

1.01646.0001

Mikroskopia

Zestaw do barwienia metodą PAS

do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów

Wyłącznie do użytku przez specjalistów



Urządzenia medyczne do diagnostyki in vitro



Przeznaczenie

Reakcja PAS (ang. Periodic Acid Schiff) jest jedną z najczęściej stosowanych technik histochemicznych.

"Zestaw do barwienia metodą PAS - do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów" jest stosowany w cytologicznej diagnostyce klinicznej do badania histologicznego materiału pobieranego od pacjentów. Ten gotowy do użycia zestaw do barwienia, w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki in vitro z naszej oferty, umożliwi ocenę diagnostyczną struktur docelowych (poprzez utrwalanie, zatapianie, barwienie, barwienie kontrastowe, zamykanie) preparatów histologicznych przygotowanych z materiału pobranego od pacjentów, na przykład skrawków dwunastnicy, żołądka lub wątroby.

Niezabarwione struktury mają stosunkowo niski kontrast i są niezwykle trudne do odróżnienia pod mikroskopem świetlnym. Obrazy utworzone z użyciem roztworów barwiących pomagają upoważnić i wykwalifikowanemu badaczowi lepiej zdefiniować formę i strukturę w takich przypadkach. Konieczne mogą być dalsze badania w celu postawienia ostatecznej diagnozy.

Zasada działania

W reakcji PAS preparat histologiczny jest w pierwszej kolejności poddawany działaniu kwasu nadjodowego, co prowadzi do utlenienia 1,2-glikoli do grup aldehydowych. Dodanie odczynnika Schiffa (fuksyna w kwasie siarkowym) w kolejnym etapie wywołuje reakcję z aldehydami i powstanie jaskrawo czerwonego zabarwienia. Końcowym wynikiem reakcji PAS jest swoista reakcja barwna niepodstawionych polisacharydów, obojętnych mukopolisacharydów, muko- i glikoprotein oraz gliko- i fosfolipidów. Reakcję PAS można dalej łączyć z barwieniem błękitem alcjanowym w celu wykrycia mukopolisacharydów (glikozaminoglikanów).

Materiał próbek

Materiałem wyjściowym są skrawki tkanek utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie (skrawki parafinowe o grubości 3 – 4 µm) lub rozmazy cytologiczne.

Odczynniki

Nr kat. Zestaw do barwienia metodą PAS
1.01646.0001 do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera
Odczynnik 1: Zestaw do barwienia metodą PAS: 500 ml
Kwas nadjodowy, roztwór wodny 0,5%
Odczynnik 2: Zestaw do barwienia metodą PAS: 500 ml
odczynnik Schiffa

Również wymagane:

Nr kat. 105174 Hematoksylina, roztwór 500 ml,
modyfikowany wg Gilla III 1 l, 2,5 l
do mikroskopii

Opcjonalnie (por. „Procedura”, przypisy):

Nr kat. 105175 Hematoksylina, roztwór 500 ml,
modyfikowany wg Gilla II 2,5 l
do mikroskopii
Nr kat. 106528 Pirosiarczyn sodu (disiarczyn sodu) 100 g,
czysty do analiz EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur 500 g
Nr kat. 109057 Kwas solny, roztwór 1 mol/l, Titripur® 1 l, 2,5 l

Również wymagane (Barwienie łączone błękitem alcjanowym i PAS):

Nr kat. 101647 Błękit alcjański, roztwór pH 2,5 500 ml
do mikroskopii

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być przygotowywane przez wykwalifikowany personel.

Wszystkie próbki muszą być opracowywane z użyciem najnowocześniejszych technologii.

Wszystkie próbki należy wyraźnie oznaczać.

Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich urządzeń i narzędzi. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi zastosowania/użycia.

Podczas stosowania odpowiednich odczynników pomocniczych należy przestrzegać odpowiedniej instrukcji użytkowania.

Skrawki należy odparafinować i uwodnić w sposób konwencjonalny.

Przygotowywanie odczynników

Odczynniki z Zestaw do barwienia metodą PAS - do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów są gotowe do użycia i rozcieńczanie roztworów nie jest konieczne.

Barwienie metodą PAS

Procedura

Barwienie w komorze

Preparaty histologiczne należy odparafinować w sposób konwencjonalny i uwodnić w szeregu roztworów alkoholu o malejących stężeniach.

Po każdym z etapów barwienia preparaty należy pozostawić do obcieknięcia, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.

Aby osiągnąć optymalny wynik, należy stosować się do zalecanych czasów barwienia.

