure au micro-ondes pour la digestion par la diastase (α-amylase)

- 1. Utiliser deux lames par test. Étiqueter une lame pour la digestion par la diastase et une autre pour la coloration P.A.S. uniquement. REMARQUE : il est recommandé d'utiliser des lames recouvertes d'adhésif tissulaire. Ne pas placer les coupes dans de la celloidine lors de la digestion par la diastase¹.
- 2. Déparaffiner et réhydrater les lames dans de l'eau désionisée.
- 3. Préparer la solution de travail de diastase (α-amylase) en dissolvant 0,2 g d'α-amylase (réf. A3176) dans 40 ml d'eau désionisée. Bien mélanger et transvaser dans une cuve à coloration de Coplin en plastique. Préparer la solution juste avant utilisation
- 4. Mettre au micro-ondes à une puissance de **600 watts** pendant **25 secondes**.
- 5. Retirer les lames de la cuve à coloration de Coplin et rincer les lames digérées sous l'eau de ville pendant **5 minutes**.
- 6. Pour les deux types de lames, avec ou sans étape de digestion, passer à l'étape 2 de la procédure au micro-ondes pour les coupes de tissus.

Caractéristiques de performance

Les substances positives à la coloration P.A.S. prennent une coloration allant du rose au rouge et les noyaux se colorent en bleu. Une lame avec digestion par la diastase (α-amylase) ne présentera pas de coloration P.A.S. visible du glycogène par rapport à la lame de contrôle positive au glycogène qui n'a pas subi d'étape de digestion.

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
3951	Solution d'acide périodique	Monocytes	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Granulocytes	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Glycogène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Membrane basale	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3952	Réactif de Schiff	Monocytes	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Granulocytes	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Glycogène	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		Membrane basale	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
GHS3-50ML	Solution d'hématoxyline de Gill n° 3	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l'étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

395B :



- H290 : Peut être corrosif pour les métaux.
- H302 : Nocif en cas d'ingestion.
- H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- H350 : Peut provoquer le cancer.
- H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes (reins) à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée par ingestion.
- H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.
- P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P301 + P312 : EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
- P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.
- P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Si, au cours de l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu'aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- 1. Sheehan D.C., Hrapchak B.B.: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- 2. Culling C.F.A., Allison R.T., Barr W.T.: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- 3. Davey F.R., Nelson D.A.: Periodic Acid Schiff (P.A.S.) Stain. IN Hematology, 2nd ed. W.J. Williams, E. Buetler, A.J. Erslev, R.W. Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- 4. Thompson S.W.: Selected Histochemical and Histopathological Methods, C.C. Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- 5. Leong A.S.-Y., Milios J.: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J. Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn N.T.: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J. Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S.: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2022
Rév. 6.0	2022
Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Déplacement des mentions relatives à l'aide au diagnostic dans le paragraphe sur l'utilisation prévue. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. Remplacement du texte "Material Safety Data Sheet" par "Safety Data Sheet" dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Ajout de la section relative aux avertissements et risques.	
Rév. 7.0	2024
Mise à jour des conventions de nomenclature. Révision des mentions sur l'utilisation prévue. Ajout des informations sur le mandataire suisse (CH-REP) et l'importateur suisse.	

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Le M majuscule, TISSUE-TROL et Sigma-Aldrich sont des marques de commerce de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne ou de ses filiales. Toutes les autres marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. Des informations détaillées sur les marques de commerce sont disponibles via des ressources accessibles au public.

Istruzioni per l'uso

Acido periodico Schiff (PAS) Sistema di colorazione

Procedura n. 395



Uso previsto

Il sistema di colorazione PAS offre procedure standard e a microonde per la dimostrazione istochimica di linfociti e mucopolisaccaridi. La reazione PAS nelle sezioni di tessuto è utile per la dimostrazione di mucopolisaccaridi. La procedura di digestione della diastasi (α -amilasi), seguita dalla colorazione PAS, è utile come ausilio nella diagnosi delle malattie da accumulo di glicogeno. I reagenti dell'acido periodico Schiff (PAS) sono previsti per "Uso diagnostico *in vitro*". Solo per uso professionale. I dati ottenuti da questa procedura qualitativa manuale identificano linfociti e mucopolisaccaridi in strisci ematici o di midollo osseo, nonché tessuti inclusi in paraffina fissati in formalina provenienti da campioni umani. Questi dati, se esaminati insieme ad altri esami e informazioni diagnostiche, possono essere utilizzati come ausilio per la diagnosi di infezioni fungine o malattie da accumulo di glicogeno. La visualizzazione istologica di linfociti e mucopolisaccaridi è una tecnica unica al momento comunemente utilizzata in medicina.

Quando trattati con acido periodico, i glicoli vengono ossidati in aldeidi. Dopo la reazione con il reagente di Schiff, la fucsina rilasciata colora i componenti cellulari contenenti i composti ossidabili.³ Questa reazione può essere eseguita su striscio ematico o di midollo osseo, preparati per il contatto con tessuti o sezioni di tessuto.^{1,2}

La digestione della diastasi (α -amilasi) può essere utilizzata come ausilio nella diagnosi della malattia da accumulo di glicogeno. La diastasi idrolizza l'amido, il glicogeno e i prodotti di degradazione originati da questi polisaccaridi presenti nei tessuti. I sottoprodotti risultanti del processo di digestione vengono risciacquati prima della colorazione PAS.⁴

È inclusa una tecnica per la colorazione PAS rapida mediante forni a microonde.⁵⁻⁷

Reagenti

Soluzione di acido periodico (N. di cat. 3951-100ML e 395132-1L)

Acido periodico, 1 g/dL

Reagente di Schiff (N. di cat. 3952-50ML e 3952016-500ML)

Pararosanilina HCl, 1%, e metabisolfito di sodio, 4%, in acido cloridrico, 0,25 mol/L. Pericolo. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare il cancro.

Soluzione di ematosilina di Gill n. 3 (N. di cat. GHS3-100ML)

Ematosilina certificata, 6 g/L, iodato di sodio C.I. 75290, 0,6 g/L, solfato di alluminio, 52,8 g/L e stabilizzante

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Soluzione di formaldeide, 37%
- Alcool reagente
- I vetrini di controllo PAS positivi, come PAS TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR009-25EA) devono essere inclusi in ogni esecuzione
- Xilene o sostituto dello xilene

Solo procedure con microonde

- Forno a microonde
- Vaschetta Coplin con coperchi ventilati
- Soluzione di Scott concentrata sostitutiva all'acqua di rubinetto (N. di cat. S5134-6x100ML)
- α -amilasi (solo per la procedura di estrazione della diastasi) (N. di cat. A3176)

Conservazione e stabilità

Conservare la soluzione di acido periodico e il reagente di Schiff in frigorifero (2–8 °C). Conservare la soluzione di ematosilina di Gill n. 3 a temperatura ambiente (18–26 °C). I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle etichette. La formazione di un precipitato nel reagente di Schiff non influisce sulle prestazioni.

Deterioramento

Eliminare la soluzione di ematosilina di Gill n. 3, se la soluzione diventa marrone (eccessivamente ossidata dall'aria) o viola (perdita di acidità) o quando il tempo necessario per una colorazione adeguata supera di più di 5 minuti il tempo raccomandato nella procedura.

Preparazione

La soluzione di acido periodico, il reagente di Schiff e la soluzione di ematosilina di Gill n. 3 sono forniti pronti per l'uso. Scaldare i reagenti a temperatura ambiente (18–26 °C) prima dell'uso.

Se è presente del precipitato, filtrare il reagente di Schiff. NOTA: Una leggera colorazione rosa dovuta alla lisciviazione del colore dai vetrini non interferisce con l'analisi.

La soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto viene preparata diluendo 1 parte di concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto con 9 parti di acqua deionizzata.

La soluzione fissativa di formalina-etanolo viene preparata mescolando 5 mL di formaldeide con 45 mL di etanolo al 95% (alcool reagente). Preparare la soluzione fresca ogni giorno e tenere ben chiusa.

Precauzioni

Gli IVD inclusi in questo kit sono destinati alla diagnostica *in vitro* in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich devono essere utilizzati da personale di laboratorio addestrato alla manipolazione di campioni biologici umani potenzialmente infettivi, come anche all'uso di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio, che abbia la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

Seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative vigenti a livello locale, provinciale, regionale o nazionale.

I vetrini di controllo PAS TISSUE-TROL™ sono tessuti umani inclusi in paraffina contenenti PAS e devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuto non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati del sangue o i campioni di tessuto devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Vengono utilizzati preferibilmente strisci di sangue intero, EDTA o eparinato o di midollo preparati al momento. Eseguire la fissazione quanto prima possibile.³

Per i polisaccaridi, possono essere utilizzati tessuti fissati in formalina tamponata neutra al 10%, Zenker o Bouin.¹ Va notato che alcuni carboidrati sono solubili in acqua.² Per la dimostrazione del glicogeno, si consigliano il liquido di Carnoy, il liquido di Gendre o la formalina alcolica acida.¹ Il tempo necessario per l'estrazione della diastasi può essere prolungato quando il tessuto viene fissato in un fissativo contenente acido picrico.¹ Tagliare le sezioni di tessuto a 5 micron.

Note

Se si utilizza un forno a microonde, consultare il relativo Manuale utente per le istruzioni.

A scopo di controllo possono essere inclusi strisci ematici preparati da individui clinicamente sani. I leucociti polimorfonucleati mostreranno un'intensa colorazione citoplasmatica rossa. Sezioni di tessuto note per essere PAS positive e/o contenenti glicogeno devono essere incluse ogni volta che viene eseguita una sequenza di colorazione.

Procedura

Preparazioni per il contatto con sangue, midollo osseo o tessuti

Procedura standard

- Fissare gli strisci essiccati all'aria per **1 minuto a temperatura ambiente** in una soluzione fissativa di formalina etanolo.
- Sciacquare i vetrini **per 1 minuto** sotto un flusso leggero di acqua di rubinetto.
- Immergere i vetrini nella soluzione di acido periodico per **5 minuti a temperatura ambiente**.
- Sciacquare i vetrini in vari bagni di acqua distillata.
- Immergere i vetrini nel reagente di Schiff per **15 minuti** a temperatura ambiente.
NOTA: Subito dopo l'uso,appare il reagente di Schiff e riporre in frigorifero (2–8 °C).
- Lavare i vetrini in acqua di rubinetto corrente per **5 minuti**.
- Eseguire la controcolorazione dei vetrini in soluzione di ematosilina di Gill n. 3 per **90 secondi**.
- Sciacquare i vetrini in acqua di rubinetto corrente per **15–30 secondi**, asciugarli all'aria ed esaminarli al microscopio con lenti a immersione in olio (900x). I vetrini possono essere montati con liquido di montaggio a base di toluene o xilene.

Procedura con forno a microonde

- Fissare gli strisci essiccati all'aria a **temperatura ambiente** per **1 minuto** in una soluzione fissativa di formalina etanolo.
- Sciacquare i vetrini per **1 minuto** sotto un flusso leggero di acqua di rubinetto.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di acido periodico contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
- Sciacquare accuratamente in vari bagni di acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di reagente di Schiff contenuto in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **15 secondi**. Mescolare la soluzione con una pipetta Beral o uno stick applicatore e lasciare incubare per **1 minuto**.
- Sciacquare sotto un flusso leggero di acqua corrente di rubinetto tiepida per **5 minuti**.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di ematosilina di Gill n. 3 contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
- Sciacquare in acqua corrente di rubinetto per **1–2 minuti**, quindi colorare di blu in una soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto a **temperatura ambiente**.
- Sciacquare in acqua corrente di rubinetto. Lasciare asciugare all'aria.
- I vetrini possono essere montati con liquido di montaggio a base di toluene o xilene.

Sezioni di tessuto

Procedura standard

- Deparaffinare e idratare le sezioni in acqua deionizzata.
- Immergere i vetrini nella soluzione di acido periodico per **5 minuti a temperatura ambiente** (18–26 °C).
- Sciacquare i vetrini in vari bagni di acqua distillata.
- Immergere i vetrini nel reagente di Schiff per **15 minuti a temperatura ambiente** (18–26 °C).
- Lavare i vetrini in acqua di rubinetto corrente per **5 minuti**.
- Eseguire la controcolorazione dei vetrini in soluzione di ematosilina di Gill n. 3 per **90 secondi**.
- Sciacquare i vetrini in acqua corrente di rubinetto.
- Disidratare, chiarificare e montare le sezioni con liquidi di montaggio a base di toluene o xilene.

Procedura con forno a microonde

- Deparaffinare e idratare in acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di acido periodico contenuta in una vaschetta Coplin di plastica. Appoggiare il coperchio sulla vaschetta oppure utilizzare un coperchio dotato di fori.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
- Sciacquare accuratamente in vari bagni di acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di reagente di Schiff contenuto in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **15 secondi**. Mescolare la soluzione con una pipetta Beral o uno stick applicatore e lasciare incubare per **1 minuto**.
- Sciacquare sotto un flusso leggero di acqua corrente di rubinetto tiepida per **5 minuti**.
- Mettere i vetrini in soluzione di ematosilina di Gill n. 3 contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
- Sciacquare in acqua corrente di rubinetto per **1–2 minuti**, quindi colorare di blu in una soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto a **temperatura ambiente**. Sciacquare in acqua corrente di rubinetto. Disidratare, chiarificare e montare.

Procedura con microonde per la digestione della diastasi (α -amilasi)

- Utilizzare vetrini di test duplicati. Etichettarne uno per la digestione con diastasi e uno solo per la colorazione PAS. NOTA: Si consigliano vetrini rivestiti con adesivo in tessuto. Non applicare celloidina alle sezioni durante la digestione della diastasi.¹
- Deparaffinare e idratare i vetrini in acqua deionizzata.

3. Preparare la soluzione di lavoro a base di diastasi (α-amilasi) sciogliendo 0,2 g di α-amilasi (N. di cat. A3176), in 40 mL di acqua deionizzata. Mescolare bene e mettere in una vaschetta Coplin di plastica. Preparare immediatamente prima dell'uso.
4. Scaldare in forno a microonde a **600 watt per 25 secondi**.
5. Rimuovere i vetrini dalla vaschetta Coplin e sciacquare il vetrino digerito in acqua corrente di rubinetto per **5 minuti**.
6. Utilizzando sia i vetrini digeriti che quelli non digeriti, eseguire il passaggio 2 della procedura con forno a microonde per tessuti.

Caratteristiche prestazionali

Le sostanze PAS positive si colorano da rosa a rosso e i nuclei sono di colore blu. Un vetrino per l'estrazione della diastasi (α-amilasi) non presenterà alcuna colorazione PAS visibile del glicogeno rispetto al vetrino di controllo positivo del glicogeno non digerito.

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica di Sigma-Aldrich.

Caratteristiche di prestazione analitica

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target confermano una sensibilità, specificità e ripetibilità del 100%.

N. di cat.	Descrizione del prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
3951	Soluzione di acido periodico	Monociti	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Granulociti	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Glicogeno	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Membrana basale	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3952	Reagente di Schiff	Monociti	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Granulociti	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Glicogeno	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		Membrana basale	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
GHS3-50ML	Soluzione di ematosillina di Gill n. 3	Nuclei	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, consultare la scheda dati di sicurezza e l'etichetta del prodotto.

395B:



- H290: Può essere corrosivo per i metalli.
- H302: Nocivo se ingerito.
- H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
- H350: Può provocare il cancro.
- H373: Può provocare danni agli organi (reni) in caso di esposizione prolungata o ripetuta, se ingerito.
- H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
- P273: Non disperdere nell'ambiente.
- P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
- P301 + P312: IN CASO DI INGESTIONE: in presenza di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo, o a seguito di questo, si è verificato un grave incidente, segnalarlo al fabbricante e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli da usare in conformità con la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabbricante		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice del lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
	Indica il rappresentante autorizzato in Svizzera		

Bibliografia

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com).
Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Cronologia delle revisioni

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Spostata l'espressione "ausilio per la diagnosi" nella sezione "Uso previsto". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli".	
Rev. 7.0	2024
Convenzioni di denominazione aggiornate. Revisione dell'istruzione relativa all'uso previsto. Aggiunta di informazioni su CH-REP e importatore	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

L'iniziale "M", TISSUE-TROL e Sigma-Aldrich sono marchi commerciali di Merck KGaA, Darmstadt, Germania o delle sue affiliate. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi proprietari. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse accessibili pubblicamente.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instrucciones de uso

Ácido peryódico de Schiff (PAS) Sistema de tinción

Procedimiento n.º 395



MERCK

Uso previsto

El sistema de tinción de PAS ofrece procedimientos estándar y de microondas para la prueba histoquímica de linfocitos y mucopolisacáridos. La reacción del PAS en secciones de tejido es útil para la prueba de mucopolisacáridos. El procedimiento de digestión de la diastasa (α-amilasa), seguido de la tinción de PAS es útil como ayuda en el diagnóstico de enfermedades de almacenamiento de glucógeno. Los reactivos de ácido peryódico de Schiff (PAS) son para uso diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional. Los datos obtenidos mediante este procedimiento manual y cualitativo identifican linfocitos y mucopolisacáridos en extensiones de sangre o médula ósea, así como tejido incluido en parafina fija y fijado con formol de muestras humanas. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, se pueden utilizar como ayuda para el diagnóstico de infecciones fúngicas y glucogenosis. La visualización histológica de linfocitos y mucopolisacáridos representa una técnica única en la actualidad y es comúnmente utilizada en medicina.

Cuando se tratan con ácido peryódico, los glicoles se oxidan a aldehídos. Después de la reacción con el reactivo de Schiff, la fucsina liberada tiñe los componentes celulares que contienen los compuestos oxidables.³ Esta reacción puede ejecutarse en extensiones de sangre o médula ósea, en improntas de tejidos y secciones de tejido.^{1,2}

La digestión de la diastasa (α-amilasa) se puede emplear como ayuda en el diagnóstico de la glucogenosis. La diastasa hidroliza el almidón, el glucógeno y los productos de degradación originarios de estos polisacáridos presentes en los tejidos. Los subproductos resultantes del proceso de digestión se enjuagan antes de la tinción de PAS.⁴

Se incluye una técnica de tinción de PAS rápida mediante microondas.⁵⁻⁷

Reactivos

Solución de ácido peryódico (n.º de cat. 3951-100ML y 395132-1L)

Ácido peryódico, 1 g/dl

Reactivo de Schiff (n.º de cat. 3952-50ML and 3952016-500ML)

Pararosanilina HCl, 1 %, y metabisulfito sódico, 4 %, en ácido clorhídrico, 0,25 mol/l. Peligro. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar cáncer.

Solución de hematoxilina, Gill N.º 3 (n.º de cat. GHS3-100ML)

Hematoxilina certificada, 6 g/l, C.I. 75290, yodato sódico, 0,6 g/l, sulfato de aluminio, 52,8 g/l y estabilizador

Material especial necesario pero no suministrado

- Solución de formaldehído, 37 %
- Alcohol reactivo
- Portaobjetos de control positivo de PAS, como PAS TISSUE-TROL™ (n.º de cat. TTR009-25EA) para cada proceso
- Xileno o sustituto del xileno

Solo procedimientos con microondas

- Horno microondas
- Frasco Coplin con tapas con respiraderos
- Concentrado sustituto del agua corriente de Scott (n.º de cat. S5134-6x100 ml)
- α-amilasa (solo para el procedimiento de extracción de diastasa) (n.º de cat. A3176)

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar la solución de ácido peryódico y el reactivo de Schiff en el frigorífico (2-8 °C). Almacenar la solución de hematoxilina Gill N.º 3 a temperatura ambiente (18-26 °C). Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas. La formación de un precipitado en el reactivo de Schiff no afecta al rendimiento.

Deterioro

Deseche la solución de hematoxilina, Gill N.º 3, si la solución se vuelve marrón (sobreoxidación por aire) o púrpura (pérdida de acidez), o cuando el tiempo necesario para una tinción adecuada supere en más de 5 minutos el tiempo recomendado en el procedimiento.

Preparación

La solución de ácido peryódico, el reactivo de Schiff y la solución de hematoxilina, Gill N.º 3, se suministran listas para su uso. Calentar todos los reactivos a temperatura ambiente (18-26 °C) antes de su uso.

Filtrar el reactivo de Schiff si hay precipitado. NOTA: Una ligera coloración rosa debido a la lixiviación del color del portaobjetos no interfiere en la prueba.

La solución de trabajo del sustituto del agua corriente de Scott se prepara diluyendo 1 parte del concentrado sustituto del agua corriente de Scott con 9 partes de agua desionizada.

La solución fijadora de formol-etanol se prepara mezclando 5 ml de formaldehído con 45 ml de etanol al 95 % (alcohol reactivo). Preparar solución nueva a diario y mantener bien tapada.

Precauciones

Los dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* (DMDIV) incluidos en este kit están destinados a un uso de diagnóstico *in vitro* en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado puede utilizar los DMDIV de Sigma-Aldrich para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio, y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Los portaobjetos de control PAS TISSUE-TROL™ contienen tejido humano incluido en parafina con PAS y se deben considerar potencialmente infecciosos.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Se utilizan extensiones de médula ósea o de sangre entera heparinizada o con EDTA recién preparadas. Deben fijarse cuanto antes.³

Para los polisacáridos, se pueden utilizar tejidos fijados con formol neutro amortiguado al 10 %, Zenker o Bouin.¹ Hay que tener en cuenta que algunos hidratos de carbono son hidrosolubles.² Para la demostración del glucógeno, se recomiendan el líquido de Carnoy, el líquido de Gendre o el formol ácido alcohol.¹ El tiempo necesario para la extracción de la diastasa puede prolongarse cuando el tejido se fija en un fijador que contenga ácido pícrico.¹ Cortar secciones de tejido a 5 micras.

Notas

Si se utiliza un horno microondas, consulte el manual del usuario para obtener instrucciones.

Pueden incluirse extensiones de sangre procedentes de individuos clínicamente sanos con fines de control. Los leucocitos polimorfonucleares mostrarán una tinción citoplasmática de color rojo intensa. En cada secuencia de tinción, deben incluirse secciones de tejido que se sepa que son positivas a PAS o que contienen glucógeno.

Procedimiento

Sangre, médula ósea o improntas de tejidos

Procedimiento estándar

1. Fije las láminas secadas al aire durante **1 minuto** a **temperatura ambiente** en una solución fijadora de formol y etanol.
2. Enjuague los portaobjetos durante **1 minuto** con agua del grifo suave.
3. Sumerja los portaobjetos en solución de ácido peryódico durante **5 minutos a temperatura ambiente**.
4. Enjuague los portaobjetos en varios cambios de agua destilada.
5. Sumerja los portaobjetos en reactivo de Schiff durante **15 minutos** a temperatura ambiente. NOTA: Inmediatamente después de su uso, tape el reactivo de Schiff y devuélvalo al frigorífico (2-8 °C).
6. Lave los portaobjetos con agua corriente durante **5 minutos**.
7. Lleve a cabo la contratinción de los portaobjetos con una solución de hematoxilina, Gill N.º 3, durante **90 segundos**.
8. Enjuague los portaobjetos con agua corriente durante **15-30 segundos**, deje que se sequen al aire y, después, examínelos en el microscopio con un objetivo de inmersión en aceite (900x). Los portaobjetos se pueden montar en medios de montaje con base de tolueno o xileno.

Procedimiento con microondas

1. Fije las láminas secadas al aire a **temperatura ambiente** durante 1 minuto en solución fijadora de formol y etanol.
2. Enjuague los portaobjetos durante **1 minuto** con agua del grifo suave.
3. Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido peryódico dentro de un frasco Coplin de plástico.
4. Coloque el frasco en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
5. Enjuáguelos bien en varios cambios de agua desionizada.
6. Coloque los portaobjetos en **40 ml** de reactivo de Schiff dentro de un frasco Coplin de plástico.
7. Después, colóquelos en el horno microondas a **800 vatios** durante **15 segundos**. Mezcle la solución con una pipeta beral o una varilla aplicadora y dejar incubar durante **1 minuto**.
8. Enjuague suavemente con agua corriente tibia durante **5 minutos**.
9. Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina, Gill N.º 3, dentro de un frasco Coplin de plástico.
10. Coloque el frasco en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
11. Enjuague con agua corriente durante **1-2 minutos** y, después, aplique la tinción azul mediante solución de trabajo de sustitución de agua corriente Scott a **temperatura ambiente**.
12. Enjuague con agua corriente. Deje que se sequen al aire.
13. Los portaobjetos se pueden montar en medios de montaje con base de tolueno o xileno.

Secciones de tejido

Procedimiento estándar

1. Desparafine e hidrate las secciones con agua desionizada.
2. Sumerja los portaobjetos en solución de ácido peryódico durante **5 minutos a temperatura ambiente** (18-26°C).
3. Enjuague el portaobjetos en varios cambios de agua destilada.
4. Sumerja los portaobjetos en reactivo de Schiff durante **15 minutos a temperatura ambiente** (18-26°C).
5. Lave los portaobjetos con agua corriente durante **5 minutos**.
6. Lleve a cabo la contratinción de los portaobjetos con una solución de hematoxilina, Gill N.º 3, durante **90 segundos**.
7. Enjuague los portaobjetos con agua corriente.
8. Deshidrate, aclare y monte las secciones en medios de montaje con base en tolueno o xileno.

Procedimiento con microondas

1. Desparafine e hidrate con agua desionizada.
2. Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido peryódico dentro de un frasco Coplin de plástico. Tape el frasco sin apretar la tapa o utilice una tapa con agujeros perforados.
3. Colóquelo en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
4. Enjuáguelos bien en varios cambios de agua desionizada.
5. Coloque los portaobjetos en **40 ml** de reactivo de Schiff dentro de un frasco Coplin de plástico.
6. Después, colóquelos en el horno microondas a **800 vatios** durante **15 segundos**. Mezcle la solución con una pipeta beral o una varilla aplicadora y dejar incubar durante **1 minuto**.
7. Enjuague suavemente con agua corriente tibia durante **5 minutos**.
8. Coloque los portaobjetos en solución de hematoxilina, Gill N.º 3, dentro de un frasco Coplin de plástico.
9. Coloque el frasco en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
10. Enjuague con agua corriente durante **1-2 minutos** y, después, aplique la tinción azul mediante solución de trabajo de sustitución de agua corriente Scott a **temperatura ambiente**. Enjuague con agua corriente. Deshidrate, aclare y monte.

Procedimiento de microondas para la digestión de la diastasa (α-amilasa)

- 1. Utilice portaobjetos de prueba duplicados. Etiquete uno para la digestión con diastasa y uno solo para la tinción de PAS.
NOTA: Se recomienda usar portaobjetos recubiertos con un adhesivo de tejido. No utilice celodina con los cortes al realizar la digestión con diastasa.¹
- 2. Desparafine e hidrate los portaobjetos con agua desionizada.
- 3. Prepare la solución de trabajo de diastasa (α-amilasa) mediante la disolución de 0,2 g de α-amilasa (n.º de cat. A3176) en 40 ml de agua desionizada. Mezcle bien y colóquela en el frasco Coplin de plástico. Recuerde preparar la solución inmediatamente antes de su uso.
- 4. Coloque el frasco en el horno microondas a **600 vatios** durante **25 segundos**.
- 5. Retire los portaobjetos del frasco Coplin y enjuague el portaobjetos digerido en agua corriente durante **5 minutos**.
- 6. Utilice tanto los portaobjetos digeridos como los no digeridos, y continúe con el procedimiento de microondas para tejidos, paso 2.

Características de funcionamiento

Las sustancias PAS positivas se tiñen en colores rosados o rojizos, y los núcleos se muestran en azul. En comparación con el portaobjetos de control positivo del glucógeno no digerido, el portaobjetos de extracción de diastasa (α-amilasa) no mostrará tinción de PAS del glucógeno.

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especificidad intraensayo	Sensibilidad intraensayo	Especificidad interensayo	Sensibilidad interensayo
3951	Solución de ácido peryódico	Monocitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Granulocitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Glucógeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Membrana basal	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3952	Reactivo de Schiff	Monocitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Granulocitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Glucógeno	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Membrana basal	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
GHS3-50ML	Solución de hematoxilina Gill n.º 3	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

395B:



- H290: Puede ser corrosivo para los metales.
- H302: Nocivo en caso de ingestión.
- H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- H350: Puede provocar cáncer.
- H373: Puede provocar daños en los órganos (riñón) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.
- H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
- P273: No dispersar en el medio ambiente.
- P280: Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P301 + P312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si la persona no se encuentra bien.
- P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua.
- P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, informe de ello al fabricante o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>)

	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
	Indica el representante autorizado en Suiza		

Referencias

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- 2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- 3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- 4. Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- 5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Para solicitar el Servicio Técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historial de revisiones

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Se ha transferido a la nueva plantilla con el diseño de marca actual. Se ha especificado su uso por parte de profesionales en las secciones de uso previsto y precauciones. Se ha movido la declaración de ayuda al diagnóstico al uso previsto. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se han añadido advertencias y peligros.	
Rev. 7.0	2024
Convenciones de nomenclatura actualizadas. Se ha revisado la declaración uso previsto. Se ha añadido la información del representante de Suiza y del importador.	

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

La M inicial, TISSUE-TROL y Sigma-Aldrich son marcas comerciales registradas de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania o sus filiales. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Puede consultarse la información detallada sobre las marcas comerciales en recursos accesibles al público.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Brugsanvisning

PAS (perjodsyre-Schiff)-farvningssystem

Procedure nr. 395



Tilsigtet brug

PAS-farvningssystemet tilbyder standard- og mikrobølgeprocedurer til påvisning af lymfocytter og mucopolysaccharider. PAS-reaktionen i vævssnit er nyttig til påvisning af mucopolysaccharider. Diastase (α -amylase)-fordøjelsesproceduren efterfulgt af PAS-farvningen er nyttig som en hjælp til diagnosticering af glykogenlagrings sygdomme. PAS (perjodsyre-Schiff)-reagenser er beregnet til "in vitro"-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle, kvalitative procedure, identificerer lymfocytter og mucopolysaccharider i blod- eller knoglemarvsvæv samt formalinfikseret, paraffinindstøbt væv fra humane prøver. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, bruges som en hjælp ved diagnosticering af svampeinfektioner og glykogenlagrings sygdomme. Histologisk visualisering af lymfocytter og mukopolysaccharider er en unik teknik, som aktuelt finder bred anvendelse på det medicinske område.

Ved behandling med perjodsyre oxideres glykoler til aldehyder. Efter reaktion med Schiffs reagens farver den frigivne fuchsin de cellulære komponenter, der indeholder de oxiderbare forbindelser.³ Denne reaktion kan udføres på blod- eller knoglemarvsvæv, vævspræparater eller vævssnit.^{1,2}

Diastase (α -amylase)-fordøjelse kan anvendes som en hjælp til diagnosticering af glykogenlagrings sygdom. Diastase hydrolyserer stivelse, glykogen og nedbrydningsprodukter med oprindelse i disse polysaccharider, der findes i væv. De resulterende biprodukter fra fordøjelsesprocessen skyldes væk før PAS-farvning.⁴

Der medfølger en teknik til hurtig PAS-farvning med mikrobølgeovne.⁵⁻⁷

Reagenser

Periodic Acid Solution (kat.nr. 3951-100ML og 395132-1L)

Perjodsyre, 1 g/dl

Schiff's Reagent (kat.nr. 3952-50ML og 3952016-500ML)

Pararosanilin HCl, 1 % og natriummetabisulfid, 4 %, i saltstype 0,25 mol/l. Fare. Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. Kan fremkalde kræft.

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (kat.nr. GHS3-100ML)

Certificeret hematoxylin, 6 g/l, C.I. 75290 natriumiodid, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabilisator

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Formaldehydopløsning, 37 %
- Reagensalkohol
- Positive pas-kontrolobjektglas, som f.eks. PAS TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR009-25EA) skal inkluderes i hver kørsel
- Xylen eller xylenersatning

Kun mikrobølge-procedurer

- Mikrobølgeovn
- Coplin-skål med ventilerede låg
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (kat.nr. S5134-6x100ML)
- α -Amylase (kun til diastase-ekstraktionsprocedure) (kat.nr. A3176)

Opbevaring og stabilitet

Opbevar perjodsyreopløsning og Schiffs reagens i køleskab (2-8 °C). Opbevar hematoxylinopløsning, Gill nr. 3 ved stuetemperatur (18-26 °C). Reagenserne er stabile indtil udløbsdatoen på mærkaterne. Dannelse af bundfald i Schiffs reagens påvirker ikke ydeevnen.

Forringelse

Hematoxylinopløsning, Gill nr. 3, skal bortskaffes, hvis opløsningen bliver brun (over-oxideret af luft) eller lilla (surhedstab), eller hvis den tid, der kræves for passende farvning, overstiger den tid, der anbefales i proceduren, med mere end 5 minutter.

Klargøring

Perjodsyreopløsning, Schiffs reagens og hematoxylinopløsning, Gill nr. 3 leveres klar til brug. Opvarm reagenser til stuetemperatur (18-26 °C) inden brug.

Filtrér Schiffs reagens, hvis der er bundfald. BEMÆRK: En let lyserød farvning på grund af udvaskning af farve fra objektglas interfererer ikke med testen.

Arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning fremstilles ved at fortynde 1 del Scotts postevandserstatningskoncentrat med 9 dele deioniseret vand.

Formalin-ethanol fiksativopløsning fremstilles ved at blande 5 ml formaldehyd med 45 ml 95 % ethanol (reagensalkohol). Fremstil frisk hver dag, og hold tæt tillukket.

Forsigtighedsregler

IVD'erne, der er inkluderet i dette sæt, er beregnet til *in vitro*-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er udelukkende beregnet til kvalificeret personales professionelle brug. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratiereudstyr og har en farveopfattelse og synsstyrke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

PAS TISSUE-TROL™-kontrolobjektglas er paraffinindstøbte humane væv, der indeholder PAS, og skal betragtes som potentielt smittefarlige.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Der kan anvendes nyligt forberedt fuldblod, EDTA-blod eller hepariniseret blod eller knoglemarvsvæv. Fikser så snart som muligt.³

Til polysaccharider kan der anvendes væv, der er fikseret i 10 % neutral bufferformalin, Zenkens eller Bouins.¹ Det skal bemærkes, at visse kulhydrater er vandopløselige.² Til påvisning af glykogen anbefales Carnoys væske, Gendres væske eller sur alkoholholdig formalin.¹ Den tid, der kræves til diastaseekstraktion, kan blive forlænget, når væv fikseres i en picrinsyre, som indeholder fiksativ.¹ Skær vævssnit i en tykkelse på 5 mikron.

Bemærkninger

Hvis du bruger en mikrobølgeovn, skal du se i brugervejledningen for at få instruktioner.

Blodfilm, der er fremstillet ud fra klinisk sunde personer, kan inkluderes til kontrolformål. Polymorfonukleære leukocytter udviser en intens rød cytoplasmisk farvning. Vævssnit, der vides at være PAS-positive og/eller indeholde glykogen, skal inkluderes, hver gang der udføres en farvningssevens.

Procedure

Blod-, knoglemarv- eller Tissue Touch-præparater

Standardprocedure

- Fikser lufttørrede film i **1 minut** ved **stuetemperatur** i formalinfiksativ med ethanol.
- Skyl objektglassene **1 minut** i langsomt rindende postevand.
- Nedsenk objektglassene i perjodsyreopløsning i **5 minutter** ved **stuetemperatur**.
- Skyl objektglassene i flere hold destilleret vand.
- Nedsenk objektglassene i Schiffs reagens i **15 minutter** ved stuetemperatur. BEMÆRK: Sæt straks efter brug låg på Schiffs reagens og sæt det tilbage i køleskabet (2-8 °C).
- Vask objektglassene i rindende postevand i **5 minutter**.
- Kontrastfarv objektglassene i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3 i **90 sekunder**.
- Skyl objektglassene i rindende postevand i **15-30 sekunder**, lufttør dem, og undersøg dem mikroskopisk ved brug af en olieimmersionslinse (900x). Objektglassene kan monteres i toluen- eller xylen-baserede monteringsmedier.

