

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 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 disease. 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. The staining pattern of the lymphocytes may also be helpful in making therapeutic decisions in established cases of lymphocytic leukemia.

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} When used on blood or bone marrow films, this test may be helpful in recognizing some cases of erythroleukemia and acute lymphoblastic leukemia.³

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 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 Working Scott's Tap Water Substitute 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, 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 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 celloidinize 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

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 Histotechnical 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.

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

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.

© 2022 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.

Anweisungen für den Gebrauch

Periodsäure-Schiff (PAS)-Färbesystem

Verfahren Nr. 395



Verwendungszweck

Das PAS-Färbesystem bietet Standard- und Mikrowellenverfahren für den Nachweis von Lymphozyten und Mucopolysacchariden. Die PAS-Reaktion in Gewebeschnitten ist nützlich für den Nachweis von Mucopolysacchariden. Das Diastase (α -Amylase)-Aufschlussverfahren, gefolgt von der PAS-Färbung, ist ein nützliches Hilfsmittel bei der Diagnose der Glykogenspeicherkrankheit. Periodsäure-Schiff (PAS)-Reagenzien sind für die „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen, qualitativen Verfahren gewonnenen Daten identifizieren Lymphozyten und Mucopolysaccharide in Blut- oder Knochenmarkausstrichen sowie in Formalin-fixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe von menschlichen Proben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose von Pilzinfektionen verwendet werden. Das Färbemuster der Lymphozyten kann auch hilfreich sein, um therapeutische Entscheidungen bei nachgewiesener lymphatischer Leukämie zu treffen.

Bei der Behandlung mit Periodsäure werden Glykole zu Aldehyden oxidiert. Nach der Reaktion mit dem Schiffs-Reagenz färbt das freigesetzte Fuchsin die zellulären Bestandteile, die die oxidierbaren Verbindungen enthalten.³ Diese Reaktion kann an Blut- oder Knochenmarkausstrichen, Gewebetupfpräparaten oder Gewebeschnitten durchgeführt werden.^{1,2} Bei Verwendung von Blut- oder Knochenmarkausstrichen kann dieser Test bei der Erkennung einiger Fälle von Erythroleukämie und akuter lymphatischer Leukämie hilfreich sein.³

Der Aufschluss durch Diastase (α -Amylase) kann als Hilfsmittel bei der Diagnose der Glykogenspeicherkrankheit eingesetzt werden. Diastase hydrolysiert Stärke, Glykogen und Abbauprodukte der im Gewebe vorhandenen Polysaccharide. Die bei beim Aufschluss anfallenden Nebenprodukte werden vor der PAS-Färbung weggespült.⁴

Eine Technik zur schnellen PAS-Färbung unter Verwendung von Mikrowellenöfen ist ebenfalls enthalten.⁵⁻⁷

Reagenzien

Periodsäure-Lösung (Kat. Nr. 3951-100ML und 395132-1L)

Periodsäure, 1 g/dl

Schiffs-Reagenz (Kat. Nr. 3952-50ML und 3952016-500ML)

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

Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 (Kat. Nr. GHS3-100ML)

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

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

- Formaldehyd-Lösung, 37%ig
- Reagenzien-Alkohol
- Positive PAS-Kontroll-Objektträger, wie z. B. PAS TISSUE-TROL™ (Kat. Nr. TTR009-25EA), sollten in jedem Durchlauf enthalten sein.
- Xylol oder Xylolersatz

Nur Mikrowellenverfahren

- Mikrowellenofen
- Coplin-Färbetrog mit belüfteten Deckeln
- Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat (Kat. Nr. S5134-6x100ML)
- α -Amylase (nur für Diastase-Extraktionsverfahren) (Kat. Nr. A3176)

Lagerung und Stabilität

Periodsäurelösung und Schiffs-Reagenz im Kühlschrank (2-8 °C) aufbewahren. Erhitzen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-26 °C). Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Bildung eines Niederschlags im Schiffs-Reagenz beeinträchtigt die Leistung nicht.

Zerfall

Hämatoxylinlösung, Gill Nr. 3, ist zu entsorgen, wenn die Lösung braun (durch Luft überoxidiert) oder violett (Verlust des Säuregehalts) wird oder wenn die für eine angemessene Färbung erforderliche Zeit die im Verfahren empfohlene Zeit um mehr als 5 Minuten überschreitet.

Vorbereitung

Periodsäurelösung, Schiffs-Reagenz und Hämatoxylinlösung, Gill Nr. 3, werden gebrauchsfertig geliefert. Erhitzen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-26 °C).

Schiffs-Reagenz filtrieren, falls ein Niederschlag vorhanden ist. HINWEIS: Eine leichte Rosafärbung durch Auslaugen von Farbe aus den Objektträgern beeinträchtigt den Test nicht.

Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat wird durch Verdünnen von 1 Teil Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat mit 9 Teilen deionisiertem Wasser hergestellt.

Die Formalin-Ethanol-Fixierlösung wird durch Mischen von 5 ml Formaldehyd mit 45 ml 95%igem Ethanol (Reagenzalkohol) hergestellt. Täglich frisch zubereiten und gut verschlossen aufbewahren.

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 Laborpersonal 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 Vollblut, EDTA- oder heparinisiertes Blut oder Knochenmarkausstriche. So bald wie möglich fixieren.³

Für Polysaccharide kann Gewebe verwendet werden, das in 10 % neutral gepuffertem Formalin, Zenker's oder Bouin's fixiert wurde.¹ Es ist zu beachten, dass einige Kohlenhydrate wasserlöslich sind.² Für den Nachweis von Glykogen werden Carnoy-Flüssigkeit, Gendre-Flüssigkeit oder saures alkoholisches Formalin empfohlen.¹ Die für die Diastase-Extraktion erforderliche Zeit kann sich verlängern, wenn das Gewebe in einem Pikrinsäure-haltigen Fixiermittel fixiert wird.¹ Gewebeschnitte mit 5 Mikrometern schneiden.

Anmerkungen

Wenn Sie einen Mikrowellenofen verwenden, lesen Sie bitte die Anweisungen in der Bedienungsanleitung.

Zu Kontrollzwecken können auch Blutbilder von klinisch gesunden Personen einbezogen werden. Polymorphkernige Leukozyten zeigen eine intensiv rote zytoplasmatische Färbung. Gewebeschnitte, von denen bekannt ist, dass sie PAS-positiv sind und/oder Glykogen enthalten, sollten bei jeder Färbesequenz mit einbezogen werden.

Verfahren

Blut, Knochenmark oder Gewebetupfpräparate

Standardverfahren

- Fixieren Sie luftgetrocknete Ausstriche für **1 Minute** bei **Raumtemperatur** in Formalin-Ethanol-Fixierlösung.
- Spülen Sie die Objektträger **1 Minute** in langsam fließendem Leitungswasser ab.
- Tauchen Sie die Objektträger für **5 Minuten** in Periodsäurelösung bei **Raumtemperatur**.
- Spülen Sie die Objektträger mehrmals mit destilliertem Wasser ab.
- Objektträger für **15 Minuten** bei Raumtemperatur in Schiffs-Reagenz eintauchen. HINWEIS: Sofort nach Gebrauch Schiffs-Reagenz verschließen und in den Kühlschrank (2-8 °C) stellen.
- Waschen Sie die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** lang.
- Gegenfärbung der Objektträger in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, für **90 Sekunden**.
- Objektträger unter fließendem Leitungswasser **15-30 Sekunden** lang abspülen, an der Luft trocknen lassen und unter dem Olimmersionsobjektiv (900x) mikroskopisch untersuchen. Objektträger können in Einbettungsmitteln auf Toluol- oder Xylolbasis eingebettet werden.

Mikrowellenverfahren

- Fixieren Sie luftgetrocknete Ausstriche für **1 Minute** bei **Raumtemperatur** in Formalin-Ethanol-Fixierlösung.
- Spülen Sie die Objektträger **1 Minute** in langsam fließendem Leitungswasser ab.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Periodsäurelösung, die sich in einem Coplin-Färbetrog aus Kunststoff befindet.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- Spülen Sie die Objektträger in mehrmaligem Wechsel gut mit entionisiertem Wasser ab.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Schiffs-Reagenz, das sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Mischen Sie die Lösung mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen und lassen Sie sie für **1 Minute** inkubieren.
- Unter warmem, leicht fließendem Leitungswasser **5 Minuten** lang abspülen.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Hämatoxylinlösung Gill Nr. 3, die sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- Unter fließendem Leitungswasser **1-2 Minuten** abspülen, dann in Scott's Leitungswasser-Ersatz bei **Raumtemperatur** bläuen.
- Unter fließendem Leitungswasser abspülen. An der Luft trocknen.
- Objektträger können in Einbettungsmitteln auf Toluol- oder Xylolbasis eingebettet werden.

Gewebeschnitte

Standardverfahren

- Entparaffinieren und hydratisieren Sie die Abschnitte in deionisiertem Wasser.
- Tauchen Sie die Objektträger für **5 Minuten** in Periodsäurelösung bei **Raumtemperatur** (18-26 °C).
- Spülen Sie den Objektträger in mehrmaligem Wechsel mit destilliertem Wasser ab.
- Objektträger für **15 Minuten** bei **Raumtemperatur** (18-26 °C) in Schiffs-Reagenz eintauchen.
- Waschen Sie die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** lang.
- Gegenfärbung der Objektträger in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, für **90 Sekunden**.
- Objektträger unter fließendem Leitungswasser abspülen.
- Schnitte dehydrieren, klären und in Einbettungsmitteln auf Toluol- oder Xylolbasis einbetten.

Mikrowellenverfahren

- In deionisiertem Wasser entparaffinieren und hydratisieren.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Periodsäurelösung, die sich in einem Coplin-Färbetrog aus Kunststoff befindet. Das Glas locker mit einem Deckel verschließen oder Deckel mit eingedruckten Löchern verwenden.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- Spülen Sie die Objektträger in mehrmaligem Wechsel gut mit entionisiertem Wasser ab.
- Legen Sie die Objektträger in **40 ml** Schiffs-Reagenz, das sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.

- 6. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **15 Sekunden** erhitzen. Mischen Sie die Lösung mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen und lassen Sie sie für **1 Minute** inkubieren.
- 7. Unter warmem, leicht fließendem Leitungswasser **5 Minuten** lang abspülen.
- 8. Legen Sie die Objektträger in Hämatoxylin Gill Nr. 3, die sich in einem Coplin-Färbetrog befindet.
- 9. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen.
- 10. Unter fließendem Leitungswasser **1-2 Minuten** abspülen, dann in Scott's Leitungswasser-Ersatz bei **Raumtemperatur** bläuen. Unter fließendem Leitungswasser abspülen. Dehydrieren, klären und einbetten.

Mikrowellenverfahren für Diastase (α-Amylase)-Aufschluss

- 1. Verwenden Sie ein Duplikat der Testobjektträger. Beschriften Sie eines für den Aufschluss mit Diastase und eines nur für die PAS-Färbung.
HINWEIS: Empfehlenswert sind Objektträger, die mit einem Gewebekleber beschichtet sind. Beim Diastaseaufschluss dürfen die Schnitte nicht celloidinisiert werden.:
- 2. Entparaffinieren und hydratisieren Sie die Objektträger in deionisiertem Wasser.
- 3. Diastase (α-Amylase) Arbeitslösung durch Auflösen von 0,2 g α-Amylase (Kat. Nr. A3176) in 40 ml entionisiertem Wasser herstellen. Gut mischen und in ein Coplin-Plastikgefäß geben. Kurz vor der Verwendung zubereiten.
- 4. In der Mikrowelle bei **600 Watt** für **25 Sekunden** erhitzen.
- 5. Nehmen Sie die Objektträger aus dem Coplin-Färbetrog und spülen Sie den Objektträger mit dem Aufschluss **5 Minuten** lang unter fließendem Leitungswasser.
- 6. Verwenden Sie sowohl die aufgeschlossenen als auch die nicht aufgeschlossenen Objektträger und fahren Sie mit dem Mikrowellenverfahren für Gewebe, Schritt 2, fort.

Leistungsmerkmale

PAS-positive Substanzen färben sich rosa bis rot und die Zellkerne sind blau. Ein Diastase (α-Amylase)-Extraktionsobjektträger weist im Vergleich zum Objektträger mit nicht aufgeschlossenem Glykogen der Positivkontrolle keine sichtbare PAS-Färbung von Glykogen auf.

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.

Kat. 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
		Glykogen	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	Schiffsches 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
		Glykogen	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 erzeugen.
- H373: Kann bei Verschlucken bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe (Niere) schädigen.
- H412: Schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
- P273: Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280: Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P301 + P312: BEI VERSCHLUCKEN: Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE/einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.
- P303 + P361 + P353: WENN AUF DER HAUT (oder im Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310: BEI EINATMUNG: 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 AUGE: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

Wenn während der Verwendung dieses Geräts 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
	Gebrauchsanweisung 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

Referenzen

- 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, 4. Auflage, Butterworths, S. 216-220, 1985
- 3. Davey FR, Nelson DA: Periodsäure-Schiff (PAS)-Farbe 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: Schnelle metallische histologische Färbung mit Hilfe des Mikrowellenofens. 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 unsere 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. Zusätzliche Warnungen und Gefahren.

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

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.

© 2022 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®

Mode d'emploi

Système de coloration PAS (pour Periodic Acid Schiff)

Procédure n° 395



MERCK

Utilisation prévue

Le système de coloration PAS permet de proposer des procédures standard et au micro-ondes pour la mise en évidence des lymphocytes et des mucopolysaccharides. La réaction à l'acide périodique de Schiff dans les coupes de tissus est utile pour la mise en évidence des mucopolysaccharides. La procédure de digestion par la diastase (α -amylase), suivie de la coloration PAS, est utile comme aide au diagnostic des maladies de stockage du glycogène. Les réactifs du PAS (pour Periodic Acid Schiff) sont destinés à un « usage en diagnostic *in vitro* ». À usage professionnel uniquement. Les données obtenues avec cette procédure qualitative manuelle permettent d'identifier les lymphocytes et les mucopolysaccharides sur les frottis sanguins ou médullaires ainsi que dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine provenant d'échantillons humains. Lorsqu'elles sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques et d'autres informations, ces données peuvent être utilisées comme aide au diagnostic des infections fongiques. Le profil de coloration des lymphocytes peut également être utile pour prendre des décisions thérapeutiques dans les cas établis de leucémie lymphoïde.