Szkiełko podstawowe z preparatem histologicznym	
Woda destylowana	opłukać
Odczynnik 1 (roztwór kwasu nadjodowego)*	5 min.
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Woda destylowana	opłukać
Odczynnik 2 (odczynnik Schiffa)	15 min.
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Woda destylowana	opłukać
Hematoksylina, roztwór modyfikowany wg Gilla III**	2 min.
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Ksylene lub Neo-Clear®	5 min.
Ksylene lub Neo-Clear®	5 min.
Preparaty nasączone roztworem Neo-Clear® należy zamknąć, używając środka Neo-Mount®, a preparaty nasączone ksylenem należy zamknąć, używając np. preparatu Entellan® nowy i szkiełka nakrywkowego.	

* W celu uniknięcia możliwej pseudoreakcji zależnej od tkanki próbki można poddać działaniu wody siarczynowej (3 x 2 min) po procedurze inkubacji z kwasem nadjodowym.

Wodę siarczynową należy przygotować, mieszając w pierwszej kolejności 10 ml roztworu dwusiarczynu sodowego (10%) i 10 ml kwasu solnego (1 mol/l), a następnie mieszając powstały roztwór z 200 ml wody z kranu.

** Aby rozjaśnić i wzmocnić kontrast struktur barwiących się w reakcji PAS, należy zastosować roztwór hematoksyliny modyfikowany wg Gilla II (Nr kat. 105175).

Po odwodnieniu (w szeregu alkoholi o rosnącym stężeniu) i prześwietleniu ksylenem lub środkiem Neo-Clear®, preparaty histologiczne można pokryć bezwodnymi środkami zamykającymi (np. Neo-Mount®, Entellan®, DPX nowy lub Entellan® nowy) i przykryć szkiełkiem nakrywkowym, co pozwala je dalej przechowywać.

Do analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopu >40x zaleca się stosować olejek immersyjny.

Wynik

Jądra komórkowe niebieskie
Polisacharydy, glikogen, obojętne mukopolisacharydy, fioletowe
muko- i glikoproteiny, gliko- i fosfolipidy, błona
podstawna, kolagen

Barwienie łączone błękitem alcjanowym

wym i PAS

Procedura

Barwienie w komorze

Preparaty histologiczne należy odparafinować w sposób konwencjonalny i uwodnić w szeregu roztworów alkoholu o malejących stężeniach.

Po każdym z etapów barwienia preparaty należy pozostawić do obcieknięcia, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.

Aby osiągnąć optymalny wynik, należy stosować się do zalecanych czasów barwienia.

Szkiełko podstawowe z preparatem histologicznym	
Woda destylowana	opłukać
Błękit alcjanowy, roztwór pH 2,5	5 min.
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Woda destylowana	opłukać
Odczynnik 1 (roztwór kwasu nadjodowego)	10 min.
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Woda destylowana	opłukać
Odczynnik 2 (odczynnik Schiffa)	15 min.
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Woda destylowana	opłukać
Hematoksyлина, roztwór modyfikowany wg Gilla III	20 s
Bieżąca woda wodociągowa	3 min.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 70%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 96%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Etanol 100%	1 min.
Ksylen lub Neo-Clear®	5 min.
Ksylen lub Neo-Clear®	5 min.
Preparaty nasączone roztworem Neo-Clear® należy zamknąć, używając środka Neo-Mount®, a preparaty nasączone ksylenem należy zamknąć, używając np. preparatu Entellan® nowy i szkiełka nakrywkowego.	

Po odwodnieniu (w szeregu alkoholi o rosnącym stężeniu) i prześwietleniu ksylenem lub środkiem Neo-Clear®, preparaty histologiczne można pokryć bezwodnymi środkami zamykającymi (np. Neo-Mount®, Entellan®, DPX nowy lub Entellan® nowy) i przykryć szkiełkiem nakrywkowym, co pozwala je dalej przechowywać.

Wynik

Jądra komórkowe	niebieskie
Kwaśne mukopolisacharydy	jasnoniebieskie
Polisacharydy, obojętne mukopolisacharydy	fioletowe

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi pracowni diagnostyki medycznej. Korzystając z procesorów tkankowych i automatycznych systemów barwiących, należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta urządzeń i oprogramowania.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i wykwalifikowany personel. Należy stosować obowiązujące nazewnictwo. Metodę tą można dodatkowo stosować w diagnostyce ludzkiej. Dalsze badania należy planować i prowadzić zgodnie z uznaną metodologią. Każdorazowe stosowanie odpowiednich kontroli (np. ISOSLIDE® PAS, Nr kat. 1.00408.0001) pozwala unikać niepoprawnych wyników.