Mikrobølgeprocedure

- Fikser lufttørrede film ved **stuetemperatur** i **1 minut** i formalinfiksativ med ethanol.
- Skyl objektglassene i **1 minut** i langsomt rindende postevand.
- Placer objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl grundigt i flere hold deioniseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 15 sekunder**. Bland opløsningen med en engangspipette eller applikatorpind, og lad den inkubere i **1 minut**.
- Skyl i varmt, rindende postevand i **5 minutter**.
- Placer objektglassene i **40 ml** hæmatoxylinopløsning Gill nr. 3 i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl i rindende postevand i **1-2 minutter** og blån derefter i Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**.
- Skyl under rindende postevand Lad lufttørre.
- Objektglassene kan monteres i toluen- eller xylen-baserede monteringsmedier.

Vævssnit

Standardprocedure

- Afparaffiner og hydrér snittene i deioniseret vand.
- Nedsenk objektglassene i perjodsyreopløsning i **5 minutter** ved **stuetemperatur** (18-26 °C).
- Skyl objektglasset i flere hold destilleret vand.
- Nedsenk objektglassene i Schiffs reagens i **15 minutter** ved **stuetemperatur** (18-26 °C).
- Vask objektglassene i rindende postevand i **5 minutter**.
- Kontrastfarv objektglassene i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3 i **90 sekunder**.
- Skyl objektglassene i rindende postevand.
- Dehydrér, klarer og monter snit i toluen- eller xylenbaseret monteringsmedie.

Mikrobølgeprocedure

- Afparaffiner snittene, og hydrér dem i deioniseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning i en Coplin-skål af plast. Dæk skålen løst med et låg, eller brug låg med huller boret i.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl grundigt i flere hold deioniseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 15 sekunder**. Bland opløsningen med en engangspipette eller applikatorpind, og lad den inkubere i **1 minut**.
- Skyl i varmt, rindende postevand i **5 minutter**.
- Anbring objektglassene i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl i rindende postevand i **1-2 minutter** og blån derefter i Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**. Skyl under rindende postevand Dehydrér, klarér og monter.

Mikrobølgeprocedure til diastase (α -amylase)-fordøjelse

- Brug dubletter af testobjektglas. Mærk ét til fordøjelse med diastase og ét kun til PAS-farvning. BEMÆRK: Objektglas, der er belagt med et vævsklæbemiddel, anbefales. Undlad at indlejre snittene i celloidin, når der udføres diastasefordøjelse.¹
- Afparaffiner og hydrér objektglassene i deioniseret vand.
- Forbered en diastase (α -amylase)-arbejdsopløsning ved at opløse 0,2 g α -Amylase (kat.nr. A3176) i 40 ml deioniseret vand. Bland grundigt, og anbring i en Coplin-skål af plast. Fremstil umiddelbart inden brug.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt i 25 sekunder**.
- Fjern objektglassene fra Coplin-skålen, og skyl det fordøjede objektglas under rindende postevand i **5 minutter**.
- Fortræk mikrobølge-proceduren for væv, trin 2, ved hjælp af både fordøjede og ikke-fordøjede objektglas.

Præstationskarakteristika

PAS-positive stoffer farves pink til rød, og kernerne er blå. Et ekstraktionsobjektglas med diastole (α-amylase) vil ikke have nogen synlig PAS-farvning af glykogen sammenlignet med det ufordøjede glykogenpositive kontrolobjektglas.

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne for analyseydelsen for de givne tests, som blev udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % sensitivitet, specificitet og repeatabelhed.

Kat.nr.	Produktbe- skrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
3951	Perjodsyreop- løsning	Monocyttter	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Granulocyttter	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Glykogen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Basalmembran	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3952	Schiffs reagens	Monocyttter	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Granulocyttter	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Glykogen	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		Basalmembran	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
GHS3-50ML	Hæmatoxylin- opløsning, Gill nr. 3	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

395B:



- H290: Kan ætse metaller.
- H302: Farlig ved indtagelse.
- H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.
- H350: Kan fremkalde kræft.
- H373: Kan forårsage organskader (nyrer) ved længerevarende eller gentagen eksponering ved indtagelse.
- H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
- P273: Undgå udledning til miljøet.
- P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P301 + P312: I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Kontakt GIFTLINJEN/en læge i tilfælde af ubehag.
- P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til GIFTLINJEN/en læge.
- P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis de er til stede og er lette at fjerne. Fortsæt med at skylle.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
	Angiver den autoriserede repræsentant i Schweiz		

Referencer

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966

- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Flyttet udtalelse om hjælp ved diagnosticering til tilsigtet brug. Revideret tilsigtet brug for at stemme overens med IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Tilføjet advarsler og farer.
Rev. 7.0	2024
	Opdateret navngivningskonventioner. Revideret erklæring om tilsigtet brug. Tilføjet CH-REP og importør oplysninger



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Forbogstavet M, TISSUE-TROL og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller deres tilknyttede virksomheder. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan indhentes via offentligt tilgængelige ressourcer.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Bruksanvisning

Perjodsyra-Schiff (PAS)-färgningssystem

Förfarande nr. 395

**MERCK****Avsedd användning**

PAS-färgningssystemet möjliggör standard- och mikrovågsförfaranden för histokemisk påvisning av lymfocyter och mukopolysackarider. PAS-reaktionen i vävnadssnitt är användbar för påvisning av mukopolysackarider. Förfarandet för uppslutning av diastas (α -amylas), följt av PAS-färg är användbart som ett hjälpmedel vid diagnostisering av glykogeninlagringssjukdomar. Perjodsyra-Schiff-reagensen är för *in vitro*-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Data som erhålls från detta manuella, kvalitativa förfarande identifierar lymfocyter och mukopolysackarider i blod- eller benmärgsutstryk samt formalinfixerad paraffinbäddad vävnad från mänskliga prover. Dessa data kan, när de granskas tillsammans med andra diagnostiska tester och informationskällor, användas som ett hjälpmedel för diagnostisering av svampinfektioner och glykogeninlagringssjukdomar. Histologisk visualisering av lymfocyter och mukopolysackarider är en unik teknik som för närvarande ofta används inom medicin.

Vid behandling med perjodsyra oxideras glykoler till aldehyder. Efter reaktion med Schiffs reagens färgar det frisatta fuksinet cellkomponenterna som innehåller de oxiderbara föreningarna.³ Denna reaktion kan utföras på blod- eller benmärgsutstryk, touch-vävnadspreparat eller vävnadssnitt.^{1,2}

Uppsutning av diastas (α -amylas) kan användas som ett hjälpmedel vid diagnostisering av glykogeninlagringssjukdomar. Diastas hydrolyserar stärkelse, glykogen och nedbrytningsprodukter med ursprung i dessa polysackarider som finns i vävnad. De resulterande biprodukterna från uppslutningsprocessen sköljs bort före PAS-färgningen.⁴

En teknik för snabb PAS-färgning med mikrovågsgugnar inkluderas.⁵⁻⁷

Reagenser

Perjodsyralösning (kat.nr 3951-100ML och 395132-1L)
Perjodsyra, 1 g/dl

Schiffs reagens (kat.nr 3952-50ML och 3952016-500ML)
Pararosanilinhydroklorid, 1 %, och natriummetabisulfid, 4 %, i saltysyra, 0,25 mol/l. Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador. Kan orsaka cancer.

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (kat.-nr. GHS3-100ML)
Certifierat hematoxylin, 6 g/l, C.I. 75290 natriumjodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l och stabiliseringsmedel

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Formaldehydlösning, 37 %
- Reagensalkohol
- PAS-objektglas med positiva kontroller, som PAS TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR007) ska inkluderas i varje körning
- Xylen eller xylenersättning

Endast mikrovågsförfaranden

- Mikrovågsgugn
- Coplinburk med ventilerade lock
- Scotts kranvattenersättningskoncentrat (kat.nr S5134-6x100ML)
- α -amylas (endast för diastasextraktionsförfarandet) (kat.nr A3176)

Förvaring och hållbarhet

Förvara perjodsyralösning och Schiffs reagens i kylskåp (2–8 °C). Förvara hematoxylinlösning, Gill nr 3 i rumstemperatur (18–26 °C). Reagensen är hållbara fram till utgångsdatumet som anges på etiketterna. Bildande av en fällning i Schiffs reagens påverkar inte prestandan.

Försämring

Kassera hematoxylinlösning, Gill nr 3, om lösningen blir brun (överoxideras av luft) eller lila (förlorar sin surhet) eller när tiden som krävs för lämplig färgning överskrider tiden som rekommenderas i förfarandet med mer än 5 minuter.

Beredning

Perjodsyralösning, Schiffs reagens och hematoxylinlösning, Gill nr 3 levereras bruksfärdiga. Värm reagensen till rumstemperatur (18–26 °C) före användning.

Filtrera Schiffs reagens om fällning förekommer. OBS! En lätt rosa färgning på grund av läckage av färg från objektglasen stör inte testet.

Arbetslösning av Scotts kranvattenersättning bereds genom att späda 1 del Scotts kranvattenersättningskoncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

Formalinetanolfixativlösningen bereds genom att blanda 5 ml formaldehyd med 45 ml 95 %-etanol (reagensalkohol). Bered ny dagligen och förvara med tätt åtsittande lock.

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkterna för *in vitro*-diagnostik som ingår i denna sats är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra färgseende och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

PAS TISSUE-TROL™-objektglas med kontroller är paraffinbäddad mänsklig vävnad som innehåller PAS och ska betraktas som potentiellt smittsamma.

Förfarande**Provtagning**

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Nyberedda utstryk av helblod, EDTA eller hepariniserat blod eller benmärg används. Fixera så snart som möjligt.³

För polysackarider kan vävnad fixerad i 10 % neutralt buffrat formalin, Zenkers eller Bouins användas.¹ Det ska noteras att vissa kolhydrater är vattenlösliga.² För påvisning av glykogen rekommenderas Carnoy's vätska, Gendres vätska eller syraalkoholhaltigt formalin.¹ Tiden som krävs för diastasextraktion kan förlängas om vävnaden fixeras i en pikrinsyra som innehåller fixativ.¹ Skär vävnadssnittet vid 5 mikron.

Anmärkningar

Om en mikrovågsgugn används ser du användarhandboken till den för instruktioner.

Blodutstryk som har beretts av prover från kliniskt friska personer kan inkluderas för kontrolländamål. Polymorfonukleära leukocyter uppvisar en intensiv röd cytoplasmatisk färg. Vävnadssnitt som är kända för att vara PAS-positiva eller innehåller glykogen ska inkluderas varje gång en färgningssekvens utförs.

Förfarande**Blod-, benmärgs- eller touch-vävnadspreparat****Standardförfarande**

- Fixera de lufttorkade utstryken i **1 minut i rumstemperatur** i formalinetanolfixativlösning.
- Skölj objektglasen **1 minut** i långsamt rinnande kranvatten.
- Sänk ned objektglasen i perjodsyralösning i **5 minuter i rumstemperatur**.
- Skölj objektglasen i flera byten av destillerat vatten.
- Sänk ned objektglasen i Schiffs reagens i **15 minuter** i rumstemperatur. OBS! Sätt omedelbart tillbaka locket på Schiffs reagens efter användning och ställ in det i kylskåp (2–8 °C).
- Skölj objektglasen i rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Kontrastfärga objektglasen i hematoxylinlösning, Gill nr 3 i **90 sekunder**.
- Skölj objektglasen i rinnande kranvatten i **15–30 sekunder**, låt lufttorka och undersök mikroskopiskt under en lins med immersionsolja (900 x). Objektglasen kan monteras i toluen- eller xylenbaserat monteringsmedium.

Mikrovågsförfarande

- Fixera de lufttorkade utstryken i **rumstemperatur i 1 minut** i formalinetanolfixativlösning.
- Skölj objektglasen i **1 minut** i långsamt rinnande kranvatten.
- Lägg objektglasen i **40 ml** perjodsyralösning i en coplinburk av plast.
- Kör i mikrovågsgugn på **800 watt i 10 sekunder**.
- Skölj väl i flera byten av avjoniserat vatten.
- Lägg objektglasen i **40 ml** Schiffs reagens i en coplinburk av plast.
- Kör i mikrovågsgugn på **800 watt i 15 sekunder**. Blanda lösningen med en engångspipett eller applikatorpinne och låt inkubera i **1 minut**.
- Skölj i varmt, långsamt rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Lägg objektglasen i **40 ml** hematoxylinlösning Gill nr 3 i en coplinburk av plast.
- Kör i mikrovågsgugn på **800 watt i 10 sekunder**.
- Skölj i rinnande kranvatten i **1–2 minuter** och blåfärga sedan i arbetslösning av Scotts kranvattenersättning i **rumstemperatur**.
- Skölj i rinnande kranvatten. Lufttorka.
- Objektglasen kan monteras i toluen- eller xylenbaserat monteringsmedium.

Vävnadssnitt**Standardförfarande**

- Avparaffinera och hydratisera snitten till avjoniserat vatten.
- Sänk ned objektglasen i perjodsyralösning i **5 minuter i rumstemperatur** (18–26 °C).
- Skölj objektglasen i flera byten av destillerat vatten.
- Sänk ned objektglasen i Schiffs reagens i **15 minuter i rumstemperatur** (18–26 °C).
- Skölj objektglasen i rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Kontrastfärga objektglasen i hematoxylinlösning, Gill nr 3 i **90 sekunder**.
- Skölj objektglasen i rinnande kranvatten.
- Dehydratisera, klagör och montera snitten i toluen- eller xylenbaserat monteringsmedium.

Mikrovågsförfarande

- Avparaffinera och hydratisera till avjoniserat vatten.
- Lägg objektglasen i **40 ml** perjodsyralösning i en coplinburk av plast. Täck med ett löst åtsittande lock eller använd lock med iborrade hål.
- Kör i mikrovågsgugn på **800 watt i 10 sekunder**.
- Skölj väl i flera byten av avjoniserat vatten.
- Lägg objektglasen i **40 ml** Schiffs reagens i en coplinburk av plast.
- Kör i mikrovågsgugn på **800 watt i 15 sekunder**. Blanda lösningen med en engångspipett eller applikatorpinne och låt inkubera i **1 minut**.
- Skölj i varmt, långsamt rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Lägg objektglasen i hematoxylinlösning, Gill nr 3, i en coplinburk av plast.
- Kör i mikrovågsgugn på **800 watt i 10 sekunder**.
- Skölj i rinnande kranvatten i **1–2 minuter** och blåfärga sedan i arbetslösning av Scotts kranvattenersättning i **rumstemperatur**. Skölj i rinnande kranvatten. Dehydratisera, klagör och montera.

Mikrovågsförfarande för uppslutning av diastas (α -amylas)

- Använd dubbla testobjektglas. Märk en för uppslutning med diastas och en för endast PAS-färgning. OBS! Objektglas belagda med ett vävnadslim rekommenderas. Använd inte celloidin på snitt när uppslutning av diastas utförs.¹
- Avparaffinera och hydratisera objektglasen till avjoniserat vatten.
- Bered arbetslösning av diastas (α -amylas) genom att lösa upp 0,2 g α -amylas, (kat.nr A3176), i 40 ml avjoniserat vatten. Blanda väl och håll i en coplinburk av plast. Bered precis före användning.
- Kör i mikrovågsgugn på **600 watt i 25 sekunder**.
- Ta upp objektglasen ur coplinburken och skölj de uppslutna objektglasen i rinnande kranvatten i **5 minuter**.

6. Gå vidare med mikrovågsförfarandet för vävnad, steg 2, med både de uppslutna och icke-uppslutna objektglasen.

Prestandaegenskaper

PAS-positiva substanser färgas rosa till röda och kärnorna blir blå. Ett objektglas för diastasextraktion (α-amylas) får ingen synlig PAS-infärgning av glykogen jämfört med objektglaset med icke-uppslutet glykogen som positiv kontroll.

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrich för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
3951	Perjodsyralösning	Monocyter	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Granulocyter	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Glykogen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Basalmembran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3952	Schiffs reagens	Monocyter	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Granulocyter	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Glykogen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Basalmembran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
GHS3-50ML	Hematoxylinlösning, Gill nr. 3	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

395B:



- H290: Kan vara korrosivt för metaller.
- H302: Skadligt vid förtäring.
- H314: Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H350: Kan orsaka cancer.
- H373: Kan orsaka organskador (njurskador) genom lång eller upprepad exponering vid förtäring.
- H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.
- P273: Undvik utsläpp i miljön.
- P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
- P301 + P312: VID SVÄLJNING: Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare om du mår dåligt.
- P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas bekvämt. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338: OM LÖSNINGEN KOMMER IN I ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Om det har inträffat ett allvarligt tillbud medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Temperaturgräns		Försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör
	Anger den auktoriserade representanten Schweiz		

Referenser

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2:a utg. CV Mosby, St. Louis, (MO), s. 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4:e utg. Butterworths, s. 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2:a utg. WJ Williams, E Buettler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, s. 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), s. 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986

6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](#). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässigt bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat uttalandet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Avsedd användning". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontaktuppgifter för negativa händelser. Lagt till varningar och faror.
Rev. 7.0	2024
	Uppdaterat namngivningskonventionerna. Reviderat texten om avsedd användning. Lagt till CH-REP- och importörsinformation.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initialen M, TISSUE-TROL och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dess dotterbolag. Övriga varumärken tillhör respektive ägare. Detaljerad information om varumärken finns tillgänglig via allmänt tillgängliga resurser.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instruções de utilização

Ácido periódico de Schiff (PAS) Sistema de coloração

Procedimento N.º 395



Utilização prevista

O sistema de coloração de PAS proporciona procedimentos padrão e em micro-ondas para a demonstração histoquímica de linfócitos e mucopolissacarídeos. A reação ao PAS em secções de tecidos é útil para a demonstração de mucopolissacarídeos. O procedimento de digestão da diástase (α -amilase), seguido da coloração de PAS, é útil como auxiliar no diagnóstico de doenças de armazenamento do glicogénio. Os reagentes de ácido periódico de Schiff (PAS) destinam-se a "Utilização para diagnóstico *in vitro*". Apenas para utilização por profissionais. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo e manual identificam linfócitos e mucopolissacarídeos em películas de sangue ou medula óssea, bem como tecido fixado em formalina e impregnado em parafina de amostras humanas. Quando analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico e informações, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de infeções fúngicas e doenças de armazenamento do glicogénio. A visualização histológica de linfócitos e mucopolissacarídeos é uma técnica única atualmente utilizada em medicina.

Quando tratados com ácido periódico, os glicóis são oxidados para aldeídos. Após a reação com o reagente de Schiff, a fucsina libertada colora os componentes celulares que contêm os compostos oxidáveis.³ Esta reação pode ser realizada em películas de sangue ou medula óssea, preparações por contacto de tecido ou secções de tecidos.^{1,2}

A digestão da diástase (α -amilase) pode ser utilizada como auxiliar no diagnóstico da doença de armazenamento do glicogénio. A diástase hidrolisa o amido, o glicogénio e os produtos da degradação originários destes polissacarídeos presentes no tecido. Os subprodutos resultantes do processo de digestão são enxaguados antes da coloração PAS.⁴

Está incluída uma técnica para coloração PAS rápida com fornos de micro-ondas.⁵⁻⁷

Reagentes

Solução de ácido periódico (N.º de cat. 3951-100ML e 395132-1L)

Ácido periódico, 1 g/dl

Reagente de Schiff (N.º de cat. 3952-50ML e 3952016-500ML)

Pararosanilina Cloridrato, 1%, e metabissulfito de sódio, 4%, em ácido clorídrico, 0,25 mol/l.

Perigo. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode causar cancro.

Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3 (N.º de cat. GHS3-100ML)

Hematoxilina certificada, 6 g/l, C.I. Iodato de sódio 75290, 0,6 g/l, sulfato de alumínio, 52,8 g/l e estabilizador

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Solução de formaldeído, 37%
- Álcool reagente
- Devem ser incluídas lâminas de controlo positivo a PAS, como PAS TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR009-25EA), em cada série
- Xileno ou substituto do xileno

Apenas procedimentos em micro-ondas

- Forno micro-ondas
- Jarra de Coplin com tampas ventiladas
- Concentrado de Substituto de água da torneira Scott (N.º de cat. S5134-6x100ML)
- α -amilase (apenas para o procedimento de extração de diástase) (N.º de cat. A3176)

Conservação e estabilidade

Conservar a Solução de ácido periódico e o Reagente de Schiff no frigorífico (2-8 °C). Conservar a Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, à temperatura ambiente (18-26 °C). Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada nos rótulos. A formação de precipitados no Reagente de Schiff não afeta o desempenho.

Deterioração

Eliminar a Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, se a solução ficar castanha (excesso de oxidação devido ao ar) ou roxa (perda de acidez), ou quando o tempo necessário para uma coloração adequada exceder o tempo recomendado de procedimento em mais de 5 minutos.

Preparação

A Solução de ácido periódico, o Reagente de Schiff e a Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, são fornecidos prontos a usar. Aquecer os reagentes até à temperatura ambiente (18-26 °C) antes da utilização.

Filtrar o Reagente de Schiff se estiverem presentes precipitados. NOTA: uma ligeira coloração rosa devido à lixiviação da cor das lâminas não interfere com o teste.

A Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott é preparada diluindo 1 parte de Concentrado de Substituto de água da torneira Scott em 9 partes de água desionizada.

A Solução fixadora de formalina/etanol é preparada misturando 5 ml de formaldeído com 45 ml de etanol a 95% (Álcool reagente). Preparar a solução de fresco diariamente e manter bem fechado.

Precauções

Os DIV incluídos neste kit destinam-se a utilização para diagnóstico *in vitro* num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo PAS TISSUE-TROL™ são tecido humano impregnado em parafina que contêm PAS e devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

São utilizadas películas recém-preparadas de sangue total, com heparina ou com EDTA, ou medula óssea. Fixar assim que possível.³

Para os polissacarídeos em tecido fixado em formalina neutra tamponada a 10%, pode ser utilizada a solução de Zenker ou Bouin.¹ Ter em atenção que alguns carboidratos são solúveis em água.² Recomenda-se para a demonstração de glicogénio, solução de Carnoy, solução de Gendre ou formalina - ácido acético - álcool.¹ O tempo necessário para a extração de diástase pode ser prolongado quando o tecido é fixado em ácido pícrico que contém fixador.¹ Cortar secções de tecido de 5 micrones.

Notas

Se for utilizado um forno de micro-ondas, consulte o Manual do Utilizador para obter instruções.

Podem ser incluídas películas de sangue preparadas a partir de indivíduos clinicamente saudáveis para efeitos de controlo. Os leucócitos polimorfonucleares apresentarão uma coloração citoplasmática vermelha intensa. As secções de tecido que se sabe serem positivas para PAS e/ou que contêm glicogénio devem ser incluídas sempre que é realizada uma sequência de coloração.

Procedimento

Sangue, medula óssea ou preparações por contacto de tecido

Procedimento padrão

1. Fixar as películas secas ao ar durante **1 minuto** à **temperatura ambiente** em Solução fixadora de formalina/etanol.
2. Enxaguar as lâminas durante **1 minuto** em água da torneira corrente.
3. Submergir as lâminas em Solução de ácido periódico durante **5 minutos** à **temperatura ambiente**.
4. Enxaguar as lâminas em várias mudanças de água destilada.
5. Submergir as lâminas no Reagente de Schiff durante **15 minutos** à temperatura ambiente. NOTA: imediatamente após a utilização, tapar o Reagente de Schiff e voltar a colocá-lo no frigorífico (2-8 °C).
6. Lavar as lâminas em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
7. Efetuar a contracoloração das lâminas em Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, durante **90 segundos**.
8. Enxaguar as lâminas em água da torneira corrente durante **15-30 segundos**, secar ao ar e examinar microscopicamente com uma lente de imersão em óleo (900x). As lâminas podem ser montadas em suportes de montagem à base de tolueno ou xileno.

Procedimento em micro-ondas

1. Fixar as películas secas ao ar à **temperatura ambiente** durante **1 minuto** em Solução fixadora de formalina/etanol.
2. Enxaguar as lâminas durante **1 minuto** em água da torneira corrente.
3. Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de ácido periódico contida numa jarra de Coplin de plástico.
4. Levantar ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
5. Enxaguar bem em várias mudanças de água desionizada.
6. Colocar as lâminas em **40 ml** de Reagente de Schiff contido numa jarra de Coplin de plástico.
7. Levantar ao micro-ondas a **800 watts** durante **15 segundos**. Misturar a solução com uma pipeta de Beral ou uma vareta aplicadora e deixar incubar durante **1 minuto**.
8. Enxaguar em água da torneira quente a correr suavemente durante **5 minutos**.
9. Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
10. Levantar ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
11. Enxaguar em água da torneira corrente durante **1-2 minutos** e, em seguida, efetuar a coloração a azul na Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott à **temperatura ambiente**.
12. Enxaguar em água da torneira corrente. Deixar secar ao ar.
13. As lâminas podem ser montadas em suportes de montagem à base de tolueno ou xileno.

Secções de tecido

Procedimento padrão

1. Desparafinar e hidratar as secções com água desionizada.
2. Submergir as lâminas em Solução de ácido periódico durante **5 minutos** à **temperatura ambiente** (18-26 °C).
3. Enxaguar a lâmina em várias mudanças de água destilada.
4. Submergir as lâminas no Reagente de Schiff durante **15 minutos** à **temperatura ambiente** (18-26 °C).
5. Lavar as lâminas em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
6. Efetuar a contracoloração das lâminas em Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, durante **90 segundos**.
7. Enxaguar as lâminas em água da torneira corrente.
8. Desidratar, limpar e montar as secções em suporte de montagem à base de tolueno ou xileno.

Procedimento em micro-ondas

1. Desparafinar e hidratar com água desionizada.
2. Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de ácido periódico contida numa jarra de Coplin de plástico. Colocar a tampa sem apertar ou utilizar tampas com orifícios perfurados.
3. Levantar ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
4. Enxaguar bem em várias mudanças de água desionizada.
5. Colocar as lâminas em **40 ml** de Reagente de Schiff contido numa jarra de Coplin de plástico.
6. Levantar ao micro-ondas a **800 watts** durante **15 segundos**. Misturar a solução com uma pipeta de Beral ou uma vareta aplicadora e deixar incubar durante **1 minuto**.

- 7. Enxaguar em água da torneira quente a correr suavemente durante **5 minutos**.
- 8. Colocar as lâminas em Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
- 9. Levar ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
- 10. Enxaguar em água da torneira corrente durante **1–2 minutos** e, em seguida, efetuar a coloração a azul na Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott à **temperatura ambiente**. Enxaguar em água da torneira corrente. Desidratar, limpar e montar.

Procedimento em micro-ondas para digestão da diástase (α-amilase)

- 1. Utilizar lâminas de teste duplicadas. Rotular uma para digestão com diástase e outra apenas para coloração PAS. NOTA: recomenda-se a utilização de lâminas revestidas com um adesivo de tecido. Não impregnar as secções em celoidinas ao realizar a digestão de diástase.¹
- 2. Desparafinar e hidratar as lâminas com água desionizada.
- 3. Preparar a Solução de trabalho de diástase (α-amilase) dissolvendo 0,2 g de α-amilase (N.º de cat. A3176) em 40 ml de água desionizada. Misturar bem e colocar numa jarra de Coplin de plástico. Preparar imediatamente antes de usar.
- 4. Levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **25 segundos**.
- 5. Retirar as lâminas da jarra de Coplin e enxaguar a lâmina digerida em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
- 6. Utilizando ambas as lâminas digeridas e não digeridas, prosseguir para o passo 2 do procedimento em micro-ondas para tecido.

Características do desempenho

As substâncias positivas para PAS apresentam coloração cor-de-rosa a vermelho e os núcleos são apresentados a azul. Uma lâmina de extração de diástase (α-amilase) não terá coloração de PAS visível do glicogénio quando comparada com a lâmina de controlo positivo de glicogénio não digerido.

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características do desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
3951	Solução de ácido periódico	Monócitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Granulócitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Glicogénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Membrana base	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3952	Reagente de Schiff	Monócitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Granulócitos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Glicogénio	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		Membrana base	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
GHS3-50ML	Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e Perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

395B:



H290: Pode ser corrosivo para os metais.

H302: Nocivo por ingestão.

H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H350: Pode causar cancro.

H373: Pode afetar os órgãos (rins) após exposição prolongada ou repetida se ingerido.

H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P273: Evitar a libertação para o ambiente.

P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P301 + P312: EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.

P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva RDIV 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador
	Indica o representante autorizado na Suíça		

Referências

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- 2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- 3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- 4. Thompson SW: Selected Histological and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- 5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Histórico de revisões

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Declaração de auxiliar de diagnóstico movida para a utilização prevista. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Adição de Advertências e Perigos.	
Rev. 7.0	2024
Atualização das convenções de nomenclatura. Revisão da declaração de utilização prevista. Adição das informações CH-REP e do importador	

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

O M inicial, TISSUE-TROL, e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha ou das respetivas afiliadas. Todas as outras marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários. Estão disponíveis informações detalhadas sobre marcas comerciais através de recursos acessíveis ao público.

Sigma-Aldrich®

Οδηγίες χρήσης

Σύστημα χρώσης με περιοδικό οξύ Schiff (Periodic Acid Schiff - PAS)

Διαδικασία αρ. 395

IVD

CE

Merck

Προοριζόμενη χρήση

Το σύστημα χρώσης PAS προσφέρει τυποποιημένες διαδικασίες και διαδικασίες μικροκυμάτων για την ιστοχημική επίδειξη λεμφοκυττάρων και βλεννοπολυσακχαριτών. Η αντίδραση PAS σε τομές ιστών είναι χρήσιμη για την επίδειξη βλεννοπολυσακχαριτών. Η διαδικασία πέψης με διασάση (α-αμυλάση), ακολουθούμενη από τη χρώση PAS, είναι χρήσιμη ως βοήθημα στη διάγνωση της νόσου αποθήκευσης γλυκογόνου. Τα αντιδραστήρια περιοδικού οξέος Schiff (PAS) προορίζονται για «*in vitro*» διαγνωστική χρήση. Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτήν τη μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζουν λεμφοκύτταρα και βλεννοπολυσακχαρίτες σε φιλμ αίματος ή μυελού των οστών, καθώς και σε ιστούς μονιμοποιημένους με φορμαλίνη και εγκλεισμένους σε παραφίνη από ανθρώπινα δείγματα. Αυτά τα δεδομένα, όταν εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις και πληροφορίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα για τη διάγνωση μυκητιασικών λοιμώξεων και νόσων αποθήκευσης γλυκογόνου. Η ιστολογική οπτικοποίηση των λεμφοκυττάρων και των βλεννοπολυσακχαριτών είναι μια μοναδική τεχνική που επί του παρόντος χρησιμοποιείται ευρέως στην ιατρική.

Όταν υποβάλλονται σε επεξεργασία με περιοδικό οξύ, οι γλυκόλες οξειδώνονται σε αλδεΐδες. Μετά την αντίδραση με το αντιδραστήριο Schiff, η απελευθερούμενη φουζίνη χρωματίζει τα κυτταρικά συστατικά που περιέχουν τις οξειδωσιμες ενώσεις.³ Αυτή η αντίδραση μπορεί να πραγματοποιηθεί σε φιλμ αίματος ή μυελού των οστών, παρασκευάσματα ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας ή τομές ιστών.^{1,2}

Η πέψη με διασάση (α-αμυλάση) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα στη διάγνωση της νόσου αποθήκευσης γλυκογόνου. Η διασάση υδrolεύ το άμυλο, το γλυκογόνο και τα προϊόντα αποικοδόμησης που προέρχονται από αυτούς τους πολυσακχαρίτες που υπάρχουν στους ιστούς. Τα παραπροϊόντα που προκύπτουν από τη διαδικασία πέψης ξεπλένονται πριν από τη χρώση PAS.⁴

Περιλαμβάνεται μια τεχνική για ταχεία χρώση PAS με χρήση φούρνων μικροκυμάτων.⁵⁻⁷

Αντιδραστήρια

Διάλυμα περιοδικού οξέος (αρ. καταλόγου 3951-100ML και 395132-1L)

Περιοδικό οξύ, 1 g/dL

Αντιδραστήριο Schiff (αρ. καταλόγου 3952-50ML και 3952016-500ML)

Παροροσανιλίνη HCl, 1%, και μεταδιθειώδες νάτριο, 4%, σε υδροχλωρικό οξύ, 0,25 mol/L. Κίνδυνος. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 (αρ. καταλόγου GHS3-100ML)

Πιστοποιημένη αιματοξυλίνη, 6 g/L, C.I. 75290 ιωδικό νάτριο, 0,6 g/L, θειικό αργίλιο, 52,8 g/L και σταθεροποιητής

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Διάλυμα φορμαλδεΐδης, 37%
- Αλκοόλη αντιδραστήριου
- Θετικές αντικειμενοφόροι πλάκες ελέγχου PAS, όπως PAS TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR009-25EA) θα πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση
- Ξυλένιο ή υποκατάστατο Ξυλένιου

Μόνο διαδικασίες μικροκυμάτων

- Φούρνος μικροκυμάτων
- Δοχείο Corlin με εξερισζόμενα καπάκια
- Συμπύκνωμα υποκατάστατου νερού βρύσης Scott (αρ. καταλόγου S5134-6x100ML)
- α-αμυλάση (μόνο για τη διαδικασία εκχύλισης με διασάση) (αρ. καταλόγου A3176)

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το διάλυμα περιοδικού οξέος και το αντιδραστήριο Schiff σε ψυγείο (2–8 °C). Φυλάσσετε το διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στις ετικέτες. Ο σχηματισμός ιζήματος στο αντιδραστήριο Schiff δεν επηρεάζει την απόδοση.

Αλλοίωση

Απορρίψτε το διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, εάν το διάλυμα γίνει καφέ (υπερβολική οξειδωση από τον αέρα) ή μοβ (απώλεια οξύτητας) ή όταν ο χρόνος που απαιτείται για την κατάλληλη χρώση υπερβαίνει τον χρόνο που συνιστάται στη διαδικασία κατά περισσότερο από 5 λεπτά.

Παρασκευή

Το διάλυμα περιοδικού οξέος, το αντιδραστήριο Schiff και το διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 παρέχονται έτοιμα για χρήση. Θερμάνετε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C) πριν από τη χρήση.

Φιλτράρετε το αντιδραστήριο Schiff εάν υπάρχει ιζήμα. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ένας ελαφρύς ροζ χρωματισμός λόγω απόλυσης του χρώματος από τις αντικειμενοφόρους δεν επηρεάζει τη δοκιμή.

Το διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott παρασκευάζεται αραιώνοντας 1 μέρος συμπυκνώματος υποκατάστατου νερού βρύσης Scott με 9 μέρη αποιονισμένου νερού.

Το μονιμοποιητικό διάλυμα φορμαλίνης-αιθανόλης παρασκευάζεται με ανάμειξη 5 mL φορμαλδεΐδης με 45 mL αιθανόλης 95% (αλκοόλη αντιδραστήριου). Παρασκευάζετε φρέσκο καθημερινά και διατηρείτε το καπάκι ερμητικά κλειστό.

Προφυλάξεις

Τα βοηθήματα IVD που περιλαμβάνονται σε αυτό το κιτ προορίζονται για *in vitro* διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκόπια και άλλον εργαστηριακό εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνήθειες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες ελέγχου PAS TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ανθρώπινος ιστός που περιέχει PAS και θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικά μολυσματικές.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμσίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοίμωξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικά μολυσματικά.

Χρησιμοποιούνται φιλμ πρόσφατα παρασκευασμένου ολικού, με EDTA ή ηπαρινισμένου αίματος ή μυελού των οστών. Μονιμοποιήστε το συντομότερο δυνατόν.³

Για τους πολυσακχαρίτες μπορεί να χρησιμοποιηθεί ιστός μονιμοποιημένος σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης, διάλυμα Zenker ή Bouin.¹ Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένοι υδατάνθρακες είναι υδατοδιαλυτοί.² Για την επίδειξη του γλυκογόνου συνιστάται υγρό Carnoy, υγρό Gendre ή όξινη αλκοολική φορμαλίνη.¹ Ο χρόνος που απαιτείται για την εκχύλιση με διασάση μπορεί να παραταθεί όταν ο ιστός είναι μονιμοποιημένος σε μονιμοποιητικό που περιέχει πικρικό οξύ.⁴ Κόψτε τομές ιστού στα 5 micron.