Lorsqu'ils sont traités avec de l'acide périodique, les glycols sont oxydés en aldéhydes. Après réaction avec le réactif de Schiff, la fuchsine libérée colore les composants cellulaires contenant les composés oxydables.³ Cette réaction peut être réalisée sur des frottis sanguins ou médullaires, des empreintes tissulaires ou des coupes tissulaires.^{1,2} Lorsqu'il est utilisé sur des frottis sanguins ou médullaires, ce test peut être utile pour reconnaître certains cas d'érythroleucémie et de leucémie aiguë lymphoblastique.³

La digestion par la diastase (α -amylase) peut être utilisée comme aide au diagnostic des maladies de stockage du glycogène. La diastase hydrolyse l'amidon, le glycogène ainsi que les produits de dégradation issus de ces polysaccharides présents dans les tissus. Les sous-produits résultant du processus de digestion sont rincés avant de procéder à la coloration PAS.⁴

Une technique de coloration PAS rapide utilisant un four à micro-ondes est incluse.⁵⁻⁷

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, 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 PAS, comme les lames PAS TISSUE-TROL™ (réf. TTR009-25EA), qui doivent être incluses dans chaque série
- Xylène ou substitut du xylène

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 (pour la procédure de digestion par la diastase uniquement) (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 pas d'impact sur les 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 si un précipité est présent. REMARQUE : une légère coloration rose due à l'éclaircissement de la couleur des lames n'interfère pas avec le test.

Le substitut à l'eau courante de Scott est préparé en diluant 1 volume de concentré de substitut à l'eau courante de Scott avec 9 volumes d'eau déionisée.

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 bien fermée.

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 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 tissus ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Des frottis médullaires ou des frottis sanguins fraîchement préparés à partir de sang total, de sang prélevé dans un tube contenant de l'EDTA ou de l'héparine sont utilisés. Procéder à la fixation dès que possible.³

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 Bouin.¹ Il faut noter que certains glucides sont hydrosolubles.² Pour la mise en évidence du glycogène, il est recommandé d'utiliser du liquide de Carnoy, du liquide de Gendre ou de l'alcool-formol-acide acétique.¹ Le temps nécessaire à la digestion par la diastase peut être plus long lorsque le tissu est fixé avec un fixateur contenant de l'acide picrique.¹ Réaliser des coupes de tissus de 5 microns d'épaisseur.

Remarques

Si un four à micro-ondes est utilisé, consulter le manuel du fabricant pour obtenir des instructions.

Des frottis sanguins préparés à partir d'individus sains d'un point de vue clinique peuvent être inclus à des fins de contrôle. Les polynucléaires auront une coloration cytoplasmique rouge intense. Des coupes de tissus dont on sait qu'elles sont positives à la coloration PAS et/ou qu'elles contiennent du glycogène doivent être incluses chaque fois qu'une procédure de coloration est réalisée.

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 du robinet.
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 du robinet 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 du robinet pendant **15 à 30 secondes**, les laisser sécher à l'air libre, puis les examiner au microscope avec un objectif à immersion (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 du robinet.
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 sur **800 watts** pendant **10 secondes**.
5. Bien rincer dans plusieurs bains d'eau déionisée.
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 sur **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 du robinet tiède 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 sur **800 watts** pendant **10 secondes**.
11. Rincer sous l'eau du robinet pendant **1 à 2 minutes**, puis réaliser le bleuissement dans la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**.
12. Rincer sous l'eau du robinet. 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 déionisée.
2. Plonger les lames dans la solution d'acide périodique pendant **5 minutes à température ambiante** (entre 18 et 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** (entre 18 et 26 °C).
5. Laver les lames sous l'eau du robinet 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 du robinet.
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 déionisée.
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 sur **800 watts** pendant **10 secondes**.

- 4. Bien rincer dans plusieurs bains d'eau déionisée.
- 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 sur **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 du robinet pendant **5 minutes**.
- 8. Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant de l'hématoxyline de Gill n° 3.
- 9. Mettre au micro-ondes sur **800 watts** pendant **10 secondes**.
- 10. Rincer sous l'eau du robinet pendant **1 à 2 minutes**, puis réaliser le bleuissement dans le substitut à l'eau courante de Scott à **température ambiante**. Rincer sous l'eau du robinet. 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 PAS uniquement.
REMARQUE : il est recommandé d'utiliser des lames recouvertes d'adhésif tissulaire. Ne pas placer les coupes dans de la celloïdine lors de la digestion par la diastase.¹
- 2. Déparaffiner et réhydrater les lames dans de l'eau déionisée.
- 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 déionisée. Bien mélanger, puis mettre la solution dans une cuve à coloration de Coplin en plastique. Préparer la solution juste avant de l'utiliser.
- 4. Mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **25 secondes**.
- 5. Retirer les lames de la cuve à coloration de Coplin et rincer les lames digérées sous l'eau du robinet pendant **5 minutes**.
- 6. À la fois pour les lames digérées et non digérées, continuer en passant à l'étape 2 de la procédure au micro-ondes pour les coupes de tissus.

Caractéristiques de performance

Les substances positives à la coloration PAS prennent une coloration allant du rose au rouge et les noyaux sont bleus. Une lame avec digestion par la diastase (α-amylase) ne présentera pas de coloration PAS visible du glycogène par rapport à la lame de contrôle positive au glycogène non digérée.

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
		Membranes basales	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
		Membranes basales	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 les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.
- P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos 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 catalogue
	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

Références

- 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

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 de la déclaration relative à l'aide au diagnostic vers 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.

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

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.

© 2022 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.

Istruzioni per l'uso

Sistema di colorazione con acido periodico Schiff (PAS)

Procedura n. 395



Uso previsto

Il sistema di colorazione PAS offre procedure standard e a microonde per la dimostrazione 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 aiuto nella diagnosi della malattia 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 aiuto per la diagnosi di infezioni fungine. Il pattern di colorazione dei linfociti può anche essere utile nel prendere decisioni terapeutiche in casi accertati di leucemia linfocitica.

Se 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} Se utilizzata su striscio ematico o di midollo osseo, questa analisi può essere utile per riconoscere alcuni casi di eritroleucemia e leucemia linfoblastica acuta.³

La digestione della diastasi (α -amilasi) può essere usata come aiuto 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 dal processo di digestione vengono risciacquati prima della colorazione PAS.⁴

È inclusa una tecnica per la colorazione PAS rapida utilizzando 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 lesioni oculari. Può causare il cancro.

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

Ematossilina certificata, 6 g/L, iodato di sodio CI 75290, 0,6 g/L, solfato di alluminio, 52,8 g/L e stabilizzante

Materiali speciali richiesti ma non forniti

- Soluzione di formaldeide, 37%
- Alcol 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 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 ematossilina 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 ematossilina 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 ematossilina di Gill n. 3 sono forniti pronti per l'uso. Riscaldare 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% (alcol reagente). Preparare la soluzione fresca ogni giorno e tenere ben chiusa.

Precauzioni

Gli IVD inclusi in questo kit sono destinati all'uso diagnostico 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 possono essere utilizzati da personale di laboratorio formato nella gestione di campioni umani che possono essere infettivi, nell'utilizzo di microscopi e altre

apparecchiature di laboratorio e che hanno la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

È necessario seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative locali, provinciali, regionali o nazionali.

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 tessuti non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati ematici e i campioni di tessuti devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Vengono utilizzati strisci ematici o di midollo osseo interi, EDTA o eparinizzati preparati freschi. Eseguire il fissaggio il 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

1. Fissare gli strisci essiccati all'aria per **1 minuto a temperatura ambiente** in una soluzione fissativa di formalina etanolo.
2. Sciacquare i vetrini per **1 minuto** sotto un flusso leggero di acqua di rubinetto.
3. Immergere i vetrini nella soluzione di acido periodico per **5 minuti a temperatura ambiente**.
4. Sciacquare i vetrini in vari bagni di acqua distillata.
5. 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).
6. Lavare i vetrini in acqua di rubinetto corrente per **5 minuti**.
7. Eseguire la controcolorazione dei vetrini in soluzione di ematossilina di Gill n. 3 per **90 secondi**.
8. Sciacquare i vetrini in acqua corrente di rubinetto 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

1. Fissare gli strisci essiccati all'aria a **temperatura ambiente** per **1 minuto** in una soluzione fissativa di formalina-etanolo.
2. Sciacquare i vetrini per **1 minuto** sotto un flusso leggero di acqua di rubinetto.
3. Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di acido periodico contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
4. Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
5. Sciacquare accuratamente in vari bagni di acqua deionizzata.
6. Mettere i vetrini in **40 mL** di reagente di Schiff contenuto in una vaschetta Coplin di plastica.
7. 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**.
8. Sciacquare sotto un flusso leggero di acqua corrente di rubinetto tiepida per **5 minuti**.
9. Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di ematossilina di Gill n. 3 contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
10. Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
11. 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**.
12. Sciacquare in acqua corrente di rubinetto. Lasciare asciugare all'aria.
13. I vetrini possono essere montati con liquido di montaggio a base di toluene o xilene.

Sezioni di tessuto

Procedura standard

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

Procedura con forno a microonde

1. Deparaffinare e idratare in acqua deionizzata.
2. 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.
3. Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
4. Sciacquare accuratamente in vari bagni di acqua deionizzata.
5. Mettere i vetrini in **40 mL** di reagente di Schiff contenuto in una vaschetta Coplin di plastica.
6. 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**.
7. Sciacquare sotto un flusso leggero di acqua corrente di rubinetto tiepida per **5 minuti**.
8. Mettere i vetrini in ematossilina di Gill n. 3 contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
9. Scaldare in forno a microonde a **800 watt** per **10 secondi**.
10. 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)

1. 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

- 2. 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 subito 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, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per richiedere assistenza.

Caratteristiche prestazionali analitiche

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

N. cat.	Descrizione prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
3951	Soluzione di acido periodico	Monociti	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Granulociti	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Glicogeno	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Membrana basale	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
3952	Reattivo di Schiff	Monociti	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Granulociti	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Glicogeno	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
		Membrana basale	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3
GHS3-50ML	Soluzione di ematossilina di Gill, N. 3	Nuclei	3 di 3	3 di 3	3 di 3	3 di 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, fare riferimento alla Scheda dati di sicurezza e all'etichetta del prodotto.

395B:



- H290: Può essere corrosivo per i metalli.
- H302: Nocivo se ingerito.
- H314: Provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari.
- H350: Può causare 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 a lunga durata.
- P273: Evitare il rilascio nell'ambiente.
- P280: Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezione per gli occhi/protezione per il viso.
- P301 + P312: SE INGERITO: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico se non ci si sente bene.
- P303 + P361 + P353: SE A CONTATTO CON LA PELLE (o i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P304 + P340 + P310: SE INALATO: portare la persona all'aria aperta e metterla in una posizione comoda per respirare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338: SE ENTRA A CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Se indossate, rimuovere le lenti a contatto se è facile farlo. Continuare a sciacquare.

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

Definizioni dei simboli

Simboli come definiti in EN ISO 15223-1:2021

	Produttore		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea/Unione Europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione Europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico per la diagnostica in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di produzione		Importatore

Riferimenti

- 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.

Informazioni di contatto

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com. Per assistenza tecnica, visitare la pagina dedicata all'assistenza tecnica sul nostro sito web all'indirizzo 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 nell'uso previsto e nelle precauzioni. Spostata la dichiarazione relativa all'aiuto alla diagnosi nella sezione uso previsto. Aggiornata la sezione uso previsto per allinearla alle linee guida IVDR. Aggiornata Scheda dati sicurezza dei materiali in Scheda dati di sicurezza. Aggiornate le informazioni di contatto. Istruzioni rimosse per seguire il CLSI per la raccolta dei campioni. Rimossa EN 980 e modificata in EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunte informazioni di contatto per eventi avversi. Aggiunta di avvertenze e pericoli.



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

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.

© 2022 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.

Instrucciones de uso

Sistema de tinción de ácido periódico de Schiff (PAS)

Procedimiento n.º 395



Uso previsto

El sistema de tinción PAS ofrece procedimientos estándar y de microondas para demostrar la presencia de linfocitos y mucopolisacáridos. La reacción de PAS en cortes de tejidos es útil para la visualización de mucopolisacáridos. El procedimiento de digestión con diastasa (α-amilasa), seguido de la tinción PAS, es útil como ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de almacenamiento de glucógeno. Los reactivos de PAS son para "uso diagnóstico in vitro". Solo para uso profesional. Los datos obtenidos con este procedimiento manual y cualitativo identifican los linfocitos y los mucopolisacáridos en frotis de sangre o médula ósea, así como en tejidos fijados en formol y embebidos en parafina 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 las infecciones fúngicas. El patrón de tinción de los linfocitos también puede ser útil para tomar decisiones terapéuticas en casos establecidos de leucemia linfocítica.

Cuando se tratan con ácido periódico, los glicoles se oxidan en aldehídos. Tras la reacción con el reactivo de Schiff, se libera la fucsina que tiñe los componentes celulares que contienen los compuestos oxidables.³ Esta reacción puede realizarse en frotis de sangre o médula ósea, en improntas de tejidos o en cortes de tejidos.^{1,2} Cuando se utiliza con frotis de sangre o médula ósea, esta prueba puede ser útil en el reconocimiento de algunos casos de eritroleucemia y leucemia linfoblástica aguda.³

La digestión con diastasa (α-amilasa) puede utilizarse como ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de almacenamiento de glucógeno. La diastasa hidroliza el almidón, el glucógeno y los productos de degradación que tienen su origen en estos polisacáridos presentes en el tejido. Los productos derivados resultantes del proceso de digestión se desechan mediante lavado antes de la tinción PAS.⁴

Se incluye una técnica PAS para una tinción rápida en hornos microondas.^{5,7}

Reactivos

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

Ácido periódico, 1 g/dl.

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

Pararosanilina HCl, 1 %, y metabisulfito sódico, 4 %, en ácido clorhídrico, 0,25 mol/l. Peligro. Provoca graves quemaduras en la piel y daños en los ojos. Puede causar cáncer.

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

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

Material especial necesario pero no suministrado

- Solución de formaldehído, 37 %
- Alcohol reactivo
- Los portaobjetos de control PAS-positivo, tales como PAS TISSUE-TROL™ (n.º de cat. TTR009-25EA), deben utilizarse en cada proceso
- Xileno o sustituto del xileno

Solo en procedimientos con microondas

- Horno microondas.
- Vaso de Coplin con tapas con respiraderos
- Concentrado sustituto del agua corriente de Scott (n.º de cat. S5134-6x100ML)
- α-Amilasa (solo para el procedimiento de extracción de diastasa) (n.º de cat. A3176)

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar la solución de ácido periódico y el reactivo 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

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

Preparación

La solución de ácido periódico, el reactivo de Schiff y la solución de hematoxilina Gill N.º 3 se suministran listos para su uso. Calentar 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 debida a la lixiviación del color de los portaobjetos no interfiere con la prueba.

