

1.01646.0001

## Mikroskopie

### PAS barvicí souprava

pro detekci aldehydů a mukózních substancí

Pouze pro profesionální použití



Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro



#### Zamýšlený účel

Reakce s kyselinou jodistou a Schiffovým činidlem (PAS) je jednou z nejčastěji používaných chemických metod v histologii.

Tato „PAS barvicí souprava – pro detekci aldehydů a mukózních substancí“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k histologickému vyšetření vzorků lidského původu. Jedná se o barvicí soupravu k přímému použití, která při použití v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku in vitro z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové struktury (prostřednictvím fixace, zalití, barvení, dobarvení, montování) v materiálech histologických vzorků, například histologické řezy, včetně histologických řezů duodena, žaludku nebo jater, pro diagnostické účely.

Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímků získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy mohou být nutná další vyšetření.

#### Princip

V rámci reakce PAS se materiál histologického vzorku nejdříve ošetří kyselinou jodistou, čímž dojde k oxidaci 1,2-glykolů na aldehydové skupiny. Přidání Schiffova činidla (fuchsin – kyselina sírová) je druhým krokem, při kterém aldehydy reagují za vzniku brilantové červené barvy. V konečném výsledku dochází při reakci PAS ke specifické barevné reakci s nesubstituovanými polysacharidy, neutrálními mukopolysacharidy, muko- a glykoproteiny a glyko- a fosfolipidy. PAS reakci lze dále kombinovat s metodou barvení Alcianovou modří s cílem detekovat mukosubstancie (glykosaminoglykany).

#### Materiál vzorku

Jako výchozí materiál se používají řezy formalínem fixované, v parafínu zalité tkáně (parafínové řezy o tloušťce 3–4 µm) nebo buněčné nátěry.

#### Činidla

Kat. č. PAS barvicí souprava  
1.01646.0001 pro detekci aldehydů a mukózních substancí

#### Složky balení:

Barvicí souprava obsahuje

Činidlo 1: PAS barvicí souprava kyselina jodistá 0,5 %, vodný roztok 500 ml  
Činidlo 2 PAS barvicí souprava Schiffovo činidlo 500 ml

#### Další potřebné materiály:

Kat. č. 105174 Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III pro mikroskopii 500 ml, 1 l, 2,5 l

#### Volitelné (viz „Postup“, poznámky):

Kat. č. 105175 Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II pro mikroskopii 500 ml, 2,5 l

Kat. č. 106528 Dvojsiřičitan sodný (disiřičitan sodný) pro analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur 100 g, 500 g

Kat. č. 109057 Kyselina chlorovodíková 1 mol/l Titripur® 1 l, 2,5 l

#### Další potřebné materiály (barvení alcianovou modří – PAS):

Kat. č. 101647 Alcianová modř roztok pH 2,5 pro mikroskopii 500 ml

#### Příprava vzorků

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené.

K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Řezy zbavte parafínu a rehydratujte obvyklým způsobem.

#### Příprava činidla

Činidla PAS barvicí soupravy – pro detekci aldehydů a mukózních substancí používané k barvení jsou určeny k přímému použití, ředění roztoků není nutné.

## Barvení PAS

#### Postup

##### Barvení v barvicí komůrce

Histologická sklíčka zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Sklíčka je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabrání jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků.

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčko s histologickým vzorkem	
Destilovaná voda	opláchnutí
Činidlo 1 (roztok kyseliny jodisté)*	5 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Destilovaná voda	opláchnutí
Činidlo 2 (Schiffovo činidlo)	15 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Destilovaná voda	opláchnutí
Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III**	2 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylen nebo Neo-Clear®	5 min
Xylen nebo Neo-Clear®	5 min
Vlhká sklíčka Neo-Clear® montujte za použití přípravku Neo-Mount®, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan® nový a krycího sklíčka.	

\* Aby nedocházelo k možné pseudoreakci závislé na tkáni, lze vzorky po periodické acidické inkubaci ošetřit vodou se siřičitanem (3 × 2 minuty). Siřičitanovou vodu připravíte tak, že nejprve smícháte 10 ml roztoku disiřičitanu sodného (10 %) a 10 ml kyseliny chlorovodíkové (1 mol/l), a poté tento roztok smísíte s 200 ml vodovodní vody.

\*\* Pro další zvýšení jasnosti a kontrastu PAS-pozitivních struktur se doporučuje použít roztok hematoxylinu modifikovaný podle Gilla II (kat. č. 105175).

Po dehydrataci (vzestupnou alkoholovou řadou) a pročištění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear® lze histologické vzorky montovat za použití bezvodých montovacích přípravků (např. Neo-Mount®, Entellan®, DPX nový nebo Entellan® nový) a krycího sklíčka a poté uskladnit.