Σημειώσεις

Εάν χρησιμοποιείται φούρνος μικροκυμάτων, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο κατόχου για οδηγίες.

Για σκοπούς ελέγχου, μπορούν να συμπεριληφθούν φιλμ αίματος που παρασκευάζονται από κλινικά υγιή άτομα. Τα πολυμορφιστήρια λευκοκυττάρων παρουσιάζουν έντονη κόκκινη κυτταροπλασματική χρώση. Τομές ιστών που είναι γνωστό ότι είναι PAS θετικές ή/και περιέχουν γλυκογόνο θα πρέπει να περιλαμβάνονται κάθε φορά που πραγματοποιείται μια αλληλουχία χρώσης.

Διαδικασία

Αίμα, μυελός των οστών ή παρασκευάσματα ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας

Τυπική διαδικασία

- Μονιμοποιήστε τα αποξηραμένα στον αέρα φιλμ για **1 λεπτό** σε **θερμοκρασία δωματίου** σε μονιμοποιητικό διάλυμα φορμαλίνης-αιθανόλης.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες για **1 λεπτό** σε αργά τρεχούμενο νερό βρύσης.
- Εμβάψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε διάλυμα περιοδικού οξέος για **5 λεπτά** σε **θερμοκρασία δωματίου**.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε πολλές αλλαγές αποσταγμένου νερού.
- Εμβάψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες στο αντιδραστήριο Schiff για **15 λεπτά** σε θερμοκρασία δωματίου.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αμέσως μετά τη χρήση, πωμάτιστε το αντιδραστήριο Schiff και επιστρέψτε το στο ψυγείο (2–8 °C).
- Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- Πραγματοποιήστε αντίχρωση τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, για **90 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **15–30 δευτερόλεπτα**, ξηράνετε στον αέρα και εξετάστε μικροσκοπικά με φακό εμβάπτισης σε λάδι (900x). Οι αντικειμενοφόροι πλάκες μπορούν να καλυφθούν σε μέσα κάλυψης με βάση τολουένιο ή Ξυλένιο.

Διαδικασία μικροκυμάτων

- Μονιμοποιήστε τα αποξηραμένα στον αέρα φιλμ σε **θερμοκρασία δωματίου** για **1 λεπτό** σε μονιμοποιητικό διάλυμα φορμαλίνης-αιθανόλης.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες για **1 λεπτό** σε αργά τρεχούμενο νερό βρύσης.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** διαλύματος περιοδικού οξέος που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
- Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε καλά σε πολλές αλλαγές αποιονισμένου νερού.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** αντιδραστήριου Schiff που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
- Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **15 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε το διάλυμα με πιπέτα Beral ή στελεό εφαρμογής και αφήστε να επωαστεί για **1 λεπτό**.
- Ξεπλύνετε με ζεστό, ήπια τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** διαλύματος αιματοξυλίνης Gill αρ. 3 που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
- Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **1–2 λεπτά** και κατόπιν προκαλέστε μπλε χρώση σε διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott σε **θερμοκρασία δωματίου**.
- Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης. Ξηράνετε στον αέρα.
- Οι αντικειμενοφόροι πλάκες μπορούν να καλυφθούν σε μέσα κάλυψης με βάση τολουένιο ή Ξυλένιο.

Τομές ιστών

Τυπική διαδικασία

- Αποπαραφινώστε και ενυδατώστε τις τομές σε αποιονισμένο νερό.
- Εμβάψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε διάλυμα περιοδικού οξέος για **5 λεπτά** σε **θερμοκρασία δωματίου** (18–26 °C).
- Ξεπλύνετε την αντικειμενοφόρο πλάκα σε πολλές αλλαγές αποσταγμένου νερού.
- Εμβάψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε αντιδραστήριο Schiff για **15 λεπτά** σε **θερμοκρασία δωματίου** (18–26 °C).
- Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- Πραγματοποιήστε αντίχρωση τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, για **90 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
- Αφυδατώστε, διαυγάστε και καλύψτε τις τομές σε μέσα κάλυψης με βάση τολουένιο ή Ξυλένιο.

Διαδικασία μικροκυμάτων

- 1. Αποπαραινώστε και ενυδατώστε σε αποιονισμένο νερό.
- 2. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** διαλύματος περιοδικού οξέος που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin. Καλύψτε χαλαρά το δοχείο με καπάκι ή χρησιμοποιήστε καπάκια με οπές.
- 3. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**.
- 4. Ξεπλύνετε καλά σε πολλές αλλαγές αποιονισμένου νερού.
- 5. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** αντιδραστήριου Schiff που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
- 6. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **15 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε το διάλυμα με πιπέτα Beral ή στείλεο εφαρμογής και αφήστε να επωαστεί για **1 λεπτό**.
- 7. Ξεπλύνετε με ζεστό, ήπια τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- 8. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε διάλυμα αιματοξυλίνης Gill αρ. 3, που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
- 9. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**.
- 10. Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **1–2 λεπτά** και κατόπιν προκαλέστε μπλε χρώση σε διάλυμα εργασίας υποκατάστατο νερού βρύσης Scott **σε θερμοκρασία δωματίου**. Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης. Αφυδατώστε, διαυγάστε και καλύψτε.

Διαδικασία μικροκυμάτων για πέψη με διαστάση (α-αμυλάση)

- 1. Χρησιμοποιήστε διπλότυπες αντικειμενοφόρους πλάκες δοκιμασίας. Επισημάνετε μία για πέψη με διαστάση και μία μόνο για χρώση PAS.ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Συνιστάται η χρήση αντικειμενοφόρων πλακών επικαλυμμένων με συγκολλητικό ιστού. Μην εφαρμόζετε σελλοιδίνη στις τομές όταν πραγματοποιείτε πέψη με διαστάση.¹
- 2. Αποπαραινώστε και ενυδατώστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε αποιονισμένο νερό.
- 3. Παρασκευάστε διάλυμα εργασίας διαστάσης (α-αμυλάση) διαλύοντας 0,2 g α-αμυλάσης, (αρ. καταλόγου A3176), σε 40 mL αποιονισμένου νερού. Αναμείξτε καλά και τοποθετήστε σε πλαστικό δοχείο Corlin. Προετοιμάστε αμέσως πριν από τη χρήση.
- 4. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **25 δευτερόλεπτα**.
- 5. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες από το δοχείο Corlin και ξεπλύνετε την αντικειμενοφόρο πλάκα που έχει υποστεί πέψη σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- 6. Χρησιμοποιώντας τόσο την αντικειμενοφόρο πλάκα που έχει υποστεί πέψη όσο και εκείνη που δεν έχει υποστεί πέψη, προχωρήστε στη διαδικασία μικροκυμάτων για ιστό, βήμα 2.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Οι PAS θετικές ουσίες χρωματίζονται από ροζ έως κόκκινο και οι πυρήνες είναι μπλε. Μια αντικειμενοφόρος πλάκα εκχύλισης με διαστάση (α-αμυλάση) δεν θα έχει ορατή χρώση PAS του γλυκογόνου σε σύγκριση με τη θετική αντικειμενοφόρο πλάκα ελέγχου γλυκογόνου που δεν έχει υποστεί πέψη.

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες δομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ. καταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
3951	Διάλυμα περιοδικού οξέος	Μονοκύτταρα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κοκκιοκύτταρα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Γλυκογόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Βασική μεμβράνη	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3952	Αντιδραστήριο Schiff	Μονοκύτταρα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Κοκκιοκύτταρα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Γλυκογόνο	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		Βασική μεμβράνη	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
GHS3-50ML	Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3	Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφάλειας.

395B:



- H290: Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.
- H302: Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
- H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H350: Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.
- H373: Μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα όργανα (νεφροί) ύστερα από παρατεταμένη ή επανειλημμένη έκθεση, σε περίπτωση κατάποσης.
- H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.
- P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.
- P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P301 + P312: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό, αν αισθανθείτε αδιαθεσία.
- P303 + P361 + P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.

P304 + P340 + P310: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εάν είναι εύκολο. Συνεχίστε την έκπλυση.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας
	Υποδεικνύει τον Εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ελβετία		

Βιβλιογραφικές αναφορές

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- 2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- 3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- 4. Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- 5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για την τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2022
Αναθ. 6.0	2022
	Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η δήλωση βοηθήματος για διάγνωση μεταφέρθηκε στην προβλεπόμενη χρήση. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανειδίκευτα συμβάντα. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων.
Αναθ. 7.0	2024
	Ενημερώθηκαν οι συμβάσεις ονοματοδοσίας. Αναθεωρήθηκε η δήλωση προβλεπόμενης χρήσης. Προστέθηκαν τα στοιχεία CH-REP και του εισαγωγέα

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Το αρχικό γράμμα M, το TISSUE-TROL και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany ή των συνδεδεμένων με αυτήν εταιρειών. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω δημοσίων προσβάσιμων πόρων.

Használati utasítás

Perjódsvav-Schiff (PAS) Festési rendszer

395. sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A PAS festési rendszer standard és mikrohullámú eljárásokat biztosít a limfociták és a mukopoliszacharidok szövettani kimutatására. A PAS-reakció szöveti metszeteken a mukopoliszacharidok kimutatására alkalmas. A diasztáz (α-amiláz) emésztési eljárás, majd a PAS-festés hasznos segítség a glikogénraktározási betegségek diagnosztikájában. A Perjódsvav-Schiff (PAS) reagens „*in vitro* diagnosztikai felhasználásra” szolgál. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok azonosítják a limfocitákat és a mukopoliszacharidokat a vér- vagy csontvelőkenetekben, valamint a humán mintákból származó formalinnal fixált, paraffinba ágyazott szövetekben. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók a gombás fertőzések és a glikogénraktározási betegségek diagnosztikájához. A limfociták és a mukopoliszacharidok szövettani megjelenítése egy egyedülálló, az orvostudományban jelenleg általánosan használt technika.

Perjódsvavval kezelve a glikolok aldehidekké oxidálódnak. A Schiff-reagenssel való reakciót követően a felszabaduló fukszin megfesti az oxidálható vegyületeket tartalmazó sejtkomponenseket.³ Ez a reakció vér- vagy csontvelőkenetekben, szövetlenyomat-preparátumokon vagy szövetmetszeteken végezhető el.^{1,2}

A diasztáz (α-amiláz) emésztést a glikogénraktározási betegség diagnosztikájának segédeszközeként lehet alkalmazni. A diasztáz hidrolizálja a keményítőt, a glikogént és az ezekből a szövetekben lévő poliszacharidokból származó bomlástermégeket. Az emésztési folyamat során keletkező melléktermékeket a PAS-festés előtt leöblítik.⁴

Tartalmaz egy PAS-festési technikát mikrohullámú sütőben végzett gyorsfestéssel.⁵⁻⁷

Reagens

Perjódsvav oldat (kat. sz.: 3951-100ML és 395132-1L)

Perjódsvav, 1 g/dl

Schiff-reagens (kat. sz.: 3952-50ML és 3952016-500ML)

Pararosanilin HCl, 1% és nátrium-metabiszulfid, 4%, 0,25 mol/l sósavban. Veszély. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Rákot okozhat.

Hematoxilinoladat, Gill III (kat. sz.: GHS3-100ML)

Tanúsított hematoxinin, 6 g/l, C.I. 75290; nátrium-jodát, 0,6 g/l; alumínium-szulfát, 52,8 g/l és stabilizálószer

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Formaldehid oldat, 37%
- Reagens alkohol
- Minden futtatásba be kell vonni pozitív PAS kontroll tárgylemezeket, mint például a PAS TISSUE-TROL™ (kat. sz.: TTR009-25EA)
- Xilol vagy xilolt helyettesítő anyag

Kizárólag mikrohullámú eljárások

- Mikrohullámú sütő
- Küvetta szellőzőnyílással ellátott fedelekkkel
- Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum (kat. sz.: S5134-6x100ML)
- α-Amiláz (csak a diasztáz extrakciós eljáráshoz) (kat. sz.: A3176)

Tárolás és stabilitás

A perjódsvav oldatot és a Schiff-reagenst hűtőszekrényben (2–8 °C) kell tárolni. A Gill III hematoxilinoladot szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. A reagens a címkén feltüntetett lejárati dátumig stabilak. A csapadék képződése a Schiff-reagensben nem befolyásolja a teljesítményt.

Bomlás

Dobja ki a Gill III hematoxilinoladot, ha az oldat barna színűvé (túloxidálódott a levegőn) vagy lilává (savasság elvesztése) válik, vagy ha a megfelelő festési idő több mint 5 perccel meghaladja az eljárás során ajánlott időt.

Előkészítés

A perjódsvav oldat, a Schiff-reagens és a Gill III hematoxilinolad használatra kész. Használat előtt melegítse szobahőmérsékletűre (18–26 °C) a reagenset.

Ha csapadék van jelen, szűrje le a Schiff-reagenst. MEGJEGYZÉS: A tárgylemezekből történő szinkiolódás miatti enyhe rózsaszín elszíneződés nem zavarja a vizsgálatot.

A Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaoldatának elkészítéséhez hígítson 1 rész Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot 9 rész ioncserélt vízzel.

A formalin-etanol rögzítőoldat elkészítéséhez keverjen össze 5 ml formaldehidet 45 ml 95%-os etanolal (reagens alkohol). Készítsen naponta frisseket, és tartsa szorosan lezárva.

Óvintézkedések

A készletben található *in vitro* diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az *in vitro* diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich *in vitro* diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő színérzékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagens kezelésé során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékot a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A PAS TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, PAS-t tartalmazó emberi szövetek található, amelyeket potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérvérvétel vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Frissen készített teljes vagy EDTA-heparinizált vér- vagy csontvelőkenetek használhatók. A lehető leghamarabb végezze el a rögzítést.³

A poliszacharidok kimutatására 10%-os semleges puffertel formalinban, Zenker- vagy Bouin-folyadékban rögzített szövetek használhatók.¹ Meg kell jegyezni, hogy egyes szénhidrátok vízben oldódnak.² A glikogén kimutatására Carnoy-folyadék, Gendre-folyadék vagy savas alkoholos formalin használata ajánlott.¹ A diasztáz kivonásához szükséges idő meghosszabbodhat, ha a szövetet pikrinsavtartalmú fixálóban rögzítik.¹ A szöveteket 5 mikronos metszetekre vágják.

Megjegyzések

Mikrohullámú sütő használata esetén az utasításokat lásd a használati útmutatóban.

A klinikailag egészséges egyénektől vett vérkenetek kontroll céljából bevonhatók.

A polimorfonukleáris leukociták intenzív vörös citoplazmafestődést mutatnak. A PAS-pozitív és/vagy glikogént tartalmazó szövetmetszeteket minden festési sorozat elvégzésekor be kell vonni.

Eljárás

Vér-, csontvelőkenetek vagy szövetlenyomat-preparátumok

Standard eljárás

- Fixálja a levegőn szárított keneteket **1 percig szobahőmérsékleten** formalin-etanol rögzítőoldatban.
- Öblítse a tárgylemezeket **1 percig** lassan folyó csapvízzel.
- Merítse a tárgylemezeket **5 percre szobahőmérsékleten** perjódsvavas oldatba.
- Öblítse a tárgylemezeket többször váltott desztillált vízzel.
- Merítse a tárgylemezeket **15 percre** szobahőmérsékleten Schiff-reagensbe. MEGJEGYZÉS: Használat után azonnal zárja le a Schiff-reagens kupakját, és tegye vissza a hűtőszekrénybe (2–8 °C).
- Mossa a tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
- Végezze el a tárgylemezek ellenfestését Gill III hematoxilinoladban **90 másodpercig**.
- Öblítse a tárgylemezeket folyó csapvízben **15–30 másodpercig**, szárítsa meg levegőn, és vizsgálja meg mikroszkóposan olajimmériós (900x) lencse alatt. A tárgylemezek toluol- vagy xilolalapú fedőközegbe helyezhetők.

Mikrohullámú eljárás

- Fixálja a levegőn szárított keneteket **szobahőmérsékleten 1 percig** formalin-etanol rögzítőoldatban.
- Öblítse a tárgylemezeket **1 percig** lassan folyó csapvízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** perjódsvav oldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Öblítse a tárgylemezeket többször váltott ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** Schiff-reagensbe.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 15 másodpercig**. Keverje össze az oldatot egy pipettával vagy applikátorpálccával, és inkubálja **1 percig**.
- Öblítse őket óvatosan folyó csapvízben **5 percig**.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** Gill III hematoxilinoladban.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Öblítse le folyó csapvízben **1–2 percig**, majd kékítse **szobahőmérsékleten** Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaoldatban.
- Öblítse folyó csapvízzel. Hagyja a lemezeket levegőn száradni.
- A tárgylemezek toluol- vagy xilolalapú fedőközegbe helyezhetők.

Szövetmetszetek

Standard eljárás

- Deparaffinálja és hidratálja a metszeteket ioncserélt vízig.
- Merítse a tárgylemezeket **5 percre szobahőmérsékleten** (18–26 °C) perjódsvavas oldatba.
- Öblítse a tárgylemezt többször váltott desztillált vízzel.
- Merítse a tárgylemezeket **15 percre szobahőmérsékleten** (18–26 °C) Schiff-reagensbe.
- Mossa a tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
- Végezze el a tárgylemezek ellenfestését Gill III hematoxilinoladban **90 másodpercig**.
- Öblítse a tárgylemezeket folyó csapvízzel.
- Dehidratálja, derítse és fedje le a metszeteket toluol- vagy xilolalapú fedőközegben.

Mikrohullámú eljárás

- Deparaffinálja és hidratálja a metszeteket ioncserélt vízig.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** perjódsvav oldatba. Lazán fedje le a küvetta fedővel, vagy használjon lyukakkal ellátott fedeleket.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Öblítse a tárgylemezeket többször váltott ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** Schiff-reagensbe.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 15 másodpercig**. Keverje össze az oldatot egy pipettával vagy applikátorpálccával, és inkubálja **1 percig**.
- Öblítse őket óvatosan folyó csapvízben **5 percig**.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, Gill III hematoxilinoladban.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Öblítse le folyó csapvízben **1–2 percig**, majd kékítse **szobahőmérsékleten** Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaoldatban. Öblítse folyó csapvízzel. Dehidratálja, derítse és fedje le.

Mikrohullámú eljárás a diasztáz (α-Amiláz) emésztéshez

- Használjon két tesztlemezt. Jelöljön meg egyet a diasztázal történő emésztéshez, egyet pedig csak a PAS festéshez. MEGJEGYZÉS: Szövetragasztóval bevont tárgylemezek használata ajánlott. Diasztáz emésztéskor ne celloidizálja a metszeteket.¹
- Deparaffinálja és hidratálja a metszeteket ioncserélt vízig.
- Készítsen diasztáz (α-amiláz) munkaoldatot 0,2 g α-amiláz (kat. sz.: A3176) 40 ml ioncserélt vízben való feloldásával. Alaposan keverje össze, és öntse műanyag küvetta. Közvetlenül a felhasználás előtt készítse el.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 25 másodpercig**.

5. Vegye ki a tárgylemezeket a küvettaból, és öblítse az emésztett tárgylemezt folyó csapvízben **5 percig**.
6. Mind az emésztett, mind a nem emésztett tárgylemezek felhasználásával folytassa a Mikrohullámú eljárás szövetek esetén rész 2. lépését.

Teljesítményjellemzők

A PAS-pozitív anyagok rózsaszíntől a vörösig terjedő színűek, a sejtmagok pedig kék színűek. A diasztáz (α-Amiláz) extrakciós tárgylemezen a glikogén PAS-festés nem lesz látható, ha összehasonlítjuk a nem emésztett glikogén pozitív kontroll tárgylemezzel.

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenységet, specifitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifitás	Tesztek közötti érzékenység
3951	Perjódsav oldat	Monociták	3/3	3/3	3/3	3/3
		Granulociták	3/3	3/3	3/3	3/3
		Glikogén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Bazális membrán	3/3	3/3	3/3	3/3
3952	Schiff-reagens	Monociták	3/3	3/3	3/3	3/3
		Granulociták	3/3	3/3	3/3	3/3
		Glikogén	3/3	3/3	3/3	3/3
		Bazális membrán	3/3	3/3	3/3	3/3
GHS3-50ML	Hematoxilinoldat, Gill III	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információkért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

395B:



H290: Fémekre korrozív hatású lehet.

H302: Lenyelve ártalmas.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H350: Rákot okozhat.

H373: Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén lenyelve károsíthatja a szerveket (vese).

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P301 + P312: LENYELÉS ESETÉN: Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P303 + P361 + P353: HA BÖRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Folytassa az öblítést.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos baleset történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságnak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Lejárat dátum		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr
	Meghatalmazott képviselő Svájcban		

Hivatkozások

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977

4. Thompson SW: Selected Histological and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com](#). Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Átdolgozási előzmények

4.0 átd.	2016
5.0 átd.	2022
6.0 átd.	2022
Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnózishoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használatához. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása.	
7.0 átd.	2024
Az elnevezési konvenciók frissítése. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása. CH-REP és importőr információk hozzáadása	



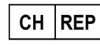
Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Az „M” kezdőbetű, a TISSUE-TROL és a Sigma-Aldrich a Merck KGaA (Darmstadt, Németország) vagy leányvállalatainak védjegyei. Minden egyéb védjegy a megfelelő tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekre vonatkozó részletes információk nyilvánosan hozzáférhető forrásokon keresztül érhetők el.

Návod k použití

Schiffovo činidlo s kyselinou jodistou (PAS) Barvicí systém

Postup č. 395



Určené použití

Barvicí systém PAS nabízí standardní a mikrovlnné postupy pro histochemické prokázání lymfocytů a mukopolysacharidů. Reakce PAS v tkáňových řezech je užitečná k prokázání mukopolysacharidů. Proces štěpení α -amylázy (AMS) následovaný barvením PAS je užitečný jako pomůcka při diagnostice poruchy ukládání glykogenu. Schiffova činidla s kyselinou jodistou (PAS) jsou určena k „diagnostickému použití *in vitro*“. Pouze k profesionálnímu použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu identifikují z lidských vzorků lymfocyty a mukopolysacharidy v nátěrech krve nebo kostní dřeni a v tkáni fixované formalinem zalité v parafínu. Tyto údaje mohou být při přezkoumání ve spojení s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice infekcí způsobených houbami a poruch ukládání glykogenu. Histologická vizualizace lymfocytů a mukopolysacharidů je unikátní technikou, která se v současnosti v medicíně běžně používá.

Při vystavení působení kyseliny jodisté se glykoly oxidují na aldehydy. Po reakci s Schiffovým činidlem obarví uvolněný fuchsin buněčné složky obsahující oxidovatelné složky.³ Tuto reakci lze provádět na nátěrech krve nebo kostní dřeni, tkáňových dotykových preparátech nebo na tkáňových řezech.^{1,2}

Štěpení α -amylázy (AMS) lze použít jako pomůcku při diagnostice poruch ukládání glykogenu. α -amyláza hydrolyzuje škrob, glykogen a produkty rozkladu těchto polysacharidů přítomných v tkáni. Výsledné vedlejší produkty procesu štěpení jsou vypláchnuty před barvením PAS.⁴

Součástí je technika pro rychlé barvení PAS s použitím mikrovlnného procesu.⁵⁻⁷

Činidla

Roztok kyseliny jodisté (kat. č. 3951-100ML a 395132-1L)

Kyselina jodistá, 1 g/dl

Schiffovo činidlo (kat. č. 3952-50ML a 3952016-500ML)

Pararosanilin HCl, 1%, a disiřičitan sodný, 4%, v kyselině chlorovodíkové, 0,25 mol/l. Nebezpečí. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může způsobit rakovinu.

Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 (kat. č. GHS3-100ML)

Certifikovaný hematoxylin, 6 g/l, C.I. 75290 jodičnan sodný, 0,6 g/l, síran hlinitý, 52,8 g/l a stabilizátor

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Roztok formaldehydu, 37%
- Reagenční alkohol
- V každé zkoušce by měly být zařazeny pozitivní kontrolní preparáty PAS, jako je např. PAS TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR009-25EA)
- Xylen nebo náhražka xylenu

Pouze mikrovlnné procesy

- Mikrovlnná trouba
- Coplinova nádoba s odvětrávanými víčky
- Scottův koncentrát nahrazující vodu z vodovodu (kat. č. S5134-6x100ML)
- α -amyláza (pouze pro postupy extrakce α -amylázy) (kat. č. A3176)

Skladování a stabilita

Skladujte roztok kyseliny jodisté a Schiffovo činidlo v chladničce (2–8 °C). Uchovávejte roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 při pokojové teplotě (18–26 °C). Činidla jsou stabilní do data spotřeby uvedeného na štítech. Formování precipitátu v Schiffově činidle nemá vliv na pracovní charakteristiky.

Znehodnocení

Pokud roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 zhnědne (nadměrně oksyložený ze vzduchu) nebo zfaloví (ztráta kyselosti), anebo pokud doba nezbytná pro dostatečné zbarvení překročí dobu doporučenou v postupu o více než 5 minut, roztok zlikvidujte.

Příprava

Roztok kyseliny jodisté, Schiffovo činidlo a roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 se dodávají připravené k použití. Před použitím zahřejte činidla na pokojovou teplotu (18–26 °C).

Je-li přítomen precipitát, Schiffovo činidlo přefiltrujte. POZNÁMKA: Lehce růžové zbarvení způsobené louhováním barvy ze sklíček test nenarušuje.

Pracovní roztok Scottovy náhražky vody z vodovodu se připraví zředěním 1 dílu Scottova koncentrátu nahrazujícího vodu z vodovodu 9 díly deionizované vody.

Fixační roztok formalínu a ethanolu se připraví smícháním 5 ml formaldehydu se 45 ml 95% ethanolu (reagenční alkohol). Připravujte denně čerstvý roztok a uchovávejte jej těsně uzavřený víčkem.

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* obsažené v této soupravě jsou určeny k diagnostickému použití *in vitro* v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Kontrolní preparáty PAS TISSUE-TROL™ jsou lidská tkáň zalitá v parafínu obsahující PAS a je třeba je považovat za potenciálně infekční.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Používají se čerstvě připravené nátery kostní dřeni nebo plné, EDTA či heparinizované krve. Fixujte co nejdříve.³

Pro polysacharidy lze použít tkáň fixovanou v 10% neutrálním pufovaném formalínu, Zenkerově nebo Bouinově fixačním roztoku.¹ Je vhodné poznamenat, že některé karbohydráty jsou rozpustné ve vodě.² K prokázání glykogenu se doporučuje Carnoyho tekutina, Gendrehova tekutina nebo formalin s kyselinou a alkoholem.¹ Čas potřebný na extrakci α -amylázy se může prodlužovat, je-li tkáň fixovaná v kyselině pikrové obsahující fixační prostředky.¹ Vytvářejte tkáňové řezy s tloušťkou 5 mikronů.

Poznámky

Pokud se používá mikrovlnná trouba, projděte si pokyny v příručce vlastníka.

Pro kontrolní účely lze zahrnout nátery krve připravené z materiálu klinicky zdravých jedinců. Polymorfonukleární leukocyty vykazou intenzivní červené cytoplazmatické zbarvení. Při každém provádění sekvence barvení je třeba přidat tkáňové řezy, o nichž se ví, že jsou PAS pozitivní nebo obsahují glykogen.

Postup

Preparáty krve, kostní dřeni nebo tkáňové dotykové preparáty

Standardní postup

- Fixujte nátery vysušené na vzduchu po dobu **1 minuty** při **pokojevé teplotě** ve fixačním roztoku formalínu a ethanolu.
- Oplachujte sklíčka **1 minutu** pomalu tekoucí vodou z vodovodu.
- Ponořte sklíčka na **5 minut** při **pokojevé teplotě** do roztoku kyseliny jodisté.
- Opláchněte sklíčka destilovanou vodou, několikrát ji přitom vyměňte.
- Ponořte sklíčka do Schiffova činidla na **15 minut** při **pokojevé teplotě**. POZNÁMKA: Ihned po použití uzavřete Schiffovo činidlo víčkem a vraťte do chladničky (2–8 °C).
- Oplachujte preparáty vodou z vodovodu po dobu **5 minut**.
- Provádějte kontrastní zbarvení preparátů v roztoku hematoxylinu podle Gilla č. 3 po dobu **90 sekund**.
- Oplachujte preparáty tekoucí vodou z vodovodu po dobu **15–30 sekund**, nechte uschnout na vzduchu a mikroskopicky prozkoumejte pomocí čočky s olejovou imerzí (900x). Preparáty mohou být upevněny v toluenu nebo v médiu na bázi xylenu.

Mikrovlnný postup

- Nátery vysušené na vzduchu fixujte při **pokojevé teplotě** po dobu **1 minuty** ve fixačním roztoku formalínu a ethanolu.
- Oplachujte preparáty po dobu **1 minuty** pomalu tekoucí vodou z vodovodu.
- Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku kyseliny jodisté v plastové Coplinově nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **10 sekund**.
- Dobře opláchněte deionizovanou vodou, kterou několikrát vyměňte.
- Vložte sklíčka do **40 ml** Schiffova činidla v plastové Coplinově nádobě.
- Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **15 sekund**. Promíchejte roztok pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou a nechte inkubovat **1 minutu**.
- Oplachujte teplotu, mírně tekoucí vodou z vodovodu po dobu **5 minut**.
- Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku hematoxylinu podle Gilla č. 3 v plastové Coplinově nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **10 sekund**.
- Oplachujte tekoucí vodou z vodovodu po dobu **1–2 minut**, pak barvěte namodro v pracovním roztoku Scottovy náhražky vody z vodovodu při **pokojevé teplotě**.
- Opláchněte tekoucí vodou z vodovodu. Vysušte na vzduchu.
- Preparáty mohou být upevněny v toluenu nebo v médiu na bázi xylenu.

Tkáňové řezy

Standardní postup

- Odparafinujte a hydratujte řezy v deionizované vodě.
- Při **pokojevé teplotě** (18–26 °C) ponořte preparáty na **5 minut** do roztoku kyseliny jodisté.
- Opláchněte sklíčko destilovanou vodou, kterou několikrát vyměňte.
- Ponořte sklíčka na **15 minut** do Schiffova činidla při **pokojevé teplotě** (18–26 °C).
- Oplachujte preparáty vodou z vodovodu po dobu **5 minut**.
- Provádějte kontrastní zbarvení preparátů v roztoku hematoxylinu podle Gilla č. 3 po dobu **90 sekund**.
- Opláchněte sklíčka tekoucí vodou z vodovodu.
- Dehydratujte, projasněte a upevněte řezy v toluenu nebo v médiu na bázi xylenu.

Mikrovlnný postup

- Odparafinujte a hydratujte v deionizované vodě.
- Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku kyseliny jodisté v plastové Coplinově nádobě. Volně uzavřete nádobu víkem, nebo použijte víka s vyvrtanými otvory.
- Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **10 sekund**.
- Dobře opláchněte deionizovanou vodou, kterou několikrát vyměňte.
- Vložte sklíčka do **40 ml** Schiffova činidla v plastové Coplinově nádobě.
- Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **15 sekund**. Promíchejte roztok pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou a nechte inkubovat **1 minutu**.
- Oplachujte teplotu, mírně tekoucí vodou z vodovodu po dobu **5 minut**.
- Vložte sklíčka do roztoku hematoxylinu podle Gilla č. 3 v plastové Coplinově nádobě.
- Provádějte mikrovlnný ohřev při **800 wattech** po dobu **10 sekund**.
- Oplachujte tekoucí vodou z vodovodu po dobu **1–2 minut**, pak barvěte namodro v pracovním roztoku Scottovy náhražky vody z vodovodu při **pokojevé teplotě**. Opláchněte tekoucí vodou z vodovodu. Dehydratujte, projasněte a upevněte.

Mikrovlnný postup pro štěpení α -amylázy (AMS)

- Použijte duplicitní testovací sklíčka. Označte jedno štítkem pro štěpení s α -amylázou a jedno pouze pro barvení PAS. POZNÁMKA: Doporučují se sklíčka potažená tkáňovým adhezivem. Při provádění štěpení α -amylázy na řezy nepoužívejte celoidin.¹
- Odparafinujte a hydratujte sklíčka v deionizované vodě.
- Připravte pracovní roztok α -amylázy (AMS) rozpouštěním 0,2 g α -amylázy (kat. č. A3176) ve 40 ml deionizované vody. Dobře promíchejte a umístěte do plastové Coplinovy nádoby. Připravte bezprostředně před použitím.

4. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **25 sekund**.
5. Vyjměte sklíčka z Coplinovy nádoby a oplachujte sklíčko podrobené rozkladu pod tekoucí vodou z vodovodu po dobu **5 minut**.
6. S použitím sklíčka podrobeného rozkladu i sklíčka bez rozkladu pokračujte krokem 2 mikrovlnného postupu pro tkáň.

Pracovní charakteristiky

PAS pozitivní látky se zbarví růžově až červeně a jádra jsou modrá. Sklíčko pro extrakci α-amylázy (AMS) nebude mít žádné viditelné zbarvení PAS glykogenu v porovnání s kontrolním pozitivním preparátem nerozloženého glykogenu.

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
3951	Roztok kyseliny jodisté	Monocyty	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Granulocyty	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Glykogen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Bazální membrána	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3952	Schiffovo činidlo	Monocyty	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Granulocyty	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Glykogen	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		Bazální membrána	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
GHS3-50ML	Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3	Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a nebezpečí

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

395B:



- H290: Může být korozivní pro kovy.
- H302: Zdraví škodlivý při požití.
- H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H350: Může způsobit rakovinu.
- H373: Může způsobit poškození orgánů (ledviny) při prodloužené nebo opakované expozici při požití.
- H412: Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
- P273: Zabraňte uvolňování do životního prostředí.
- P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P301 + P312: PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
- P303 + P361 + P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P304 + P340 + P310: PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Pokud během nebo v důsledku používání tohoto prostředku došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobcí nebo jeho autorizovanému zástupci a svému národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symbody definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si Návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVDR 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce
	Označuje autorizovaného zástupce ve Švýcarsku		

Reference

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), str. 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, str. 216–220, 1985

3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), str. 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Historie revizí

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Přesunutí nápovědy k určení diagnózy do určeného použití. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidána varování a rizika.	
Rev. 7.0	2024
Aktualizované konvence pro názvosloví. Revidované prohlášení o určeném použití. Přidány informace o zastoupení ve Švýcarsku a dovozci	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Počáteční M, TISSUE-TROL a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Německo nebo jejich přidružených společností. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách jsou k dispozici prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Periodic Acid-Schiff (PAS) fargingssystem

Prosedyre nr. 395



Tiltenkt bruk

PAS-fargingssystemet gir standard- og mikrobølgeprosedyrer for histokjemisk demonstrasjon av lymfocytter og mukopolysakkarider. PAS-reaksjonen i vevssnitt er nyttig for demonstrasjon av mukopolysakkarider. Diastase (α -amylase)-fordøyelsesprosedyren, etterfulgt av PAS-farging, er nyttig som et hjelpemiddel til diagnostisering av glykogenlagringssykdommer. Periodic Acid-Schiff (PAS)-reagenser er for «*in vitro*-diagnostisk bruk». Kun for profesjonell bruk. Data fra denne manuelle, kvalitative prosedyren identifiserer lymfocytter og mukopolysakkarider i blod- eller benmargsfiler samt formalinfiksert parafininnstøpt vev fra humane prøver. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og opplysninger, kan de brukes som et hjelpemiddel til diagnostisering av soppiinfeksjoner og glykogenlagringssykdommer. Histologisk visualisering av lymfocytter og mukopolysakkarider er en unik teknikk som ofte brukes innen medisin.

Når glykoler behandles med perjodsyre, blir glykoler oksidert til aldehyder. Etter reaksjon med Schiffs reagens farger det frigitte fuksinet cellekomponentene som inneholder de oksiderbare forbindelsene.² Denne reaksjonen kan utføres på blod- eller benmargsfiler, vevspreparater eller vevssnitt.^{1,2}

Diastase (α -amylase)-fordøyelse kan brukes som et hjelpemiddel til diagnostisering av glykogenlagringssykdom. Diastase hydrolyserer stivelse, glykogen og nedbrytningsprodukter med opprinnelse i disse polysakkaridene som finnes i vev. De resulterende biproduktene fra fordøyelsesprosessen skylles bort før PAS-farging.⁴

En teknikk for rask PAS-farging ved hjelp av mikrobølgeovn er inkludert.⁵⁻⁷

Reagenser

Perjodsyreløsning (kat.nr. 3951-100ML og 395132-1L)

Perjodsyre, 1 g/dl

Schiffs reagens (kat.nr. 3952-50ML og 3952016-500ML)

Pararosanilin-HCl, 1 % og natriummetabisulfitt, 4 %, i saltsyre, 0,25 mol/l. Fare. Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. Kan forårsake kreft.