El 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). Las preparaciones deben ser del día y deben guardarse bien cerradas.

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 de Sigma-

Aldrich puede utilizar los DMDIV 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™ son tejidos humanos embebidos en parafina con PAS y deben considerarse 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 frotis de sangre total heparinizada o con EDTA, o de médula ósea, recién preparados. Debe fijarse cuanto antes.¹

Para los polisacáridos, puede utilizarse tejido fijado con formol tamponado neutro al 10 %, solución de Zenker o de Bouin.¹ Debe tenerse en cuenta que algunos carbohidratos son hidrosolubles.² Para demostrar la presencia de glucógeno, se recomienda usar el líquido de Carnoy, el líquido de Gendre o formol alcohólico ácido.¹ El tiempo necesario para la extracción de la diastasa puede ser más largo cuando el tejido se fija en ácido pícrico con fijador.¹ Los cortes de tejido deben ser de 5 micras.

Notas

Si se utiliza el horno microondas, deben consultarse las instrucciones en el Manual del propietario.

Pueden utilizarse frotis de sangre procedentes de individuos clínicamente sanos para fines de control. Los leucocitos polimorfonucleares mostrarán una tinción citoplasmática de color rojo intenso. Cada vez que se realiza una secuencia de tinción deben incluirse cortes de tejido que se sepa que son PAS-positivos y/o que contienen glucógeno.

Procedimiento

Preparaciones de sangre, médula ósea o improntas de tejidos

Procedimiento estándar

1. Fijar los frotis secados al aire durante **1 minuto a temperatura ambiente**, con solución fijadora de formol-etanol.
2. Aclarar los portaobjetos durante **1 minuto** con agua corriente del grifo a chorro suave.
3. Sumergir los portaobjetos en solución de ácido periódico durante **5 minutos a temperatura ambiente**.
4. Aclarar los portaobjetos varias veces con agua destilada, cambiando el agua cada vez.
5. Sumergir los portaobjetos en reactivo de Schiff durante **15 minutos** a temperatura ambiente. NOTA: Inmediatamente después del uso, tapar el reactivo de Schiff y devolverlo al frigorífico (2-8 °C).
6. Aclarar los portaobjetos durante **5 minutos** con agua corriente del grifo.
7. Contrateñir los portaobjetos con solución de hematoxilina Gill N.º 3, durante **90 segundos**.
8. Aclarar los portaobjetos en agua corriente del grifo durante **15-30 segundos**, secar al aire y examinar en el microscopio con una lente de inmersión en aceite (900x). Los portaobjetos pueden montarse en un medio con base de tolueno o xileno.

Procedimiento con microondas

1. Fijar los frotis secados al aire a **temperatura ambiente** durante **1 minuto**, con fijador de formol-etanol.
2. Aclarar los portaobjetos durante **1 minuto** con agua corriente del grifo a chorro suave.
3. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido periódico dentro de un vaso de Coplin de plástico.
4. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
5. Aclarar bien varias veces con agua desionizada, cambiando el agua cada vez.
6. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de reactivo de Schiff dentro de un vaso de Coplin de plástico.
7. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **15 segundos**. Mezclar la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora, y dejarla incubar durante **1 minuto**.
8. Aclarar con agua corriente del grifo caliente a chorro suave durante **5 minutos**.
9. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de hematoxilina Gill N.º 3 dentro de un vaso de Coplin de plástico.
10. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
11. Aclarar con agua corriente del grifo durante **1-2 minutos**, y luego azular con concentrado sustituto del agua corriente de Scott a **temperatura ambiente**.
12. Aclarar con agua corriente del grifo. Secar al aire.
13. Los portaobjetos pueden montarse en un medio con base de tolueno o xileno.

Cortes de tejido

Procedimiento estándar

1. Desparafinar e hidratar los cortes con agua desionizada.
2. Sumergir los portaobjetos en solución de ácido periódico durante **5 minutos a temperatura ambiente** (18-26 °C).
3. Aclarar los portaobjetos varias veces con agua destilada, cambiando el agua cada vez.
4. Sumergir los portaobjetos en reactivo de Schiff durante **15 minutos a temperatura ambiente** (18-26 °C).
5. Aclarar los portaobjetos durante **5 minutos** con agua corriente del grifo.
6. Contrateñir los portaobjetos con solución de hematoxilina Gill N.º 3, durante **90 segundos**.
7. Aclarar los portaobjetos con agua corriente del grifo.
8. Deshidratar, aclarar y montar los cortes en un medio con base de tolueno o xileno.

Procedimiento con microondas

1. Desparafinar e hidratar con agua desionizada.
2. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido periódico dentro de un vaso de Coplin de plástico. Tapar el vaso sin apretar la tapa, o utilizar tapas con agujeros.
3. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
4. Aclarar bien varias veces con agua desionizada, cambiando el agua cada vez.
5. Colocar los portaobjetos en **40 ml** de reactivo de Schiff dentro de un vaso de Coplin de plástico.
6. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **15 segundos**. Mezclar la solución con una pipeta Beral o una varilla aplicadora, y dejarla incubar durante **1 minuto**.
7. Aclarar con agua corriente del grifo caliente a chorro suave durante **5 minutos**.
8. Colocar los portaobjetos en hematoxilina Gill N.º 3 dentro de un vaso de Coplin de plástico.
9. Poner en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**.
10. Aclarar con agua corriente del grifo durante **1-2 minutos**, y luego azular con concentrado sustituto del agua corriente de Scott a **temperatura ambiente**. Aclarar con agua corriente del grifo. Deshidratar, aclarar y montar.

Procedimiento con microondas para digestión con diastasa (α-amilasa)

- 1. Utilizar portaobjetos de prueba duplicados. Etiquetar uno para la digestión con diastasa y otro solo para la tinción PAS.
NOTA: Se recomienda utilizar los portaobjetos recubiertos con adhesivo de tejido.
No utilizar celoidina con los cortes al realizar la digestión con diastasa.¹
- 2. Desparafinar e hidratar los portaobjetos con agua desionizada.
- 3. Preparar la solución de diastasa (α-amilasa) disolviendo 0,2 g de α-amilasa (n.º de cat. A3176) en 40 ml de agua desionizada. Mezclar bien y colocar en un vaso de Coplin de plástico. Preparar inmediatamente antes de su uso.
- 4. Poner en el horno microondas a **600 vatios** durante **25 segundos**.
- 5. Extraer los portaobjetos del vaso de Coplin y aclarar el portaobjetos digerido con agua corriente del grifo durante **5 minutos**.
- 6. Utilizando ambos portaobjetos, el digerido y el no digerido, siga con el procedimiento del horno microondas para el tejido (paso 2).

Características de funcionamiento

Las sustancias PAS-positivas se tiñen de rosa a rojo y los núcleos en azul. El portaobjetos de extracción de diastasa (α-amilasa) no tendrá ninguna tinción PAS visible de glucógeno, al compararlo con el portaobjetos de control positivo de glucógeno no digerido.

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 periódico	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 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: Evitar su liberación al medio ambiente.
- P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P301 + P312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si se encuentra mal.
- P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse 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: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Si durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, infórmelo al fabricante y/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 in vitro)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador

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 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

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 la marca actual. Se ha especificado para uso profesional en 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 del IVD. Se ha actualizado la hoja de datos de seguridad del material a la hoja 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.

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

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.

© 2022 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 Pampes sygdom. 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. Lymfocytternes farvningsmønster kan også være nyttigt til at træffe terapeutiske beslutninger i etablerede tilfælde af lymfatisk leukæmi.

Glykoler oxideres til aldehyder, når de behandles med perjodsyre. Efter reaktion med Schiffs reagens farver det grigivne fuchsin de cellulære komponenter, der indeholder de oxiderbare forbindelser.¹ Denne reaktion kan udføres på blod- eller knoglemarvsvæv, vævsberøringspræparater eller vævssnit.^{1,2} Når denne test bruges på blod- eller knoglemarvsvæv, kan den være nyttig til at genkende visse tilfælde af erythroleukæmi og akut lymfatisk leukæmi.³

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

En teknik til hurtig PAS-farvning ved brug af mikrobølgeovne er inkluderet.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 saltsyre, 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 hæmatoxylin, 6 g/l, CI 75290 natriumiodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabilisator

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Formaldehydopløsning, 37 %
- Reagensalkohol
- Positive PAS-kontrolglas, såsom PAS TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR009-25EA) skal inkluderes i hver kørsel
- Xylen eller xylenersatning

Kun mikrobølgeprocedurer

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

Opbevaring og stabilitet

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

Forringelse

Kassér hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, hvis opløsningen bliver brun (overoxideret på grund af luft) eller lilla (tab af surhed), eller når den tid, der kræves til passende farvning, overstiger den anbefalede tid i proceduren med mere end 5 minutter.

Forberedelse

Perjodsyreopløsning, Schiffs reagens og hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, leveres klar til brug. Opvarm reagenserne til stuetemperatur (18-26 °C) før brug.

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

Scotts postevandserstatning fremstilles ved at fortynde 1 del Scotts postevandserstatningskoncentrat med 9 dele demineraliseret vand.

Formalin-ethanol-fikseringsopløsning fremstilles ved at blande 5 ml formaldehyd med 45 ml 95 % ethanol (reagensalkohol). Forbered en frisk opløsning dagligt, og hold beholderen tæt lukket.

Forsigtighedsregler

IVD'erne, der er inkluderet i dette sæt, er beregnet til in vitro-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er kun til professionel brug udført af kvalificeret personale. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr, 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 fremstillet med paraffinindstøbt humant 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.

Nyligt fremstillede fuldblods-, EDTA- eller hepariniserede blod- eller knoglemarvsvæv anvendes. Fikser så snart som muligt.³

Til polysaccharider kan der anvendes væv, der er fikseret i 10 % neutral bufferformalin, Zenkers eller Bouins.¹ Det skal bemærkes, at visse kulhydrater er vandopløselige.² Til påvisning af glykogen anbefales Carnoy's 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 tykkelser på 5 mikron.

Bemærkninger

Hvis der bruges en mikrobølgeovn, henvises der til brugervejledningen vedrørende anvisninger.

Blodfilm fremstillet fra klinisk raske individer kan inkluderes til kontrolformål. Polymorfonukleære leukocytter vil vise en intens rød, cytoplasmisk farvning. Vævssnit, der vides at være PAS-positive og/eller indeholder glykogen, skal inkluderes, hver gang en farvningssekvens udføres.

Procedure

Blod-, knoglemarvs- eller vævsberøringspræparater

Standardprocedure

- Fikser de lufttørrede film i **1 minut** ved **stuetemperatur** i formalinethanol-fikseringsopløsning.
- Skyl objektglassene i **1 minut** i langsomt rindende postevand.
- Læg objektglassene ned i perjodsyreopløsning i **5 minutter** ved **stuetemperatur**.
- Skyl objektglassene i flere hold destilleret vand.
- Læg objektglassene ned i Schiffs reagens i **15 minutter** ved stuetemperatur. BEMÆRK: Umiddelbart efter brug skal der sættes låg på Schiffs reagens, og det skal sættes tilbage i køleskabet (2-8 °C).
- Vask objektglassene under rindende postevand i **5 minutter**.
- Kontrastfarv objektglassene i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, i **90 sekunder**.
- Skyl objektglassene i rindende postevand i **15-30 sekunder**, lad dem lufttørre, og undersøg dem mikroskopisk under en olieimmersionslinse (900x). Objektglassene kan monteres i toluen- eller xylenbaserede monteringsmedier.

Mikrobølgeprocedure

- Fikser de lufttørrede film ved **stuetemperatur** i **1 minut** i formalin-ethanol-fikseringsopløsning.
- Skyl objektglassene i **1 minut** i langsomt rindende postevand.
- Placer objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl grundigt i flere hold demineraliseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens, som er indeholdt 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, langsomt rindende postevand i **5 minutter**.
- Placer objektglassene i **40 ml** hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl i rindende postevand i **1-2 minutter**, blån derefter i en brugsoopløsning af Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**.
- Skyl under rindende postevand. Lad lufttørre.
- Objektglassene kan monteres i toluen- eller xylenbaserede monteringsmedier.

Vævssnit

Standardprocedure

- Afparaffiner og hydrider snittene i demineraliseret vand.
- Læg objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning i **5 minutter** ved **stuetemperatur** (18-26 °C).
- Skyl objektglassene i flere hold destilleret vand.
- Læg objektglassene ned i Schiffs reagens i **15 minutter** ved **stuetemperatur** (18-26 °C).
- Vask objektglassene under rindende postevand i **5 minutter**.
- Kontrastfarv objektglassene i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, i **90 sekunder**.
- Skyl objektglassene under rindende postevand.
- Dehydrer, klarér og monter snittene i toluen- eller xylenbaserede monteringsmedier.

Mikrobølgeprocedure

- Afparaffiner og hydrider i demineraliseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast. Dæk skålen løst med et låg, eller brug låg med huller boret i dem.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl grundigt i flere hold demineraliseret vand.
- Placer objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens, som er indeholdt 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, langsomt rindende postevand i **5 minutter**.
- Placer objektglassene i hæmatoxylin, Gill nr. 3, som er indeholdt i en Coplin-skål af plast.
- Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**.
- Skyl i rindende postevand i **1-2 minutter**, blån derefter i Scotts postevandserstatning ved **stuetemperatur**. Skyl under rindende postevand. Dehydrer, klarér, og monter.

Mikrobølgeprocedure til diastase (α -amylase)-fordøjelse

- Brug testobjektglas i duplikat. Mærk ét til fordøjelse med diastase og ét kun til PAS-farvning. BEMÆRK: Objektglas, som er belagt med vævsklæber, anbefales. Undlad at indlejre snittene i celloidin, når der udføres diastasefordøjelse.¹
- Afparaffiner og hydrider objektglassene i demineraliseret vand.
- Forbered en diastase (α -amylase)-arbejdsopløsning ved at opløse 0,2 g α -amylase (kat.nr. A3176) i 40 ml demineraliseret vand. Bland grundigt, og anbring i en Coplin-skål af plast. Forbered lige 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**.

6. Brug både de fordøjede og de ufordøjede objektglas, og fortsæt med mikrobølgeproceduren for væv, trin 2.

Præstationskarakteristika

PAS-positive stoffer farves pink til rødt, og kerner er blå. Et diastase (α-amylase)-ekstraktionsobjektglas 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 af analyseydelsen for de givne tests, der er udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % følsomhed, specificitet og repeterbarhed.