Przechowywanie

Zestaw do barwienia metodą PAS - do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów należy przechowywać w temperaturze pomiędzy +15°C a +25°C.

Z powodu wrażliwości odczynnika 2 (odcynnika Schiffa) na światło, należy go przechowywać w ciemności.

Okres przydatności do użycia

Zestaw do barwienia metodą PAS - do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów nie należy używać po upływie podanego terminu przydatności do użycia.

Po pierwszym otwarciu butelki, zawartość nadaje się do użycia przed upływem wskazanego terminu przydatności, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze między +15°C a +25°C.

Butelki należy przechowywać zawsze szczelnie zamknięte.

Wielkość opakowania

Opakowanie wystarcza na 2500-3000 zastosowań / 500 ml.

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów.

W celu uniknięcia błędów, produkt powinien być stosowany wyłącznie przez wykwalifikowany personel.

Należy przestrzegać krajowych wytycznych dotyczących bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości.

Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązującym normom.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi obowiązującymi w pracowni.

Instrukcje dotyczące unieszkodliwiania odpadów

Opakowanie należy zutylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi usuwania odpadów.

Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące utylizacji można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące utylizacji produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 100408	ISOSLIDE® PAS preparaty porównawcze z tkanką referencyjną do wykrywania polisacharydów w materiale histologicznym	25 badań
Nr kat. 100579	DPX nowy bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 100974	Etanol denaturowany dodatkiem około 1% ketonu metylowo-etylowego, czysty do analiz, EMSURE®	1 l, 2,5 l
Nr kat. 101647	Błękit alcjański, roztwór pH 2,5 do mikroskopii	500 ml
Nr kat. 103693	M-FREEZE™ Medium do zatapiania w niskich temperaturach do mikroskopii	100 ml
Nr kat. 103699	Olejek imersyjny Type N zgodnie z ISO 8036 do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem
Nr kat. 104699	Olejek imersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 105174	Hematoksyлина, roztwór modyfikowany wg Gilla III do mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 105175	Hematoksyлина, roztwór modyfikowany wg Gilla II do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 106528	Pirosiarczyn sodu (disiarczyn sodu), czysty do analiz, EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	100 g, 500 g
Nr kat. 107961	Entellan® nowy środek do szybkiego zamykania preparatów mikroskopowych	100 ml, 500 ml, 1 l
Nr kat. 108298	Ksylen (mieszanina izomerów) do histologii	4 l
Nr kat. 109016	Neo-Mount® bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 109057	Kwas solny, roztwór 1 mol/l, Titripur®	1 l, 2,5 l
Nr kat. 109843	Neo-Clear® (zamiennik ksylenu) do mikroskopii	5 l

Klasyfikacja zagrożeń

Nr kat. 1.01646.0001

Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej. Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.01646.0001

Odczynnik 1

H₅IO₆ 5 g/l

Odczynnik 2

C.I. 42500 0,91 g/l

Na₂SO₃ > 0,8%

1 l = 1,1 kg

Inne wyroby do diagnostyki in vitro

Nr kat. 100425	ISOSLIDE® Błękit alcjański pH 2,5 preparaty porównawcze z tkanką referencyjną do wykrywania kwaśnych mukopolisacharydów w materiale histologicznym	25 badań
Nr kat. 100482	Roztwór kwasu nadjodowego 0,5% do reakcji PAS do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów do mikroskopii	1 l
Nr kat. 102439	Eozyna Y, roztwór alkoholowy 0,5% do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 102561	ISOSLIDE® Czerwień Kongo preparaty porównawcze z tkanką referencyjną do wykrywania złogów amyloidowych w materiale histologicznym	25 badań
Nr kat. 102572	Odczynnik Schiffa Intense do wykrywania aldehydów i mukopolisacharydów do mikroskopii	1 l
Nr kat. 109033	Odczynnik Schiffa do mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Nr kat. 117081	Eozyna Y, roztwór alkoholowy 1% do mikroskopii	1 l

Uwaga ogólna

Jeśli podczas użytkowania tego urządzenia lub w wyniku jego użytkowania wystąpił poważny incydent, to należy zgłosić to producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz organowi krajowemu.

Literatura

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban&Fischer, 2. Auflage
3. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
4. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
5. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
6. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
7. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
8. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
9. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
10. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition



Zapoznać się z instrukcją użytkowania



Producent



Numer katalogowy



Kod partii



Uwaga: należy zapoznać się z dokumentacją towarzyszącą.



Termin przydatności do użycia: RRRR-MM-DD



Ograniczenia termiczne

Status: 2020-Oct-22

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8
Phone: +1 800-565-1400