Hematoksylinløsning Gill nr. 3 (kat.nr. GHS3-100ML)

Sertifisert hematoksylin, 6 g/l, C.I. 75290 natriumjodatt, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabiliseringsmiddel

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Formaldehydløsning, 37 %
- Reagensalkohol
- Positive PAS-kontrollobjektglass, for eksempel PAS TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR009-25EA), bør inkluderes i hver kjøring
- Xylen eller xylenersatning

Kun mikrobølgeprosedyrer

- Mikrobølgeovn
- Coplin-beholder med lokk med luftehull
- Scotts konsentrat til kravannserstatning (kat.nr. S5134-6x100ML)
- α -amylase (kun for prosedyre med diastaseekstraksjon) (kat.nr. A3176)

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar perjodsyreløsning og Schiffs reagens i kjøleskap (2–8 °C). Oppbevar hematoksylinløsning Gill nr. 3 i romtemperatur (18–26 °C). Reagenser er stabile frem til utløpsdatoen på etikettene. Dannelse av bunnfall i Schiffs reagens påvirker ikke ytelsen.

Forringelse

Kast hematoksylinløsning Gill nr. 3 hvis løsningen blir brun (overoksidert fra luft) eller lilla (tap av surhet) eller når tiden som kreves for egnet farging, overstiger tiden anbefalt i prosedyren med mer enn 5 minutter.

Klargjøring

Perjodsyreløsning, Schiffs reagens og hematoksylinløsning Gill nr. 3 leveres klare til bruk. Varm reagenser til romtemperatur (18–26 °C) før bruk.

Filtrer Schiffs reagens hvis bunnfall er til stede. MERK: En litt rosa farge grunnet utvasking av farge fra objektglass forstyrrer ikke testen.

Scotts arbeidsløsning til kravannserstatning fremstilles ved å fortynne 1 del Scotts konsentrat til kravannserstatning med 9 deler avionisert vann.

Formalin-etanolfikseringsløsning fremstilles ved å blande 5 ml formaldehyd med 45 ml 95 % etanol (reagensalkohol). Fremstill fersk daglig, og hold tett lukket.

Forsiktighetsregler

IVD-ene inkludert i dette settet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. Sigma-Aldrich-IVD-er kan betjenes av laboratoriepersonell som er opplært i å håndtere humane prøver som kan være smittsomme, bruke mikroskoper og annet laboratoriestyr, og som har fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre elementer under et mikroskop.

Normale forsiktighetsregler for håndtering av laboratoriereagenser bør følges. Avfall må kastes i samsvar med alle lokale, statlige, provinsielle eller nasjonale forskrifter.

PAS TISSUE-TROL™-kontrollobjektglass er parafininnstøpt humant vev som inneholder PAS, og skal betraktes som potensielt smittefarlig.

Prosedyre

Prøvetaking

Ingen kjent testmetode kan fullt ut forsikre at blodprøver eller vev ikke utgjør en smittefare. Alle blodderivater eller vevsprøver bør derfor betraktes som potensielt smittefarlige.

Ferskt fremstilt fullblod, EDTA-blod eller heparinisert blod eller benmargsfilm brukes. Fikser så snart som mulig.³

For polysakkarider kan vev fiksert i 10 % nøytral bufret formalin, Zenkers eller Bouins brukes.¹ Det skal bemerkes at noen karbohydrater er vannløselige.² For demonstrasjon av glykogen anbefales Carnoys væske, Gendres væske eller syre-alkohol-formalin.¹ Tiden som kreves for diastaseekstraksjon, kan være lengre når vevet er festet i en pikrinsyre som inneholder fikseringsløsning.⁴ Kutt vevssnitt ved 5 mikrometer.

Merknader

Hvis det brukes mikrobølgeovn, må du følge bruksanvisningen.

Blodfiler fremstilt fra klinisk friske personer, kan inkluderes for kontrollformål. Polymorfonukleære leukocytter vil vise en intens rød cytoplasmatiske farge. Vevssnitt som er kjent for å være PAS-positive eller inneholder glykogen, bør inkluderes hver gang en fargingssekvens utføres.

Prosedyre

Blod, benmarg eller vevsberøringsavtrykk

Standardprosedyre

- Fikser lufttørkede filmer i **1 minutt** i **romtemperatur** i formalin-etanolfikseringsløsning.
- Skyll objektglassene **1 minutt** under sakte rennende krannvann.
- Senk objektglassene i perjodsyreløsning i **5 minutter** i **romtemperatur**.
- Skyll objektglassene i flere bytter av destillert vann.
- Senk objektglassene ned i Schiffs reagens i **15 minutter** i romtemperatur.
MERK: Sett lokket på Schiffs reagens umiddelbart etter bruk, og sett tilbake i kjøleskap (2–8 °C).
- Vask objektglassene i rennende krannvann i **5 minutter**.
- Kontrastfarg objektglassene i hematoksylinløsning Gill nr. 3 i **90 sekunder**.
- Skyll objektglassene i rennende krannvann i **15–30** sekunder, lufttørk og undersøk mikroskopisk under et oljeimmersjonsobjektiv (900X). Objektglassene kan monteres i toluen- eller xylenbaserte monteringsmedier.

Mikrobølgeprosedyre

- Fikser lufttørkede filmer i **romtemperatur** i **1 minutt** i formalin-etanolfikseringsløsning.
- Skyll objektglassene **1 minutt** under sakte rennende krannvann.
- Legg objektglassene i **40 ml** perjodsyreløsning i en Coplin-beholder av plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll godt i flere bytter av avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens i en Coplin-beholder av plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **15 sekunder**. Bland løsningen med en beralpipette eller applikatorpinne og inkuber i **1 minutt**.
- Skyll i varmt, sakte rennende krannvann i **5 minutter**.
- Legg objektglassene i **40 ml** hematoksylinløsning Gill No. 3 i en Coplin-beholder av plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll i rennende krannvann i **1–2 minutter**, og blån deretter i Scotts arbeidsløsning til kravannserstatning i **romtemperatur**.
- Skyll i rennende krannvann. Lufttørk.
- Objektglassene kan monteres i toluen- eller xylenbaserte monteringsmedier.

Vevssnitt

Standardprosedyre

- Avparafiniser og hydrerer snittene i avionisert vann.
- Senk objektglassene i perjodsyreløsning i **5 minutter** i **romtemperatur** (18–26 °C).
- Skyll objektglassene i flere bytter av destillert vann.
- Senk objektglassene ned i Schiffs reagens i **15 minutter** i **romtemperatur** (18–26 °C).
- Vask objektglassene i rennende krannvann i **5 minutter**.
- Kontrastfarg objektglassene i hematoksylinløsning Gill nr. 3 i **90 sekunder**.
- Skyll objektglassene i rennende krannvann.
- Dehydrer, klarne og monter snittene i toluen- eller xylenbaserte monteringsmedier.

Mikrobølgeprosedyre

- Avparafiniser og hydrerer i avionisert vann.
- Legg objektglassene i **40 ml** perjodsyreløsning i en Coplin-beholder av plast. Dekk beholderen løst med lokk, eller bruk lokk med gjennomboede hull.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll godt i flere bytter av avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens i en Coplin-beholder av plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **15 sekunder**. Bland løsningen med en beralpipette eller applikatorpinne og inkuber i **1 minutt**.
- Skyll i varmt, sakte rennende krannvann i **5 minutter**.
- Legg objektglassene i hematoksylinløsning Gill nr. 3 i en Coplin-beholder av plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll i rennende krannvann i **1–2 minutter**, og blån deretter i Scotts arbeidsløsning til kravannserstatning i **romtemperatur**. Skyll i rennende krannvann. Dehydrer, klarne og monter.

Mikrobølgeprosedyre for diastase (α -amylase)-fordøyelse

- Bruk dupliserte testobjektglass. Merk det ene for fordøyelse med diastase og det andre for kun PAS-farging. MERK: Objektglass belagt med et vevslim anbefales. Ikke celloidiniser snittene når diastasefordøyelse utføres.¹
- Avparafiniser og hydrerer objektglassene i avionisert vann.
- Fremstill diastase (α -amylase)-arbeidsløsning ved å oppløse 0,2 g α -amylase (kat.nr. A3176) i 40 ml avionisert vann. Bland godt og legg i en Coplin-beholder av plast. Fremstill rett før bruk.
- Varm i mikrobølgeovn ved **600 watt** i **25 sekunder**.
- Ta objektglassene ut av Coplin-beholderen og skyll fordøyd objektglass i rennende krannvann i **5 minutter**.
- Med både fordøyd og ufordøyd objektglass fortsetter du med mikrobølgeprosedyren for vev, trinn 2.

Ytelsesegenskaper

PAS-positive stoffer farges rosa til rødt, og kjerner er blå. Et diastase (α-amylase)-ekstraksjonsobjektglass vil ikke ha synlig PAS-farging av glykogen sammenlignet med det ufordøyde glykogen-positive kontrollobjektglasset.

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene som ble utført på alle målstrukturer, bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat.nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
3951	Perjodsyreløsning	Monocytt	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Granulocytt	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Glykogen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Basalmembran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3952	Schiffs reagens	Monocytt	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Granulocytt	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Glykogen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Basalmembran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
GHS3-50ML	Hematoksylinløsning Gill nr. 3	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

395B:



- H290: Kan være etsende for metaller.
- H302: Farlig ved svelging.
- H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.
- H350: Kan forårsake kreft.
- H373: Kan forårsake organskader (nyre) ved langvarig eller gjentatt eksponering ved svelging.
- H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.
- P273: Unngå utslipp til miljøet.
- P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- P301 + P312: VED SVELGING: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege ved ubehag.
- P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsøtte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P305 + P351 + P338: VED PÅFØRING I ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skylling.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, må det rapporteres til produsenten eller produsentens autoriserte representant og til den nasjonale myndigheten.

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisning		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Best før-dato		In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
	Angir den autoriserte representanten i Sveits		

Referanser

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktinformasjon

Bestillinger kan legges inn via nettstedet vårt på SigmaAldrich.com. Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2022	
Rev. 6.0	2022	Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Flyttet utsagn om diagnostisk hjelpemiddel til tiltenkt bruk. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. La til advarsler og farer.
Rev. 7.0	2024	Oppdaterte navnekonvensjonene. Reviderte erklæringen om tiltenkt bruk. La inn informasjon om CH-REP og importør

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Initialen M, TISSUE-TROL og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dets tilknyttede selskaper. Alle andre varemerker tilhører de respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Kullanma Talimatı

Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama Sistemi

Prosedür No. 395



Kullanım Amacı

PAS boyama sistemi, lenfositlerin ve mukopolisakkaritlerin histokimyasal gösterimi için standart prosedürler ve mikrodalga prosedürleri sunar. Doku kesitlerindeki PAS reaksiyonu, mukopolisakkaritlerin gösterimi için faydalıdır. Diastaz (α-amilaz) sindirim prosedürü ve ardından yapılan PAS boyama, glikojen depo hastalıklarının tanısında yardımcı olur. Periyodik Asit Schiff (PAS) reaktifleri, "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel ve kalitatif prosedürden elde edilen veriler, kan veya kemik iliği filmlerinin yanı sıra insan örneklerinden alınan Formalinde Fikse Edilmiş Parafine Gömülü dokulardaki lenfositleri ve mukopolisakkaritleri tanımlar. Bu veriler, diğer tanısal testler ve bilgilerle birlikte değerlendirildiğinde mantar enfeksiyonları ve glikojen depo hastalıklarının tanısında yardımcı olarak kullanılabilir. Lenfositlerin ve mukopolisakkaritlerin histolojik olarak görselleştirilmesi, günümüzde tipta yaygın olarak kullanılan benzersiz bir tekniktir.

Periyodik asit kullanıldığında glikoller, aldehitlere oksitlenir. Schiff reaktifi ile reaksiyona girdikten sonra ortaya çıkan fuksin, oksitlenebilir bileşikleri içeren hücresel bileşenleri boyar.³ Bu reaksiyon kan veya kemik iliği filmleri, doku dokundurma preparatları veya doku kesitleri üzerinde gerçekleştirilebilir.^{1,2}

Diastaz (α-amilaz) sindirimi, glikojen depo hastalığının tanısında yardımcı olarak kullanılabilir. Diastaz, dokuda bulunan bu polisakkaritlerden kaynaklı nişasta, glikojen ve bozunma ürünlerini hidrolize eder. Sindirim işleminin sonucunda ortaya çıkan yan ürünler, PAS boyamadan önce durulanarak uzaklaştırılır.⁴

Mikrodalga fırın kullanılan hızlı PAS boyamaya yönelik bir teknik dahildir.⁵⁻⁷

Reaktifler

Periyodik Asit Çözeltisi (Kat. No. 3951-100ML ve 395132-1L)

Periyodik asit, 1 g/dL

Schiff Reaktifi (Kat. No. 3952-50ML ve 3952016-500ML)

%1 Pararosanilin HCl ve %4 sodyum metabisülfid, 0,25 mol/L hidroklorik asit içinde. Tehlike. Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Kanserle neden olabilir.

Hematoksilen Çözeltisi, Gill No. 3 (Kat. No. GHS3-100ML)

Sertifikalı hematoksilen, 6 g/L, C.I. 75290 sodyum iyodat, 0,6 g/L, alüminyum sülfat, 52,8 g/L ve stabilizatör

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Formaldehit çözeltisi, %37
- Reaktif Alkol
- PAS TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR009-25EA) gibi pozitif PAS kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir
- Ksilen veya ksilen ikamesi

Yalnızca Mikrodalga Prosedürleri

- Mikrodalga Fırın
- Havalandırılmalı kapaklı Coplin kavanozu
- Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi (Kat. No. S5134-6x100ML)
- α-Amilaz (yalnızca Diastaz Ekstraksiyon Prosedürü için) (Kat. No. A3176)

Saklama ve Stabilite

Periyodik Asit Çözeltisini ve Schiff Reaktifini buzdolabında (2-8 °C) saklayın. Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3'ü oda sıcaklığında (18-26 °C) saklayın. Reaktifler, etiketlerde gösterilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Schiff Reaktifinde çökelti oluşması performansı etkilemez.

Bozulma

Çözelti kahverengiyi (hava ile aşırı oksitlenirse) veya mora (asitlik kaybı) dönerse veya uygun boyama için gereken süre prosedürde önerilen süreyi 5 dakikadan fazla aşarsa Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3'ü atın.

Hazırlama

Periyodik Asit Çözeltisi, Schiff Reaktifi ve Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3 kullanıma hazır olarak tedarik edilir. Kullanmadan önce reaktifleri oda sıcaklığına (18-26 °C) ısıtın.

Çökelti varsa Schiff Reaktifini süzün. NOT: Lamalardan renk sızması nedeniyle oluşan hafif pembe renklenme, testi etkilemez.

Scott Musluk Suyu İkame çalışma çözeltisi, 1 ölçü Scott Musluk Suyu İkame Konsantresini 9 ölçü deiyonize su ile seyrelterek hazırların.

Formalin-Etanol Fiksatif Çözelti, 5 mL formaldehit ile 45 mL %95 etanolü (Reaktif Alkol) karıştırarak hazırların. Günlük yeni çözelti hazırlayın ve ağzını sıkıca kapatın.

Önlemler

Bu kitte bulunan IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında *in vitro* tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

PAS TISSUE-TROL™ kontrol lamaları, PAS içeren parafine gömülü insan dokusudur ve potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan numunelerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Yeni hazırlanmış tam, EDTA'lı ya da heparinize kan veya kemik iliği filmleri kullanılır. Mümkün olan en kısa sürede fiksasyon uygulayın.³

Polisakkaritler için %10 nötr tamponlu formalin, Zenker veya Bouin'de fiksasyon uygulanmış doku kullanılabilir.¹ Bazı karbonhidratların suda çözünür olduğu unutulmamalıdır.² Glikojenin gösterimi için Carnoy sıvısı, Gendre sıvısı veya asit alkolik formalin önerilir.¹ Dokuya, pikrik asit içeren bir fiksatifte fiksasyon uygulandığında diastaz ekstraksiyonu için gereken süre uzayabilir.¹ Doku kesitlerini 5 mikron kalınlığında kesin.

Notlar

Mikrodalga fırın kullanılıyorsa talimatlar için lütfen Kullanım Kılavuzuna bakın.

Klinik olarak sağlıklı bireylerden hazırlanan kan filmleri kontrol amacıyla dahil edilebilir. Polimorfonükleer lökositler yoğun bir kırmızı sitoplazmik renk gösterir. PAS pozitif olduğu ve/veya glikojen içerdiği bilinen doku kesitleri, her boyama dizisi gerçekleştirildiğinde dahil edilmelidir.

Prosedür

Kan, Kemik İliği veya Doku Dokundurma Preparatları

Standart Prosedür

- Kurumaya bırakılmış filmlere, Formalin-Etanol Fiksatif Çözeltide **oda sıcaklığında 1 dakika** boyunca fiksasyon uygulayın.
- Lamaları az akan musluk suyunu **1 dakika** durulayın.
- Lamaları **oda sıcaklığında 5 dakika** boyunca Periyodik Asit Çözeltisine daldırın.
- Lamaları, distile su ile birkaç kez durulayın.
- Lamaları oda sıcaklığında **15 dakika** boyunca Schiff Reaktifine daldırın. NOT: Kullanımdan hemen sonra Schiff Reaktifinin kapağını kapatın ve buzdolabına (2-8 °C) geri koyun.
- Lamaları akan musluk suyunu **5 dakika boyunca** yıkayın.
- Lamlarda Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3 ile **90 saniye** boyunca zıt boyama yapın.
- Lamaları akan musluk suyunu **15-30 saniye** durulayın, kurumaya bırakın ve yağa batırılmış (900x) lens altında mikroskopik olarak inceleyin. Lamalar, toluen veya ksilen bazlı yerleştirme ortamına yerleştirilebilir.

Mikrodalga Prosedürü

- Kurumaya bırakılmış filmlere, Formalin-Etanol Fiksatif Çözeltide **oda sıcaklığında 1 dakika** boyunca fiksasyon uygulayın.
- Lamaları az akan musluk suyunu **1 dakika** durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Periyodik Asit Çözeltisine yerleştirin.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Deiyonize suyla birkaç kez iyice durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Schiff Reaktifine yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Çözeltiyi bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile karıştırın ve **1 dakika** boyunca inkübe edin.
- İlk ve az akan musluk suyunu **5 dakika** boyunca durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Hematoksilin Çözeltisi Gill No. 3'e yerleştirin.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Akan musluk suyunu **1-2 dakika** boyunca durulayın, ardından **oda sıcaklığında** Scott Musluk Suyu İkame çalışma çözeltisinde mavi boyama yapın.
- Akan musluk suyunu durulayın. Kurumaya bırakın.
- Lamalar, toluen veya ksilen bazlı yerleştirme ortamına yerleştirilebilir.

Doku Kesitleri

Standart Prosedür

- Kesitleri deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamaları **oda sıcaklığında** (18-26 °C) **5 dakika** boyunca Periyodik Asit Çözeltisine daldırın.
- Lamaları, distile su ile birkaç kez durulayın.
- Lamaları **oda sıcaklığında** (18-26 °C) **15 dakika** boyunca Schiff Reaktifine daldırın.
- Lamaları akan musluk suyunu **5 dakika boyunca** yıkayın.
- Lamlarda Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3 ile **90 saniye** boyunca zıt boyama yapın.
- Lamaları akan musluk suyunu durulayın.
- Kesitleri toluen veya ksilen bazlı yerleştirme ortamında dehidre edin, temizleyin ve yerleştirin.

Mikrodalga Prosedürü

- Deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Periyodik Asit Çözeltisine yerleştirin. Kavanozun kapağını gevşek bir şekilde kapatın veya delikli kapaklar kullanın.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Deiyonize suyla birkaç kez iyice durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Schiff Reaktifine yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Çözeltiyi bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile karıştırın ve **1 dakika** boyunca inkübe edin.
- İlk ve az akan musluk suyunu **5 dakika** boyunca durulayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3'e yerleştirin.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Akan musluk suyunu **1-2 dakika** boyunca durulayın, ardından **oda sıcaklığında** Scott Musluk Suyu İkame çalışma çözeltisinde mavi boyama yapın. Akan musluk suyunu durulayın. Dehidre edin, temizleyin ve yerleştirin.

Diastaz (α-Amilaz) Sindirimi için Mikrodalga Prosedürü

- İki test lamı kullanın. Birini diastaz ile sindirim için diğerini sadece PAS boyama için etiketleyin. NOT: Doku yapıştırıcısıyla kaplanmış lamalar tavsiye edilir. Diastaz sindirimi yaparken kesitleri seloidize etmeyin.¹
- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Diastaz (α-amilaz) Çalışma Çözeltisini 0,2 g α-Amilazı, (Kat. No. A3176) 40 mL deiyonize suda çözerek hazırlayın. İyice karıştırın ve plastik Coplin kavanozuna yerleştirin. Kullanmadan hemen önce hazırlayın.
- 25 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.

- Lamları Coplin kavanozundan çıkarın ve sindirilmiş lami, akan musluk suyunda **5 dakika** boyunca durulayın.
- Hem sindirilmiş hem de sindirilmemiş lamları kullanarak Dokular için Mikrodalga Prosedürü, adım 2 ile devam edin.

Performans Özellikleri

PAS pozitif maddeler pembeden kırmızıya boyanır ve çekirdekler mavidir. Bir Diastaz (α -Amilaz) Ekstraksiyon lami, sindirilmemiş glikojen pozitif kontrol lami ile karşılaştırıldığında görünür glikojen PAS boyamasına sahip olmaz.

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
3951	Periyodik Asit Çözeltisi	Monositler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Granülositler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Glikojen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Bazal Membran	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3952	Schiff Reaktifi	Monositler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Granülositler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Glikojen	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		Bazal Membran	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
GHS-50ML	Hematoksilen Çözeltisi, Gill No. 3	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

395B:



H290: Metaller için aşındırıcı olabilir.

H302: Yutulması halinde zararlıdır.

H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H350: Kansere neden olabilir.

H373: Yutulması halinde uzun süreli veya tekrarlı maruziyet sonucu organlarda (böbrek) hasara neden olabilir.

H412: Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle zararlıdır.

P273: Çevreye salınmasını önleyin.

P280: Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P301 + P312: YUTULMASI HALİNDE: Kendinizi iyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/ doktoru arayın.

P303 + P361 + P353: CİLTLE (veya saçla) TEMASI halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P304 + P340 + P310: SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve rahatça nefes alabileceği bir durumda tutun. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/ doktoru arayın.

P305 + P351 + P338: GÖZLE TEMASI DURUMUNDA: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı
	İsviçre'deki Yetkili Temsilciyi belirtir		

Referanslar

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2. baskı, CV Mosby, St. Louis, (MO), s. 52, 164-167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4. baskı, Butterworths, s. 216-220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2. baskı, WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, s. 1630-1632, 1977
- Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), s. 520-539, 1966
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Taniya yardımcı ifadesi, kullanım amacı bölümüne aktarıldı. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi.
Rev. 7.0	2024
	Adlandırmaya kuralları güncellendi. Kullanım Amacı beyanı revize edildi. CH-REP ve ithalatçı bilgileri eklendi



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya veya bağlı kuruluşlarının ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. Ticari markalar hakkında ayrıntılı bilgi, herkesin erişebileceği kaynaklar aracılığıyla edinilebilir.

Sigma-Aldrich®

Käyttöohje

Perjodihappo-Schiff (PAS) Värjäysjärjestelmä

Menetelmänro 395



Käyttötarkoitus

PAS-värjäysjärjestelmä käsittää vakiotyyppiset ja mikroaaltomenetelmät lymfositien ja mukopolysakkaridien histokemialliseksi osoittamiseksi. PAS-reaktio kudoseleikeissä on käyttökelpoinen mukopolysakkaridien tunnistamiseksi. Diastaasin (α-amylaasi) pilkkomisprosessi, jota seuraa PAS-värjäys, on hyödyllinen apukeino glykokeenin kertymäsairauksien diagnosoinnissa. Perjodihappo-Schiff (PAS) -reagenssit on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkaan. Vain ammattilaisten käyttöön. Tällä manuaalisella, kvalitatiivisella menetelmällä saaduista tiedoista tunnistetaan lymfosittejä ja mukopolysakkarideja ihmisen veren ja luuytimen sivelyvalmisteista sekä ihmisen formaliinilla kiinnitetystä, parafiiniin valetusta kudoksesta. Yhdessä muiden diagnostisten testien ja tietojen kanssa tarkasteltuina näitä tietoja voidaan käyttää apuna sieni-infektioiden ja glykokeenin kertymäsairauksien diagnosoinnissa. Lymfositien ja mukopolysakkaridien histologinen visualisointi on ainutlaatuinen tekniikka, joka on nykylääketeieteessä yleisessä käytössä.

Perjodihappokäsittelyssä glykolit hapettuvat aldehydeiksi. Schiffin reagenssin kanssa tapahtuvan reaktion jälkeen vapautunut fuksiini värvää ne solukomponentit, jotka sisältävät näitä hapettuneita yhdisteitä.³ Tämä reaktio voidaan aikaansaada veren tai luuytimen sivelyvalmisteissa, kuduskosketusvalmisteissa tai kudoseleikeissä.^{1,2}

Diastaasipilkontaa (α-amylaasi) voidaan käyttää apuna glykokeenin kertymäsairauksien diagnosoinnissa. Diastaasi hydrolysoi tarkkelystä, glykokeenia ja näistä polysakkarideista peräisin olevia reaktiotuotteita, joita on kudoksessa. Pilkkomisprosessin tuloksena olevat sivutuotteet huuhdellaan pois ennen PAS-värjäystä.⁴

Ohjeet sisältävät tekniikan nopeaa mikroaaltouunissa tehtävää PAS-värjäystä varten.⁵⁻⁷

Reagenssit

Perjodihappoliuos (luettelonro 3951-100ML ja 395132-1L)
Perjodihappo, 1 g/dl

Schiffin reagenssi (luettelonro 3952-50ML ja 3952016-500ML)
Pararosaniliini HCl, 1 %, ja natriummetabisulfiitti, 4 %, suolahapossa, 0,25 mol/l. Vaara. Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Saattaa aiheuttaa syöpää.

Hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3 (luettelonro GHS3-100ML)
Sertifioitu hematoksyyliini, 6 g/l, väri-indeksi 75290, natriumjodaatti, 0,6 g/l, alumiinisulfaatti, 52,8 g/l, ja stabilointiaine

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Formaldehydiliuos, 37 %
- Denaturoitu alkoholi
- Jokaisella ajolla tulee käyttää positiivisia PAS-kontrolliohjeilaseja, kuten PAS TISSUE-TROL™ (luettelonro TTR009-25A)
- Ksyleeni tai ksyleeninkorvike

Vain mikroaaltomenetelmät

- Mikroaaltouuni
- Coplin-astiat ja tuuletusaukolliset kannet
- Scottin vesijohtovedenkorvikkeen konsentraatti (luettelonro S5134-6x100ML)
- α-amylaasi (vain diastaasilla uuttamisen menettelylle) (luettelonro A3176)

Säilytys ja stabiilius

Säilytä perjodihappoliuos ja Schiffin reagenssi jääkaapissa (2–8 °C). Säilytä hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3, huoneenlämmössä (18–26 °C). Reagenssit ovat stabiileja etiketeissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Saostuman muodostuminen Schiffin reagenssiin ei vaikuta suorituskykyyn.

Pilaantuminen

Hävitä hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3, jos liuos muuttuu ruskeaksi (ylihapettunut ilman vaikutuksesta) tai violetiksi (happamuuden häviäminen), tai jos sopivaan värjäytymiseen kuluva aika ylittää menetelmässä suositellun ajan yli viidellä minuutilla.

Valmistelu

Perjodihappoliuos, Schiffin reagenssi ja hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3, toimitetaan käyttövalmiina. Lämmitä reagenssit huoneenlämpöiseksi (18–26 °C) ennen käyttöä.

Suodata Schiffin reagenssi, jos siinä on saostumaa. HUOMAUTUS: Hailakka vaaleanpunainen sävy, joka johtuu värin huuhtoutumisesta pois ohjeilaseista, ei häiritse testiä.

Scottin vesijohtovedenkorvikkeen käyttöliuos valmistetaan laimentamalla yksi osa Scottin vesijohtovedenkorvikkeen konsentraattia yhdeksällä osalla deionisoitua vettä.

Formaliini-etanoli-fiksatiiviliuos valmistetaan sekoittamalla 5 ml formaldehydiä 45 ml:aan 95-prosenttista etanolia (denaturoitu alkoholi). Valmista tuore liuos päivittäin ja säilytä tiukasti korkilla suljettuna.

Varotoimet

Tämän pakkauksen *in vitro* -diagnostiset (IVD) laitteet on tarkoitettu käytettäväksi *in vitro* -diagnostiikassa kliinisessä laboratorioympäristössä. Nämä IVD-laitteet on tarkoitettu vain pätevän ammattihenkilöstön käyttöön. *In vitro* -diagnostisia Sigma-Aldrich-laitteita saa käyttää laboratoriohenkilöstö, joka on koulutettu käsittelemään mahdollisesti tartuntavaarallisia ihmisperäisiä näytteitä ja käyttämään mikroskooppeja ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskoopilla.

Normaaleja laboriorioreagenssien käsittelyyn liittyviä varotoimia tulee noudattaa. Hävitä jätteet kaikkien paikallisten, alueellisten ja kansallisten määräysten mukaisesti.

PAS TISSUE-TROL™ -kontrolliohjeilaset sisältävät parafiiniin valettua ihmiskudosta, joka sisältää PAS-väriainetta, ja niitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Menettely

Näytteenotto

Millään tunnetulla testimenetelmällä ei voida täysin taata, että veri- tai kudonsäilytteet eivät tartuttaisi infektiota. Siksi kaikkia verijohdannaisia ja kudonsäilytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Vasta valmistetuja kokoveren, EDTA-veren tai heparinoidun veren tai luuytimen sivelyvalmisteita voidaan käyttää. Kiinnitä mahdollisimman pian.³

Polysakkarideille voidaan käyttää kudosta, joka on kiinnitetty 10-prosenttisessa neutraalipuskuroidussa formaliinissa, Zenkerin liuoksessa tai Bouinin liuoksessa.¹ On huomioitava, että jotkin hiilihydraatit ovat vesiliukoisia.² Glykokeenin tunnistamiseen suositellaan Carnoy'n liuosta, Gendren liuosta tai happo-alkoholiformaliinia.¹ Diastaasilla uuttamiseen tarvittavaa aikaa voidaan pidentää, kun kudos on kiinnitetty pikriinihapolla, joka sisältää fiksatiivia.¹ Leikkaa 5 mikrometrin leikkeitä.

Huomautukset

Jos käytetään mikroaaltouunia, katso sen ohjeet käyttöoppaasta.

Terveiltä luovuttajilta otetun veren sivelyvalmisteita voidaan käsitellä rinnalla kontrollitarkoituksissa. Polymorfonukleaariset leukosyytit värjäytyvät sytoplasmataltaan voimakkaan punaisiksi. Jokaisella kerralla värjäysarjaa tehtäessä tulee ottaa mukaan kudoseleikkeitä, joiden tiedetään olevan PAS-positiivisia ja/tai sisältävän glykokeenia.

Menettely

Veren tai luuytimen sivelyvalmisteet tai kuduskosketusvalmisteet

Vakiomenetelmä

- Kiinnitä itsekseen kuivuneita sivelyvalmisteita **1 minuutin** ajan **huoneenlämmössä** formaliini-etanoli-fiksatiiviliuoksessa.
- Huuhtelee ohjeilaseja **1 minuutin** ajan hitaasti juoksevassa vesijohtovedessä.
- Uputa ohjeilaset perjodihappoliuokseen **5 minuutiksi huoneenlämmössä**.
- Huuhtelee ohjeilaseja tislatussa vedessä useita kertoja vaihtaen.
- Uputa ohjeilaset Schiffin reagenssiin **15 minuutiksi** huoneenlämmössä. HUOMAUTUS: Sulje Schiffin reagenssi heti käytön jälkeen korkilla ja palauta jääkaappiin (2–8 °C).
- Pese ohjeilaseja juoksevalla vesijohtovedellä **5 minuuttia**.
- Vastavärvää ohjeilaseja hematoksyliiniliuoksella, Gillin nro 3, **90 sekuntia**.
- Huuhtelee ohjeilaseja juoksevalla vesijohtovedellä **15–30 sekuntia**, anna kuivua ja tee mikroskooppitutkimus öljymmersolinssiä (900x) käyttäen. Ohjeilaset voidaan peittää tolueeni- tai ksyleenipohjaisella peiteaineella.

Mikroaaltomenetelmä

- Kiinnitä itsekseen kuivuneita sivelyvalmisteita **huoneenlämmössä 1 minuutin** ajan formaliini-etanoli-fiksatiiviliuoksessa.
- Huuhtelee ohjeilaseja **1 minuutin** ajan hitaasti juoksevassa vesijohtovedessä.
- Aseta ohjeilaset **40 ml:aan** perjodihappoliuosta, joka on muovisessa Coplin-astiassa.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **10 sekunnin** ajan.
- Huuhtelee ohjeilaset tislatussa vedessä huolella, useita kertoja vaihtaen.
- Aseta ohjeilaset **40 ml:aan** Schiffin reagenssia, joka on muovisessa Coplin-astiassa.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **15 sekunnin** ajan. Sekoita liuosta muovisella Pasteur-pipetillä tai levitystikulla ja inkuboi **1 minuutin** ajan.
- Huuhtelee lämpimällä, hitaasti juoksevalla vesijohtovedellä **5 minuutin** ajan.
- Aseta ohjeilaset **40 ml:aan** hematoksyliiniliuosta, Gillin nro 3, joka on muovisessa Coplin-astiassa.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **10 sekunnin** ajan.
- Huuhtelee juoksevalla vesijohtovedellä **1–2 minuuttia** ja muuta sitten siniseksi Scottin vesijohtovedenkorvikkeen käyttöliuoksessa **huoneenlämpötilassa**.
- Huuhtelee juoksevalla vesijohtovedellä. Anna kuivua.
- Ohjeilaset voidaan peittää tolueeni- tai ksyleenipohjaisella peiteaineella.

Kudoseleikkeet

Vakiomenetelmä

- Poista parafiini ja hydratoi leikkeet deionisoituun veteen.
- Uputa ohjeilaset perjodihappoliuokseen **5 minuutiksi huoneenlämmössä** (18–26 °C).
- Huuhtelee ohjeilaseja tislatussa vedessä useita kertoja vaihtaen.
- Uputa ohjeilaset Schiffin reagenssiin **15 minuutiksi huoneenlämmössä** (18–26 °C).
- Pese ohjeilaseja juoksevalla vesijohtovedellä **5 minuuttia**.
- Vastavärvää ohjeilaseja hematoksyliiniliuoksella, Gillin nro 3, **90 sekuntia**.
- Huuhtelee ohjeilaset juoksevalla vesijohtovedellä.
- Dehydroi, kirkasta ja peitä leikkeet tolueeni- tai ksyleenipohjaisella peiteaineella.

Mikroaaltomenetelmä

- Poista parafiini ja hydratoi deionisoituun veteen.
- Aseta ohjeilaset **40 ml:aan** perjodihappoliuosta, joka on muovisessa Coplin-astiassa. Peitä astia kevyesti kannella tai käytä kansia, joihin on porattu reikiä.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **10 sekunnin** ajan.
- Huuhtelee ohjeilaset tislatussa vedessä huolella, useita kertoja vaihtaen.
- Aseta ohjeilaset **40 ml:aan** Schiffin reagenssia, joka on muovisessa Coplin-astiassa.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **15 sekunnin** ajan. Sekoita liuosta muovisella Pasteur-pipetillä tai levitystikulla ja inkuboi **1 minuutin** ajan.
- Huuhtelee lämpimällä, hitaasti juoksevalla vesijohtovedellä **5 minuutin** ajan.
- Aseta ohjeilaset hematoksyliiniliuokseen, Gillin nro 3, joka on muovisessa Coplin-astiassa.
- Käytä mikroaaltouunissa **800 watin** teholla **10 sekunnin** ajan.
- Huuhtelee juoksevalla vesijohtovedellä **1–2 minuuttia** ja muuta sitten siniseksi Scottin vesijohtovedenkorvikkeen käyttöliuoksessa **huoneenlämmössä**. Huuhtelee juoksevalla vesijohtovedellä. Dehydroi, kirkasta ja peitä näyte.