Kat. nr.	Produktbe- skrivelse	Mål	Specificitet i analyse	Specificitet i analyse	Specificitet mellem analyser	Følsomhed 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
		Basalmem- bran	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
		Basalmem- bran	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
GHS3-50ML	Hematoxylin Solution, Gill No. 3	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatablad og produktmærkning vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

395B:



- H290: Kan være ætsende for 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 beskyttelsehandsker/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 tilsudset 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 en GIFTINFORMATION/læge.
- P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skyllning.

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 in vitro-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør

Referencer

- 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

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 tilpasse til 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. Advarsler og farer tilføjet.



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

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.

© 2022 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

System för färgning med Perjodsyra-Schiffreaktion (PAS)

Förfarandebeteckning: 395



Användningsområde

PAS-färgningssystemet tillhandahåller såväl standardförfaranden som mikrovågsförfaranden för påvisning av lymfocyter och glykosaminoglykaner. PAS-reaktionen i vävnadssnitt är användbar för påvisning av glykosaminoglykaner. Förfarandet med diastas- eller α -amylasnedbrytning och påföljande PAS-färgning är användbart till hjälp vid diagnostisering av glykogeninlagringssjukdomar. PAS-reagenserna (Perjodsyra-Schiffreaktion) är avsedda för in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Data som erhålls genom detta manuella, kvalitativa förfarande representerar lymfocyter och glykosaminoglykaner i såväl blod- och benmärgsutstryk som formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad från humanprov. Dessa data kan användas till hjälp vid diagnostiseringen av svampinfektioner om de bedöms ihop med övriga diagnostiska undersökningar och uppgifter. Färgningsmönstret hos lymfocyterna kan också vara till hjälp när beslut ska fattas om behandling i etablerade fall av lymfatisk leukemi.

Vid behandling med perjodsyra oxideras glykoler till aldehyder. Efter reaktionen med Schiff-reagens färgas de cellulära komponenterna som innehåller de oxiderbara föreningarna av den frigjorda rosanilinfärgen.³ Reaktionen kan utföras på blod- eller benmärgsutstryk, vävnadsimprinter och vävnadssnitt.^{1,2} När undersökningen utförs på blod- eller benmärgsutstryk kan det i vissa fall vara till hjälp för identifiering erytroleukemi och akut lymfatisk leukemi.³

Diastas- eller α -amylasnedbrytningen kan användas till hjälp vid diagnostiseringen av glykogeninlagringssjukdomar. Vid nedbrytning genom diastas hydrolyseras stärkelse, glykogen och nedbrytningsprodukter som kommer från de i vävnaden förekommande polysackariderna. De biprodukter som uppkommer genom nedbrytningsprocessen sköljs bort före PAS-färgningen.⁴

En teknik för snabb-PAS-färgning med mikrovågsgugn ingår.⁵⁻⁷

Reagenser

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

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

Hematoxylinlösning, Gill nr 3 (kat.nr GHS3-100ML)
Certifierat hematoxylin 6 g/l, indexnr 75290 natriumjodat 0,6 g/l, aluminiumsulfat 52,8 g/l och stabilisator

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Formaldehydösning 37 %
- Reagenssprit
- I vare körning bör positiva PAS-kontrollglas, såsom PAS TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR009-25EA), ingå.
- Xylen eller xylenersättning

Endast för mikrovågsförfaranden

- Mikrovågsgugn
- Coplin-burk med ventilförsett lock
- Scotts kranvattensättning, koncentrat (kat.nr S5134-6x100ML)
- α -amylas (endast för diastaseextraktion) (kat.nr A3176)

Förvaring och hållbarhet

Förvara perjodsyralösningen och Schiff-reagenset i kylskåp (2–8 °C). Förvara hematoxylinlösningen, Gill nr 3 i rumstemperatur (18–26 °C). Reagenserna är håller sig fram till utgångsdatumet som anges på etiketterna. Utfällning i Schiff-reagens påverkar inte prestandan.

Försämring

Kassera hematoxylinlösningen Gill nr. 3, om lösningen blir brun (överoxiderad av luft) eller lila (minskad surhet) eller när tiden som krävs för lämplig färgning överskrider den tid som rekommenderas för proceduren med mer än 5 minuter.

Beredning

Perjodsyralösningen, Schiff-reagenset och hematoxylinlösningen Gill nr 3 levereras användningsklara. Värm reagenserna till rumstemperatur (18–26 °C) innan de ska användas.

Filtera Schiff-reagenserna om det förekommer fällningar. OBS! En lätt rosa färg på grund av färgläckage från objektglaset stör inte testet.

Scotts kranvattensättning bereds genom att späda 1 del Scotts kranvattensättning i koncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

Fixeringslösningen av formalin och etanol framställs genom att blanda 5 ml formaldehyd med 45 ml etanol 95 % (reagenssprit). Bered en ny lösning dagligen och förvara den tätt försluten.

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik som ingår i detta kit 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 laboratoriereagens. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

PAS TISSUE-TROL™ kontrollglas är paraffinbäddad humanvävnad som innehåller PAS och ska anses vara 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.

Nyberett helblod, EDTA-behandlade eller hepariniserade blod- eller benmärgsutstryk används. Fixera så snart som möjligt.³

För polysackarider kan vävnad som är fixerad i neutral buffrad formalin 10 %, Zenkers eller Bouin användas.¹ Observera att vissa kolhydrater är vattenlösliga.² För påvisning av glykogen rekommenderas Carnoy-vätska, Gendres-vätska eller surt, alkoholhaltigt formalin.¹ Tiden som krävs för diastaseextraktion kan förlängas när vävnaden fixeras i en pikrinsyra som innehåller fixeringsmedel.¹ Skär vävnadssnitt i en tjocklek på 5 mikrometer.

Anmärkningar

Se bruksanvisningen för anvisningar om mikrovågsgugn används.

Blodutstryk som framställts från kliniskt friska individer kan inkluderas för kontrolländamål. Cytoplasman i polymorfonukleära leukocyter kommer att anta en intensivt röd ton vid färgningen. Varje gång en färgningssekvens utförs ska vävnadssnitt som man vet är PAS-positiva och/eller innehåller glykogen inkluderas.

Förfarande

Beredning av blod-, benmärgs- och vävnadsimprinter

Standardförfarande

- Fixera lufttorkade utstryk i en fixeringslösning med formalin-etanol under **1 minut i rumstemperatur**.
- Skölj objektglaset under långsamt rinnande kranvatten i **1 minut**.
- Sänk ned objektglaset i perjodsyralösning och låt dem ligga där under **5 minuter i rumstemperatur**.
- Skölj objektglaset i flera byten med destillerat vatten.
- Sänke ned objektglaset i Schiff-reagens och låt dem ligga där under **15 minuter i rumstemperatur**.
OBS! Sätt omedelbart på locket på Schiff-reagenset när det är färdiganvänt och sätt tillbaka det i kylskåpet (2–8 °C).
- Tvätta objektglaset under rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Motfärga objektglaset i hematoxylinlösning, Gill nr 3, under **90 sekunder**.
- Skölj objektglaset under rinnande kranvatten i **15–30 sekunder**, låt lufttorka och undersök dem i mikroskop under ett oljeimmersionsobjekt (900 x). Objektglaset kan monteras i toluen- eller xylenbaserade monteringsmedia.

Mikrovågsförfarande

- Fixera lufttorkade blodutstryk i en fixeringslösning av formalin-etanol under **1 minut i rumstemperatur**.
- Skölj objektglaset under **1 minut** i långsamt rinnande kranvatten.
- Placera objektglaset i **40 ml** perjodsyralösning i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsgugn på **800 watt** under **10 sekunder**.
- Skölj ordentligt i flera byten med avjoniserat vatten.
- Placera objektglaset i **40 ml** Schiff-reagens i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsgugn på **800 watt i 15 sekunder**. Blanda lösningen med en överföringspipett eller appliceringssticka och inkubera i **1 minut**.
- Skölj under varmt, långsamt rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Placera objektglaset i **40 ml** hematoxylinlösning Gill Nr 3 i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsgugn på **800 watt** under **10 sekunder**.
- Skölj under rinnande kranvatten i **1–2 minuter** och blåfärga därefter i Scotts kranvattensättning i **rumstemperatur**.
- Skölj under rinnande kranvatten. Lufttorka.
- Objektglaset kan monteras i toluen- eller xylenbaserade monteringsmedia.

Vävnadssnitt

Standardförfarande

- Avparaffinera och hydrera snitten till avjoniserat vatten.
- Sänk ned objektglaset i perjodsyralösning och låt ligga i **5 minuter i rumstemperatur** (18–26 °C).
- Skölj objektglaset i flera byten med destillerat vatten.
- Sänk ner objektglaset i Schiff-reagens och låt ligga i **15 minuter i rumstemperatur** (18–26 °C).
- Tvätta objektglaset under rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Motfärga objektglaset i hematoxylinlösning, Gill nr 3, under **90 sekunder**.
- Skölj objektglaset under rinnande kranvatten.
- Dehydrera, rengör och montera snitten i toluen- eller xylenbaserade monteringsmedia.

Mikrovågsförfarande

- Avparaffinera och hydrera till avjoniserat vatten.
- Placera objektglaset i **40 ml** perjodsyralösning i en Coplin-burk av plast. Täck burken löst med lock eller använd lock med håll.
- Värm i mikrovågsgugn på **800 watt** under **10 sekunder**.
- Skölj ordentligt i flera byten med avjoniserat vatten.
- Placera objektglaset i **40 ml** Schiff-reagens i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsgugn på **800 watt** under **15 sekunder**. Blanda lösningen med en överföringspipett eller appliceringssticka och inkubera i **1 minut**.
- Skölj under varmt, långsamt rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- Placera objektglaset i hematoxylinlösning Gill Nr 3 i en Coplin-burk av plast.
- Värm i mikrovågsgugn på **800 watt** under **10 sekunder**.
- Skölj under rinnande kranvatten i **1–2 minuter** och blåfärga därefter i Scotts kranvattensättning i **rumstemperatur**. Skölj under rinnande kranvatten. Dehydrera, rengör och montera.

Mikrovågsförfarande för diastas-/ α -amylasnedbrytning

- Använd dubbla testglas. Märk ett för nedbrytning med diastas och ett för endast PAS-färgning. OBS! Vi rekommenderar objektglas som belagts med vävnadslim. Täck inte snitten med celloidin när du gör diastase- eller α -amylasnedbrytningen.¹
- Avparaffinera och hydratisera objektglaset till avjoniserat vatten.
- Bered arbetslösningen med diastas (α -amylas) genom att lösa 0,2 g α -amylas, (kat.nr A3176) till 40 ml avjoniserat vatten. Blanda väl och lägg det i en Coplin-burk av plast. Bered lösningen strax innan den ska användas.

- 4. Värm den i mikrovågsugn på **600 watt** under **25 sekunder**.
- 5. Ta upp objektglasen ur Coplin-burken och skölj objektglaset som använts för nedbrytningen under rinnande kranvatten i **5 minuter**.
- 6. Använd både objektglaset som använts för nedbrytningen och det som inte använts och gå vidare med mikrovågsproceduren för vävnad, steg 2.

Prestandaegenskaper

PAS-positiva ämnen färgar i rosa till rött; kärnor är blå. Objektglasen som använts för diastas-/α-amylasextraktion kommer inte att uppvisa någon synlig PAS-färgning av glykogen jämfört med det glykogenpositiva kontrollglaset som ej använts för nedbrytning.

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrichs 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	Produktbe- skrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
3951	Periodisk syralösning	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
		Basalmem- bran	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
		Basalmem- bran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
GHS3-50ML	Hematoxylin- lösning, 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 frätande på metaller.
- H302: Skadligt vid förtäring.
- H314: Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H350: Kan orsaka cancer.
- H373: Kan orsaka skador på organ (njurar) genom långvarig eller upprepad exponering vid förtäring.
- H412: Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
- P273: Undvik utsläpp i miljön.
- P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P301 + P312: OM SVALD: Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare om du mår dåligt.
- P303 + P361 + P353: VID KONTAKT MED HUDEN (eller 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: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Försätt att skölja.

Om det har inträffat en allvarlig incident 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		Iakttag försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör

Referenser

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

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](https://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 yrkesmässig bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat påståendet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Användningsområde". Reviderat "Användningsområde" så att det motsvara riktlinjerna 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 biverkningar. Lade till varningar och faror.

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

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.

© 2022 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®

Instruções de utilização

Sistema de coloração com ácido periódico-Schiff (PAS)

Procedimento n.º 395



MERCK

Utilização prevista

O sistema de coloração PAS proporciona procedimentos padrão e em micro-ondas para a demonstração de linfócitos e mucopolissacarídeos. A reação PAS em secções de tecido é útil para a demonstração de mucopolissacarídeos. O procedimento de digestão com diastase (α -amilase), seguido da coloração PAS, é útil como auxiliar no diagnóstico da doença de armazenamento do glicogénio. Os reagentes ácido periódico-Schiff (PAS) destinam-se a "Utilização para diagnóstico in vitro". Apenas para utilização profissional. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo manual identificam linfócitos e mucopolissacarídeos em películas de sangue ou medula óssea, bem como em tecido de amostras humanas fixado em formol e incluído em parafina. Quando revistos em conjunto com outras informações e testes de diagnóstico, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de infeções fúngicas. O padrão de coloração dos linfócitos também pode ser útil na tomada de decisões terapêuticas em casos estabelecidos de leucemia linfocítica.

Quando tratados com ácido periódico, os glicóis são oxidados em aldeídos. Após reação com o reagente de Schiff, a fucsina libertada cora os componentes celulares que contêm os compostos oxidáveis.¹ Esta reação pode ser realizada em películas de sangue ou medula óssea, preparações por contacto de tecido ou secções de tecido.^{1,2} Quando utilizado em películas de sangue ou medula óssea, este teste pode ser útil no reconhecimento de alguns casos de eritroleucemia e leucemia linfoblástica aguda.³

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

Inclui-se uma técnica de coloração PAS rápida utilizando fornos 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)

HCl de pararosanilina, 1%, e metabissulfato de sódio, 4%, em ácido clorídrico, 0,25 mol/L. Perigo. Provoca queimaduras cutâneas graves e lesões oculares. Pode causar cancro.

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

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

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

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

Apenas para procedimentos em micro-ondas

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

Conservação e estabilidade

Conserva a solução de ácido periódico e o reagente de Schiff no frigorífico (2–8 °C). Conserve 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 um precipitado no reagente de Schiff não afeta o desempenho.

Deterioração

Elimine a solução de hematoxilina, Gill n.º 3, se 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 no 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 utilizar. Aqueça os reagentes até à temperatura ambiente (18–26 °C) antes da utilização.

Filtre o reagente de Schiff caso se verifique a presença de precipitado. NOTA: uma ligeira coloração rosa devido à lixiviação de cor das lâminas não interfere com o teste.