Při analýze obarvených preparátů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

#### Výsledek

Buněčná jádra modré  
Polysacharidy, glykogen, neutrální mukopolysacharidy, muko- a glykoproteiny, glyko- a fosfolipidy, bazální membrána, kolagen fialové

# Barvení alcianovou modří – PAS

## Postup

### Barvení v barvicí komůrce

Histologická sklíčka zbytečně obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Sklíčka je třeba po jednotlivých krocích barvení nechat dobře okapat; tímto opatřením se zabrání jakékoli zbytečné zkřížené kontaminaci roztoků.

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčko s histologickým vzorkem	
Destilovaná voda	opláchnutí
Alcianová modř roztok pH 2,5	5 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Destilovaná voda	opláchnutí
Činidlo 1 (roztok kyseliny jodisté)	10 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Destilovaná voda	opláchnutí
Činidlo 2 (Schiffovo činidlo)	15 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Destilovaná voda	opláchnutí
Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III	20 s
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylen nebo Neo-Clear®	5 min
Xylen nebo Neo-Clear®	5 min
Vlhká sklíčka Neo-Clear® montujte za použití přípravku Neo-Mount®, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan® nový a krycího sklíčka.	

Po dehydrataci (vzestupnou alkoholovou řadou) a pročištění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear® lze histologické vzorky montovat za použití bezvodých montovacích přípravků (např. Neo-Mount®, Entellan®, DPX nový nebo Entellan® nový) a krycího sklíčka a poté uskladnit.

## Výsledek

Buněčná jádra	modré
Kyselé mukosubstance	světle modré
Polysacharidy, neutrální mukopolysacharidy	fialové

## Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře.

Při použití histoprocessorů nebo automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a softwaru.

## Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaný a kvalifikovaný personál.

Je nutné používat platné nomenklatury.

Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod.

Při každé aplikaci použijte vhodné kontroly (např. ISOSLIDE® PAS, kat. č. 1.00408.0001), předejete tak nesprávným výsledkům.

## Skladování

PAS barvicí soupravu – pro detekci aldehydů a mukózních substancí skladujte při teplotě +15 až +25 °C.

Vzhledem k citlivosti činidla 2 (Schiffovo činidlo) na světlo je vhodné produkt skladovat v temnu.

## Doba použitelnosti

PAS barvicí soupravu – pro detekci aldehydů a mukózních substancí lze používat až do uvedeného data použitelnosti.

Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 °C až +25 °C.

Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

## Kapacita

Obsah balení stačí pro 2500–3000 aplikací / 500 ml.

## Další pokyny

### Pouze pro profesionální použití.

Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál.

Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality.

Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

## Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnicemi.

## Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrnicemi týkajícími se likvidace.

Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnicemi. Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese [www.microscopy-products.com](http://www.microscopy-products.com). V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

## Pomocná činidla

Kat. č. 100408	ISOSLIDE® PAS Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci polysacharidů v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 100579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 100974	Ethanol denaturovaný cca 1 % methylethylketonem pro analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č. 101647	Alcianová modř roztok pH 2,5 pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 103693	M-FREEZE™ Kryo-zalévací médium pro mikroskopii	100 ml
Kat. č. 103699	Imerzní olej Type N podle ISO 8036 pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička
Kat. č. 104699	Imerzní olej pro mikroskopii	100ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 105174	Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla III pro mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. č. 105175	Roztok hematoxylinu, modifikován podle Gilla II pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 106528	Dvojsiřičitan sodný (disiřičitan sodný) pro analýzu EMSURE® ACS, Reag. Ph Eur	100 g, 500 g
Kat. č. 107161	Entellan® nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 108298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l
Kat. č. 109016	Neo-Mount® bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 109057	Kyselina chlorovodíková 1 mol/l Titripur®	1 l, 2,5 l
Kat. č. 109843	Neo-Clear® (náhražka xyleny) pro mikroskopii	5 l

## Klasifikace rizik

Kat. č. 1.01646.0001

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě. Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

## Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.01646.0001

Činidlo 1  
H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub> 5 g/l

Činidlo 2  
C.I. 42500 0,91 g/l  
Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> > 0,8 %  
1 l = 1,01 kg

## Jiné výrobky pro IVD

Kat. č. 100425	ISOSLIDE® Alciánová modř pH 2,5 Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci kyselých mukosubstancí v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 100482	0,5 % roztok kyseliny jodisté pro reakci PAS k detekci aldehydu a mukosubstancí v mikroskopii	1 l
Kat. č. 102439	Eosin Y 0,5 %, alkoholový roztok pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 102561	ISOSLIDE® Kontrolní sklíčka s konzskou červení s referenční tkání pro detekci amyloidových struktur v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 102572	Schiffovo činidlo, intenzivní – pro detekci aldehydu a mukosubstancí v mikroskopii	1 l
Kat. č. 109033	Schiffovo činidlo pro mikroskopii	500 ml, 2,5 l
Kat. č. 117081	Roztok eosinu Y 1 %, alkoholový pro mikroskopii	1 l

## Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

## Literaturu

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



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si  
připojené dokumenty



Spotřebujte do  
RRRR-MM-DD



Teplotní  
omezení

Status: 2020-Oct-22

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