Mikroaaltouunimenettely diastaasipilkontaa (α-amylaasi) varten

- Ota testiä varten objektilasien kaksioiskappaleet. Merkitse toinen diastaasipilkontaa varten ja toinen pelkkää PAS-väryystä varten.
- HUOMAUTUS: Suositellaan objektilaseja, joissa on kudosiimapinnoitus. Älä käsittele leikkeitä selloidiiniilla, kun teet diastaasipilkontaa.¹
- Poista parafiini ja hydratoi objektilasit deionisoituun veteen.
- Valmista diastaasin (α-amylaasi) käyttöliuos liuottamalla 0,2 g α-amylaasia (luettelonro A3176) 40 ml:aan deionisoitua vettä. Sekoita hyvin ja siirrä Coplin-astiaan. Valmista juuri ennen käyttöä.
- Käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **25 sekunnin** ajan.
- Ota objektilasit Coplin-astiasta ja huuhtelee pilkkomiskäsitelyä objektilasia juoksevalla vesijohtovedellä **5 minuuttia**.
- Käytä sekä pilkkomiskäsitelyä että pilkkomattomia objektilaseja ja jatka mikroaaltomenetelmällä kudosta varten, vaihe 2.

Suorituskykyominaisuudet

PAS-positiiviset aineet värjäytyvät vaaleanpunaisiksi tai punaisiksi, ja tumat ovat sinisiä. Diastaasilla (α-amylaasi) käsitellyssä objektilasissa ei ole näkyvää glykokeenin PAS-värjäytymistä, kun verrataan pilkkomattoman glykokeenin positiiviseen kontrolliojektilasiin.

Jos havaitut tulokset eroavat odotetuista tuloksista, ota yhteyttä Sigma-Aldrichin tekniseen palveluun.

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

Kaikilla kohderakenteilla suoritetuista testeistä saadut analyttiset suorituskytulokset vahvistavat 100-prosenttisen herkkyyden, spesifisyyden ja toistettavuuden.

Luette-lonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittymisen sisäisen spesifisyys	Määrittymisen sisäinen herkkyys	Määrittysten välinen spesifisyys	Määrittysten välinen herkkyys
3951	Perjodihappo-liuos	Monosyytit	3/3	3/3	3/3	3/3
		Granulosyytit	3/3	3/3	3/3	3/3
		Glykokeeni	3/3	3/3	3/3	3/3
		Tyvikalvo	3/3	3/3	3/3	3/3
3952	Schiffin reagenssi	Monosyytit	3/3	3/3	3/3	3/3
		Granulosyytit	3/3	3/3	3/3	3/3
		Glykokeeni	3/3	3/3	3/3	3/3
		Tyvikalvo	3/3	3/3	3/3	3/3
GHS3-50ML	Hematoksyliini-liuos, Gillin nro 3	Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

Katso päivitetyt riski-, vaara- ja turvallisuustiedot käyttöturvallisuustiedotteesta ja tuotemerkinnöistä.

395B:



H290: Voi syövyttää metalleja.

H302: Haitallista nieltynä.

H314: Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.

H350: Saattaa aiheuttaa syöpää.

H373: Saattaa vahingoittaa elimiä (munuaiset) pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa nieltynä.

H412: Haitallista vesielioille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

P273: Vältettävä päästämistä ympäristöön.

P280: Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.

P301 + P312: JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia.

P303 + P361 + P353: JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhto iho vedellä.

P304 + P340 + P310: JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.

P305 + P351 + P338: JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

Jos tämän laitteen käytön aikana tai sen seurauksena ilmenee vakava vaaratilanne, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		Vaatimustenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääinnällinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Osoittaa valtuutetun edustajan Sveitsissä		

Lähteet

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuillamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Versiohistoria

Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2022
Versio 6.0	2022
Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisäty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Lauselmia diagnostiavusta siirretty käyttötarkoituksen alle. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosiota poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Lisäty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Lisäty kohta Varoitukset ja vaarat.	
Versio 7.0	2024
Nimeämiskäytännöt päivitetty. Käyttötarkoituslausunto tarkistettu. Lisäty CH-REP-tiedot ja maahantuojaan tiedot.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

M-alkukirjain, TISSUE-TROL ja Sigma-Aldrich ovat Merck KGaA -yhtiön, Darmstadt, Saksa, tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä. Kaikki muut tavaramerkit ovat haltijoidensa omaisuutta. Yksityiskohtaiset tavaramerkkitiedot ovat saatavilla julkisista lähteistä.

Gebruiksaanwijzing

Periodiek zuur-Schiff (PAS) kleuringssysteem

Procedurenr. 395



Beoogd gebruik

Het PAS-kleuringssysteem biedt zowel standaard- als magnetronprocedures voor de histochemische demonstratie van glycogen en mucopolysacchariden. De PAS-reactie in weefselsecties is nuttig voor het aantonen van mucopolysacchariden. De digestieprocedure met diastase (α-amylase), gevolgd door de PAS-kleuring, is nuttig als hulpmiddel bij de diagnose van glycogeenstapelingsziekte. De reagentia voor periodiek zuur-Schiff (PAS) zijn bedoeld voor 'in vitro diagnostisch gebruik'. Uitsluitend voor professioneel gebruik. De gegevens uit deze handleiding, die een kwalitatieve procedure beschrijft, identificeren lymfocyten en mucopolysacchariden in bloed- of beenmergfijls, evenals in formaline-vaste, in paraffine ingesloten weefsels van menselijke monsters. Deze gegevens kunnen worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose van schimmelinfecties en glycogeenstapelingsziekten wanneer ze worden beoordeeld in combinatie met andere diagnostische tests. Histologische visualisatie van lymfocyten en mucopolysacchariden is een unieke techniek die momenteel veel gebruikt wordt in de geneeskunde.

Bij behandeling met periodiek zuur worden glycolen geoxideerd tot aldehyden. Na reactie met het Schiff-reagens verkleurt de vrijgekomen fuchsine de cellulaire componenten die oxiderende verbindingen bevatten.³ Deze reactie kan worden uitgevoerd op bloed- of beenmergfijls, 'tissue touch'-preparaten of weefselsecties.^{1,2}

De digestieprocedure met diastase (α-amylase) kan worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose van glycogeenstapelingsziekten. Diastase hydrolyseert zetmeel, glycogen en de afbraakproducten van deze polysacchariden die in weefsel aanwezig zijn. De bijproducten van het spijsverteringsproces die daaruit voortvloeien, worden voor de PAS-kleuring weggespoeld.⁴

Een techniek voor snelle PAS-kleuring met behulp van een magnetron is inbegrepen.⁵⁻⁷

Reagentia

Periodieke zuuroplossing (cat. nr. 3951-100ML en 395132-1L)

Periodiek zuur, 1 g/dl

Schiff-reagens (cat. nr. 3952-50ML en 3952016-500ML)

Pararosaniline HCl, 1%, en natriummetabisulfiet, 4%, in zoutzuur, 0,25 mol/l. Gevaar. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Kan kanker veroorzaken.

Hematoxylineoplossing, Gill nr. 3 (cat. nr. GHS3-100ML)

Gecertificeerde hematoxyline, 6 g/l, C.I. 75290 natriumjodaat, 0,6 g/l, aluminiumsulfataat, 52,8 g/l en stabilisator.

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Formaldehyde-oplossing, 37%
- Reagensalcohol
- Positieve PAS-controleglaasjes, zoals PAS TISSUE-TROL™ (cat. nr. TTR009-25EA), moeten in elke run worden opgenomen.
- Xyleen of xyleenvervanger

Alleen voor magnetronprocedures

- Magnetron
- Coplin-pot met deksels voorzien van luchtgaatjes
- Scott-kraanwatervervangingsconcentraat (cat. nr. S5134-6x100ML)
- α-Amylase (alleen voor de diastase-extractieprocedure) (cat. nr. A3176)

Opslag en stabiliteit

Bewaar de periodieke zuuroplossing en het Schiff-reagens in de koelkast (2 tot 8 °C). Bewaar de hematoxylineoplossing, Gill nr. 3, bij kamertemperatuur (18 tot 26 °C). Reagentia zijn stabiel tot de op de etiketten vermelde vervaldatum. Vorming van neerslag in het Schiff-reagens heeft geen invloed op de prestaties.

Verslechtering

Gooi de hematoxylineoplossing, Gill nr. 3, weg als de oplossing bruin (overgeoxideerd door lucht) of paars wordt (door zuurverlies), of wanneer de tijd die nodig is voor een geschikte kleuring langer is dan de in de procedure aanbevolen 5 minuten.

Vorbereiding

Periodieke zuuroplossing, Schiff-reagens en hematoxylineoplossing, Gill nr. 3, worden gebruiksklaar geleverd. Verwarm de reagentia voor gebruik tot kamertemperatuur (18–26 °C).

Filter het Schiff-reagens indien er neerslag aanwezig is. OPMERKING: Een lichte roze kleuring als gevolg van het uitlekken van kleur van de glaasjes beïnvloedt de test niet.

De werkoplossing met Scott-kraanwatervervanging wordt bereid door 1 deel Scott-kraanwatervervangingsconcentraat te verdunnen met 9 delen gedeïoniseerd water.

Formaline-Ethanol-fixeeroplossing wordt bereid door 5 mL formaldehyde te mengen met 45 mL 95% ethanol (reagentialcohol). Bereid elke dag vers en sluit de dop goed af.

Voorzorgsmaatregelen

De IVD's in deze kit zijn bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik in een klinische laboratoriumomgeving. Deze IVD's zijn uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik door gekwalificeerd personeel. IVD's van Sigma-Aldrich mogen bediend worden door laboratoriumpersoneel dat opgeleid is om om te gaan met humane monsters die infectieus kunnen zijn, microscopen en andere laboratoriumapparatuur te gebruiken en met voldoende kleurwaarneming en gezichtsscherpte om kleuren en andere objecten onder een microscoop te onderscheiden.

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. Voer afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften. PAS TISSUE-TROL™-controleobjectglaasjes zijn in paraffine ingebed menselijk weefsel dat PAS bevat en moeten als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Procedure

Monsterafname

Geen enkele bekende testmethode kan volledige zekerheid bieden dat bloedmonsters of weefsel geen infectie overdragen. Daarom moeten alle bloederivaten of weefselsonsters als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Vers bereid geheel bloed, EDTA-bloed of hepariniseerd bloed, evenals beenmergfijls, worden gebruikt. Fixeer zo snel mogelijk.³

Voor polysacchariden, weefsel gefixeerd in 10% neutrale gebufferde formaline, kan Zenker- of Bouin-fixeer worden gebruikt.¹ Let op: sommige koolhydraten zijn oplosbaar in water.² Voor het aantonen van glycogen worden Carnoy-vloeistof, Gendre-vloeistof of zure alcoholische formaline aanbevolen.¹ De tijd die nodig is voor diastase-extractie kan langer zijn wanneer weefsel is gefixeerd in een picrozuur dat fixeer bevat.¹ Snijd weefselsecties af op 5 micron.

Opmerkingen

Als u een magnetron gebruikt, raadpleeg dan de gebruikershandleiding voor instructies.

Voor controledoeleinden kunnen bloedfilms van klinisch gezonde personen worden opgenomen. Polymorfonucleaire leukocyten zullen een intense rode cytoplasmatische kleuring vertonen. Bij het uitvoeren van een kleuringssequentie moeten altijd weefselsecties worden opgenomen die bekend staan als PAS-positief en/of glycogeen bevatten.

Procedure

Bloed, beenmerg of 'tissue touch'-preparaten

Standaardprocedure

- Zet de lichtgedroogde folie **1 minuut** vast bij **kamertemperatuur** in een formaline-ethanol-fixeeroplossing.
- Spoel de objectglaasjes **1 minuut** af in langzaam stromend kraanwater.
- Dompel de objectglaasjes **5 minuten onder in de periodieke zuuroplossing bij kamertemperatuur**.
- Spoel de objectglaasjes af in verschillende verversingen van gedistilleerd water.
- Dompel de objectglaasjes **15 minuten** onder in Schiff-reagens bij kamertemperatuur. OPMERKING: Sluit het Schiff-reagens onmiddellijk na gebruik af en zet het terug in de koelkast (2-8 °C).
- Was de objectglaasjes **5 minuten** in stromend kraanwater.
- Pas **90 seconden** een tegenkleuring toe op de objectglaasjes met hematoxylineoplossing, Gill nr. 3.
- Spoel de objectglaasjes **15 tot 30 seconden** af in stromend kraanwater, laat ze aan de lucht drogen en controleer ze microscopisch onder een olie-immersielens (900x). Objectglaasjes kunnen worden ingebed in inbedmiddelen op basis van tolueen of xyleen.

Magnetronprocedure

- Zet de lichtgedroogde films **1 minuut** bij **kamertemperatuur** in een formaline-ethanol-fixeeroplossing.
- Spoel de objectglaasjes **1 minuut** af in langzaam stromend kraanwater.
- Plaats de objectglaasjes in **40 mL** periodieke zuuroplossing in een plastic Coplin-pot.
- Verwarm **10 seconden** in de magnetron op **800 watt**.
- Spoel goed af in verschillende verversingen gedeïoniseerd water.
- Plaats de objectglaasjes in **40 mL** Schiff-reagens in een plastic Coplin-pot.
- Verwarm **15 seconden** in de magnetron op **800 watt**. Meng de oplossing met een beral-pipet of applicatorstaafje en laat deze **1 minuut** incuberen.
- Spoel **5 minuten** af in warm, voorzichtig stromend kraanwater.
- Plaats de objectglaasjes in **40 mL** hematoxylineoplossing, Gill nr. 3, in een plastic Coplin-pot.
- Verwarm **10 seconden** in de magnetron op **800 watt**.
- Spoel **1 tot 2 minuten** af in stromend kraanwater. Dompel daarna het monster onder in de werkoplossing met Scott-kraanwatervervanging bij **kamertemperatuur** totdat het blauw kleurt.
- Spoel af in stromend kraanwater. Laat aan de lucht drogen.
- Objectglaasjes kunnen worden ingebed in inbedmiddelen op basis van tolueen of xyleen.

Weefselsecties

Standaardprocedure

- Deparaffineer en hydrateer coupes in gedeïoniseerd water.
- Dompel de objectglaasjes **5 minuten** onder in de periodieke zuuroplossing bij **kamertemperatuur** (18 tot 26 °C).
- Spoel de objectglaasjes meerdere keren af met gedistilleerd water.
- Dompel de objectglaasjes **15 minuten** onder in Schiff-reagens bij **kamertemperatuur** (18 tot 26 °C).
- Was de objectglaasjes **5 minuten** in stromend kraanwater.
- Pas **90 seconden** een tegenkleuring toe op de objectglaasjes met hematoxylineoplossing, Gill nr. 3.
- Spoel de objectglaasjes af in stromend kraanwater.
- Dehydrateer de coupes, maak ze doorzichtig en bed ze in inbedmiddelen in op basis van tolueen of xyleen.

Magnetronprocedure

- Deparaffineer en hydrateer tot gedeïoniseerd water.
- Plaats de objectglaasjes in **40 mL** periodieke zuuroplossing in een plastic Coplin-pot. Dek de pot losjes af met een deksel of gebruik deksels met luchtgaten.
- Verwarm **10 seconden** in de magnetron op **800 watt**.
- Spoel goed af in verschillende verversingen gedeïoniseerd water.
- Plaats de objectglaasjes in **40 mL** Schiff-reagens in een plastic Coplin-pot.
- Verwarm **15 seconden** in de magnetron op **800 watt**. Meng de oplossing met een beral-pipet of applicatorstaafje en laat deze **1 minuut** incuberen.
- Spoel **5 minuten** af in warm, voorzichtig stromend kraanwater.
- Plaats de objectglaasjes in hematoxylineoplossing, Gill nr. 3, in een plastic Coplin-pot.
- Verwarm **10 seconden** in de magnetron op **800 watt**.
- Spoel **1 tot 2 minuten** af in stromend kraanwater. Dompel daarna het monster onder in de werkoplossing met Scott-kraanwatervervanging bij **kamertemperatuur** totdat het blauw kleurt. Spoel af in stromend kraanwater. Dehydrateer, maak doorzichtig en bed in.

Magnetronprocedure voor diastase (α-Amylase)-digestie

- Gebruik dubbele testobjectglaasjes. Label er een voor spijsvertering met diastase en een voor PAS-kleuring. OPMERKING: Het gebruik van objectglaasjes met weefsellijm wordt aanbevolen. Celluloidiseer geen secties bij diastase-digestie.¹
- Deparaffineer en hydrateer objectglaasjes tot gedeïoniseerd water.
- Bereid de werkoplossing van diastase (α-amylase) voor door 0,2 g α-amylase (cat. nr. A3176) op te lossen in 40 mL gedeïoniseerd water. Meng goed en doe het mengsel in de plastic Coplin-pot. Bereid het product vlak voor gebruik voor.

4. Verwarm **25 seconden** in de magnetron op **600 watt**.
5. Verwijder de objectglasjes uit de Coplin-pot en spoel de verteerde objectglasjes **5 minuten** in stromend kraanwater.
6. Gebruik zowel de verteerde als de niet-verteerde objectglasjes om verder te gaan met stap 2 van de magnetronprocedure voor weefsel.

Prestatiekenmerken

PAS-positieve stoffen kleuren roze tot rood, terwijl de kernen blauw zijn. Een diastase (α-amylase) extractie-objectglasje zal geen zichtbare PAS-kleuring van glycogeen vertonen in vergelijking met het niet-verteerde glycogeen in het positieve controle-objectglasje.

Als de waargenomen resultaten afwijken van de verwachte resultaten, neem dan contact op met de technische dienst van Sigma-Aldrich voor assistentie.

Analytische prestatiekenmerken

De resultaten van de analytische prestaties voor de gegeven tests, uitgevoerd op alle doelstructuren, bevestigen 100% gevoeligheid, specificiteit en herhaalbaarheid.

Cat.nr.	Productbeschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
3951	Periodieke zuuroplossing	Monocyten	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Granulocyten	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Glycogeen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3952	Schiff-reagent	Basale membraan	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Monocyten	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Granulocyten	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Glycogeen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		Basale membraan	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
GHS3-50ML	Hematoxylineoplossing, Gill nr. 3	Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad en de etikettering van het product voor bijgewerkte informatie over risico's, gevaren of veiligheid.

395B:



- H290: Kan bijtend zijn voor metalen.
- H302: Schadelijk bij inslikken.
- H314: Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel.
- H350: Kan kanker veroorzaken.
- H373: Kan schade aan organen (nieren) veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling bij inslikken.
- H412: Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.
- P273: Voorkom lozing in het milieu.
- P280: Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming dragen.
- P301 + P312: BIJ INSLIKKEN: Bel een ANTIGIFCENTRUM/arts als u zich onwel voelt.
- P303 + P361 + P353: BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.
- P304 + P340 + P310: BIJ INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P305 + P351 + P338: BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Ga verder met spoelen.

Als zich tijdens het gebruik van dit apparaat of als gevolg van het gebruik ervan een ernstig incident heeft voorgedaan, meld dit dan aan de fabrikant en/of zijn gemachtigde vertegenwoordiger en aan uw nationale autoriteit.

Symbooldefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

	Fabrikant		Catalogusnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Batchcode
	Gemachtigd vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/ Europese Unie		Conformiteitsverklaring van de Europese Unie (gedefinieerd in IVDR 2017/746)
	Uiterste gebruiksdatum		Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Temperatuurlimiet		Let op
	Fabricagedatum		Importeur
	Geeft de geautoriseerde vertegenwoordiger in Zwitserland aan		

Referenties

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected Histological and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Contactgegevens

Bezoek onze website op [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com) om een bestelling te plaatsen. Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Herzieningsgeschiedenis

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Hulp bij diagnosticering verplaatst naar beoogd gebruik. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd.
Rev. 7.0	2024
	Naamgevingsconventies bijgewerkt. Herziene verklaring voor bedoeld gebruik. CH-REP en importeursinformatie toegevoegd

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

De Initial M, TISSUE-TROL en Sigma-Aldrich zijn handelsmerken van Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland of zijn gelieerde ondernemingen. Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaars. Gedetailleerde informatie over handelsmerken is beschikbaar via openbaar toegankelijke bronnen.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Navodila za uporabo

Perjudna kislina – Schiff (PAS) Sistem barvanja

Postopek št. 395



MERCK

Predvidena uporaba

Sistem barvanja PAS ponuja standardne postopke in postopke za mikrovalovno pečico za histokemični prikaz limfocitov in mukopolisaharidov. Reakcija PAS v tkivnih rezinah je uporabna za prikaz mukopolisaharidov. Postopek razkroja z diastazo (α -amilazo), ki mu sledi barvanje PAS, se lahko uporabi kot pomoč pri diagnosticiranju bolezni zaradi shranjevanja glikogena. Reagenti za barvanje po metodi perjudna kislina – Schiff (PAS) so namenjeni za »diagnostično uporabo *in vitro*«. Samo za strokovno uporabo. Ta ročni, kvalitativni postopek omogoča prepoznavanje limfocitov in mukopolisaharidov v krvnih ali kostno-možganskih preparatih iz človeških vzorcev, prav tako tudi v s formalinom fiksiranih človeških tkivih, vdelenih v parafin. Rezultati se lahko v povezavi z drugimi diagnostičnimi testi in informacijami uporabijo kot pomoč pri diagnosticiranju bolezni zaradi shranjevanja glikogena. Histološka vizualizacija limfocitov in mukopolisaharidov je edinstvena tehnika, ki se trenutno pogosto uporablja v medicini.

Pri obdelavi s perjudno kislino se glikoli oksidirajo v aldehide. Pri reakciji s Schiffovim reagentom nastane fuksin, ki obarva celične komponente z oksidativnimi spojinami.³ Ta reakcija se lahko izvede na krvnih ali kostno-možganskih preparatih, tkivnih odtisih ali tkivnih rezinah.^{1,2}

Kot pomoč pri diagnosticiranju bolezni zaradi shranjevanja glikogena se lahko uporabi postopek razkroja z diastazo (α -amilazo). Diastaza hidrolizira škrob, glikogen in razgradne produkte, ki nastanejo iz polisaharidov, prisotnih v tkivu. Končne stranske produkte hidrolize pred barvanjem PAS speremo.⁴

Metoda obsega tehniko za hitro barvanje PAS z uporabo mikrovalovne pečice.⁵⁻⁷

Reagenti

Raztopina perjudne kisline (kat. št. 3951-100ML in 395132-1L)
Perjudna kislina, 1 g/dL

Schiffov reagent (kat. št. 3952-50ML in 395216-500ML)
Pararozanilin HCl, 1 %, in natrijev metabisulfit, 4 %, v klorovodikovi kislini, 0,25 mol/L. Nevarno. Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Lahko povzroči nastanek raka.

Raztopina hematoksilina Gill št. 3 (kat. št. GHS3-100ML)
Certificiran hematoksilin, 6 g/L, C.I. 75290, natrijev jodat, 0,6 g/L, in aluminijev sulfat, 52,8 g/L, s stabilizatorji

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Raztopina formaldehida, 37 %
- Reagenčni alkohol
- V vsako izvedbo je treba vključiti pozitivna kontrolna stekelca, kot so PAS TISSUE-TROL™ (kat. št. TTR009-25EA)
- Ksilen ali nadomestek ksilena

Samo za postopek z mikrovalovno pečico

- Mikrovalovna pečica
- Kozarec Coplin z ventilacijskim pokrovom
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (kat. št. S5134-6x100ML)
- α -amilaza (samo za postopek ekstrakcije z diastazo) (kat. št. A3176)

Shranjevanje in stabilnost

Perjudno kislino in Schiffov reagent hranite v hladilniku (2–8 °C). Hematoksilinsko raztopino Gill št. 3 hranite pri sobni temperaturi (18–26 °C). Reagenti so stabilni do izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki. Nastanek oborine v Schiffovem reagentu ne vpliva na rezultate.

Poslabšanje kakovosti

Zavržite raztopino hematoksilina Gill št. 3, če postane rjava (preveč oksidirana iz zraka) ali vijoličasta (izguba kislosti) ali če čas, potreben za ustrezno obarvanje, presega čas, priporočen v postopku, za več kot 5 minut.

Priprava

Raztopina perjudne kisline, Schiffov reagent in raztopina hematoksilina Gill št. 3 so dobavljeni pripravljeni za uporabo. Pred uporabo reagente segrejte na sobno temperaturo (18–26 °C).

Če je v Schiffovem reagentu oborina, jo prefiltrirajte. OPOMBA: Rahlo rožnato obarvanje zaradi izpiranja barve s stekelc ne moti testa.

Delovna raztopina Scott's Tap Water Substitute se pripravi z razredčevanjem 1 dela koncentrata Scott's Tap Water Substitute z 9 deli deionizirane vode.

Raztopina formalin-etanola za fiksiranje se pripravi z mešanjem 5 mL formaldehida s 45 mL 95-% etanola (reagenčni alkohol). Vsak dan pripravite sveže in hranite dobro zaprto.

Previdnostni ukrepi

Izdelki IVD, ki so vključeni v ta komplet, so namenjeni za diagnostično uporabo *in vitro* v kliničnem laboratoriju. Ti izdelki IVD so namenjeni le strokovni uporabi s strani usposobljenega osebja. Z napravami Sigma-Aldrich IVD lahko upravlja laboratorijsko osebje, ki je usposobljeno za ravnanje s človeškimi vzorci, ki so lahko kužni, za uporabo mikroskopov in druge laboratorijske opreme ter imajo sposobnost zaznavanja barv in ostrino vida za razlikovanje barv in drugih predmetov pod mikroskopom.

Upoštevati je treba običajne previdnostne ukrepe pri ravnanju z laboratorijskimi reagenti. Odpadke odstranite v skladu z vsemi lokalnimi, državnimi, pokrajinskimi ali nacionalnimi predpisi.

Kontrolna stekelca PAS TISSUE-TROL™ so v parafin vklopljeno človeško tkivo, ki vsebuje PAS, in jih je treba obravnavati kot potencialno infektivna.

Postopek

Zbiranje vzorcev

Nobena znana testna metoda ne more dati popolnega zagotovila, da vzorci krvi ali tkiva ne bodo prenesli okužbe. Zato je treba vse krvne derivate ali tkivne vzorce obravnavati kot potencialno kužne.

Uporabijo se lahko sveže pripravljena polna kri, kri z EDTA ali heparinom ali razmazi kostnega mozga. Čim prej fiksirajte.³

Za polisaharide se lahko uporabi tkivo, fiksirano v 10-% nevtralnem formalinu s pufrom, Zenkerjevi ali Bouinovi raztopini.¹ Treba je opozoriti, da so nekateri ogljikovi hidrati vodotopni.² Za prikaz glikogena se priporočajo Carnoyeva tekočina, Gendreyeva tekočina ali kisli alkoholni formalin.⁴ Čas, potreben za ekstrakcijo z diastazo, se lahko podaljša, če je tkivo fiksirano v fiksativu, ki vsebuje pikrinsko kislino.¹ Tkivo narežite na rezine, debele 5 mikronov.

Opombe

Če uporabljate mikrovalovno pečico, glejte Priročnik za uporabo.

Priporočljivo je, da se za namen kontrole skupaj z vzorci bolnikov obdelujejo krvni razmazi, pridobljeni od zdravih darovalcev. Polimorfonuklearni levkociti bodo imeli intenzivno rdeče obarvano citoplazmo. V vsako zaporedje barvanja bi morale biti vključene rezine tkiv, ki so dokazano PAS-pozitivne in/ali vsebujejo glikogen.

Postopek

Preparati krvi, kostnega mozga ali odtisov tkiva

Standardni postopek

1. Razmaze, posušene na zraku, fiksirajte **1 minuto** pri **sobni temperaturi** v fiksacijski raztopini formalin-etanola.
2. Stekelca **1 minuto** izpirajte s počasi tekočo vodovodno vodo.
3. Stekelca potopite v raztopino perjudne kisline za **5 minut** pri **sobni temperaturi**.
4. Stekelca sperite z več menjavami destilirane vode.
5. Stekelca potopite v Schiffov reagent za **15 minut** pri sobni temperaturi. OPOMBA: Takoj po uporabi zaprite pokrovček na Schiffovem reagentu in reagent shranite v hladilniku (2–8 °C).
6. Stekelca **5 minut** izpirajte s tekočo vodovodno vodo.
7. Kontrastno barvajte **90 sekund** v raztopini hematoksilina Gill št. 3.
8. Stekelca **15–30 sekund** izpirajte s tekočo vodovodno vodo, jih posušite na zraku in mikroskopsko pregledajte z imerzijskim objektivom (900x). Stekelca lahko montirate v medijih na osnovi toluena ali ksilena.

Postopek z mikrovalovno pečico

1. Razmaze, posušene na zraku, fiksirajte **1 minuto** pri **sobni temperaturi** v fiksacijski raztopini formalin-etanola.
2. Stekelca **1 minuto** izpirajte s počasi tekočo vodovodno vodo.
3. Stekelca potopite v **40 mL** raztopine perjudne kisline, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
4. V mikrovalovni pečici **10 sekund** segrevajte z **800 W**.
5. Stekelca temeljito sperite z več menjavami destilirane vode.
6. Stekelca potopite v **40 mL** Schiffovega reagenta, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
7. V mikrovalovni pečici **15 sekund** segrevajte z **800 W**. Raztopino previdno premešajte z Beralovo pipeto ali aplikatorsko palčko in inkubirajte **1 minuto**.
8. Spirajte pod počasnim curkom tople vodovodne vode **5 minut**.
9. Stekelca prestavite v **40 mL** raztopine hematoksilina Gill št. 3, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
10. V mikrovalovni pečici **10 sekund** segrevajte z **800 W**.
11. Spirajte s tekočo vodovodno vodo **1–2 minuti**, nato izvedite modrenje v delovni raztopini Scott's Tap Water Substitute pri **sobni temperaturi**.
12. Preparat sperite s tekočo vodovodno vodo. Posušite na zraku.
13. Stekelca lahko montirate v medijih na osnovi toluena ali ksilena.

Tkivne rezine

Standardni postopek

1. Deparafinizirajte in hidrirajte rezine do deionizirane vode.
2. Stekelca potopite v raztopino perjudne kisline za **5 minut** pri **sobni temperaturi** (18–26 °C).
3. Stekelca sperite z več menjavami destilirane vode.
4. Stekelca potopite v Schiffov reagent za **15 minut** pri **sobni temperaturi** (18–26 °C).
5. Stekelca **5 minut** izpirajte s tekočo vodovodno vodo.
6. Kontrastno barvajte **90 sekund** v raztopini hematoksilina Gill št. 3.
7. Stekelca sperite s tekočo vodovodno vodo.
8. Dehidrirajte, očistite in montirajte rezine v montirni medij na osnovi toluena ali ksilena.

Postopek z mikrovalovno pečico

1. Deparafinizirajte in hidrirajte rezine do deionizirane vode.
2. Stekelca potopite v **40 mL** raztopine perjudne kisline, ki je v plastičnem kozarcu Coplin. Ohlapno pokrijte kozarec s pokrovom ali uporabite pokrove z izrtanimi luknjami.
3. V mikrovalovni pečici **10 sekund** segrevajte z **800 W**.
4. Stekelca temeljito sperite z več menjavami destilirane vode.
5. Stekelca potopite v **40 mL** Schiffovega reagenta, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
6. V mikrovalovni pečici **15 sekund** segrevajte z **800 W**. Raztopino previdno premešajte z Beralovo pipeto ali aplikatorsko palčko in inkubirajte **1 minuto**.
7. Spirajte pod počasnim curkom tople vodovodne vode **5 minut**.
8. Stekelca prestavite v raztopino hematoksilina Gill št. 3, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
9. V mikrovalovni pečici **10 sekund** segrevajte z **800 W**.
10. Spirajte s tekočo vodovodno vodo **1–2 minuti**, nato izvedite modrenje v delovni raztopini Scott's Tap Water Substitute pri **sobni temperaturi**. Preparat sperite s tekočo vodovodno vodo. Dehidrirajte, očistite in namestite.

Postopek z mikrovalovno pečico in razkrojem z diastazo (α -amilazo)

1. Uporabite stekelca v dvojnikih. Označite enega za razkroj z diastazo in drugega samo za barvanje PAS. OPOMBA: Priporočajo se stekelca za adhezijo tkiv. Pri izvajanju razkroja z diastazo rezin ne koloidinizirajte.¹
2. Deparafinizirajte in hidrirajte rezine do deionizirane vode.
3. Pripravite delovno raztopino diastaze (α -amilaze) z razredčenjem 0,2 g α -amilaze (kat. št. A3176) v 40 mL deionizirane vode. Dobro premešajte in vlijte v kozarec Coplin. Pripravite neposredno pred uporabo.

4. V mikrovalovni pečici **25 sekund** segrevajte s **600 W**.
5. Stekelca vzemite iz kozarca Coplin in stekelce po razkroju **5 minut** temeljito spirajte v deionizirani vodi.
6. S stekelcem po razkroju in stekelcem brez razkroja nadaljujte z 2. korakom poglavja Postopek z mikrovalovno pečico za tkivo.

Lastnosti delovanja

Snovi, ki so pozitivne s PAS, se obarvajo rožnato do rdeče, jedra pa so modra. Na stekelcu po ekstrakciji z diastazo (α-amilazo) PAS ne bo obarval glikogena v primerjavi s stekelcem brez razkroja, ki služi kot pozitivna kontrola glikogena.

Če opaženi rezultati odstopajo od pričakovanih, se za pomoč obrnite na oddelek za tehnično pomoč podjetja Sigma-Aldrich.

Značilnosti analitične učinkovitosti

Rezultati analitične učinkovitosti za dane teste, opravljene na vseh ciljnih strukturah, potrjujejo 100-odstotno občutljivost, specifičnost in ponovljivost.

Kat. št.	Opis izdelka	Cilj	Specifičnost znotraj testa	Občutljivost znotraj testa	Specifičnost med testi	Občutljivost med testi
3951	Raztopina periodne kisline	Monociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Granulociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Glikogen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Bazalna membrana	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3952	Schiffov reagent	Monociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Granulociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Glikogen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Bazalna membrana	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
GHS3-50ML	Raztopina hematoksilina Gill št. 3	Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Opozorila in nevarnosti

Vse posodobljene informacije o tveganju, nevarnosti ali varnosti najdete na varnostnem listu in oznaki izdelka.

395B:



- H290: Lahko je korozivno za kovine.
- H302: Zdravju škodljivo pri zaužitju.
- H314: Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
- H350: Lahko povzroči nastanek raka.
- H373: Pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti lahko ob zaužitju povzroči poškodbe organov (ledvic).
- H412: Dolgotrajno škodljivo za vodne organizme.
- P273: Preprečiti sproščanje v okolje.
- P280: Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- P301 + P312: V PRIMERU ZAUŽITJA: Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P303 + P361 + P353: PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.
- P304 + P340 + P310: PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P305 + P351 + P338: PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

Če je med uporabo te naprave ali kot posledica njene uporabe prišlo do resnega incidenta, o tem obvestite proizvajalca in/ali njegovega pooblaščenega zastopnika ter ustrezen državni organ.