O substituto de água da torneira de Scott é preparado diluindo 1 parte de concentrado de substituto de água da torneira de Scott em 9 partes de água desionizada.

A solução fixadora de formol-etanol é preparada misturando 5 mL de formol com 45 mL de etanol a 95% (álcool reagente). Prepare-a fresca diariamente e mantenha bem fechada.

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. Elimine os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo PAS TISSUE-TROL™ consistem em tecidos humanos incluídos em parafina com 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 medula óssea ou sangue total, em EDTA ou heparinizado. Fixe assim que possível.³

Para polissacarídeos, podem ser utilizados tecidos fixados em formalina neutra tamponada a 10%, solução de Zenker ou Bouin.¹ De notar que alguns hidratos de carbono são hidrossolúveis.² Para a demonstração do glicogénio, recomenda-se solução de Carnoy, solução de Gendre ou formalina alcoólica ácida.¹ O tempo necessário para a extração de diastase pode ser prolongado quando o tecido é fixado num fixador que contenha ácido pícrico.¹ Corte secções de tecido de 5 micrones.

Notas

Se for utilizado um forno micro-ondas, consulte as instruções no Manual do utilizador.

Podem ser incluídas películas de sangue preparadas a partir de indivíduos clinicamente saudáveis para fins de controlo. Os leucócitos polimorfonucleares apresentarão uma intensa coloração citoplasmática vermelha. Devem ser incluídas secções de tecido que se saiba serem PAS positivas e/ou conterem glicogénio de cada vez que for realizada uma sequência de coloração.

Procedimento

Sangue, medula óssea ou preparações por contacto de tecido

Procedimento padrão

- Fixe películas secas ao ar durante **1 minuto à temperatura ambiente** em solução fixadora de formalina-etanol.
- Lave as lâminas **1 minuto** num fio de água da torneira corrente.
- Mergulhe as lâminas em solução de ácido periódico durante **5 minutos à temperatura ambiente**.
- Lave as lâminas em várias mudas de água destilada.
- Mergulhe as lâminas em reagente de Schiff durante **15 minutos** à temperatura ambiente. NOTA: imediatamente após a utilização, tape o reagente de Schiff e volte a colocá-lo no frigorífico (2–8 °C).
- Lave as lâminas em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
- Realize a contracoloração das lâminas em solução de hematoxilina, Gill n.º 3, durante **90 segundos**.
- Lave as lâminas em água da torneira corrente durante **15–30 segundos**, deixe secar ao ar e examine microscopicamente com uma lente de imersão em óleo (900x). As lâminas podem ser montadas em meios de montagem à base de tolueno ou xileno.

Procedimento em micro-ondas

- Fixe películas secas ao ar à **temperatura ambiente** durante **1 minuto** em solução fixadora de formalina-etanol.
- Lave as lâminas durante **1 minuto** num fio de água da torneira corrente.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de ácido periódico contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
- Lave bem em várias mudas de água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de reagente de Schiff contido numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **15 segundos**. Agite a solução com uma pipeta de Beral ou vareta aplicadora e deixe incubar durante **1 minuto**.
- Lave num fio de água da torneira morna corrente durante **5 minutos**.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de hematoxilina, Gill n.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
- Lave em água da torneira corrente durante **1–2 minutos**, seguindo-se a coloração azul em substituto de água da torneira de Scott à **temperatura ambiente**.
- Lave em água da torneira corrente. Deixe secar ao ar.
- As lâminas podem ser montadas em meios de montagem à base de tolueno ou xileno.

Secções de tecido

Procedimento padrão

- Desparafine e hidrate as secções com água desionizada.
- Mergulhe as lâminas em solução de ácido periódico durante **5 minutos à temperatura ambiente** (18–26 °C).
- Lave as lâminas em várias mudas de água destilada.
- Mergulhe as lâminas em reagente de Schiff durante **15 minutos à temperatura ambiente** (18–26 °C).
- Lave as lâminas em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
- Realize a contracoloração das lâminas em solução de hematoxilina, Gill n.º 3, durante **90 segundos**.
- Lave as lâminas em água da torneira corrente.
- Desidrate, limpe e monte secções em meios de montagem à base de tolueno ou xileno.

Procedimento em micro-ondas

- Desparafine e hidrate com água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de solução de ácido periódico contida numa jarra de Coplin de plástico. Cubra frouxamente a jarra com a respetiva tampa ou utilize tampas perfuradas.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
- Lave bem em várias mudas de água desionizada.
- Coloque as lâminas em **40 mL** de reagente de Schiff contido numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **15 segundos**. Agite a solução com uma pipeta de Beral ou vareta aplicadora e deixe incubar durante **1 minuto**.
- Lave num fio de água da torneira morna corrente durante **5 minutos**.
- Coloque as lâminas em hematoxilina, Gill n.º 3, contida numa jarra de Coplin de plástico.
- Leve ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**.
- Lave em água da torneira corrente durante **1–2 minutos**, seguindo-se a coloração azul em substituto de água da torneira de Scott à **temperatura ambiente**. Lave em água da torneira corrente. Desidrate, limpe e monte.

Procedimento em micro-ondas para a digestão com diastase (α-amilase)

- 1. Utilize lâminas de teste duplicadas. Identifique uma para digestão com diastase e outra para coloração PAS apenas.
NOTA: recomenda-se a utilização de lâminas revestidas com um adesivo de tecido. Não inclua as secções em celoidina ao realizar a digestão com diastase.¹
- 2. Desparafinize e hidrate as lâminas com água desionizada.
- 3. Prepare a solução diluída de diastase (α-amilase) dissolvendo 0,2 g de α-amilase (N.º de cat. A3176) em 40 mL de água desionizada. Agite bem e coloque numa jarra de Coplin de plástico. Prepare imediatamente antes da utilização.
- 4. Leve ao micro-ondas a **600 watts** durante **25 segundos**.
- 5. Retire as lâminas da jarra de Coplin e lave as lâminas digeridas em água da torneira corrente durante **5 minutos**.
- 6. Utilizando tanto as lâminas digeridas como as não digeridas, prossiga com o Procedimento em micro-ondas para Tecido, passo 2.

Características de desempenho

As substâncias PAS positivas apresentam uma coloração rosa a vermelha e os núcleos são azuis. Uma lâmina de extração de diastase (α-amilase) não terá coloração 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 de 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	Especi-ficidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especi-ficidade 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 of 3
		Membrana basal	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 basal	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 cutâneas graves e lesões oculares.
- H350: Pode causar cancro.
- H373: Pode afetar os órgãos (rim) após exposição prolongada ou repetida, em caso de ingestão.
- 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: Lavar cautelosamente 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 IVDR 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador

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 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

Informações de contacto

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

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

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.

© 2022 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.

Οδηγίες χρήσης

Σύστημα χρώσης περιοδικού οξέος Schiff (PAS)

Διαδικασία αρ. 395



Προοριζόμενη χρήση

Το σύστημα χρώσης PAS προσφέρει τυποποιημένες διαδικασίες και διαδικασίες μικροκυμάτων για την 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 (Periodic Acid Schiff - PAS) προορίζονται για «in vitro διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτή 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. Το μοτίβο χρώσης των λεμφοκυττάρων μπορεί επίσης να βοηθήσει στη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων σε διαπιστωμένες περιπτώσεις λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας.

Όταν υποβάλλονται σε επεξεργασία με περιοδικό οξύ, οι γλυκόλες οξειδώνονται σε αλδεΐδες. Μετά την αντίδραση με το αντιδραστήριο Schiff, η απελευθερούμενη φουξίνη 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} Όταν χρησιμοποιείται σε φιλμ αίματος ή μυελού των οστών, αυτή η εξέταση μπορεί να βοηθήσει στην αναγνώριση ορισμένων περιπτώσεων ερυθρολευχαιμίας και οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας.³

Η πέψη με διασάση (α-αμυλάση) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα στη διάγνωση της νόσου αποθήκευσης γλυκογόνου. Η διασάση υδrolύει 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 ελέγχου PAS, όπως PAS TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR009-25EA) πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση
- Ευλένιο ή υποκατάστατο ευλενίου

Μόνο διαδικασίες μικροκυμάτων

- Φούρνος μικροκυμάτων
- Δοχείο Corlin με εξαιρεζόμενα καπάκια
- Συμπυκνώμα υποκατάστατο 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 μωβ (απόλεια 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. Φέρτε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C) πριν από τη χρήση.

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

Το υποκατάστατο νερού βρύσης Scott παρασκευάζεται αραιώνοντας 1 μέρος συμπυκνώματος υποκατάστατο 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 το μικροσκόπιο.

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

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

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμίας 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 ως δυνητικά μολυσματικά.

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

Για τους πολυσακχαρίτες μπορεί να χρησιμοποιηθεί ιστός μονιμοποιημένος σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης, διάλυμα Zenker ή Bouin.¹ Πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένοι υδατάνθρακες είναι υδατοδιαλυτοί.² Για την επίδειξη του γλυκογόνου συνιστάται υγρό Carnoy, υγρό Gendie 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 κικρικό οξύ.¹ Κόψτε τομές ιστού στα 5 μικρόμετρα.

Σημειώσεις

Εάν χρησιμοποιείται φούρνος μικροκυμάτων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης για οδηγίες.

Για σκοπούς ελέγχου, μπορούν να συμπεριληφθούν φιλμ αίματος που παρασκευάζονται από κλινικά υγιή άτομα. Τα πολυμορφοπύρνα λευκοκύτταρα 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 **1 λεπτό** σε αργά τρεχούμενο νερό βρύσης.
- Εμβάψτε τις αντικειμενοφόρους σε διάλυμα περιοδικού οξέος για **5 λεπτά** σε **θερμοκρασία δωματίου**.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε πολλές αλλαγές αποσταγμένου νερού.
- Εμβάψτε τις αντικειμενοφόρους στο αντιδραστήριο Schiff για **15 λεπτά** σε θερμοκρασία δωματίου. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Αμέσως μετά τη χρήση, πωμάστε το αντιδραστήριο Schiff και επιστρέψτε το στο ψυγείο (2–8 °C).
- Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- Αντιχρωματίστε τις αντικειμενοφόρους σε διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, για **90 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **15–30 δευτερόλεπτα**, στεγνώστε στον αέρα και εξετάστε μικροσκοπικά με φακό εμβάπτισης σε λάδι (900x). Οι αντικειμενοφόροι μπορούν να καλυφθούν σε μέσα κάλυψης με βάση τολουένιο ή ευλένιο.

Διαδικασία μικροκυμάτων

- Μονιμοποιήστε τα αποξηραμένα στον αέρα φιλμ σε **θερμοκρασία δωματίου** για **1 λεπτό** σε μονιμοποιητικό διάλυμα φορμαλίνης-αιθανόλης.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους για **1 λεπτό** σε αργά τρεχούμενο νερό βρύσης.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους 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 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 εφορμώσης και αφήστε να επωαστεί για **1 λεπτό**.
- Ξεπλύνετε με ζεστό, ήπια τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους 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**, στη συνέχεια προκαλέστε μπλε χρώση σε υποκατάστατο νερού βρύσης Scott εργασίας σε **θερμοκρασία δωματίου**.
- Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης. Στεγνώστε στον αέρα.
- Οι αντικειμενοφόροι μπορούν να καλυφθούν σε μέσα κάλυψης με βάση τολουένιο ή ευλένιο.

Τομές ιστών

Τυπική διαδικασία

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

Διαδικασία μικροκυμάτων

- Αποαφαρινώστε και ενυδατώστε σε αποιονισμένο νερό.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε **40 mL** διαλύματος περιοδικού οξέος που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin. Καλύψτε χαλαρά το δοχείο με καπάκι ή χρησιμοποιήστε καπάκια με οπές.
- Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**.
- Ξεπλύνετε καλά σε πολλές αλλαγές αποιονισμένου νερού.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους 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 στείλεό εφαρμογής και αφήστε να επωαστεί για **1 λεπτό**.
- 7. Ξεπλύνετε με ζεστό, ήπια τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- 8. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους σε αιματοξυλίνη, 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**, στη συνέχεια προκαλέστε μπλε χρώση σε υποκατάστατο νερού βρύσης Scott σε **θερμοκρασία δωματίου**. Ξεπλύνετε σε τρεχούμενο νερό βρύσης. Αφυδρώστε, διαυγάστε και καλύψτε.

Διαδικασία μικροκυμάτων για πέψη με διασάση (α-αμυλάση)

- 1. Χρησιμοποιήστε διπλότυπες αντικειμενοφόρους δοκιμασίας. Επισημάνετε μία για πέψη με διασάση και μία μόνο για χρώση PAS.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Συνιστάται η χρήση αντικειμενοφόρων επικαλυμμένων με συγκολλητικό ιστού.
Μην εφαρμόζετε σελλοϊδίνη στις τομές όταν πραγματοποιείτε πέψη με διασάση.¹
- 2. Αποσπαφινώστε και ενυδατώστε τις αντικειμενοφόρους σε αποιονισμένο νερό.
- 3. Παρασκευάστε διάλυμα εργασίας διασάσης (α-αμυλάση) διαλύοντας 0,2 g α-αμυλάσης, (αρ. καταλόγου A3176), σε 40 mL αποιονισμένου νερού. Αναμείξτε καλά και τοποθετήστε σε πλαστικό δοχείο Corlin. Παρασκευάστε αμέσως πριν από τη χρήση.
- 4. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **25 δευτερόλεπτα**.
- 5. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους από το δοχείο Corlin και ξεπλύνετε την αντικειμενοφόρο που έχει υποστεί πέψη σε τρεχούμενο νερό βρύσης για **5 λεπτά**.
- 6. Χρησιμοποιώντας τόσο την αντικειμενοφόρο 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 εκχύλισης με διασάση (α-αμυλάση) δεν θα έχει ορατή χρώση PAS του γλυκογόνου σε σύγκριση με τη θετική αντικειμενοφόρο ελέγχου γλυκογόνου που δεν έχει υποστεί πέψη.

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία 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 περιδοϊκού 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
3952	Αντιδραστήριο Schiff	Βασική μεμβράνη	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		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
GHS3-50ML	Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 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
		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 ασφαλείας.

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): Βγάλετε 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. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

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

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 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

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για 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 προοριζόμενη 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.	



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

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.

© 2022 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.