Definicije simbolov

Simboli, kot so opredeljeni v standardu EN ISO 15223-1:2021

	Proizvajalec		Kataloška številka
	Natančno preberite navodila za uporabo		Koda serije
	Pooblaščen zastopnik v Evropski skupnosti/Evropski uniji		Izjava Evropske unije o skladnosti (opredeljena v IVDR 2017/746)
	Rok uporabe		Medicinski diagnostični pripomoček <i>in vitro</i>
	Temperaturna omejitev		Pozor
	Datum izdelave		Uvoznik
	Označuje pooblaščenega zastopnika v Švici		

Reference

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktni podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Zgodovina revizij

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Pomoč za izjavo o diagnozi je predstavljena v predvideno uporabo. Revidiran je namen uporabe za uskladitev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Dodana so opozorila in nevarnosti.	
Rev. 7.0	2024
Posodobljeno skladno z dogovori o poimenovanju. Popravljen stavek o predvideni uporabi. Dodani CH-REP in podatki o uvozniku	

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH

REP

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Velika črka M, TISSUE-TROL, in Sigma-Aldrich so blagovne znamke družbe Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija ali njenih pridruženih družb. Vse druge blagovne znamke so last njihovih lastnikov. Podrobne informacije o blagovnih znamkah so na voljo v javno dostopnih virih.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrucțiuni de utilizare

Sistem de colorare cu acid periodic-Schiff (PAS)

Procedura nr. 395



Domeniu de utilizare

Sistemul de colorare cu PAS oferă proceduri standard și cu microunde pentru demonstrarea histochimică a limfocitelor și mucopolizaharidelor. Reacția cu PAS în secțiunile de țesut este utilă pentru demonstrarea mucopolizaharidelor. Procedura de digestie prin diastază (α -amilază), urmată de colorarea cu PAS, este utilă ca instrument de diagnosticare a bolilor cu stocare de glicogen. Reactivii cu acid periodic-Schiff (PAS) sunt pentru utilizarea în vederea diagnosticării *in vitro*. Numai pentru uz profesional. Procedura calitativă identifică limfocitele și mucopolizaharidele în frotiuri de sânge sau de măduvă, precum și în țesut fixat în formol și inclus în bloc de parafină din probe provenite de la pacienți. Aceste date, atunci când sunt analizate împreună cu alte teste de diagnosticare și informații, pot fi utilizate ca instrument pentru diagnosticarea infecțiilor fungice și a bolilor cu stocare de glicogen. Vizualizarea histologică a limfocitelor și mucopolizaharidelor este o tehnică unică, folosită în mod frecvent în medicină.

Când sunt tratați cu acid periodic, glicolii se oxidează, transformându-se în aldehide. După reacția cu reactivul Schiff, fucsina eliberată colorează componentele celulelor care conțin compuși oxidabili.³ Această reacție poate să aibă loc în frotiuri de sânge sau de măduvă, lamele de amprentă din țesut sau secțiuni de țesut.^{1,2}

Digestia prin diastază (α -amilază) poate fi folosită ca instrument de diagnosticare a bolilor cu stocare de glicogen. Diastaza hidrolizează amidonul, glicogenul și produși de degradare care se găsesc în aceste polizaharide din țesut. Subprodusele rezultate în urma procesului de digestie sunt clătite înainte de colorarea cu PAS.⁴

Este inclusă o tehnică de colorare rapidă cu PAS folosind cuptoare cu microunde.⁵⁻⁷

Reactivi

Soluție de acid periodic (nr. cat. 3951-100ML și 395132-1L)

Acid periodic, 1 g/dl

Reactiv Schiff (nr. cat. 3952-50ML și 3952016-500ML)

Clorhidrat de pararosanilină, 1 %, și metabisulfid de sodiu, 4 %, în acid clorhidric, 0,25 mol/l. Pericol. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate să provoace cancer.

Soluție de hematoxinilă, Gill nr. 3 (nr. cat. GHS3-100ML)

Hematoxinilă certificată, 6 g/l, C.I. 75290 iodat de sodiu, 0,6 g/l, sulfat de aluminiu, 52,8 g/l și stabilizator

Sunt necesare materiale speciale, dar acestea nu sunt furnizate

- Soluție de formaldehidă, 37 %
- Alcool pentru reactivi
- Lamele de control pozitiv pentru PAS, de exemplu, PAS TISSUE-TROL™ (nr. cat. TTR009-25EA) trebuie incluse în fiecare proces
- Xilen sau substitut de xilen

Numai pentru procedurile cu microunde

- Cuptor cu microunde
- Vas Coplin cu capac cu orificii de aerisire
- Scott's Tap Water Substitute Concentrate (nr. cat. S5134-6x100ML)
- α -amilază (numai pentru procedura de extragere a diastazei) (nr. cat. A3176)

Depozitare și stabilitate

Păstrați soluția de acid periodic și reactivul Schiff în frigider (2–8 °C). Păstrați soluția de hematoxinilă, Gill nr. 3 la temperatura ambiantă (18–26 °C). Reactivii sunt stabili până la data expirării indicată pe etichetă. Formarea precipitatului de reactiv Schiff nu afectează performanța.

Deteriorare

Aruncați soluția de hematoxinilă, Gill nr. 3 dacă devine maro (oxidare excesivă din cauza aerului) sau mov (scăderea acidității) sau când durata necesară pentru colorarea corespunzătoare depășește durata recomandată pentru procedură cu mai mult de 5 minute.

Preparare

Soluția de acid periodic, reactivul Schiff și soluția de hematoxinilă, Gill nr. 3 sunt furnizate gata de utilizare. Încălziți reactivii la temperatura camerei (18–26 °C) înainte de utilizare.

Filtrați reactivul Schiff dacă s-a format un precipitat. NOTĂ: colorarea ușoară în roz din cauza curgerii culorii de pe lamele nu interferează cu testul.

Soluția de lucru cu Scott's Tap Water Substitute se prepară prin diluarea unei părți de Scott's Tap Water Substitute Concentrate cu 9 părți apă deionizată.

Fixatorul cu formalină și etanol se prepară prin amestecarea a 5 ml de formaldehidă cu 45 ml de etanol 95 % (alcool pentru reactivi). Preparați zilnic lamele proaspete și păstrați-le etanșe.

Precauții

Dispozitivele pentru DIV incluse în acest kit sunt destinate utilizării pentru diagnosticarea *in vitro* într-un mediu de laborator clinic. Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate exclusiv utilizării profesionale de către personal calificat. Dispozitivele pentru DIV Sigma-Aldrich pot fi folosite de personal de laborator pregătit pentru manipularea de probe provenite de la oameni care pot fi infecțioase, folosirea microscopelor și a altor echipamente de laborator și care percepe culorile și are acuitate vizuală pentru a distinge culorile și alte obiecte la microscop.

Trebuie luate măsurile de precauție normale pentru manipularea reactivilor de laborator. Eliminați deșeurile respectând toate reglementările locale, statale, provinciale sau naționale.

Lamelele de control PAS TISSUE-TROL™ sunt probe de țesut uman inclus în bloc de parafină care conțin PAS și trebuie considerate potențial infecțioase.

Procedură

Recoltarea probelor

Nicio metodă de testare cunoscută nu garantează că probele de sânge sau țesutul nu va transmite infecții. Prin urmare, toate probele de derivate din sânge sau de țesut trebuie considerate potențial infecțioase.

Se utilizează lamele cu sânge sau măduvă integrală, cu EDTA sau heparinată proaspăt pregătite. Fixați-le cât mai curând posibil.³

Pentru polizaharide, se poate folosi țesut fixat în formalină neutră tamponată 10 %, fixator Zenker sau Bouin.¹ Trebuie notat faptul că unii carbohidrați sunt solubili în apă.² Pentru demonstrarea glicogenului se recomandă soluția lui Carnoy, soluția lui Gendre sau formalină alcoolică acidă.¹ Timpul necesar pentru extragerea diastazei poate fi mai lung atunci când țesutul este fixat într-un fixator care conține acid picric.¹ Tăiați secțiunile de țesut la 5 microni.

Note

Dacă se utilizează un cuptor cu microunde, consultați Manualul utilizatorului pentru instrucțiuni.

Lamele cu sânge prelevat de la persoane sănătoase din punct de vedere clinic pot fi incluse în scopuri de control. Leucocitele polimorfonucleare vor prezenta colorare citoplasmatică în roșu aprins. Secțiuni de țesut cunoscute ca fiind pozitive pentru PAS și/sau care conțin glicogen trebuie incluse de fiecare dată când se efectuează o procedură de colorare.

Procedură

Sânge, măduvă sau lamele de amprentă din țesut

Procedura standard

1. Fixați lamelele uscate la aer timp de **1 minut** la **temperatura ambiantă** în fixator cu formalină și etanol.
2. Clătiți lamelele timp de **1 minut** sub jet ușor de apă de la robinet.
3. Introduceți lamelele în soluție de acid periodic timp de **5 minute** la **temperatura ambiantă**.
4. Clătiți lamelele cu mai multe schimburi de apă distilată.
5. Introduceți lamelele în reactiv Schiff timp de **15 minute** la temperatura ambiantă. NOTĂ: imediat după utilizare, puneți capacul flaconului cu reactiv Schiff și puneți-l la loc în frigider (2–8 °C).
6. Spălați lamelele sub jet de apă de la robinet timp de **5 minute**.
7. Contracolorați lamelele cu soluție de hematoxinilă, Gill nr. 3, timp de **90 de secunde**.
8. Clătiți lamelele sub jet de apă de la robinet timp de **15-30 de secunde**, uscați-le la aer și examinați-le la microscop cu obiectivul de imersie în ulei (900x). Lamelele pot fi preparate cu soluție de preparare bazată pe toluen sau xilen.

Procedura cu microunde

1. Fixați lamelele uscate la aer la **temperatura ambiantă** timp de **1 minut** în fixator cu formalină și etanol.
2. Clătiți lamelele timp de **1 minut** sub jet ușor de apă de la robinet.
3. Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de acid periodic într-un vas Coplin din plastic.
4. Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **10 secunde**.
5. Clătiți-le bine cu mai multe schimburi de apă deionizată.
6. Introduceți lamelele în **40 ml** de reactiv Schiff într-un vas Coplin din plastic.
7. Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **15 secunde**. Amestecați soluția cu o pipetă Beral sau un bețișor aplicator și lăsați-o la incubat **1 minut**.
8. Clătiți sub jet ușor de apă caldă de la robinet timp de **5 minute**.
9. Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de hematoxinilă Gill nr. 3 într-un vas Coplin din plastic.
10. Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **10 secunde**.
11. Clătiți-le sub jet de apă de la robinet timp de **1-2 minute**, apoi colorați-le cu soluție de lucru Scott's Tap Water Substitute la **temperatura ambiantă**.
12. Clătiți-le sub jet de apă de la robinet. Uscați-le la aer.
13. Lamelele pot fi preparate cu soluție de preparare bazată pe toluen sau xilen.

Secțiuni de țesut

Procedura standard

1. Deparafinați și hidratați secțiunile cu apă deionizată.
2. Introduceți lamelele în soluție de acid periodic timp de **5 minute** la **temperatura ambiantă** (18–26 °C).
3. Clătiți-le cu mai multe schimburi de apă distilată.
4. Introduceți lamelele în reactiv Schiff timp de **15 minute** la **temperatura ambiantă** (18–26 °C).
5. Spălați lamelele sub jet de apă de la robinet timp de **5 minute**.
6. Contracolorați lamelele cu soluție de hematoxinilă, Gill nr. 3, timp de **90 de secunde**.
7. Clătiți-le sub jet de apă de la robinet.
8. Deshidratați, clătiți și preparați secțiunile cu soluție de preparare bazată pe toluen sau xilen.

Procedura cu microunde

1. Deparafinați și hidratați cu apă deionizată.
2. Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de acid periodic într-un vas Coplin din plastic. Acoperiți vasul cu capac fără să-l strângeți sau folosiți un capac cu orificii.
3. Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **10 secunde**.
4. Clătiți-le bine cu mai multe schimburi de apă deionizată.
5. Introduceți lamelele în **40 ml** de reactiv Schiff într-un vas Coplin din plastic.
6. Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **15 secunde**. Amestecați soluția cu o pipetă Beral sau un bețișor aplicator și lăsați-o la incubat **1 minut**.
7. Clătiți sub jet ușor de apă caldă de la robinet timp de **5 minute**.
8. Introduceți lamelele în soluție de hematoxinilă Gill nr. 3 într-un vas Coplin din plastic.
9. Încălziți-le la microunde la **800 wați** timp de **10 secunde**.
10. Clătiți-le sub jet de apă de la robinet timp de **1-2 minute**, apoi colorați-le cu soluție de lucru Scott's Tap Water Substitute la **temperatura ambiantă**. Clătiți-le sub jet de apă de la robinet. Deshidratați, clătiți și preparați.

Procedura cu microunde pentru digestia prin diastază (α -amilază)

1. Folosiți lamele de testare dublură. Etichetați una pentru digestia prin diastază și una numai pentru colorarea cu PAS. NOTĂ: se recomandă lamelele acoperite cu adeziv pentru țesut. Nu adăugați celoidin peste secțiuni în cazul digestiei prin diastază.¹
2. Deparafinați și hidratați lamelele cu apă deionizată.

3. Preparați soluția de lucru pentru diastază (α-amilază) dizolvând 0,2 g de α-amilază (nr. cat. A3176) în 40 ml de apă deionizată. Amestecați bine și turnați-o într-un vas Coplin din plastic. Pregătiți soluția chiar înainte de utilizare.
4. Încălziți-o la microunde la **600 wați timp de 25 de secunde**.
5. Scoateți lamelele din vasul Coplin și clătiți lamelele de digestie sub jet de apă de la robinet timp de **5 minute**.
6. Folosind atât lamelele de digestie, cât și pe cele fără digestie, continuați cu Procedura cu microunde pentru țesut, pasul 2.

Caracteristici de performanță

Substanțele PAS pozitive se colorează în roz până la roșu și nucleele sunt albastre. Lamela de extragere a diastazei (α-amilază) nu va prezenta colorarea cu PAS vizibilă a glicogenului comparativ cu lamela de control pozitiv cu glicogen nedigerat.

Dacă rezultatele observate diferă de rezultatele preconizate, contactați serviciul tehnic Sigma-Aldrich pentru asistență.

Caracteristici de performanță analitică

Rezultatele performanței analitice pentru testele efectuate pentru toate structurile vizate confirmă 100 % sensibilitatea, specificitatea și repetabilitatea.

Nr. cat.	Descrierea produsului	Țintă	Specificitatea intra-test	Sensibilitatea intra-test	Specificitatea inter-test	Sensibilitatea inter-test
3951	Soluție de acid periodic	Monocite	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Granulocite	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Glicogen	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Membrana bazală	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
3952	Reactiv Schiff	Monocite	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Granulocite	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Glicogen	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
		Membrana bazală	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
GHS3-50ML	Soluție de hematoxilină, Gill nr. 3	Nuclee	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3

Avertizări și pericole

Consultați Fișa cu date de securitate și eticheta produsului pentru informații actualizate despre riscuri, pericole sau siguranță.

395B:



- H290: Poate fi coroziv pentru metale.
- H302: Nociv în caz de înghițire.
- H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.
- H350: Poate să provoace cancer.
- H373: Poate provoca leziuni ale organelor (rinichilor) în caz de expunere prelungită sau repetată dacă este înghițit.
- H412: Nociv pentru mediul acvatic, cu efecte pe termen lung.
- P273: Evitați dispersarea în mediu.
- P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.
- P301 + P312: ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/ un medic dacă nu vă simțiți bine.
- P303 + P361 + P353: ÎN CAZUL CONTACTULUI CU PIELEA (sau părul): Scoateți-vă imediat toate hainele contaminate. Clătiți pielea cu apă.
- P304 + P340 + P310: ÎN CAZ DE INHALARE: Transportați persoana la aer curat și mențineți-o într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/ un medic.
- P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă sunt prezente și sunt ușor de scos. Continuați să clătiți.

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a folosirii acestuia are loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorităților naționale.

Definițiile simbolurilor

Simboluri conform definiției din EN ISO 15223-1:2021

	Producător		Număr de catalog
	Consultați Instrucțiunile de utilizare		Codul lotului
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană		Declarația de conformitate pentru Uniunea Europeană (definită în IVDR 2017/746)
	Data limită de utilizare		Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>
	Limita de temperatură		Atenție
	Data fabricației		Importator
	Indică reprezentantul autorizat în Elveția		

Referințe

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Informații de contact

Pentru a plasa o comandă, vizitați site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pentru servicii tehnice, vizitați pagina de servicii tehnice de pe site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Istoricul versiunilor

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Am trecut la un șablon nou cu elemente de marcă actuale. Am precizat că dispozitivul este pentru uz profesional în secțiunile Domeniu de utilizare și Precauții. Am mutat afirmația despre instrumentul pentru diagnosticare în secțiunea Domeniu de utilizare. Am modificat secțiunea Domeniu de utilizare pentru a respecta îndrumările IVDR. Am schimbat Fișa tehnică de siguranță în Fișă cu date de securitate. Am actualizat informațiile de contact. Am eliminat instrucțiunile privind respectarea CLSI pentru recoltarea probelor. Am eliminat standardul EN 980 și am adăugat EN ISO 15223-1:2021 pentru simboluri. Am adăugat informații de contact în caz de evenimente adverse. Am adăugat secțiunea Avertizări și pericole.	
Rev. 7.0	2024
Am actualizat convențiile de denumire. Am revizuit afirmația din secțiunea Domeniu de utilizare. Am adăugat informații despre reprezentantul autorizat în Elveția și importator	

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH

REP

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inițiala M, TISSUE-TROL și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germania sau ale afiliaților săi. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărcile comerciale sunt disponibile în resurse accesibile publicului.

Sigma-Aldrich®

Upute za upotrebu

Sustav bojenja Schiffovom periodičnom kiselinom (PAS)

Postupak br. 395



MERCK

Predviđena namjena

Sustav bojenja PAS omogućava standardne postupke i postupke s mikrovalnom pećnicom za histokemijsku demonstraciju limfocita i mikopolisaharida. Reakcija PAS-a u dijelima tkiva korisna je za demonstraciju mukopolisaharida. Postupak digestije diastaze (α-amilaza), nakon kojeg slijedi bojenje PAS-om koristan je kao pomoć u dijagnosticiranju bolesti skladištenja glikogena. Reagensi Schiffove periodične kiseline (PAS) namijenjeni su za „*in vitro* dijagnostičku upotrebu”. Samo za profesionalnu upotrebu. Podaci dobiveni iz ovog ručnog, kvalitativnog postupka pokazuju limfocite i mukopolisaharide u razmazima krvi ili koštane srži, kao i parafinsko tkivo fiksirano formalinom iz ljudskih uzoraka. Kada se pregledaju zajedno s drugim dijagnostičkim testovima i informacijama, ovi se podaci mogu upotrijebiti kao pomoć u dijagnosticiranju gljivičnih infekcija i bolesti skladištenja glikogena. Histološka vizualizacija limfocita i mukopolisaharida jedinstvena je tehnika koja se trenutačno uobičajeno koristi u medicini.

Kada se tretiraju periodičnom kiselinom, glikoli oksidiraju u aldehide. Nakon reakcije sa Schiffovim reagensom, oslobođeni fuksin boji stanične komponente koje sadrže oksidirajuće spojeve.³ Ova se reakcija može izvesti na razmazima krvi ili koštane srži, imprintima tkivnih preparata ili komadićima tkiva.^{1,2}

Može se primijeniti digestija diastaze (α-amilaza) kao pomoć u dijagnosticiranju bolesti skladištenja glikogena. Dijastaza hidrolizira škrob, glikogen i produkte razgradnje koji potječu iz tih polisaharida prisutnih u tkivu. Posljednji nusprodukti postupka digestije ispiru se prije bojenja PAS-om.⁴

Uključena je tehnika za brzo bojenje PAS-om s pomoću mikrovalne pećnice.⁵⁻⁷

Reagensi

Otopina periodične kiseline (kat. br. 395 - 100 ML i 395132 - 1 L)

Periodična kiselina, 1 g/dl

Schiffov reagens (kat. br. 3952 - 50 ML i 3952016 - 500 ML)

Pararosanilin hidroklorid, 1 %, i natrijev metabisulfid, 4 %, u klorovodičnoj kiselini, 0,25 mol/L. Opasnost. Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju. Može uzrokovati rak.

Gillova otopina hematoksilina br. 3 (kat. br. GHS3 - 100 ML)

Certificirani hematoksilin, 6 g/L, C.I. 75290 natrijev jodid, 0,6 g/L, aluminijev sulfat, 52,8 g/L i stabilizator

Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali

- Otopina formaldehida, 37 %
- Alkoholni reagens
- Pri svakoj upotrebi potrebno je uključiti stakalca s pozitivnom kontrolom za PAS kao što je TISSUE-TROL™ za PAS (kat. br. TTR009-25EA)
- Ksilen ili zamjena za ksilen

Samo postupci s mikrovalnom pećnicom

- Mikrovalna pećnica
- Posuda za bojenje histoloških preparata s poklopcima s otvorima
- Koncentrat Scottove zamjene za vodovodnu vodu (kat. br. S5134 - 6 x 100 ML)
- α-amilaza (samo za postupak ekstrakcije diastaze) (kat. br. A3176)

Pohrana i stabilnost

Otopinu periodične kiseline i Schiffov reagens skladištite u hladnjaku (2 – 8 °C). Gillovu otopinu hematoksilina br. 3 skladištite na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C). Reagensi su stabilni do isteka roka valjanosti navedenog na oznakama. Formiranje taloga u Schiffovom reagensu ne utječe na performanse.

Kvarenje

Odožite Gillovu otopinu hematoksilina br. 3 u otpad ako otopina postane smeđa (prekomjerna oksidacija od zraka) ili ljubičasta (gubitak kiselosti) ili kada vrijeme potrebno za odgovarajuće bojenje premaši vrijeme preporučeno u postupku za više od 5 minuta.

Priprema

Otopina periodične kiseline, Schiffov reagens i Gillova otopina hematoksilina br. 3 isporučuje se spremni za upotrebu. Zagrijte reagente na sobnu temperaturu (18 – 26 °C) prije upotrebe.

Filtrirajte Schiffov reagens ako je prisutan talog. NAPOMENA: blaga ružičasta boja zbog prijeljepljivanja boje sa stakalca ne utječe na test.

Radna otopina Scottove zamjene za vodovodnu vodu priprema se razrjeđivanjem 1 dijela koncentrata Scottove zamjene za vodovodnu vodu s 9 dijelova deionizirane vode.

Fiksativna otopina formalin-etanola priprema se miješanjem 5 ml formaldehida s 45 ml 95 %-tnog etanola (alkoholni reagens). Pripremite svježu otopinu i čuvajte čvrsto zatvoreno.

Mjere opreza

In vitro dijagnostički medicinski proizvodi uključeni u ovaj komplet namijenjeni su *in vitro* dijagnostičkoj uporabi u kliničkom laboratorijskom okruženju. Ti su *in vitro* dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su samo za profesionalnu uporabu od strane kvalificiranog osoblja. *In vitro* dijagnostičkim medicinskim proizvodima tvrtke Sigma-Aldrich može upravljati laboratorijsko osoblje koje je obučeno za rukovanje ljudskim uzorcima koji mogu biti zarazni, upotrebu mikroskopa i druge laboratorijske opreme te koje ima percepciju boja i oštrinu vida za razlikovanje boja i drugih predmeta pod mikroskopom.

Treba se pridržavati uobičajenih mjera opreza koje se primjenjuju pri rukovanju laboratorijskim reagensima. Odožite otpad poštujući sve lokalne, državne, pokrajinske ili nacionalne propise.

Stakalca s pozitivnom kontrolom TISSUE-TROL™ za PAS su ljudsko tkivo uronjeno u parafin koje sadrži PAS i treba ih smatrati potencijalno zaraznim.

Postupak

Prikupljanje uzorka

Nijedna poznata metoda ispitivanja ne može pružiti potpunu sigurnost da uzorci krvi ili tkiva neće prenijeti infekciju. Stoga se svi krvni derivati ili uzorci tkiva trebaju smatrati potencijalno zaraznima.

Upotrebljavaju se svježe pripremljeni razmazi pune krvi, EDTA ili heparinizirane krvi ili koštane srži. Fiksirajte što je prije moguće.³

Za polisaharide se može upotrijebiti tkivo fiksirano u 10 % neutralnog puferiranog formalina, Zenkerovog ili Bouinogovog.¹ Treba napomenuti da su neki ugljikohidrati topljivi u vodi.² Za demonstraciju glikogena preporučuju se Carnoyeva tekućina, Gendreeva tekućina ili kiseli alkoholi formalin.³ Vrijeme potrebno za ekstrakciju diastaze može se produljiti kada se tkivo fiksira u pikornoj kiselini koja sadrži fiksativ.¹ Komadići tkiva režu se na 5 mikrona.

Napomene

Ako se upotrebljava mikrovalna pećnica, upute potražite u Priručniku za vlasnika.

U svrhu kontrole mogu se uključiti razmazi krvi klinički zdravih pojedinaca. Polimorfonuklearni leukociti pokazat će intenzivnu crvenu boju citoplazme. Komadići tkiva koji su dokazano PAS-pozitivni i/ili koji sadrže glikogen trebaju se uključiti svaki put kad se provodi sekvenca bojenja.

Postupak

Preparati krvi, koštane srži ili imprinta tkiva

Standardni postupak

- Fiksirajte razmaze sušene na zraku **1 minutu** na **sobnoj temperaturi** u fiksirajućoj otopini formalin-etanola.
- Ispirite stakalca **1 minutu** u sporom mlazu vodovodne vode.
- Uronite stakalca u otopinu periodične kiseline **5 minuta** na **sobnoj temperaturi**.
- Ispirite stakalca u nekoliko izmjena destilirane vode.
- Uronite stakalca u Schiffov reagens **15 minuta** na sobnoj temperaturi.
NAPOMENA: Neposredno nakon upotrebe zatvorite poklopcem Schiffov reagens i vratite ga u hladnjak (2 – 8 °C).
- Ispirite stakalca u tekućoj vodovodnoj vodi **5 minuta**.
- Provedite kontrastaciju stakalca u Gillovoj otopini hematoksilina br. 3 **90 sekundi**.
- Ispirite stakalca pod mlazom vodovodne vode 15 do 30 sekundi, osušite na zraku i pregledajte mikroskopski pod lećom za imerziju u ulje (900x). Stakalca se mogu postaviti u medij za postavljanje na bazi toluena ili ksilena.

Postupak s mikrovalnom pećnicom

- Fiksirajte razmaze sušene na **sobnoj temperaturi 1 minutu** u fiksirajućoj otopini formalin-etanola.
- Ispirite stakalca **1 minutu** pod sporim mlazom vodovodne vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** otopine periodične kiseline u plastične posude za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **800 vata** na **10 sekundi**.
- Dobro isperite u nekoliko izmjena deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** Schiffovog reagensa u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na **800 vata 15 sekundi**. Promiješajte otopinu beralnom pipetom ili štipcem za aplikaciju i inkubirajte **1 minutu**.
- Ispirite pod sporim mlazom tople vodovodne vode **5 minuta**.
- Stavite stakalca u **40 ml** Gillove otopine hematoksilina br. 3, u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **800 vata** na **10 sekundi**.
- Ispirite pod mlazom vodovodne vode **1 do 2 minute**, zatim modrite u radnoj otopini Scottove zamjene za vodovodnu vodu pri **sobnoj temperaturi**.
- Ispirite pod mlazom vodovodne vode. Osušite na zraku.
- Stakalca se mogu postaviti u medij za postavljanje na bazi toluena ili ksilena.

Komadići tkiva

Standardni postupak

- Deparafinizirajte i hidrirajte komadiće do deionizirane vode.
- Uronite stakalca u otopinu periodične kiseline **5 minuta** na **sobnoj temperaturi** (18 – 26 °C).
- Ispirite stakalce u nekoliko izmjena destilirane vode.
- Uronite stakalca u Schiffov reagens **15 minuta** na **sobnoj temperaturi** (18 – 26 °C).
- Ispirite stakalca u tekućoj vodovodnoj vodi **5 minuta**.
- Provedite kontrastaciju stakalca u Gillovoj otopini hematoksilina br. 3 **90 sekundi**.
- Ispirite stakalca pod mlazom vodovodne vode.
- Dehidrirajte, prosvjetlite i postavite komadiće tkiva u medij za postavljanje na bazi toluena ili ksilena.

Postupak s mikrovalnom pećnicom

- Deparafinizirajte i hidrirajte do deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** otopine periodične kiseline u plastične posude za bojenje histoloških preparata. Lagano zatvorite posudu poklopcem ili upotrijebite poklopce s ubušnim otvorima.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na **800 vata 10 sekundi**.
- Dobro isperite u nekoliko izmjena deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** Schiffovog reagensa u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na **800 vata 15 sekundi**. Promiješajte otopinu beralnom pipetom ili štipcem za aplikaciju i inkubirajte **1 minutu**.
- Ispirite pod sporim mlazom tople vodovodne vode **5 minuta**.
- Stavite stakalca u Gillovu otopinu hematoksilina br. 3 u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **800 vata** na **10 sekundi**.
- Ispirite pod mlazom vodovodne vode **1 do 2 minute**, zatim modrite u radnoj otopini Scottove zamjene za vodovodnu vodu pri **sobnoj temperaturi**. Ispirite pod mlazom vodovodne vode. Dehidrirajte, prosvjetlite i postavite.

Postupak s mikrovalnom pećnicom za digestiju dijestaze (α-amilaza)

- Upotrijebite dvostruki broj testnih stakalaca. Označite jedno stakalce za digestiju s dijestazom i jedno samo za bojenje PAS-om.
NAPOMENA: preporučuju se stakalca obložena ljepljivom za tkivo.
Ne celoidinizirajte dijelove tijekom digestije dijestaze.¹
- Deparafinizirajte i hidrirajte stakalca do deionizirane vode.
- Pripremite radnu otopinu dijestaze (α-amilaze) otapanjem 0,2 g α-amilaze, (kat. br. A3176) na 40 ml deionizirane vode. Dobro promiješajte i stavite u plastične posude za bojenje histoloških preparata. Pripremite netom prije upotrebe.
- Stavite u mikrovalnu pećnicu na **600 vata 25 sekundi**.
- Uklonite stakalca iz posude za bojenje histoloških preparata i ispirite digestirano stakalce pod mlazom vodovodne vode **5 minuta**.
- Nastavite na 2. korak postupka s mikrovalnom pećnicom za tkiva tako da upotrijebite i digestirana i nedigestirana stakalca.

Značajke performansi

PAS-pozitivne tvari boje ružičasto do crveno, a jezgre su plave. Stakalce s ekstrakcijom dijestaze (α-amilaze) neće imati vidljivo bojenje glikogena PAS-om u usporedbi sa stakalcem za pozitivnu kontrolu s nedigestiranim glikogenom.

Ako se uočeni rezultati razlikuju od očekivanih, obratite se tehničkoj službi tvrtke Sigma-Aldrich za pomoć.

Značajke analitičkih performansi

Rezultati analitičkih performansi za navedena ispitivanja provedena na svim ciljnim strukturama potvrđuju 100 % osjetljivost, specifičnost i ponovljivost.

Kat. br.	Opis proizvoda	Cilj	Specifičnost unutar testa	Osjetljivost unutar testa	Specifičnost između testova	Osjetljivost između testova
3951	Otopina periodične kiseline	Monociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Granulociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Glikogen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Bazalna membrana	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3952	Schiffov reagens	Monociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Granulociti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Glikogen	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		Bazalna membrana	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
GHS3 - 50 ML	Gillova otopina hematoksilina br. 3	Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Upozorenja i opasnosti

Pogledajte Sigurnosno-tehnički list i oznake na proizvodu za sve ažurirane informacije o riziku, opasnosti ili sigurnosti.

395B:



- H290: može biti korozivno za metale.
- H302: štetno ako se proguta.
- H314: uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju.
- H350: može uzrokovati rak.
- H373: može uzrokovati oštećenje organa (bubrezi) kroz produženo ili ponavljano izlaganje ako se proguta.
- H412: štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.
- P273: izbjegavati ispuštanje u okoliš.
- P280: Nositi zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.
- P301 + P312: U SLUČAJU GUTANJA: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika u slučaju zdravstvenih tegoba.
- P303 + P361 + P353: U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu u vodi.
- P304 + P340 + P310: U SLUČAJU UDISANJA: premjestiti nesrećenog na svježi zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika.
- P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: Oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

Ako se tijekom uporabe ovog proizvoda ili kao rezultat njegove uporabe dogodila ozbiljna nezgoda, prijavite ju proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom predstavniku i svom nacionalnom tijelu.

Definicije simbola

Simboli u skladu s definicijom u standardu EN ISO 15223-1:2021.

	Proizvođač		Kataloški broj
	Pogledajte upute za upotrebu		Broj serije
	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici / Europskoj uniji		Izjava Europske unije o sukladnosti (definirano u IVDR 2017/746)
	Rok upotrebe		In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Ograničenje temperature		Oprez
	Datum proizvodnje		Uvoznik
	Upućuje na ovlaštenog zastupnika u Švicarskoj		

Reference

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2. izd., CV Mosby, St. Louis, (MO), str. 52, 164–167, 1980.
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4. izd. Butterworths, str. 216–220, 1985.
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. U Hematology, 2. izd. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630–1632, 1977.
- Thompson SW: Selected Histological and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), str. 520–539, 1966.
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986.
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983.
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986.

Podaci za kontakt

Za narudžbu, posjetite našu internetsku stranicu na adresi [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Za Tehničku službu, posjetite stranicu tehničke službe na našoj internetskoj stranici na adresi [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Povijest izmjena

Rev. 4.0.	2016.	
Rev. 5.0.	2022.	
Rev. 6.0.	2022.	Preneseno na novi obrazac s trenutačnom oznakom brenda. Specificirano za profesionalnu upotrebu u dijelu o predviđenoj namjeni i mjerama opreza. Izjava o pomoći pri dijagnostici prebačena u dio o predviđenoj namjeni. Revidirana predviđena namjena radi usklađivanja sa smjernicama IVDR-a. List o sigurnosti materijala ažuriran u Sigurnosno-tehnički list. Ažurirani podaci za kontakt. Uklonjena uputa o praćenju CLSI-a pri uzorkovanju. Uklonjen EN 980 i promijenjen u EN ISO 15223-1:2021 za simbole. Dodane nove informacije za kontakt za štetne događaje. Dodana upozorenja i opasnosti
Rev. 7.0.	2024.	Ažurirane konvencije o imenovanju. Revidirana izjava o predviđenoj namjeni. Dodane informacije o CH-REP i uvozniku

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Inicijal M, TISSUE-TROL i Sigma-Aldrich su zaštićeni znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka ili njegovih povezanih društava. Svi su drugi zaštićeni znakovi vlasništvo njihovih vlasnika. Detaljne informacije o zaštićenim znakovima dostupne su putem javno dostupnih izvora.

Instrukcja użycia

System barwienia metodą PAS

Procedura nr 395



Przeznaczenie

System barwienia PAS (ang. Periodic Acid-Schiff) oferuje standardowe oraz mikrofalowe procedury do histochemicznego ukazywania limfocytów i mukopolisacharydów. Reakcja PAS w skrawkach tkankowych jest użyteczna do ukazania mukopolisacharydów. Procedura trawienia za pomocą roztworu diastazy (α -amylazy), a następnie barwienie metodą PAS pomaga w diagnozowaniu chorób spichrzeniowych glikogenu. Odczynniki PAS są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro*. Wyłącznie do użytku profesjonalnego. Dane uzyskane w wyniku przeprowadzenia tej manualnej procedury jakościowej ukazują limfocyty i mukopolisacharydy w rozmazach krwi lub szpiku kostnego, jak również w utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie tkance pochodzenia ludzkiego. Dane te, w połączeniu z innymi testami diagnostycznymi i informacjami, mogą być pomocne w diagnozowaniu infekcji grzybiczych oraz chorób spichrzeniowych glikogenu. Wizualizacja histologiczna limfocytów i mukopolisacharydów to unikalna technika powszechnie stosowana we współczesnej medycynie.

W wyniku obróbki z zastosowaniem kwasu nadjodowego, glikole ulegają utlenieniu do aldehydów. Po reakcji z odczynnikami Schiffa, uwolniona fuksyna barwi składniki komórkowe zawierające utlenialne związki³. Reakcję tę można przeprowadzić na rozmazach krwi lub szpiku kostnego, preparatach odciskowych tkanek lub skrawkach tkankowych^{1,2}.