Használati utasítás

Perjódsvav-Schiff (PAS) festőrendszer

395. sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A PAS festőrendszer szabványos és mikrohullámos eljárásokat kínál a limfociták és a mukopoliszacharidok kimutatására. A szövetszövetekben a PAS reakció alkalmas a mukopoliszacharidok kimutatására. A diasztázos (α-amilázos) emésztési eljárás, amelyet a PAS-festés követ, hasznos segítséget nyújt a glikogén-raktározási betegség diagnosztizálásában. A perjódsvav Schiff-reagens (PAS-reagens) „in vitro diagnosztikai felhasználásra” szolgálnak. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok segítségével azonosíthatók a limfociták és a mukopoliszacharidok a vérben vagy a csontvelőkeneteken, valamint a formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetet az emberi mintákban. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók a gombás fertőzések diagnosztizálásának elősegítésére. A limfociták festési mintázata segítségével szolgálhat terápiás döntések meghozatalában megállapított limfociták leukémia esetén.

Perjódsvavval kezelve a glikolok aldehiddé oxidálódnak. Schiff-reagenssel történő reakció után a felszabadult fukszin megfesti az oxidálható vegyületeket tartalmazó sejtkomponenseket.¹ Ezt a reakciót vér- vagy csontvelőkeneteken, szövetlenyomatokon vagy szövettani metszeteken lehet elvégezni.^{1,2} Vér- vagy csontvelőkeneteken alkalmazva ez a vizsgálat hasznos lehet az eritroleukémia és az akut limfoblasztos leukémia bizonyos eseteinek felismerésében.³

A diasztázos (α-amilázos) emésztés alkalmazható a glikogén-raktározási betegség diagnosztizálásának elősegítésére. A diasztáz hidrolizálja a szövetekben található poliszacharidokból származó keményítőt, glikogént és bomlástermékeket. Az emésztési folyamatból származó melléktermékeket a PAS-festés előtt le kell öblíteni.⁴

A rendszer a PAS-festés mikrohullámú sütőben történő gyors módszerét is tartalmazza.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)

1%-os paraozanilin HCl és 4%-os nátrium-metabiszulfid sósavban, 0,25 mol/l. Veszély.

Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Rákot okozhat.

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

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

Szükséges, de nem biztosított különleges anyagok

- Formaldehidoldat, 37%
- Denaturált alkohol
- Pozitív kontroll PAS tárgylemezeket, mint például a PAS TISSUE-TROL™ (kat. sz. TTR009-25EA), minden kísérletben használni kell.
- Xilol vagy xilolt helyettesítő anyag

Csak mikrohullámos eljárások

- Mikrohullámú sütő
- Küvetta szellőző fedéllel
- Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum (kat. sz. S5134-6x100ML)
- α-amiláz (csak diasztázextrakciós eljáráshoz) (kat. sz. 3176)

Tárolás és stabilitás

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

Bomlás

Dobja ki a Gill III-as hematoxilinnoldatot, ha az oldat barnává (túloxidálódás a levegőből) vagy lilává (savasságvesztés) válik, vagy ha a megfelelő festéshez szükséges idő több mint 5 perccel meghaladja az eljárás során ajánlott időt.

Előkészítés

A perjódsvav oldat, a Schiff-reagens és a Gill III-as hematoxilinnoldat használatra kész állapotban kerül forgalomba. Használat előtt melegítse szobahőmérsékletre (18–26 °C) a reagenset.

Szűrje le a Schiff-reagenst, ha csapadék van jelen. MEGJEGYZÉS: Az enyhe rózsaszín elszíneződés a tárgylemezek színezésvégzése következtében nem befolyásolja a vizsgálatot.

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

A formalin-etanol fixálóoldat elkészítéséhez keverjen össze 5 ml formaldehidet 45 ml 95%-os etanollal (denaturált alkohollal). Minden nap frissen kell elkészíteni, és szorosan lezárva kell tartani.

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 színezékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagens kezelésénél 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 találhatóak, 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 vérvérvételt vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Frissen készített teljes, EDTA vagy heparinizált vér- vagy csontvelőkeneteket kell használni. A lehető leghamarabb fixálja.³

Poliszacharidok esetében 10%-os semleges puffert formalinban, Zenker- vagy Bouin-reagensben rögzített szövet használható.¹ Meg kell jegyezni, hogy egyes szénhidrátok vízóldékonyak.² A glikogén kimutatására Carnoy-folyadék, Gendre-folyadék vagy a savas alkohol-formalin használata ajánlott.¹ A diasztáz extrakciójához szükséges idő meghosszabbítható, ha a szövetet pikrinsavat tartalmazó fixálószekrényben rögzítik.¹ Készítsen 5 mikronos metszeteket.

Megjegyzések

Ha mikrohullámú sütőt használ, kérjük, olvassa el a Felhasználói kézikönyvet.

Klinikailag egészséges egyénektől származó vérkeneteket is fel lehet használni kontrollként. A polimorfonukleáris leukociták intenzív vörös citoplazmafestődést mutatnak. Minden egyes festési folyamatba be kell vonni igazoltan PAS-pozitív és/vagy glikogént tartalmazó szövetmetszeteket.

Eljárás

Vér-, csontvelő- vagy szövetlenyomat-preparátum

Standard eljárás

- Rögzítse a levegőn szárított keneteket **1 percig szobahőmérsékleten**, formalin-etanol fixálóoldatban.
- Lassan folyó csapvízzel öblítse a tárgylemezeket **1 percig**.
- Merítse a tárgylemezeket perjódsvav oldatba **5 percre szobahőmérsékleten**.
- Öblítse a tárgylemezeket többször váltott ioncserélt vízben.
- Merítse a tárgylemezeket Schiff-reagensbe **15 percre szobahőmérsékleten**.
MEGJEGYZÉS: Közvetlenül a használat után zárja le a Schiff-reagenst, és tegye vissza a hűtőszekrénybe (2–8 °C).
- Mossa a tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
- Végezzen ellenfestést Gill III-as hematoxilinnoldattal **90 másodpercig**.
- Öblítse le a tárgylemezeket folyó csapvízben **15–30 másodpercig**, szárítsa meg levegőn, és vizsgálja meg mikroszkóp alatt, olajimmerziós (900×) lencsével. A tárgylemezek toluol- vagy xilolalapú lefedőszerszámával fedhető le.

Mikrohullámos eljárás

- Rögzítse a levegőn szárított keneteket **szobahőmérsékleten 1 percig** formalin-etanol- fixálóoldatban.
- Lassan folyó csapvízzel öblítse a tárgylemezeket **1 percig**.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** perjódsvav oldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Többször váltott ioncserélt vízzel alaposan öblítse le.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** Schiff-reagensbe.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 15 másodpercig**. Keverje össze az oldatot egy transzferpipettával vagy applikátorpálcával, és inkubálja **1 percig**.
- Öblítse meleg, lassan folyó csapvízzel **5 percig**.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** Gill III-as hematoxilinnoldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Öblítse folyó csapvízzel **1–2 percig**, majd kékítse Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaoldatban **szobahőmérsékleten**.
- Öblítse le folyó csapvízzel. Szárítsa meg levegőn.
- A tárgylemezek toluol- vagy xilolalapú lefedőszerszámával fedhető le.

Szövetlenyomat-metszetek

Standard eljárás

- Deparaffinálja, majd hidratálja a metszeteket ioncserélt víz.
- Merítse a tárgylemezeket perjódsvav oldatba **5 percre szobahőmérsékleten** (18–26 °C).
- Öblítse a tárgylemezeket többször váltott desztillált vízben.
- Merítse a tárgylemezeket Schiff-reagensbe **15 percre szobahőmérsékleten** (18–26 °C).
- Mossa a tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
- Végezzen ellenfestést Gill III-as hematoxilinnoldattal **90 másodpercig**.
- Öblítse a tárgylemezeket folyó csapvízzel.
- Dehidratálja, derítse, majd fedje le a metszeteket toluol- vagy xilolalapú lefedőszerszámával.

Mikrohullámos eljárás

- Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt víz.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** perjódsvav oldatba. Lazán fedje le a küvetta fedelével, vagy használjon lyukas fedelet.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Többször váltott ioncserélt vízzel alaposan öblítse le.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, **40 ml** Schiff-reagensbe.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 15 másodpercig**. Keverje össze az oldatot egy transzferpipettával vagy applikátorpálcával, és inkubálja **1 percig**.
- Öblítse meleg, lassan folyó csapvízzel **5 percig**.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvetta, Gill III-as hematoxilinnoldatba.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodpercig**.
- Öblítse folyó csapvízzel **1–2 percig**, majd kékítse Scott-féle csapvíz-helyettesítő oldatban **szobahőmérsékleten**. Öblítse le folyó csapvízzel. Dehidratálja, derítse és fedje le.

Mikrohullámú eljárás diasztáz (α-amiláz) emésztéshez

- Használjon két példányban készült tárgylemezeket. Címkézzel fel egyet kizárólag a diasztázos emésztéshez, a másikat kizárólag a PAS-festéshez.
- MEGJEGYZÉS: Javasolt szövetragasztóval bevont tárgylemezeket használni. Diasztázos emésztés esetén ne ágyazza celloidinba a metszeteket.¹
- Deparaffinálja, majd hidratálja ioncserélt vízig a metszeteket.
- A diasztáz (α-amiláz) munkaidőt elkészítéséhez oldjon fel 0,2 g α-amilázt (kat. sz. A3176) 40 ml ioncserélt vízben. Alaposan keverje össze, és helyezze műanyag küvétába. Közvetlenül a használat előtt készítse el.
- Melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 25 másodpercig**.
- Vegye ki a tárgylemezeket a küvétából, és öblítse az emésztett tárgylemezt folyó csapvízben **5 percig**.
- Mind az emésztett, mind az emésztetlen tárgylemezekkel folytassa az eljárást a szövetekre vonatkozó mikrohullámos eljárás 2. lépésével.

Teljesítményjellemzők

A PAS-pozitív anyagok rózsaszín-vörös színnel festődnek, a sejtmagok kékkel. A diasztáz (α-amiláz) extrakciós tárgylemezen a nem emésztett glikogén-pozitív kontroll tárgylemezzel összehasonlítva nem látható a glikogén PAS-festése.

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, specificitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specificitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	Tesztek közötti érzékenység
3951	Perjódsvavas 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-féle 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	Hematoxilín-oldat, 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 címkezését.

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 BŐRRE (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: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

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)
	Felhasználható		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr

Hivatkozások

- 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

Elérhetőségek

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

Átdolgozási előzmények

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnosishoz 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.

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

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.

© 2022 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 k použití

Systém barvení pomocí reakce kyseliny jodisté se Schiffovým činidlem (PAS)

Postup č. 395



Určené použití

Systém barvení pomocí reakce PAS nabízí standardní a mikrovlnné postupy pro průkaz lymfocytů a mukopolysacharidů. Reakce PAS je užitečná pro průkaz mukopolysacharidů v tkáňových řezech. Postup štěpení diastázou (α -amylázou) a následné barvení pomocí PAS je užitečná pomůcka při diagnostice glykogenózy (GSD). Činidla pro reakci PAS, kyselina jodistá a Schiffovo činidlo, jsou určena pro diagnostické použití „in vitro“. Pouze pro profesionální použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu identifikují lymfocyty a mukopolysacharidy v nátěrech krve nebo kostní dřeně, a rovněž ve tkáních z lidských vzorků fixovaných formalínem a zalitých v parafínu. Tyto údaje mohou být při přezkoumání ve spojení s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice houbových/plísňových infekcí. Vzorce barvení lymfocytů může být také užitečný při rozhodování o terapii ve zjištěných případech lymfocytární leukémie.

Působením kyseliny jodisté se glykoly oxidují na aldehydy. Po reakci s Schiffovým činidlem uvolněný fuchsin barví buněčné složky obsahující oxidovatelné sloučeniny.³ Tato reakce může být provedena v nátěru krve nebo kostní dřeně, na tkáňových preparátech nebo tkáňových řezech.^{1,2} Při použití v nátěru krve nebo kostní dřeně může být tento test užitečný při rozpoznání některých případů erytroleukémie a akutní lymfoblastické leukémie.³

Štěpení diastázou (α -amylázou) může být použito jako pomůcka při diagnostice glykogenózy. Diastáza hydrolyzuje škrob, glykogen a produkty rozkladu pocházející z těchto polysacharidů přítomné ve tkáni. Výsledné vedlejší produkty procesu štěpení se před barvením PAS vymyjí.⁴

Zařazena je také technika rychlého barvení PAS pomocí mikrovlnných trub.⁵⁻⁷

Činidla

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

Kyselina jodistá, 1 g/100 ml

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

Pararosanilin.HCl, 1%, a disiřičitan sodný, 4%, v kyselině chlorovodíkové, 0,25 mol/l. Riziko. 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%
- Chemicky čistý alkohol
- Pozitivní kontrolní preparáty PAS, jako je PAS TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR009-25EA) by měly být zařazeny v každé zkoušce.
- Xylen nebo náhražka xylenu

Pouze mikrovlnné postupy

- Mikrovlnná trouba
- Coplinova nádoba s odvětrávacím víčkem
- Scottův koncentrát náhražky vodovodní vody (kat. č. S5134-6x100ML)
- α -amyláza (pouze pro postup diastázové extrakce) (kat. č. A3176)

Skládování a stabilita

Roztok kyseliny jodisté a Schiffovo činidlo uchovávejte v chladničce (2–8 °C). Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 uchovávejte při pokojové teplotě (18–26 °C). Činidla jsou stabilní do data spotřeby uvedeného na štítcích. Tvorba sraženiny v Schiffově činidle nemá vliv na jeho funkčnost.

Znehodnocení

Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 zlikvidujte, pokud roztok zhnědne (oxidací ze vzduchu) nebo zřalově (ztráta kyselosti) nebo pokud doba potřebná pro vhodné zabarvení překročí dobu doporučenou v postupu o více než 5 minut.

Příprava

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

Je-li přítomna sraženina, Schiffovo činidlo přefiltrujte. POZNÁMKA: Mírné růžové zabarvení v důsledku vyplavování barvy z podložních sklíček neruší test.

Scottova náhražka vodovodní vody se připravuje zředěním 1 dílu Scottova koncentráту náhražky vodovodní vody 9 díly deionizované vody.

Fixační roztok formaldehydu s ethanolom se připraví smícháním 5 ml formaldehydu se 45 ml 95% ethanolu (chemicky čistý alkohol). Roztok připravujte denně čerstvý a uchovávejte pevně uzavřený.