Trawienie za pomocą roztworu diastazy (α -amylazy) może być pomocne w diagnozowaniu chorób spichrzeniowych glikogenu. Diastaza hydrolizuje skrobię, glikogen oraz produkty ich degradacji, które występują w tych polisacharydach obecnych w tkankach. Produkty uboczne procesu trawienia są wypłukiwane przed barwieniem metodą PAS⁴.

Dołączono procedurę szybkiego barwienia metodą PAS w kuchence mikrofalowej⁵⁻⁷.

Odczynniki

Periodic Acid Solution (nr kat. 3951 — 100 ml i 395132 — 1 l)

Kwas nadjodowy, 1 g/dl

Schiff's reagent (nr kat. 3952 — 50 ml i 3952016 — 500 ml)

Chlorowodorek parazoniliny, 1%, i piroksyn sodu, 4%, w kwasie solnym, 0,25 mol/l.

Niebezpieczeństwo. Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Może powodować rak.

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (nr kat. GHS3-100ML)

Certyfikowana hematoxylina, 6 g/l, C.I. 75290 jodan sodu, 0,6 g/l, siarczan glinu, 52,8 g/l i stabilizator

Specjalne materiały wymagane, ale niedostarczone

- Roztwór formaldehydu, 37%
- Alkohole odczynnikowy Reagent Alcohol
- Za każdym razem należy używać dodatków kontrolnych systemu PAS, takich jak PAS TISSUE-TROL™ (nr kat. TTR009-25EA)
- Ksylen lub substytut ksylenu

Tylko w przypadku procedur obróbki w kuchence mikrofalowej

- Kuchenka mikrofalowa
- Barwiacz Coplina z wentylowaną pokrywką
- Koncentrat substytutu wody wodociągowej Scotta — Scott's Tap Water Substitute Concentrate (nr kat. S5134-6x100ML)
- α -amylaza (tylko na potrzeby procedury ekstrakcji z użyciem diastazy) (nr kat. A3176)

Przechowywanie i stabilność

Produkty Periodic Acid Solution i Schiff's Reagent przechowywać w lodówce (2–8°C). Produkt Hematoxylin Solution, Gill No. 3 przechowywać w temperaturze pokojowej (18–26°C). Odczynniki zachowują stabilność do upływu terminu ważności wskazanego na etykietach. Powstawanie osadu w produkcie Schiff's Reagent nie ma wpływu na skuteczność działania.

Pogorszenie jakości

Produkt Hematoxylin Solution, Gill No. 3 należy wyrzucić, jeśli zmieni kolor na brązowy (nadmierne utlenienie przez powietrze) lub fioletowy (utrata kwasowości) lub jeśli czas wymagany do odpowiedniego barwienia jest dłuższy niż zalecany w procedurze o więcej niż 5 minut.

Przygotowanie

Produkty Periodic Acid Solution, Schiff's Reagent oraz Hematoxylin Solution, Gill No. 3 są dostarczane w postaci gotowej do użytku. Przed użyciem należy ogrzać odczynniki do temperatury pokojowej (18–26°C).

Odczynnik Schiff's Reagent należy przefiltrować, jeśli pojawi się osad. UWAGA: lekko różowe zabarwienie spowodowane wypłukiwaniem barwnika ze szkiełek nie zakłada testu.

Roztwór roboczy substytutu wody wodociągowej Scotta przygotowuje się przez rozcieńczenie 1 części koncentratu substytutu wody wodociągowej Scotta z 9 częściami wody dejonizowanej.

Roztwór utrwalający formalina-etanol przygotowuje się przez wymieszanie 5 ml formaldehydu z 45 ml 95-procentowego etanolu (alkohol odczynnikowy Reagent Alcohol). Codziennie należy przygotowywać świeży roztwór i szczelnie zamykać opakowanie.

Środki ostrożności

Wyroby znajdujące się w tym zestawie są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro* w klinicznym środowisku laboratoryjnym. Niniejsze wyroby do diagnostyki *in vitro* są przeznaczone do użytku profesjonalnego i powinny być stosowane wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Wyroby do diagnostyki *in vitro* firmy Sigma-Aldrich mogą być stosowane wyłącznie przez personel laboratorium przeszkolony w zakresie obróbki potencjalnie zakaźnych próbek pochodzenia ludzkiego oraz korzystania z mikroskopów i innego sprzętu laboratoryjnego, a także posiadający zdolność do rozróżniania kolorów i ostrość widzenia niezbędną do rozpoznawania barw i innych obiektów pod mikroskopem.

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności zalecanych w przypadku korzystania z odczynników laboratoryjnych. Odpady należy utylizować zgodnie ze wszystkimi przepisami prawa miejscowego, stanowego, wojewódzkiego i krajowego.

Preparaty kontrolne PAS TISSUE-TROL™ to zatopione w parafinie tkanki ludzkie zawierające roztwór PAS i należy traktować je jako potencjalnie zakaźne.

Procedura

Pobieranie próbek

Żadna ze znanych metod testowych nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi lub tkanki nie przeniosą zakażenia. W związku z tym wszystkie pochodne próbek krwi lub tkanek należy uznawać za potencjalne źródło zakażenia.

Do ich przygotowania wykorzystuje się rozmazy krwi lub szpiku kostnego z heparyną lub EDTA. Utrwalać możliwie jak najszybciej³.

W przypadku polisacharydów można użyć tkanek utrwalonych w 10-procentowym neutralnym roztworze buforowanej formaliny, płynie Zenkera lub Bouina¹. Należy pamiętać, że niektóre węglowodany są rozpuszczalne w wodzie². Na potrzeby uwidocznienia glikogenu zaleca się stosowanie płynu Carnoy, płynu Gendre'a lub kwaśnej formaliny alkoholowej¹. Czas potrzebny do ekstrakcji z wykorzystaniem diastazy może się wydłużyć, jeśli tkanka została utrwalona w utrwalaczu zawierającym kwas pikrynowy¹. Należy wycinać skrawki tkankowe o grubości 5 mikronów.

Uwagi

W przypadku korzystania z kuchenki mikrofalowej należy zapoznać się z jej instrukcją obsługi.

Jako preparaty kontrolne można dołączyć rozmazy krwi pochodzącej od osób zdrowych z klinicznego punktu widzenia. Leukocyty wielojądrowaste będą mieć intensywnie czerwone barwienie cytoplazmatyczne. Skrawki tkankowe, co do których wiadomo, że są PAS-dodatnie i/lub zawierają glikogen, powinny być dołączane za każdym razem, gdy wykonywana jest sekwencja barwienia.

Procedura

Preparaty z krwi, szpiku kostnego lub preparaty odciskowe tkanek

Procedura standardowa

1. Utrwalać wysuszone na powietrzu rozmazy przez **1 minutę w temperaturze pokojowej** w roztworze utrwalającym formalina-etanol.
2. Płukać delikatnie bieżącą wodą wodociągową przez **1 minutę**.
3. Zanurzyć preparaty w roztworze kwasu nadjodowego na **5 minut w temperaturze pokojowej**.
4. Wypłukać preparaty, kilkakrotnie wymieniając wodę dejonizowaną.
5. Zanurzyć preparaty w odczynniku Schiff's Reagent na **15 minut** w temperaturze pokojowej. UWAGA: Natychmiast po użyciu zamknąć opakowanie odczynnika Schiffa i umieścić w lodówce (2–8°C).
6. Płukać preparaty pod bieżącą wodą wodociągową przez **5 minut**.
7. Preparaty barwić kontrastowo w roztworze hematoxyliny Hematoxylin Solution, Gill No. 3 przez **90 sekund**.
8. Płukać preparaty pod bieżącą wodą wodociągową przez **15–30 sekund**, wysuszyć na powietrzu i zbadać pod mikroskopem z obiektywem imersyjnym olejowym (900x). Preparaty można osadzić w medium na bazie toluenu lub ksylenu.

Procedura obróbki w kuchence mikrofalowej

1. Utrwalać wysuszone na powietrzu rozmazy przez **1 minutę w temperaturze pokojowej** w roztworze utrwalającym formalina-etanol.
2. Płukać preparaty pod wolnym strumieniem bieżącej wody wodociągowej przez **1 minutę**.
3. Umieścić preparaty w **40 ml** roztworu produktu Periodic Acid Solution zawartych w plastikowym barwiaczu Coplina.
4. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **10 sekund**.
5. Dokładnie wypłukać, kilkakrotnie wymieniając wodę dejonizowaną.
6. Umieścić preparaty w **40 ml** odczynnika Schiff's Reagent zawartych w plastikowym barwiaczu Coplina.
7. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **15 sekund**. Mieszać roztwór za pomocą pipety lub aplikatora, a następnie inkubować przez **1 minutę**.
8. Płukać delikatnie pod bieżącą, ciepłą wodą wodociągową przez **5 minut**.
9. Umieścić preparaty w 40 ml roztworu hematoxyliny Hematoxylin Solution, Gill No. 3 zawartych w plastikowym barwiaczu Coplina.
10. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **10 sekund**.
11. Płukać pod bieżącą wodą wodociągową przez **1–2 minuty**, a następnie w niebieskim roztworze roboczym substytutu wody wodociągowej Scotta **w temperaturze pokojowej**.
12. Oplukać bieżącą wodą wodociągową. Wysuszyć na powietrzu.
13. Preparaty można osadzić w medium na bazie toluenu lub ksylenu.

Skrawki tkankowe

Procedura standardowa

1. Odparafinować i uwodnić skrawki w wodzie dejonizowanej.
2. Zanurzyć preparaty w roztworze Periodic Acid Solution na **5 minut w temperaturze pokojowej** (18–26°C).
3. Wypłukać preparat, kilkakrotnie wymieniając wodę dejonizowaną.
4. Zanurzyć preparaty w odczynniku Schiff's Reagent na **15 minut w temperaturze pokojowej** (18–26°C).
5. Płukać preparaty pod bieżącą wodą wodociągową przez **5 minut**.
6. Preparaty barwić kontrastowo w roztworze hematoxyliny Hematoxylin Solution, Gill No. 3 przez **90 sekund**.
7. Przepłukać preparaty bieżącą wodą wodociągową.
8. Odwodnić, oczyścić i osadzić w medium na bazie toluenu lub ksylenu.

Procedura obróbki w kuchence mikrofalowej

1. Odparafinować i uwodnić w wodzie dejonizowanej.
2. Umieścić preparaty w **40 ml** roztworu Periodic Acid Solution zawartych w plastikowym barwiaczu Coplina. Delikatnie przykryć barwiacz pokrywką lub użyć pokrywy z wywierconymi otworami.
3. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **10 sekund**.
4. Dokładnie wypłukać, kilkakrotnie wymieniając wodę dejonizowaną.

- Umieścić preparaty w **40 ml** odczynnika Schiff's Reagent zawartych w plastikowym barwiaczu Coplina.
- Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **15 sekund**. Mieszać roztwór za pomocą pipety lub aplikatora, a następnie inkubować przez **1 minutę**.
- Płukać delikatnie pod bieżącą, ciepłą wodą wodociągową przez **5 minut**.
- Umieścić preparaty w roztworze Hematoxylin Solution, Gill No. 3 zawartym w plastikowym barwiaczu Coplina.
- Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **10 sekund**.
- Płukać pod bieżącą wodą wodociągową przez **1–2 minuty**, a następnie w niebieskim roztworze roboczym substytutu wody wodociągowej Scotta w **temperaturze pokojowej**. Opłukać bieżącą wodą wodociągową. Odwodnić, oczyścić i osadzić.

Procedura obróbki w kuchence mikrofalowej na potrzeby trawienia za pomocą roztworu diastazy (α-amylaza)

- Użyć duplikatów preparatów testowych. Jeden oznaczyć etykietą trawienia za pomocą roztworu diastazy, a drugi barwienia metodą PAS. UWAGA: zaleca się stosowanie preparatów pokrytych środkiem do mocowania tkanek. Nie należy zatapiać skrawków w celodynie w przypadku trawienia za pomocą roztworu diastazy¹.
- Odparafinować i uwodnić preparaty w wodzie dejonizowanej.
- Przygotować roztwór roboczy diastazy (α-amylazy), rozpuszczając 0,2 g α-amylazy, (nr kat. A3176) w 40 ml wody dejonizowanej. Dokładnie wymieszać i umieścić w plastikowym barwiaczu Coplina. Przygotować bezpośrednio przed użyciem.
- Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **600 watów** przez **25 sekund**.
- Wyjąć preparaty z barwiacza Coplina i płukać trawiony preparat bieżącą wodą wodociągową przez **5 minut**.
- Przejdź do kroku 2 procedury obróbki tkanek w kuchence mikrofalowej z wykorzystaniem preparatów trawionych i nietrawionych.

Charakterystyka wydajności

Substancje PAS-dodatki mają kolor różowy, a jądra są niebieskie. W przypadku preparatu poddanego ekstrakcji za pomocą diastazy (α-amylazy), wybarwienie PAS glikogenu nie będzie widoczne w porównaniu z nietrawionym preparatem kontrolnym.

Jeśli uzyskane wyniki różnią się od spodziewanych, prosimy o skontaktowanie się z serwisem technicznym firmy Sigma-Aldrich w celu uzyskania pomocy.

Charakterystyka wydajności analitycznej

Badania w zakresie wydajności analitycznej danych testów przeprowadzone względem wszystkich struktur docelowych potwierdzają 100-procentową czułość, swoistość i powtarzalność.

Nr kat.	Opis produktu	Struktura docelowa	Swoistość w obrębie testu	Czułość w obrębie testu	Swoistość między testami	Czułość między testami
3951 r.	Periodic Acid Solution	Monocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Granulocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Glikogen	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Błona podstawna	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3952 r.	Schiff's Reagent	Monocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Granulocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Glikogen	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Błona podstawna	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
GHS3 — 50 ml	Hematoxylin Solution, Gill No. 3	Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Ostrzeżenia i zagrożenia

Informacje na temat aktualnych zagrożeń i środków ostrożności można znaleźć w Karcie charakterystyki substancji oraz etykiecie produktu.

395B:



- H290: Może powodować korozję metali.
- H302: Działa szkodliwie po połknięciu.
- H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
- H350: Może powodować raka.
- H373: Może powodować uszkodzenie narządów (nerki) poprzez długotrwałe lub narażenie powtarzane w przypadku połknięcia.
- H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
- P273: Unikać uwolnienia do środowiska.
- P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
- P301 + P312: W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUC/lekarzem.
- P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznice.
- P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUC/lekarzem.
- P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.

Jeśli podczas lub w wyniku stosowania tego wyrobu dojdzie do poważnego incydentu, prosimy o zgłoszenie go do producenta i/lub jego autoryzowanego przedstawiciela oraz właściwych organów krajowych.

Definicje symboli

Symboly są zgodne z definicjami pochodzącymi normy EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Numer katalogowy
	Zapoznać się z instrukcją użycia		Kod partii
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / na terenie Unii Europejskiej		Deklaracja zgodności Unii Europejskiej (zdefiniowana w IVDR 2017/746)
	Termin przydatności do użycia		Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zakres dopuszczalnych temperatur		Przeostroga
	Data produkcji		Importer
	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii		

Literatura

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Dane kontaktowe

Zamówienia można składać za pośrednictwem naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Pomoc Serwisu Technicznego można uzyskać za pośrednictwem karty serwisowej w obrębie naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Poprzednie wersje

Wer. 4.0	2016 r.
Wer. 5.0	2022 r.
Wer. 6.0	2022 r. Przeniesiono do nowego szablonu z aktualnymi oznaczeniami marki. Uwzględniono informację o tym, że wyrób jest przeznaczony do użytku profesjonalnego w częściach „Przeznaczenie” i „Środki ostrożności”. Przeniesiono oświadczenie o wspomaganiu diagnostyki do części „Przeznaczenie”. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie” w celu uwzględnienia wytycznych IVDR. Zaktualizowano nazwę „Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej” na „Karcie charakterystyki substancji”. Zaktualizowano dane kontaktowe. Usunięto instrukcję dotyczącą pobierania próbek zgodnie z wytycznymi CLSI. Usunięto normę EN 980 i zmieniono na EN ISO 15223-1:2021 w części “Symbole”. Dodano dane kontaktowe na potrzeby zgłaszania zdarzeń niepożądanych. Dodano część „Ostrzeżenia i zagrożenia”.
Wer. 7.0	2024 r. Zaktualizowano konwencje nazewnictwa. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie”. Dodano informacje dotyczące przedstawiciela na terenie Szwajcarii (CH-REP) i informacje dotyczące importera.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Inicjał „M”, TISSUE-TROL i Sigma-Aldrich są znakami towarowymi spółki Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy lub jej podmiotów stowarzyszonych. Wszelkie inne znaki towarowe należą do odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje dotyczące znaków towarowych można uzyskać z powszechnie dostępnych źródeł.

Инструкции за употреба

Периодна киселина – Шиф (PAS) Система за оцветяване

Процедура № 395



Предназначение

Системата за оцветяване PAS предлага стандартни и микровълнови процедури за хистохимично демонстриране на лимфоцити и мукополизахариди. Реакцията с PAS в тъканни срезове е полезна за демонстриране на мукополизахариди. Процедурата на разграждане с диастаза (α-амилаза), последвана от оцветяване с PAS, е полезна като помощно средство при диагностицирането на заболявания, свързани със съхранението на гликоген. Реагентите от Периодна киселина – Шиф (PAS) са предназначени за „*in vitro*“ диагностична употреба“. Само за професионална употреба. Данните, получени от тази ръчна качествена процедура, идентифицират лимфоцити и мукополизахариди в тънки слоеве с кръв или костен мозък, както и във фиксирана във формалин и включена в парафин тъкан от човешки образци. Тези данни, когато се прегледат заедно с други диагностични тестове и информация, може да се използват като помощно средство за диагностициране на гъбични инфекции и заболявания, свързани със съхранението на гликоген. Хистологичната визуализация на лимфоцити и мукополизахариди е уникална техника, която понастоящем се използва често в медицината.

Когато се обработят с периодна киселина, гликолитите се окисляват до алдехиди. След реакция с реагента на Шиф освободеният фуксин оцветява клетъчните компоненти, съдържащи окисляващите се съединения.³ Тази реакция може да се извърши върху тънки слоеве с кръв или костен мозък, препарати с отпечатък от тъкани или тъканни срезове.^{1,2}

Разграждането с диастаза (α-амилаза) може да се използва като помощно средство при диагностицирането на заболявания, свързани със съхранението на гликоген. Диастазата хидролизира скорбялата, гликогена и продуктите на разграждане, произхождащи от тези полизахариди, присъстващи в тъканите. Получените странични продукти от процеса на разграждане се измиват преди оцветяването с PAS.⁴

Включена е техника за бързо PAS оцветяване с помощта на микровълнови фурни.⁵⁻⁷

Реагенти

Разтвор на периодна киселина (кат. № 3951-100ML и 395132-1L)
Периодна киселина, 1 g/dL

Реагент на Шиф (кат. № 3952-50ML и 3952016-500ML)
Парарозанилин HCl, 1%, и натриев метабисулфит, 4%, в солна киселина, 0,25 mol/L. Опасно. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини рак.

Хематоксилин разтвор по Джил № 3 (кат. № GHS3-100ML)
Сертифициран хематоксилин, 6 g/L C.I. 75290 натриев йодат, 0,6 g/L, алуминиев сулфат, 52,8 g/L, и стабилизатор

Необходими специални материали, които не са осигурени

- Разтвор на формалдехид, 37%
- Реагентен алкохол
- При всеки цикъл трябва да се включват положителни контролни предметни стъкла за PAS, като например PAS TISSUE-TROL™ (кат. № TTR009-25EA)
- Ксилен или заместител на ксилен

Само за микровълнови процедури

- Микровълнова фурна
- Вана Коплин с вентилирани капаци
- Концентрат за заместител на чешмяна вода на Скот (кат. № S5134-6x100ML)
- α-амилаза (само за процедура за екстракция на диастаза) (кат. № A3176)

Съхранение и стабилност

Съхранявайте разтвора на периодна киселина и реагента на Шиф в хладилник (2 – 8°C). Съхранявайте хематоксилин разтвор по Джил № 3 при стайна температура (18 – 26°C). Реагентите са стабилни до срока на годност, посочен на етикетите. Образуването на утайка в реагента на Шиф не влияе на работата.

Влошаване на качеството

Изхвърлете хематоксилин разтвор по Джил № 3, ако той стане кафяв (прекомерно окислен от въздуха) или лилав (загуба на киселинност), или когато времето, необходимо за подходящо оцветяване, надвишава времето, препоръчано в процедурата, с повече от 5 минути.

Подготовка

Разтворът на периодна киселина, реагентът на Шиф и хематоксилин разтворът по Джил № 3 се доставят готови за употреба. Преди употреба затоплете реагентите до стайна температура (18 – 26°C).

Филтрирайте реагента на Шиф, ако има утайка. ЗАБЕЛЕЖКА: Слабо розово оцветяване, дължащо се на извличане на цвят от предметните стъкла, не пречи на теста.

Работният разтвор със заместител на чешмяна вода на Скот се приготвя чрез разреждане на 1 част от концентрат за заместител на чешмяна вода на Скот с 9 части дейонизирана вода.

Фиксиращият разтвор на формалин-етанол се приготвя чрез смесване на 5 mL формалдехид с 45 mL 95% етанол (реагентен алкохол). Пригответе пресни разтвори всеки ден и ги дръжте плътно затворени.

Предпазни мерки

IVD, включени в този комплект, са предназначени за *in vitro* диагностична употреба в клинична лабораторна среда. Тези IVD са само за професионална употреба от квалифициран персонал. С IVD на Sigma-Aldrich може да работи лабораторен персонал, който е обучен да борави с потенциално инфекциозни човешки образци, да използва микроскопи и друго лабораторно оборудване и има цветово възприятие и зрителна острота, за да различава цветовете и други обекти под микроскоп.

При боравене с лабораторни реагенти трябва да се спазват обичайните предпазни мерки. Изхвърляйте отпадъците, като спазвате всички местни, държавни, локални или национални разпоредби.

Контролните предметни стъкла PAS TISSUE-TROL™ са с включена в парафин човешка тъкан, съдържаща PAS, и трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Процедура

Взимане на проба

Никои известен тестов метод не може да гарантира напълно, че кръвните проби или тъканта няма да пренесат инфекция. Поради това всички кръвни производни или тъканни образци трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Използват се прясно приготвени тънки слоеве с цяла кръв, кръв с EDTA или хепаринизирана кръв, или тънки слоеве с костен мозък. Фиксирайте възможно най-скоро.³

За полизахариди може да се използва тъкан, фиксирана в 10% неутрален буфериран формалин на Zenker или Bouin.¹ Трябва да се отбележи, че някои въглехидрати са водоразтворими.² За демонстриране на гликоген се препоръчва течност на Carnoy, течност на Gendie или кисел алкохол формалин.¹ Времето, необходимо за екстракция на диастаза, може да се удължи, когато тъканта се фиксира във фиксатор, съдържащ пикринова киселина.¹ Нарезете тъканните срезове на 5 микрона.

Забележки

Ако се използва микровълнова фурна, моля, вижте ръководството на собственика за инструкции.

Тънките слоеве с кръв, приготвени от клинично здрави индивиди, може да бъдат включени за контролни цели. Полиморфонуклеарните левкоцити ще покажат интензивно червено цитоплазмено оцветяване. Всеки път, когато се извършва последователност на оцветяване, трябва да се включват тъканни срезове, за които е известно, че са PAS положителни и/или съдържат гликоген.

Процедура

Препарати с кръв, костен мозък или отпечатък от тъкан

Стандартна процедура

- Фиксирайте тънките слоеве, изсушени на въздух, за **1 минута** на **стайна температура** във фиксиращ разтвор на формалин-етанол.
- Изплакнете предметните стъкла за **1 минута** под бавно течаща чешмяна вода.
- Потопете предметните стъкла в разтвор на периодна киселина за **5 минути** на **стайна температура**.
- Изплакнете предметните стъкла с няколко смени на дестилирана вода.
- Потопете предметните стъкла в реагента на Шиф за **15 минути** на стайна температура. ЗАБЕЛЕЖКА: Непосредствено след употреба затворете с капачка реагента на Шиф и го върнете в хладилника (2 – 8°C).
- Промийте предметните стъкла под течаща чешмяна вода за **5 минути**.
- Оцветете контрастно предметните стъкла в хематоксилин разтвор по Джил № 3 за **90 секунди**.
- Изплакнете предметните стъкла под течаща чешмяна вода за **15 – 30 секунди**, изсушете ги на въздух и ги изследвайте под микроскоп с маслена имерсионна леща (900x). Предметните стъкла може да бъдат залети в среда за заливка на базата на толуен или ксилен.

Микровълнова процедура

- Фиксирайте тънките слоеве, изсушени на въздух, на **стайна температура** за **1 минута** във фиксиращ разтвор на формалин-етанол.
- Изплакнете предметните стъкла за **1 минута** под бавно течаща чешмяна вода.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на периодна киселина в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **800 вата** за **10 секунди**.
- Изплакнете добре с няколко смени на дейонизирана вода.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** реагент на Шиф в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **800 вата** за **15 секунди**. Смесете разтвора с обемна пипета или апликаторна пръчка и оставете да се инкубира за **1 минута**.
- Изплакнете с топла леко течаща чешмяна вода за **5 минути**.
- Поставете предметните стъкла в **40 mL** хематоксилин разтвор по Джил № 3 в пластмасова вана Коплин.
- Сложете в микровълнова фурна при **800 вата** за **10 секунди**.
- Изплакнете с течаща чешмяна вода за **1 – 2 минути**, след това посинете с работен разтвор със заместител на чешмяна вода на Скот на **стайна температура**.
- Изплакнете в течаща чешмяна вода. Изсушете на въздух.
- Предметните стъкла може да бъдат залети в среда за заливка на базата на толуен или ксилен.

Тъканни срезове

Стандартна процедура

- Депарафинизирайте и хидратирайте срезовете с дейонизирана вода.
- Потопете предметните стъкла в разтвор на периодна киселина за **5 минути** на **стайна температура** (18 – 26°C).
- Изплакнете предметното стъкло с няколко смени на дестилирана вода.
- Потопете предметните стъкла в реагента на Шиф за **15 минути** на **стайна температура** (18 – 26°C).
- Промийте предметните стъкла под течаща чешмяна вода за **5 минути**.
- Оцветете контрастно предметните стъкла в хематоксилин разтвор по Джил № 3 за **90 секунди**.
- Изплакнете предметните стъкла в течаща чешмяна вода.
- Дехидратируйте, просветлете и залейте срезовете в среда за заливка на базата на толуен или ксилен.

Микровълнова процедура

- 1. Депарафинизирайте и хидратирайте с дейонизирана вода.
- 2. Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на периодна киселина в пластмасова вана Коплин. Хлабаво покрийте ваната с капак или използвайте капаци с пробити в тях дупки.
- 3. Сложете в микровълнова фурна при **800 вата за 10 секунди**.
- 4. Изплакнете добре с няколко смени на дейонизирана вода.
- 5. Поставете предметните стъкла в **40 mL** реагент на Шиф в пластмасова вана Коплин.
- 6. Сложете в микровълнова фурна при **800 вата за 15 секунди**. Смесете разтвора с обменна пипета или апликаторна пръчка и оставете да се инкубира за **1 минута**.
- 7. Изплакнете с топла леко течаща чешмяна вода за **5 минути**.
- 8. Поставете предметните стъкла в хематоксилин разтвор по Джил № 3 в пластмасова вана Коплин.
- 9. Сложете в микровълнова фурна при **800 вата за 10 секунди**.
- 10. Изплакнете с течаща чешмяна вода за **1 – 2 минути**, след това посинете с работен разтвор със заместител на чешмяна вода на Скот на **стаяна температура**. Изплакнете в течаща чешмяна вода. Дехидратирайте, просветлете и залейте.

Микровълнова процедура за разграждане с диастаза (α-амилаза)

- 1. Използвайте дублирани тестови предметни стъкла. Етикетирайте едно за разграждане с диастаза и едно само за оцветяване с PAS. ЗАБЕЛЕЖКА: Препоръчват се предметни стъкла, покрити с лепило за тъкани. Не целоидинизирайте срезове, когато извършвате разграждане с диастаза.¹
- 2. Депарафинизирайте и хидратирайте предметните стъкла с дейонизирана вода.
- 3. Пригответе работен разтвор на диастаза (α-амилаза), като разтворите 0,2 g α-амилаза (кат. № A3176) в 40 mL дейонизирана вода. Разбъркайте добре и поставете в пластмасова вана Коплин. Пригответе непосредствено преди употреба.
- 4. Сложете в микровълнова фурна при **600 вата за 25 секунди**.
- 5. Отстранете предметните стъкла от ваната Коплин и изплакнете разградените предметни стъкла в течаща чешмяна вода за **5 минути**.
- 6. Като използвате както разградените, така и неразградените предметни стъкла, продължете с микровълновата процедура за тъкан, стъпка 2.

Работни характеристики

Положителните на PAS вещества се оцветяват в розово до червено, а ядрата са сини. Предметно стъкла за екстракция с диастаза (α-амилаза) няма да има видимо PAS оцветяване на гликоген в сравнение с положителното контролно предметно стъкло на неразграден гликоген.

Ако наблюдаваните резултати се различават от очакваните, моля, свържете се с отдела по техническо обслужване на Sigma-Aldrich за съдействие.

Характеристики на аналитичното действие

Резултатите за аналитичното действие за дадените тестове, проведени върху всички целеви структури, потвърждават 100% чувствителност, специфичност и повторяемост.

Кат. №	Описание на продукта	Цел	Специ- фичност на рамките на анализа	Чувстви- телност в рамките на анализа	Специфич- ност между анализите	Чувстви- телност между анализите
3951	Разтвор на периодна киселина	Моноцити	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Гранулоцити	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Гликоген	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
	Базална мембрана		3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
3952	Реагент на Schiff	Моноцити	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Гранулоцити	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
		Гликоген	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
	Базална мембрана		3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
GHS3-50ML	Хематокси- лин разтвор по Джил № 3	Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3

Предупреждения и опасности

Направете справка с информационния лист за безопасност и етикетирането на продукта за актуализирана информация за риск, опасност или безопасност.

395B:



H290: Може да бъде корозивно за металите.

H302: Вреден при поглъщане.

H314: Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.

H350: Може да причини рак.

H373: Може да причини увреждане на органите (бъбреците) при продължителна или повтаряща се експозиция при поглъщане.

H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

P273: Да се избягва изпускане в околната среда.

P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

P301 + P312: ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: При неразположение се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

P303 + P361 + P353: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.

P304 + P340 + P310: ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Дефиниции на символите

Символи, както са дефинирани в EN ISO 15223-1:2021

	Производител		Каталожен номер
	Вижте инструкциите за употреба		Код на партида
	Упълномощен представител в Европейската общност/ Европейския съюз		Декларация за съответствие на Европейския съюз (дефинирана в IVDR 2017/746)
	Дата на срок на годност		Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика
	Температурна граница		Внимание
	Дата на производство		Вносител
	Указва упълномощения представител в Швейцария		

Референции

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- 2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- 3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- 4. Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
- 5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Информация за контакт

За да направите поръчка, моля, посетете нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com. За техническо обслужване, моля, посетете страницата за техническо обслужване на нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com/techservice.

Хронология на редакциите

Ред. 4.0	2016 г.	
Ред. 5.0	2022 г.	
Ред. 6.0	2022 г.	Прехвърлено на нов шаблон с текущо брандиране. Посочено за професионална употреба при предназначение и предпазни мерки. Преместено твърдение за помощно средство за диагностициране към предназначението. Редактирана предвидена употреба, за да се приведе в съответствие с насоките за IVDR. Актуализиран информационен лист за безопасност на материалите към информационния лист за безопасност. Актуализирана информация за контакт. Премахната инструкция за следване на CLSI за вземане на образци. Премахнат EN 980 и променен на EN ISO 15223-1:2021 за символи. Добавена информация за контакт при нежелани събития. Добавени предупреждения и опасности.
Ред. 7.0	2024 г.	Актуализирани конвенции за именуване. Преработена декларация за предназначение. Добавена информация за CH-REP и вносителя

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Initial M, TISSUE-TROL и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Darmstadt, Германия или свързаните дружества на компанията. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки е налична чрез публично достъпни ресурси.

3. Sagatavojiet diastāzes (α-amilāzes) darba šķīdumu, atšķaidot 0,2 g α-amilāzes (kat. Nr. A3176) ar 40 ml dejonizēta ūdens. Kārtīgi samaisiet un ielejiet plastmasas Koplina traukā. Sagatavojiet šķīdumu tieši pirms lietošanas.
4. Apstrādājiet mikroviļņu krāsnī ar **600 vatu** jaudu **25 sekundes**.
5. Izņemiet priekšmetstiklīgu no Koplina trauka un šķelšanas procesa (hidrolizēto) priekšmetstiklīgu skalojiet ar tekošu krāna ūdeni **5 minūtes**.
6. Izmantojot gan hidrolizēto, gan nehidrolizēto priekšmetstiklīgu, turpiniet ar Procedūras audu apstrādei mikroviļņu krāsnī 2. darbību.

Veiktspējas raksturlielumi

PAS pozitīvās vielas iekrāsojas rozā vai sarkanas, un kodoli ir zili. Uz diastāzes (α-amilāzes) ekstrakcijas priekšmetstiklīga nebūs redzama glikogēna PAS iekrāsošanās, salīdzinot ar pozitīvo kontroles priekšmetstiklīgu ar nesašķeltu glikogēnu.

Ja novērotie rezultāti atšķiras no gaidāmajiem rezultātiem, lūdzu, sazinieties ar Sigma-Aldrich Tehniskā atbalsta dienestu, lai saņemtu palīdzību.

Analītiskās veiktspējas raksturlielumi

Analītiskās veiktspējas rezultāti minētajos testos, kas veikti ar visām mērķa struktūrām, apstiprina 100% jutību, specifiskumu un atkārtojamību.

Kat. Nr.	Produkta apraksts	Mērķis	Specifiskums analīzes laikā	Jutība analīzes laikā	Starpanalīžu specifiskums	Starpanalīžu jutība
3951	Perjodskābes šķīdums	Monocīti	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Granulocīti	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Glikogēns	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
3952	Šīfa reaģents	Bazālā membrāna	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Monocīti	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Granulocīti	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
	Gila	Glikogēns	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Bazālā membrāna	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
		Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
GHS3-50ML	hematoksilīna šķīdums Nr. 3					

Bridinājumi un riski

Jaunāko informāciju par riskiem, bīstamību vai drošumu skatiet Drošības datu lapā un produkta marķējumā.

395B:



- H290: Var kodīgi iedarboties uz metāliem.
- H302: Kaitīgs, ja norij.
- H314: Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.
- H350: Var izraisīt vēzi.
- H373: Var izraisīt orgānu (nieru) bojājumus ilgstošas vai atkārtotas iedarbības rezultātā, ja norij.
- H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.
- P273: Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.
- P280: Izmantot aizsargcimdus / aizsargdrēbes / acu aizsargus / sejas aizsargus.
- P301 + P312: NORĪŠANAS GADĪJUMĀ: sazinieties ar SAINDĒŠANAS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu, ja jums ir slihta pašsajūta.
- P303 + P361 + P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.
- P304 + P340 + P310: IEELPOŠANAS GADĪJUMĀ: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu.
- P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: uzmanīgi izskalo ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skatot.

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns incidents, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī kompetentajai iestādei jūsu valstī.