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro obsažené v této soupravě jsou určeny pro diagnostické 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 vzorky lidské tkáně zalité v parafínu s obsahem PAS, které by měly být považovány 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 nátěry kostní dřeně nebo plné krve s přísadkou EDTA nebo heparinu. Fixujte co nejdříve.³

U polysacharidů lze použít tkáň fixovanou v 10% neutrálně pufovaném formalínu, Zenkerově nebo Bouinově fixační tekutině.¹ Je třeba poznamenat, že některé sacharidy jsou rozpustné ve vodě.² Pro průkaz glykogenu se doporučuje Carnoyova tekutina, Gendrova tekutina nebo kyselý alkoholový formalin.⁴ Doba potřebná pro diastázovou extrakci může být prodloužena, pokud je tkáň fixována ve fixačním prostředku obsahujícím kyselinu pikrovou.¹ Řežte tkáňové řezy na tloušťku 5 mikronů.

Poznámky

Pokud používáte mikrovlnnou troubu, přečtěte si pokyny v uživatelské příručce.

Pro účely kontroly mohou být zpracovány krevní nátěry připravené od klinicky zdravých jedinců. Polymorfonukleární leukocyty vykazují intenzivní červené cytoplazmatické zabarvení. Tkáňové řezy, o nichž je známo, že jsou PAS pozitivní a/nebo obsahují glykogen, by měly být zařazeny do každé prováděné sekvence barvení.

Postup

Příprava krve, kostní dřeně nebo preparátů tkání

Standardní postup

1. Vzduchem vysušené nátěry se fixují po dobu **1 minuty** při **pokojevé teplotě** ve fixačním roztoku formalinu v ethanolu.
2. Proplachujte sklíčka **1 minutu** pomalu tekoucí vodou z vodovodu.
3. Ponořte sklíčka do roztoku kyseliny jodisté na **5 minut** při **pokojevé teplotě**.
4. Propláchněte sklíčka několika výměnami destilované vody.
5. Ponořte sklíčka do Schiffova činidla na **15 minut** při pokojové teplotě. POZNÁMKA: Ihned po použití uzavřete Schiffovo činidlo a vraťte jej do chladničky (2–8 °C).
6. Sklíčka vymývejte v tekoucí vodovodní vodě po dobu **5 minut**.
7. Proveďte kontrastní barvení sklíček v roztoku hematoxylinu, Gill č. 3, po dobu **90 sekund**.
8. Oplachujte sklíčka tekoucí vodou z vodovodu po dobu **15–30 sekund**, vysušte na vzduchu a mikroskopicky prohlédněte pod čoučkou s olejovou imerzí (900x). Sklíčka mohou být zamontována v montážních médiích na bázi toluenu nebo xylenu.

Mikrovlnný postup

1. Vzduchem vysušené krevní nátěry fixujte po dobu **1 minuty** při **pokojevé teplotě** ve fixačním roztoku formalinu v ethanolu.
2. Oplachujte sklíčka **1 minutu** v pomalu tekoucí vodě z vodovodu.
3. Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku kyseliny jodisté obsažené v plastové Coplinově nádobě.
4. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **10 sekund**.
5. Dobře propláchněte několika výměnami deionizované vody.
6. Vložte sklíčka do **40 ml** Schiffova činidla obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
7. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **15 sekund**. Roztok promíchejte pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou a nechte inkubovat **1 minutu**.
8. Oplachujte v teplé, jemně tekoucí vodovodní vodě po dobu **5 minut**.
9. Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku hematoxylinu Gill č. 3 obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
10. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **10 sekund**.
11. Oplachujte tekoucí vodou z vodovodu po dobu **1–2 minut**, poté modřete v pracovním roztoku Scottovy náhražky vody z vodovodu při **pokojevé teplotě**.
12. Propláchněte v tekoucí vodě z vodovodu. Vysušte na vzduchu.
13. Sklíčka mohou být zamontována v montážních médiích na bázi toluenu nebo xylenu.

Tkáňové řezy

Standardní postup

1. Odparafinujte a hydratujte řezy pomocí deionizované vody.
2. Ponořte sklíčka do roztoku kyseliny jodisté na **5 minut** při **pokojevé teplotě** (18–26 °C).
3. Propláchněte sklíčko několika výměnami destilované vody.
4. Ponořte sklíčka do Schiffova činidla na **15 minut** při **pokojevé teplotě** (18–26 °C).
5. Sklíčka vymývejte v tekoucí vodovodní vodě po dobu **5 minut**.
6. Proveďte kontrastní barvení sklíček v roztoku hematoxylinu, Gill č. 3, po dobu **90 sekund**.
7. Propláchněte sklíčka v tekoucí vodě z vodovodu.
8. Dehydratujte, projasněte a zamontujte řezy do montážních médií na bázi toluenu nebo xylenu.

Mikrovlnný postup

1. Odparafinujte a hydratujte řezy pomocí deionizované vody.
2. Vložte sklíčka do **40 ml** roztoku kyseliny jodisté obsažené v plastové Coplinově nádobě. Volně zakryjte nádobu víčkem nebo použijte víčka s vyvrtanými otvory.
3. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **10 sekund**.
4. Dobře propláchněte několika výměnami deionizované vody.
5. Vložte sklíčka do **40 ml** Schiffova činidla obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
6. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **15 sekund**. Roztok promíchejte pipetou Beral nebo aplikační tyčinkou a nechte inkubovat **1 minutu**.
7. Oplachujte v teplé, jemně tekoucí vodovodní vodě po dobu **5 minut**.
8. Vložte sklíčka do roztoku hematoxylinu Gill č. 3 obsaženého v plastové Coplinově nádobě.
9. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **10 sekund**.
10. Oplachujte tekoucí vodou z vodovodu po dobu **1–2 minuty**, poté modřete v pracovním roztoku Scottovy náhražky vodovodní vody při **pokojevé teplotě**. Propláchněte v tekoucí vodě z vodovodu. Dehydratujte, očistěte a zamontujte.

Mikrovlnný proces štěpení diastázou (α -amylázou)

1. Použijte duplicitní testovací sklíčka. Označte jedno pro štěpení diastázou a druhé pouze pro barvení PAS. POZNÁMKA: Doporučují se podložní sklíčka potažená tkáňovým lepidlem. Při štěpení diastázou řezy nezalévejte do celoidinu.¹
2. Odparafinujte sklíčka a hydratujte je pomocí deionizované vody.

- 3. Připravte pracovní roztok diastázy (α-amylázy) rozpuštěním 0,2 g α-amylázy (kat. č. A3176) ve 40 ml deionizované vody. Dobře promíchejte a vložte do plastové Coplinovy nádoby. Připravte těsně před použitím.
- 4. Proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattech** po dobu **25 sekund**.
- 5. Vyjměte sklička z Coplinovy nádoby a **5 minut** oplachujte štěpený preparát tekoucí vodou z vodovodu.
- 6. Při použití jak štěpených, tak neštěpených preparátů postupujte podle mikrovlnného postupu pro tkáň, krok 2.

Pracovní charakteristiky

PAS pozitivní látky se barví růžově až červeně a jádra jsou modrá. Preparát po extrakci diastázy (α-amylázy) nebude mít žádné viditelné zbarvení PAS glykogenu v porovnání s preparátem s neštěpenou kontrolou pozitivní na glykogen.

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 rizika

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtete 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 dlouhodobé 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: Pokud se necítíte dobře, VOLEJTE TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P303 + P361 + P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo 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, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

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

Definice symbolů

Symboly 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 in vitro
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce

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 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

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.



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

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.

© 2022 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

Periodic Acid (perjodsyre)-Schiff (PAS)-fargesystem

Prosedyre nr. 395

IVD

CE

MERCK

Tiltenkt bruk

PAS-fargesystemet tilbyr standard- og mikrobølgeprosedyrer for påvisning av lymfocytter og mukopolysakkarider. PAS-reaksjonen i vevssnitt er nyttig for påvisning av mukopolysakkarider. Diastase (α -amylase)-fordøyelsesprosedyren, etterfulgt av PAS-farging, er nyttig som et hjelpemiddel ved diagnostisering av glykogenlagringssykdom. Periodic Acid Schiff (PAS)-reagenser er til "in-vitro-diagnostisk bruk". Kun for profesjonell bruk. Dataene hentet fra denne håndboken, kvalitativ prosedyre, identifiserer lymfocytter og mukopolysakkarider i blod- eller benmargsfilmer samt formalinfiksert parafininnstøpt vev fra humane prøver. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og informasjon, kan de brukes som en hjelp til diagnostisering av soppinfeksjoner. Lymfocyttenes fargemønster kan også være nyttig for å fatte terapeutiske beslutninger i etablerte tilfeller av lymfatisk leukemi.

Ved behandling med perjodsyre oksideres glykoler til aldehyder. Etter reaksjon med Schiffs-reagens farger det frigjorte fuksinet cellekomponentene som inneholder de oksiderbare forbindelsene.³ Denne reaksjonen kan utføres på blod- eller benmargsfilmer, preparater for vevsberøring eller vevssnitt.^{1,2} Når denne testen brukes på blod- eller benmargsfilmer, kan den være nyttig for å gjenkjenne noen tilfeller av erytroleukemi og akutt lymfatisk leukemi.³

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

En teknikk for rask PAS-farging ved bruk av mikrobølgeovner 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. Farlig. Gir alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Kan forårsake kreft.

Hematoksylinløsning, Gill nr. 3 (Kat. Nr. GHS3-100ML)

Sertifisert hematoksylin, 6 g/l, CI 75290 natriumjodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabilisator

Spesielle materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

- Formaldehydløsning, 37 %
- Reagensalkohol
- Positive PAS-kontrollglass, som PAS TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR009-25EA), skal inkluderes i hver kjøring
- Xylen eller xylenersatning

Kun for mikrobølgeprosedyrer

- Mikrobølgeovn
- Coplin-krukke med ventilerte lokk
- Scotts springvannsubstitutt-konsentrat (kat.nr. S5134-6x100ML)
- α -amylase (kun for diastaseekstraksjonsprosedyre) (kat.nr. A3176)

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar perjodsyreløsning og Schiffs reagens i kjøleskap (2–8 °C). Oppbevar hematoksylinløsning, Gill nr. 3 ved romtemperatur (18–26 °C). Reagenser er stabile frem til utløpsdatoen vist på etikettene. Dannelse av et 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 passende farging, overskrider tiden anbefalt i prosedyren med mer enn 5 minutter.

Klargjøring

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

Filtrer Schiffs reagens hvis den har bunnfall. MERK: En lett rosa farge på grunn av utlekking av farge fra objektglass forstyrrer ikke testen.

Scotts springvannsubstitutt klargjøres ved å fortynne 1 del Scotts springvannsubstitutt med 9 deler avionisert vann.

Formalinetanolfikseringsløsning klargjøres ved å blande 5 ml formaldehyd med 45 ml 95 % etanol (reagensalkohol). Tilbered fersk hver dag, og oppbevar under tett lokk.

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. IVD-er fra Sigma-Aldrich kan betjenes av laboratoriepersonell med opplæring i å håndtere humane prøver som kan være smittefarlige, bruke mikroskop og annet laboratoriestyr og ha tilstrekkelig fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre gjenstander under et mikroskop.

Vanlige forholdsregler ved håndtering av laboratoriereagenser skal følges. Kast avfall i henhold til lokale, statlige eller nasjonale forskrifter.

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

Prosedyre

Prøveinnhenting

Ingen kjente testmetoder kan fullt ut garantere at blodprøver eller vev ikke vil overføre infeksjon. Derfor skal alle blodderivater eller vevsprøver betraktes som potensielt smittefarlige.

Film med nylaget fullblod, EDTA- eller heparinisert blod eller benmarg brukes. Korrigjer så snart som mulig.³

For polysakkarider kan vev fiksert i 10 % nøytral bufret formalin, Zenker eller Bouin brukes.¹ Det bør bemerkes at noen karbohydrater er vannløselige.² For å påvise glykogen anbefales Carnoys væske, Gendres væske eller sur alkoholholdig formalin.¹ Tiden som kreves for diastaseekstraksjon, kan bli forlenget når vev fikseres i en pikrinsyre som inneholder fiksativ.¹ Kutt vevssnitt ved 5 mikron.

Merknader

Hvis det brukes mikrobølgeovn, se brukerhåndboken for instruksjoner.

Blodfilmer fremstilt fra klinisk friske individer kan inkluderes for kontrollformål. Polymorfonukleære leukocytter vil vise en intens rød cytoplasmatiske farging. Vevssnitt som er kjent for å være PAS-positive og/eller inneholder glykogen, skal inkluderes hver gang en fargesekvens utføres.

Prosedyre

Blod-, benmargs- eller vevspreparater for berøring

Standardprosedyre

- Fikser lufttørkede filmer i **1 minutt** ved **romtemperatur** i formalinetanolfikseringsløsning.
- Skyll objektglassene i **1 minutt** i sakte rennende springvann.
- Senk objektglassene i perjodsyreløsning i **5 minutter** ved **romtemperatur**.
- Skyll objektglassene i flere skift med destillert vann.
- Senk objektglassene i Schiffs reagens i **15 minutter** ved romtemperatur. MERK: Sett lokk på Schiffs reagens og sett tilbake til kjøleskapet (2–8 °C) umiddelbart etter bruk.
- Vask objektglassene i rennende springvann i **5 minutter**.
- Motfarg objektglass i hematoksylinløsning, Gill nr. 3, i **90 sekunder**.
- Skyll objektglassene i rennende springvann i **15–30 sekunder**, lufttørk og undersøk i mikroskop under oljenedsenkingslinse (900x). Objektglass kan monteres i toluen- eller xylenbasert monteringsmedium.

Mikrobølgeprosedyre

- Fest lufttørkede blodfilmer ved **romtemperatur** i **1 minutt** i formalinetanol-fikseringsløsning.
- Skyll objektglassene i **1 minutt** i sakte rennende springvann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** perjodsyreløsning i en Coplin-krukke av plast.
- Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll godt i flere skift med avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens i en Coplin-krukke av plast.
- Kjør i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **15 sekunder**. Bland løsningen med en beralpipette eller applikatorpinne og la den inkuberes i **1 minutt**.
- Skyll i varmt, sakte rennende springvann i **5 minutter**.
- Plasser objektglassene i **40 ml** hematoksylinløsning Gill nr. 3 i en Coplin-krukke av plast.
- Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll i rennende springvann i **1–2 minutter**, og farg deretter blått i Scotts springvannsubstitutt-arbeidsløsning ved **romtemperatur**.
- Skyll i rennende springvann. Lufttørk.
- Objektglass kan monteres i toluen- eller xylenbasert monteringsmedium.

Vevssnitt

Standardprosedyre

- Avparafiniser og hydrer snittene til avionisert vann.
- Senk ned objektglassene i perjodsyreløsning i **5 minutter** ved **romtemperatur** (18–26 °C).
- Skyll objektglasset i flere skift med destillert vann.
- Senk ned objektglassene i Schiffs reagens i **15 minutter** ved **romtemperatur** (18–26 °C).
- Vask objektglassene i rennende springvann i **5 minutter**.
- Motfarg objektglass i hematoksylinløsning, Gill nr. 3, i **90 sekunder**.
- Skyll objektglassene i rennende springvann.
- Dehydrer, fjern og monter snittene i toluen- eller xylenbaserte monteringsmedier.