Simbolu definīcijas

Simboli atbilst definīcijām standartā EN ISO 15223-1:2021

	Ražotājs		Kataloga numurs
	Skatīt lietošanas instrukciju		Partijas kods
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā		Eiropas Savienības atbilstības deklarācija (definēta IVDR 2017/746)
	Derīguma termiņš		Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
	Temperatūras ierobežojums		Uzmanību!
	Izgatavošanas datums		Importētājs
	Norāda pilnvaroto pārstāvi Šveicē		

Atsauces

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), 52., 164.–167. lpp., 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, 216.–220. lpp., 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, 1630.–1632. lpp., 1977
4. Thompson SW: Selected Histochemical and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), 520.–539. lpp., 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktinformācija

Lai veiktu pasūtījumu, apmeklējiet mūsu tīmekļvietni [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Lai sazinātos ar Tehniskā atbalsta dienestu, apmeklējiet tehniskā atbalsta dienesta lapu mūsu tīmekļvietnē [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Pārskatīto versiju vēsture

Vers. 4.0	2016
Vers. 5.0	2022
Vers. 6.0	2022
Pāreja uz jaunu veidni ar pašreizējo zīmola identitāti. Sadaļā ar paredzēto lietojumu un piesardzības pasākumiem norādīta profesionāla lietošana. Norāde par palīgīdzekli diagnostikā pārvietota uz sadaļu par paredzēto lietojumu. Pārskatīts paredzētais lietojums, lai to pieskaņotu IVDR vadlīnijām. Termins "Materiālu drošības datu lapa" mainīts uz "Drošības datu lapa". Atjaunināta kontaktinformācija. Svitrots norādījums paraugu ņemšanā ievērot CLSI. Svitrots EN 980 un aizstāts ar standartu EN ISO 15223-1:2021 attiecībā uz simboliem. Pievienota kontaktinformācija ziņošanai par nevēlamiem notikumiem. Pievienota sadaļa "Bridinājumi un riski".	
Vers. 7.0	2024
Atjaunināti nosaukumu veidošanas principi. Pārskatīts paredzētā lietojuma formulējums. Pievienots CH-REP un informācija par importētāju.	

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH

REP

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Iniciālais M, TISSUE-TROL un Sigma-Aldrich ir preču zīmes, kas pieder uzņēmumam Merck KGaA, Darmštātē, Vācijā, vai tā saistītajiem uzņēmumiem. Visas pārējās preču zīmes pieder to attiecīgajiem īpašniekiem. Sīkāka informācija par preču zīmēm sniegta publiski pieejamos avotos.

Naudojimo instrukcija

Periodinio rrūgštinio Šifo (PAS) reagento Dažymo sistema

Procedūros Nr. 395



Paskirtis

PAS dažymo sistema siūlo standartinę ir mikrobangų procedūras histocitų ir mukopolisacharidų histocheminiam demonstravimui. PAS reakcija audinių pjūviuose yra naudinga mukopolisacharidų demonstravimui. Diastazės (α-amilazės) virškinimo procedūra, po kurios atliekamas PAS dažymas, yra naudinga kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant glikogeno kaupimosi ligas. Periodiniai rūgštinio Šifo (PAS) reagentai skirti *in vitro* diagnostikai. Tik profesionaliam naudojimui. Duomenys, gauti iš šio vadovo, kokybinę procedūrą identifikuoja limfocitus ir mukopolisacharidus kraujo ar kaulų čiulpų plėvelėse, taip pat formalinu fiksuotus parafine įlietus audinius iš žmogaus mėginių. Šie duomenys, peržiūrėti kartu su kitais diagnostiniais tyrimais ir informacija, gali būti naudojami kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant grybelines infekcijas ir glikogeno saugojimo ligas. Limfocitų ir mukopolisacharidų histologinė vizualizacija yra unikalus metodas, šiuo metu plačiai naudojamas medicinoje.

Apdorojant periodinę rūgštinti, glikoliai oksiduojasi į aldehidus. Po reakcijos su Šifo reagentu išsiskyręs fuksinas dažo ląstelinius komponentus, kuriuose yra oksiduojamų junginių.³ Ši reakcija gali būti atliekama kraujo ar kaulų čiulpų plėvelėse, audinių prisilietimo preparatuose ar audinių pjūviuose.^{1,2}

Diastazės (α-amilazės) virškinimas gali būti naudojamas kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant glikogeno kaupimosi ligą. Diastazė hidrolizuoja krakmolą, glikogeną ir skilimo produktus, kilusius iš šių audiniuose esančių polisacharidų. Susidarę virškinimo proceso šalutiniai produktai prieš PAS dažymą nuplaunami.⁴

Įtrauktas greitojo PAS dažymo mikrobangų krosnelėje metodas.⁵⁻⁷

Reagentai

Periodinis rūgšties tirpalas (Kat. Nr. 3951-100ML ir 395132-1L)
Periodinė rūgštis, 1 g/dl

Šifo reagentas (Kat. Nr. 3952-50ML ir 3952016-500ML)
Parasoranolino HCl, 1 %, ir natrio metabisulfatas, 4 %, vandenilio chlorido rūgštyje, 0,25 mol/l. Pavojuos. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Gali sukelti vėžį.

Hematoksilino tirpalas, Gill. Nr. 3 (kat. Nr. GHS3-100ML)
Sertifikuotas hematoksilinas, 6 g/l, C.I. 75290 natrio jodatas, 0,6 g/l, aliuminio sulfatas, 52,8 g/l ir stabilizatoriai

Reikalingos, bet nepateikiamos specialios medžiagos

- Formaldehido tirpalas, 37 %
- Reagentų alkoholis
- Teigiamos PAS kontrolės mikropreparatai, pvz., PAS TISSUE-TROL™ (kat. Nr. TTR009-25EA) turėtų būti naudojami kiekviename tyrime.
- Ksilenas arba ksileno pakaitalas

Tik mikrobangų procedūros

- Mikrobangų krosnelė
- Coplin tipo stikliniai su ventiliuojamais dangčiais
- Scott's vandens iš čiaupo pakaitalo koncentratas (Kat. Nr. S5134-6x100ML)
- α-amilazė (tik diastazės ekstrahavimo procedūrai) (Kat. Nr. A3176)

Laikymas ir stabilumas

Laikykite periodiškai rūgštinį tirpalą ir Šifo reagentą šaldytuve (2-8 °C). Hematoksilino tirpalą, Gill. Nr. 3, laikykite kambario temperatūroje (18-26 °C). Reagentai yra stabilūs iki etiketės nurodytos galiojimo pabaigos datos. Nuosėdų susidarymas Šifo reagente neturi įtakos veikimui.

Irimas

Išpilkite hematoksilino tirpalą, Gill. Nr. 3, jei tirpalas tampa rudas (per oksiduojasi iš oro) arba violetinis (parandamas rūgštingumas) arba jei laikas, reikalingas tinkamam dažymui, viršija procedūroje rekomenduojamą laiką daugiau nei 5 minutėmis.

Pasiruošimas

Paruoštas naudoti tiekiamas periodinis rūgšties tirpalas, Šifo reagentas ir hematoksilino tirpalas, Gill. Nr. 3. Prieš naudodami pašildykite reagentus iki kambario temperatūros (18-26 °C).

Jei yra nuosėdų, filtruokite Šifo reagentą. PASTABA. Šiek tiek rožinė spalva dėl spalvos išplovimo iš mikropreparatų netrukdo bandymui.

Scott's čiaupo vandens pakaitalo darbinis tirpalas ruošiamas skiedžiant 1 dalį Scott's čiaupo vandens pakaitalo koncentrato 9 dalimis dejonizuoto vandens.

Formalino-etanolio fiksavimo tirpalas ruošiamas sumaišant 5 ml formaldehido su 45 ml 95 % etanolio (reagento alkoholio). Kasdien paruoškite šviežią ir laikykite sandariai uždarytą.

Atsargumo priemonės

Šiame rinkinyje esančių IVD medžiagų yra skirtos *in vitro* diagnostikai klinikinės laboratorijos aplinkoje. Šios IVD skirtos naudoti tik kvalifikuotam personalui. Sigma-Aldrich IVD medžiagas gali naudoti laboratorijos darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su žmonių mėginiais, kurie gali būti užkrečiami, naudoti mikroskopus ir kitą laboratorinę įrangą bei turi spalvų suvokimą ir regėjimo aštrumą, kad galėtų atskirti spalvas ir kitus objektus mikroskopu.

Dirbant su laboratoriniais reagentais reikia laikytis įprastų atsargumo priemonių. Išmeskite atliekas laikydamiesi visų vietinių, valstijos, provincijos ar nacionalinių taisyklių.

PAS TISSUE-TROL™ kontroliniai stikleliai yra parafine įlieti žmogaus audiniai, kuriuose yra PAS, ir jie turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamomis medžiagomis.

Procedūra

Mėginio paėmimas

Joks žinomas tyrimo metodas negali visiškai užtikrinti, kad kraujo mėginiai ar audiniai neperduos infekcijos. Todėl visi kraujo dariniai ar audinių mėginiai turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamais.

Naudojami šviežiai paruošti EDTA arba heparinizuoti kraujo ar kaulų čiulpų stikleliai. Fiksuokite juos kuo greičiau.³

Polisacharidams gali būti naudojamas audinys, fiksuotas 10 % neutraliu buferiniu formalinu, Zenker ar Bouin tirpalu.¹ Reikėtų pažymėti, kad kai kurie angliavandeniai tirpsta vandenyje.² Glikogeno, Carnoy skysčio, Gendre skysčio ar rūgštinio alkoholinio formalino demonstravimui rekomenduojama naudoti audinį.¹ Laiką, reikalingą diastazės ekstrakcijai, galima paiginti, kai audinys fiksuojamas pikrino rūgštyje, kurioje yra fiksatyvo.¹ Iškirpkite 5 mikronų audinio pjūvius.

Pastabos

Jei naudojate mikrobangų krosnelę, instrukcijas rasite naudotojo vadove.

Kontrolės tikslais gali būti įtrauktos kraujo plėvelės, pagamintos iš kliniškai sveikų asmenų. Polimorfonukleariniai leukocitai turės ryškų raudoną citoplazminį atspalvį. Audinių pjūviai, kurie yra PAS teigiami ir (arba) kuriuose yra glikogeno, turėtų būti įtraukiami kiekvieną kartą atliekant dažymo seką.

Procedūra

Kraujo, kaulų čiulpų arba audinių prisilietimo preparatai

Standartinė procedūra

- Fiksuokite ore išdžiovintus stiklelius **1 minutę kambario temperatūroje** formalino-etanolio fiksavimo tirpalu.
- Nuplaukite stiklelius **1 minutę** lėtai tekančiu čiaupo vandeniu.
- Panardinkite stiklelius į periodinį rūgštinį tirpalą **5 minutėms patalpos temperatūroje**.
- Nuplaukite stiklelius keliais distiliuoto vandens keitimais.
- Panardinkite stiklelius į Šifo reagentą **15 minučių** kambario temperatūroje. PASTABA. Iš karto po naudojimo uždenkite Šifo reagentą ir vėl įdėkite į šaldytuvą (2-8 °C).
- Plaukite stiklelius tekančiu vandeniu iš čiaupo **5 minutes**.
- Priešpriešinio dažymo mikropreparatai hematoksilino tirpale, Gill. Nr. 3, **90 sekundžių**.
- Plaukite stiklelius tekančiu vandeniu **15–30 sekundžių**, išdžiovinkite ore ir mikroskopiškai ištirkite po alyvos panardinimo (900x) lęšiu. Stiklelius galima fiksuoti tolueno arba ksileno pagrindu pagamintoje fiksavimo terpėje.

Mikrobangų krosnelės procedūra

- Fiksuokite ore išdžiovintus stiklelius **kambario temperatūroje 1 minutę** formalino-etanolio fiksavimo tirpalu.
- Nuplaukite stiklelius **1 minutę** lėtai tekančiu čiaupo vandeniu.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** periodiškai veikiančio rūgšties tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 10 sekundžių laikykite 800 vatų** mikrobangų krosnelėje.
- Gera nuplaukite stiklelius keliais distiliuoto vandens keitimais.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** Šifo reagentą, esantį plastikiniame Coplin indelyje.
- 15 sekundžių** laikykite **800 vatų** mikrobangų krosnelėje. Sumaišykite tirpalą beraline pipete arba aplikatoriaus lazdele ir palikite inkubuoti **1 minutę**.
- Nuskaulaukite stiklelius po tekančiu vandeniu iš čiaupo **5 minutes**.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** hematoksilino tirpalą, Gill. Nr. 3, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 10 sekundžių laikykite 800 vatų** mikrobangų krosnelėje.
- 1–2 minutes** skalaukite po tekančiu čiaupo vandeniu, tada **kambario temperatūroje** įpilkite Scott's čiaupo vandens pakaitalo darbinio tirpalo.
- Nuskaulaukite po tekančiu čiaupo vandeniu. Džiovinkite ore.
- Stiklelius galima fiksuoti tolueno arba ksileno pagrindu pagamintoje fiksavimo terpėje.

Audinių pjūviai

Standartinė procedūra

- Deparafinizuokite ir drėkinkite pjūvius dejonizuotu vandeniu.
- Panardinkite stiklelius į periodinį rūgšties tirpalą **5 minutėms kambario temperatūroje (18–26 °C)**.
- Nuplaukite stiklelį keliais distiliuoto vandens keitimais.
- Panardinkite stiklelius į Šifo reagentą **15 minučių** kambario temperatūroje (18–26 °C).
- Plaukite stiklelius tekančiu vandeniu iš čiaupo **5 minutes**.
- Priešpriešinio dažymo mikropreparatai hematoksilino tirpale, Gill. Nr. 3, **90 sekundžių**.
- Nuskaulaukite stiklelius po tekančiu čiaupo vandeniu.
- Dehidratuokite, išvalykite ir fiksuokite sekcijas tolueno arba ksileno pagrindu pagamintoje fiksavimo terpėje.

Mikrobangų krosnelės procedūra

- Deparafinizuokite ir drėkinkite pjūvius dejonizuotu vandeniu.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** periodiškai veikiančio rūgšties tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje. Uždenkite indelį dangteliu (neužspausdami) arba naudokite dangtelius su skylutėmis.
- 10 sekundžių** laikykite **800 vatų** mikrobangų krosnelėje.
- Gera nuplaukite stiklelius keliais distiliuoto vandens keitimais.
- Įdėkite stiklelius į **40 ml** Šifo reagento, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 15 sekundžių** laikykite **800 vatų** mikrobangų krosnelėje. Sumaišykite tirpalą beraline pipete arba aplikatoriaus lazdele ir palikite inkubuoti **1 minutę**.
- Nuskaulaukite stiklelius po tekančiu vandeniu iš čiaupo **5 minutes**.
- Įdėkite stiklelius į hematoksilino tirpalą, Gill. Nr. 3, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
- 10 sekundžių laikykite 800 vatų** mikrobangų krosnelėje.
- 1–2 minutes** skalaukite po tekančiu čiaupo vandeniu, tada **kambario temperatūroje** įpilkite Scott's čiaupo vandens pakaitalo darbinio tirpalo. Nuskaulaukite po tekančiu čiaupo vandeniu. Dehidratuokite, išvalykite ir užfiksuokite.

Mikrobangų procedūra diastazei (α-amilazei) virškinti

- Naudokite testavimo stiklelius su dublikatais. Pažymėkite vieną stiklelį virškinimui su diastaze ir vieną tik PAS dažymui. PASTABA: Rekomenduojama naudoti stiklelius, padengtus audinių klajais. Atlikdami diastazės virškinimą, neceloidizuokite pjūvių.¹
- Deparafinizuokite ir drėkinkite stiklelius iki dejonizuoto vandens.
- Paruoškite diastazės (α-amilazės) darbinį tirpalą ištirpindami 0,2 g α-amilazės (Kat. Nr. A3176), iki 40 ml dejonizuoto vandens. Gera sumaišykite ir supilkite į plastikinį Coplin indelį. Pasiruoškite prieš pat naudojimą.

4. **25 sekundžių** laikykite **600 vatų** mikrobangų krosnelėje.
5. Išimkite stiklelius iš Coplin indelio ir **5 minutes** skalaukite suvirškinto audinio stiklėlį tekančiu vandeniu iš čiaupo.
6. Naudodami ir suvirškintų, ir nesuvirškintų audinių stiklelius, atlikite mikrobangų procedūrą audiniams, 2 veiksmas.

Veikimo charakteristikos

PAS teigiamos medžiagos nusidažo nuo rausvos iki raudonos spalvos, o branduoliai yra mėlyni. Diastazės (α-amilazės) ekstrahavimo stiklelis neturės matomo glikogeno PAS dažymo, palyginti su nesuvirškintu glikogeno teigiamos kontrolės stikleliu.

Jei pastebėti rezultatai skiriasi nuo laukiamų rezultatų, kreipkitės pagalbos į „Sigma-Aldrich“ techninę tarnybą.

Analitinio veikimo charakteristikos

Pateiktų tyrimų, atliktų su visomis tikslinėmis struktūromis, analitinio efektyvumo rezultatai patvirtina 100 % jautrumą, specifiškumą ir pakartojamumą.

Kat. Nr.	Produkto aprašymas	Tikslas	Tyrimo specifiškumas	Jautrumas tyrimo metu	Specifiškumas tarp tyrimų	Jautrumas tarp tyrimų
3951	Periodinis rūgšties tirpalas	Monocitai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Granulocitai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Glikogenas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
3952	Šifo reagentas	Bazinė membrana	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Monocitai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Granulocitai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
GHS3-SOML	Hematoksilino tirpalas, Gill. Nr. 3	Glikogenas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Bazinė membrana	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
		Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3

Įspėjimai ir pavojai

Atnaujintą rizikos, pavojaus ar saugos informaciją rasite saugos duomenų lape ir gaminio etiketėje.

395B:



- H290: Gali ėsdinti metalus.
- H302: Kenksminga prarijus.
- H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.
- H350: Gali sukelti vėžį.
- H373: Prarijus gali pakenkti organams (inkstams) dėl ilgalaikio ar pakartotinio poveikio.
- H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.
- P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
- P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
- P301 + P312: PRARIJUS: pasijutus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ.
- P303 + P361 + P353: Patekus ANT ODOS (arba plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu.
- P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: Išnešti žmogų į gryną orą ir pasirūpinti, kad jis galėtų patogiai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / gydytojui.
- P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti.

Jeį naudojant šį įrenginį arba dėl jo naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo nacionalinei institucijai.

Simbolių apibrėžimai

Simboliai, kaip apibrėžta EN ISO 15223-1:2021

	Gamintojas		Katalogo numeris
	Žr. naudojimo instrukcijas		Partijos kodas
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje		Europos Sąjungos atitikties deklaracija (apibrėžta IVDR 2017/746)
	Galiojimo data		In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Temperatūros riba		Atsargiai
	Pagaminimo data		Importuotojas
	Nurodo įgaliotąjį atstovą Šveicarijoje		

Šaltiniai

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
2. Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
3. Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
4. Thompson SW: Selected His tochemi cal and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966
5. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
6. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
7. Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktinė informacija

Norėdami pateikti užsakymą, apsilankykite mūsų svetainėje [SigmaAldrich.com](#). Dėl techninės priežiūros apsilankykite techninės priežiūros puslapyje mūsų svetainėje [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Peržiūrų istorija

4.0 red.	2016
5.0 red.	2022
6.0 red.	2022
Perkelta į naują šabloną su dabartiniu prekės ženklu. Skirta profesionaliam naudojimui pagal paskirtį ir taikomas atsargumo priemonės. Pagalbinė priemonė perkelta į diagnozės išrašą pagal paskirtį. Peržiūrėta paskirtis, siekiant suderinti su IVDR gairėmis. Atnaujintas medžiagos saugos duomenų lapas į saugos duomenų lapą. Atnaujinta kontaktinė informacija. Pašalintas nurodymas laikytis CLSI dėl mėginių paėmimo. Išimtas EN 980 ir pakeistas į EN ISO 15223-1:2021 simboliams. Pridėta nepageidaujamo įvykio kontaktinė informacija. Pridėti įspėjimai ir pavojai.	
7.0 red.	2024
Atnaujinti pavadinimų suteikimo susitarimai. Peržiūrėtas numatytosios paskirties pareiškimas. Pridėta atstovo Šveicarijoje ir importuotojo informacija	

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH

REP

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicialas „M“, „TISSUE-TROL“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija arba jos filialų prekės ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamią informaciją apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose ištekliuose.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Návod na použitie

Periodická kyselina Schiffová (PAS) Systém na farbenie

Postup č. 395



Určené použitie

Systém na farbenie PAS ponúka štandardné a mikrovlnné postupy na histochemické znázornenie lymfocytov a mukopolysacharidov. Reakcia PAS v tkanivových rezoch je užitočná na znázornenie mukopolysacharidov. Postup digestie diastázy (α -amylázy), po ktorom nasleduje farbenie PAS, je užitočný ako pomôcka pri diagnostike ochorení s ukladaním glykogénu. Činidlá periodickej kyseliny Schiffovej (PAS) sú určené na „diagnostické použitie *In vitro*“. Len na odborné použitie. Údaje získané týmto manuálnym, kvalitatívnym postupom identifikujú lymfocyty a mukopolysacharidy v náteroch krvi alebo kostnej drene, ako aj v tkanive z ľudských vzoriek fixovanom formalínom a zaliatom do parafínu. Tieto údaje sa pri preskúmaní v spojení s ďalšími diagnostickými testami a informáciami môžu použiť ako pomôcka pri diagnostike plesňových infekcií a ochorení s ukladaním glykogénu. Histologická vizualizácia lymfocytov a mukopolysacharidov je jedinečná technika, ktorá sa v súčasnosti v medicíne bežne používa.

Pri pôsobení kyseliny jodistej sa glykoly oxidujú na aldehydy. Po reakcii so Schiffovým činidlom uvoľnený fuchsin zafarbí bunkové zložky obsahujúce oxidovateľné zlúčeniny.³ Túto reakciu je možné vykonať na náteroch krvi alebo kostnej drene, dotykových preparátoch tkaniva alebo v rezoch tkaniva.^{1,2}

Digestia diastázy (α -amylázy) sa môže použiť ako pomocný prostriedok pri diagnostike ochorenia s ukladaním glykogénu. Diastáza hydrolyzuje škrob, glykogén a degradačné produkty pochádzajúce z týchto polysacharidov prítomných v tkanive. Výsledné vedľajšie produkty procesu digestie sa pred farbením PAS opláchnu.⁴

Súčasťou je aj technika rýchleho farbenia PAS pomocou mikrovlnných rúr.⁵⁻⁷

Reagencie

Roztok kyseliny jodistej (kat. č. 3951-100ML a 395132-1L)

Kyselina jodistá, 1 g/dl

Schiffovo činidlo (kat. č. 3952-50ML a 3952016-500ML)

Pararosanilin HCl, 1 %, a metabisulfit sodný, 4 %, v kyseline chlorovodíkovej, 0,25 mol/l.

Nebezpečenstvo. Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. Môže spôsobiť rakovinu.

Roztok hematoxylínu, Gill č. 3 (kat. č. GH53-100ML)

Certifikovaný hematoxylin, 6 g/l, C.I. 75290 jodičnan sodný, 0,6 g/L, síran hlinitý, 52,8 g/l a stabilizátor

Potrebné špeciálne materiály, ktoré však nie sú k dispozícii

- Formaldehýdový roztok, 37 %
- Reagenčný alkohol
- Pozitívne kontrolné sklička PAS, ako napríklad PAS TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR009-25EA), by mali byť súčasťou každej série
- Xylén alebo náhrada xylénu

Iba mikrovlnné postupy

- Mikrovlnná rúra
- Nádobka Coplin s odvetrávaným viečkom
- Scottov koncentrát náhrady vody z vodovodu (kat. č. S5134-6x100ML)
- α -amyláza (len pre postup extrakcie diastázy) (kat. č. A3176)

Skladovanie a stabilita

Roztok kyseliny jodistej a Schiffovo činidlo skladujte v chladničke (2 – 8 °C). Roztok hematoxylínu, Gill č. 3 skladujte pri izbovej teplote (18 – 26 °C). Činidlá sú stabilné do dátumu expirácie uvedeného na štítkoch. Tvorba zrazeniny v Schiffovom činidle nemá vplyv na parametre.

Zhoršenie kvality

Roztok hematoxylínu, Gill č. 3 vyhodte, ak sa roztok sfarbí do hnedá (nadmerná oxidácia zo vzduchu) alebo do fialova (strata kyslosti), alebo ak čas potrebný na vhodné zafarbenie prekročí čas odporúčaný v postupe o viac ako 5 minút.

Príprava

Roztok kyseliny jodistej, Schiffovo činidlo a roztok hematoxylínu, Gill č. 3 sa dodávajú pripravené na použitie. Pred použitím činidlá zahrejte na izbovú teplotu (18 – 26 °C).

Ak je prítomná zrazenina, Schiffovo činidlo prefiltrujte. POZNÁMKA: Mierne ružové sfarbenie spôsobené vylúhovaním farby zo sklíčok testu neprekáža.

Pracovný roztok Scottovej náhrady vody z vodovodu sa pripraví zriedením 1 dielu koncentráту Scottovej náhrady vody z vodovodu s 9 dielmi deionizovanej vody.

Fixačný roztok formalínu a etanolu sa pripraví zmiešaním 5 ml formaldehydu so 45 ml 95 % etanolu (reagenčný alkohol). Každý deň pripravujte čerstvý a uchovávajte ho pevne uzavretý.

Bezpečnostné opatrenia

Pomôcky IVD, ktoré sú súčasťou tejto súpravy, sú určené na diagnostické použitie *in vitro* v prostredí klinického laboratória. Tieto IVD sú určené len na profesionálne použitie kvalifikovaným personálom. IVD Sigma-Aldrich môžu obsluhovať laboratórni pracovníci, ktorí sú vyškolení na manipuláciu s ľudskými vzorkami, ktoré môžu byť infekčné, používajú mikroskopy a iné laboratórne vybavenie a majú farebné vnímanie a zrakovú ostrosť na rozlišovanie farieb a iných objektov pod mikroskopom.

Musia sa dodržiavať bežné bezpečnostné opatrenia uplatňované pri manipulácii s laboratórnymi činidlami. Odpad likvidujte v súlade so všetkými miestnymi, štátnymi, provinčnými alebo národnými predpismi.

Kontrolné sklička PAS TISSUE-TROL™ sú ľudské tkanivá zaliaté do parafínu obsahujúce PAS a mali by sa považovať za potenciálne infekčné.

Postup

Odber vzorky

Žiadna známa testovacia metóda nemôže poskytnúť úplnú záruku, že vzorky krvi alebo tkaniva neprenesú infekciu. Všetky deriváty krvi alebo vzorky tkaniva by sa preto mali považovať za potenciálne infekčné.

Používa sa čerstvo pripravená plná, EDTA alebo heparinizovaná krv alebo nátery kostnej drene. Fixujte čo najskôr.³

Na polysacharidy sa môže použiť tkanivo fixované v 10 % neutrálnom pufovanom formalíne, Zenkerovom alebo Bouinovým roztoku.¹ Treba poznamenať, že niektoré sacharidy sú rozpustné vo vode.² Na znázornenie glykogénu sa odporúča Carnoyova tekutina, Gendrova tekutina alebo kyslý alkoholový formalín.¹ Čas potrebný na extrakciu diastázy sa môže predĺžiť, ak sa tkanivo fixuje vo fixačnom prostriedku obsahujúcom kyselinu pikrovú.¹ Rezy tkaniva sa režu na 5 mikróvov.

Poznámky

Ak sa používa mikrovlnná rúra, pozrite si pokyny v návode na obsluhu.

Na kontrolné účely sa môžu použiť krvné nátery pripravené od klinicky zdravých osôb. Polymorfonukleárne leukocyty budú prejavia intenzívne červené cytoplazmatické sfarbenie. Rezy tkaniva, o ktorých je známe, že sú PAS pozitívne a/alebo obsahujú glykogén, sa majú zahrnúť vždy, keď sa vykonáva sekvencia farbenia.

Postup

Krv, kostná dreň alebo dotykové preparáty tkaniva

Štandardný postup

- Na vzduchu vysušené nátery fixujte **1 minútu** pri **izbovej teplote** vo fixačnom roztoku formalínu a etanolu.
- Sklička **1 minútu** oplachujte v pomaly tečúcej vode z vodovodu.
- Sklička ponorte do roztoku kyseliny jodistej na **5 minút** pri **izbovej teplote**.
- Sklička opláchnite niekoľkokrát vo vždy vymenenej destilovanej vode.
- Sklička ponorte do Schiffovho činidla na **15 minút** pri izbovej teplote.
POZNÁMKA: Ihneď po použití Schiffovo činidlo uzavrite a vráťte do chladničky (2 – 8 °C).
- Sklička umývajte **5 minút** pod tečúcou vodou z vodovodu.
- Sklička kontrastne sfarbite v roztoku hematoxylínu, Gill č. 3, počas **90 sekúnd**.
- Sklička pľachujte pod tečúcou vodou z vodovodu **15 – 30 sekúnd**, osušte na vzduchu a preskúmajte mikroskopicky pod olejovým imerzným objektívom (900x). Sklička sa môžu upevniť fixačným médiom na báze toluénu alebo xylénu.

Mikrovlnný postup

- Na vzduchu vysušené nátery fixujte pri **izbovej teplote 1 minútu** vo fixačnom roztoku formalínu a etanolu.
- Sklička oplachujte **1 minútu** pod pomaly tečúcou vodou z vodovodu.
- Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku kyseliny jodistej v plastovej Coplinovej nádobke.
- Mikrovlnnú rúru zapnite na **800 wattov na 10 sekúnd**.
- Dobre opláchnite niekoľkokrát vo vždy vymenenej deionizovanej vode.
- Sklička umiestnite do **40 ml** Schiffovho činidla v plastovej Coplinovej nádobke.
- Zahrejte v mikrovlnnej rúre pri **800 wattoch na 15 sekúnd**. Roztok premiešajte beralovou pipetou alebo aplikačnou tyčinkou a nechajte inkubovať **1 minútu**.
- Opláchnite v teplej, jemne tečúcej vode z vodovodu počas **5 minút**.
- Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku hematoxylínu Gill č. 3 v plastovej Coplinovej nádobke.
- Mikrovlnnú rúru zapnite na **800 wattov na 10 sekúnd**.
- Opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu **1 – 2 minúty**, potom zmordite v pracovnom roztoku Scottovej náhrady vody z vodovodu pri **izbovej teplote**.
- Opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu. Vysušte na vzduchu.
- Sklička sa môžu upevniť fixačným médiom na báze toluénu alebo xylénu.

Rezy tkaniva

Štandardný postup

- Rezy deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
- Sklička ponorte do roztoku kyseliny jodistej na **5 minút** pri **izbovej teplote** (18 – 26 °C).
- Skličko opláchnite niekoľkokrát vo vždy vymenenej destilovanej vode.
- Sklička ponorte do Schiffovho činidla na **15 minút** pri **izbovej teplote** (18 – 26 °C).
- Sklička umývajte **5 minút** pod tečúcou vodou z vodovodu.
- Sklička kontrastne sfarbite v roztoku hematoxylínu, Gill č. 3, počas **90 sekúnd**.
- Sklička opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu.
- Rezy dehydrujte, očistite a upevnite fixačným médiom na báze toluénu alebo xylénu.

Mikrovlnný postup

- Deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
- Sklička umiestnite do **40 ml** roztoku kyseliny jodistej v plastovej Coplinovej nádobke. Nádobku voľne prikryte viečkom alebo použite viečka s navŕtanými otvormi.
- Zahrejte v mikrovlnnej rúre pri **800 wattoch na 10 sekúnd**.
- Dobre opláchnite niekoľkokrát vo vždy vymenenej deionizovanej vode.
- Sklička umiestnite do **40 ml** Schiffovho činidla v plastovej Coplinovej nádobke.
- Zahrejte v mikrovlnnej rúre pri **800 wattoch na 15 sekúnd**. Roztok premiešajte beralovou pipetou alebo aplikačnou tyčinkou a nechajte inkubovať **1 minútu**.
- Opláchnite v teplej, jemne tečúcej vode z vodovodu počas **5 minút**.
- Sklička umiestnite do roztoku hematoxylínu Gill č. 3 v plastovej Coplinovej nádobke.
- Mikrovlnnú rúru zapnite na **800 wattov na 10 sekúnd**.
- Opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu **1 – 2 minúty**, potom zmordite v pracovnom roztoku Scottovej náhrady vody z vodovodu pri **izbovej teplote**. Opláchnite pod tečúcou vodou z vodovodu. Dehydrujte, očistite a upevnite.

Mikrovlnný postup na digestiu diastázy (α -amylázy)

- Použite duplicitné testovacie sklička. Jedno označte na digestiu diastázou a druhé len na farbenie PAS. POZNÁMKA: Odporúčajú sa sklička potiahnuté tkanivovým lepidlom. Pri digestii diastázou rezy necelloidinizujte.¹
- Sklička deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
- Prípravte pracovný roztok diastázy (α -amylázy) rozpustením 0,2 g α -amylázy (kat. č. A3176) v 40 ml deionizovanej vody. Dobre premiešajte a umiestnite do plastovej Coplinovej nádobky. Pripravujte až tesne pred použitím.
- Zahrejte v mikrovlnnej rúre pri **600 wattoch na 25 sekúnd**.
- Sklička vyberte z Coplinovej nádobky a oplachujte ich **5 minút** pod tečúcou vodou z vodovodu.
- Pri použití natrávených aj nenatrávených sklíčok postupujte podľa kroku 2 Mikrovlnného postupu pre tkanivo.

Vlastnosti výkonu

PAS pozitívne látky sa sfarbiajú na ružovo až červeno a jadrá sú modré. Sklíčko s extrakciou diastázy (α-amylázy) nebude mať v porovnaní s kontrolným sklíčkom pozitívnym na nestrávený glykogén žiadne viditeľné PAS sfarbenie glykogénu.

Ak sa pozorované výsledky líšia od očakávaných výsledkov, obráťte sa na technický servis spoločnosti Sigma-Aldrich a požiadajte o pomoc.

Vlastnosti analytického výkonu

Výsledky analytického výkonu pre dané testy vykonané na všetkých cieľových štruktúrach potvrdzujú 100 % citlivosť, špecifickosť a opakovateľnosť.

Kat. č.	Opis výrobku	Cieľ	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami
3951	Roztok kyseliny jodistej	Monocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Granulocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Glykogén	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Bazálna membrána	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3952	Schiffovo činidlo	Monocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Granulocyty	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Glykogén	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
		Bazálna membrána	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
GHS3-50ML	Roztok hematoxylinu, Gill č. 3	Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Výstrahy a nebezpečenstvá

Všetky aktualizované informácie o riziku, nebezpečenstve alebo bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov a na etikete výrobku.

395B:



- H290: Môže byť korozívne pre kovy
- H302: Škodlivé po požití.
- H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.
- H350: Môže spôsobiť rakovinu.
- H373: Môže spôsobiť poškodenie orgánov (obličky) pri dlhšej alebo opakovanej expozícii, pri požití.
- H412: Škodlivé pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.
- P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.
- P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.
- P301 + P312: PRI POŽITÍ: Pri zdravotných problémoch volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.
- P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou.
- P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.
- P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu orgánu.

Definície symbolov

Symbody podľa vymedzenia v norme EN ISO 15223-1:2021

	Výrobca		Katalógové číslo
	Prečítajte si návod na použitie		Kód šarže
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/Európskej únii		Vyhlasenie Európskej únie o zhode (definované v IVDR 2017/746)
	Dátum spotreby		Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Hranica teploty		Upozornenie
	Dátum výroby		Dovozca
	Označuje autorizovaného zástupcu pre Švajčiarsko		

Odkazy

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, 164–167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, pp 216–220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buetler, AJ Erslev, RW Rundles, McGraw-Hill, New York, pp 1630–1632, 1977
- Thompson SW: Selected Histological and Histopathological Methods, CC Thomas, Springfield, (IL), pp 520–539, 1966

- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in the microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986

Kontaktné informácie

Ak chcete urobiť objednávku, navštívte našu webovú lokalitu na [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Informácie o technickom servise nájdete na stránke technického servisu na našej webovej lokalite na [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

História revízií

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Prenesené do novej šablóny s aktuálnou značkou. Špecifikované na profesionálne použitie pri určení použitia a bezpečnostných opatreniach. Presunutie vyhlásenia o pomôcke pri diagnostike do určeného použitia. Revidované určené použitie, aby bolo v súlade s usmerneniami IVDR. Aktualizovanie karty bezpečnostných údajov materiálu na karte bezpečnostných údajov. Aktualizované kontaktné informácie. Odstránený pokyn na dodržiavanie CLSI pre odber vzoriek. Odstránená norma EN 980 a zmenená na normu EN ISO 15223-1:2021 pre symboly. Pridané kontaktné informácie pre nežiaduce udalosti. Pridané upozornenia a nebezpečenstvá.
Rev. 7.0	2024
	Aktualizované pravidlá názvoslovia. Revidované vyhlásenie o určenom použití. Doplnené informácie o CH-REP a dovozcovi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko alebo jej dcérskych spoločností. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov. Podrobné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii prostredníctvom verejne dostupných zdrojov.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.