Mikrobølgeprosedyre

- Avparafiniser og hydrer til avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** perjodsyreløsning i en Coplin-krukke av plast. Dekk glasset løst med lokk, eller bruk lokk med hull i.
- Kjør i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll godt i flere skift med avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** Schiffs reagens i en Coplin-krukke av plast.
- Kjør i mikrobølgeovn ved **800 watt** i **15 sekunder**. Bland løsningen med en beralpipette eller applikatorpinne og la den inkuberes i **1 minutt**.
- Skyll i varmt, sakte rennende springvann i **5 minutter**.
- Plasser objektglassene i hematoksylinløsning, Gill nr. 3, i en Coplin-krukke av plast.
- Kjør i mikrobølgeovn på **800 watt** i **10 sekunder**.
- Skyll i rennende springvann i **1–2 minutter**, og farg deretter blått i Scotts springvannsubstitutt ved **romtemperatur**. Skyll i rennende springvann. Dehydrer, klarne og monter.

Mikrobølgeprosedyre for diastase (α -amylase)-fordøyelse

- Bruk dupliserte testobjektglass. Merk ett for fordøyelse med diastase og ett kun for PAS-farging. MERK: Objektglass belagt med vevslim anbefales. Ikke celloidiniser snittene under diastasefordøyelse.¹
- Avparafiniser og hydrer objektglassene til avionisert vann.
- Forbered diastase (α -amylase)-arbeidsløsning ved å løse opp 0,2 g α -amylase, (kat.nr. A3176), i 40 ml avionisert vann. Bland godt og legg i en Coplin-krukke av plast. Klargjør rett før bruk.
- Kjør i mikrobølgeovn ved **600 watt** i **25 sekunder**.
- Fjern objektglasset fra Coplin-krukken og skyll det fordøyde objektglasset i rennende springvann i **5 minutter**.
- Bruk både de fordøyde og de ufordøyde objektglassene, og fortsett med mikrobølgeprosedyren for vev, trinn 2.

Ytelsesegenskaper

PAS-positive stoffer farges rosa til rødt og kjerner er blå. Et diastase (α-amylase)-ekstraksjonsglass vil ikke ha noen synlig PAS-farging av glykogen sammenlignet med det positive kontrollglasset med ufordøyd glykogen.

Hvis de observerte resultatene avviker fra de forventede resultatene, skal du kontakte Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

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

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet	Intra-assay spesifisitet	Intra-assay følsomhet
3951	Periodisk syreløsning	Monocytter	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Granulocytter	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
		Kjellermembran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3952	Schiffs reagens	Monocytter	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		Granulocytter	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
		Kjellermembran	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
GHS3-50ML	Hematoksylin-løsning, 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 hudbrannskader og øyeskader.
- H350: Kan forårsake kreft.
- H373: Kan påføre skade på organer (nyre) ved langvarig eller gjentatt eksponering ved svelging.
- H412: Skadelig for plankton med langvarige effekter.
- P273: Unngå utslipp i miljøet.
- P280: Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsvern.
- P301 + P312: VED SVELGING: Ring et GIFTINFORMASJONSSENTER/lege hvis du føler deg uvel.
- P303 + P361 + P353: VED PÅFØRING PÅ HUDEN (eller håret): Ta umiddelbart av alle forurensede klær. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at det er behagelig å puste. Ring umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/lege.
- P305 + P351 + P338: VED PÅFØRING I ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de er tilgjengelige og det er enkelt å gjøre. Fortsett å skylle.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under eller som følge av bruk av denne enheten, skal den rapporteres til produsenten og/eller dens autoriserte representant og til din nasjonale myndighet.

Symboldefinisjoner

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap/EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Brukes innen- dato		In-vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktig
	Produksjonsdato		Importør

Referanser

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

Kontaktinformasjon

Besøk nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com) for å legge inn en bestilling. For teknisk service, besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022

Overført til ny mal med gjeldende merkevarebygging. Spesifisert for profesjonell bruk, for tiltenkt bruk og forholdsregler. Flyttet hjelp til diagnoseerklæring til tiltenkt bruk. Revidert tiltenkt bruk for å samsvare med IVDR-retningslinjene. Oppdatert materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdatert kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Lagt til kontaktinformasjon for uønskede hendelser. Lagt til advarsler og farer.



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

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.

© 2022 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 gösterilmesi için standart ve mikrodalga prosedürler sunar. Doku kesitlerindeki PAS reaksiyonu, mukopolisakkaritlerin gösterimi için yararlıdır. Diastaz (α-amilaz) sindirim prosedürü ve takibinde PAS boyaması, glikojen depo hastalığının tanısına yardımcı olarak kullanılır. Periyodik Asit Schiff (PAS) reaktifleri "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel kalitatif prosedürden elde edilen veriler, kan veya kemik iliği filmlerinden lenfositleri ve mukopolisakkaritlerin, ayrıca insan örneklerinden formalin ile fiks edilmiş ve parafine gömülmüş dokuları tespit eder. Bu veriler, diğer tanı testleri ve bilgilerle birlikte gözden geçirildiğinde mantar enfeksiyonlarının tanısına yardımcı olarak kullanılabilir. Lenfositlerin boyama paterni, tanı alan lenfositik lösemi vakalarında terapötik kararlar vermede de yardımcı olabilir.

Periyodik asit ile işlendiğinde glikoller, aldehitlerle oksitlenir. Schiff reaktifi ile reaksiyona girdikten sonra salınan fuksin, oksitlenebilir bileşikler içeren hücresel bileşenleri boyar.³ Bu reaksiyon, kan veya kemik iliği filmleri, doku dokundurma preparatları veya doku kesitleri üzerinde gerçekleştirilebilir.^{1,2} Kan veya kemik iliği filmlerinde kullanıldığında bu test, bazı eritrolösemi ve akut lenfoblastik lösemi vakalarının belirlenmesinde yardımcı olabilir.³

Diastaz (α-amilaz) sindirimi, glikojen depo hastalığının tanısına yardımcı olarak kullanılabilir. Diastaz, dokuda bulunan bu polisakkaritlerden kaynaklanan nişasta, glikojen ve bozunma ürünlerini hidrolize eder. Sindirim sürecinde ortaya çıkan yan ürünler, PAS boyamadan önce yıkanır.⁴

Mikrodalga fırınlar kullanılarak hızlı PAS boyama tekniği gerçekleştirilir.⁵⁻⁷

Reaktifler

Periyodik Asit Solüsyonu (Kat. No. 3951-100ML ve 395132-1L)
Periyodik asit, 1 g/dL

Schiff Reaktifi (Kat. No. 3952-50ML ve 3952016-500ML)
0,25 mol/L hidroklorik asit içinde %1 pararosanilin HCl ve %4 sodyum metabisülfid. Tehlike. Ciddi doku yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Kanser neden olabilir.

Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3 (Kat. No. GHS3-100ML)
Sertifikalı hematoksilin 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 solüsyonu, %37
- Reaktif Alkol
- PAS TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR009-25EA) gibi pozitif PAS kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir
- Ksilen veya ksilen muadili

Yalnızca Mikrodalga Prosedürleri İçin

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

Saklama ve Stabilite

Periyodik Asit Solüsyonunu ve Schiff Reaktifini buzdolabında (2–8°C) saklayın. Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3 materyalini oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. Reaktifler, etiketlerde gösterilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Schiff Reaktifinde çökelti oluşumu performansı etkilemez.

Bozulma

Solüsyon kahverengiyeye dönerse (havayla aşırı oksitlenme), mora dönerse (asitlik kaybı) veya uygun boyama için gereken süre prosedürde önerilen süreyi 5 dakikadan fazla aşarsa Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3'ü atın.

Hazırlama

Periyodik Asit Solüsyonu, Schiff Reaktifi ve Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3 kulanıma hazır olarak sağlanır. Kullanmadan önce reaktifleri oda sıcaklığına (18–26°C) getirin.

Çökelti varsa Schiff Reaktifini filtreleyin. NOT: Lamlardan renk sızmasından kaynaklanan hafif pembe renk, testi etkilemez.

Scott Musluk Suyu İkamesi, 1 ölçü Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi 9 ölçü deiyonize su ile seyreltilerek hazırlanır.

Formalin-Etanol Fiksasyonu Solüsyonu, 5 mL formaldehit ile 45 mL %95 etanol (Reaktif Alkol) karıştırılarak hazırlanır. Her gün yeni solüsyon hazırlayın ve ağız 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 kullanıma 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 örneklerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku örnekleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Yeni hazırlanmış tam, EDTA veya heparinize kan ya da kemik iliği filmleri kullanılır. Mümkün olan en kısa sürede fiksasyonu hazırlayın.³

Polisakkaritler için %10 nötr tamponlu formalin, Zenker veya Bouin içinde fiks edilmiş doku kullanılabilir.¹ Bazı karbonhidratların suda çözünür olduğuna dikkat edilmelidir.² Glikojenin gösterilmesi için Carnoy sıvısı, Gendre sıvısı veya asit alkolü formalin önerilir.¹ Doku, fiksatif içeren bir piknik asit içinde fiks edildiğinde diastaz ekstraksiyonu için gereken süre uzayabilir.¹ Doku kesitlerini 5 mikron ölçüsünde kesin.

Notlar

Mikrodalga fırın kullanılıyorsa talimatlar için lütfen ürünün Kullanım Kılavuzuna bakın.

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

Prosedür

Kan, Kemik İliği veya Doku Dokundurma Preparatları

Standart Prosedür

- Havada kurutulmuş filmlerde, Formalin Etanol Fiksasyon Çözeltilisi içinde **oda sıcaklığında 1 dakika** boyunca fiksasyonu gerçekleştirin.
- Lamları yavaş akan musluk suyunda **1 dakika** boyunca durulayın.
- Lamları, **oda sıcaklığında 5 dakika** boyunca Periyodik Asit Solüsyonuna daldırın.
- Lamları distile su ile birkaç kez durulayın.
- Lamları oda sıcaklığında **15 dakika** boyunca Schiff Reaktifine batırın. NOT: Kullanımdan hemen sonra Schiff Reaktifini kapatın ve buzdolabına (2–8°C) geri koyun.
- Lamları akan musluk suyunda **5 dakika** boyunca yıkayın.
- Lamlara Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3'te **90 saniye** boyunca zıt boyama yapın.
- Lamları akan musluk suyunda **15–30 saniye** boyunca durulayın, havaıyla kurutun ve yağa daldırılan (900x) mercek altında mikroskopa inceleyin. Lamlar, toluen veya ksilen bazlı yerleştirme ortamına yerleştirilebilir.

Mikrodalga Prosedürü

- Havaıyla kurutulan filmlerde Formalin-Etanol Fiksasyon Solüsyonunda **oda sıcaklığında 1 dakika** boyunca fiksasyonu gerçekleştirin.
- Lamları yavaş akan musluk suyunda **1 dakika** boyunca durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Periyodik Asit Solüsyonuna yerleştirin.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Lamları deiyonize su ile birkaç kez durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Schiff Solüsyonuna yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Solüsyonu bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile karıştırın ve **1 dakika** boyunca inkübe edin.
- 5 dakika** boyunca ılık, hafifçe akan musluk suyunda durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Hematoksilin Solüsyonu Gill No. 3'e yerleştirin.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Akan musluk suyunda **1–2 dakika** boyunca durulayın ardından **oda sıcaklığında** Çalışma Scott Musluk Suyu İkamesi ile mavi renge boyayın.
- Akan musluk suyunda durulayın. Havaıyla kurutun.
- Lamlar, toluen veya ksilen bazlı yerleştirme ortamına yerleştirilebilir.

Doku Kesitleri

Standart Prosedür

- Kesitleri deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamları, **oda sıcaklığında** (18–26°C) **5 dakika** boyunca Periyodik Asit Solüsyonuna daldırın.
- Lamı distile su ile birkaç kez durulayın.
- Lamları **oda sıcaklığında** (18–26°C) **15 dakika** boyunca Schiff Reaktifine batırın.
- Lamları akan musluk suyunda **5 dakika** boyunca yıkayın.
- Lamlara Hematoksilin Solüsyonu, Gill No. 3'te **90 saniye** boyunca zıt boyama yapın.
- Akan musluk suyunda lamları durulayın.
- Kesitleri kurutun, temizleyin ve toluen veya ksilen bazlı yerleştirme ortamına yerleştirin.

Mikrodalga Prosedürü

- Kesitleri deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Periyodik Asit Solüsyonuna yerleştirin. Kavanozun kapağını gevşek bir şekilde kapatın veya delikli kapaklar kullanın.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Lamları deiyonize su ile birkaç kez durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Schiff Solüsyonuna yerleştirin.
- 15 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun. Solüsyonu bir beral pipet veya aplikatör çubuğu ile karıştırın ve **1 dakika** boyunca inkübe edin.
- 5 dakika** boyunca ılık, hafifçe akan musluk suyunda durulayın.
- Lamları plastik bir Coplin kavanozunda Hematoksilin Solüsyonu Gill No. 3'e yerleştirin.
- 10 saniye** boyunca **800 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Akan musluk suyunda **1–2 dakika** boyunca durulayın ardından **oda sıcaklığında** Scott Musluk Suyu İkamesi ile mavi renge boyayın. Akan musluk suyunda durulayın. Kurutun, temizleyin ve yerleştirin.

Diastaz (α-Amilaz) Sindirimi için Mikrodalga Prosedürü

- Çift test lamı kullanın. Birini diastaz sindirimi için ve birini yalnızca PAS boyaması için etiketleyin. NOT: Bir doku yapıştırıcısı ile kaplanmış lamlar tavsiye edilir. Diyastaz sindirimi yaparken kesitleri seloidine yerleştirmeyin.¹
- Lamları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- 0,2 g α-Amilaz'ı (Kat. No. A3176) 40 mL deiyonize suda çözerek Diastaz (α-amilaz) Çalışma Solüsyonunu hazırlayın. İyice karıştırın ve plastik Coplin kavanoza koyun. Kullanmadan hemen önce hazırlayın.
- 25 saniye** boyunca **600 watt** seviyede mikrodalga fırında tutun.
- Lamları Coplin kavanozundan çıkarın ve sindirilmiş lamı akan musluk suyunda **5 dakika** boyunca durulayın.
- Hem sindirilmiş hem de sindirilmemiş lamları kullanarak Doku için Mikrodalga Prosedürü, adım 2 ile devam edin.

Performans Özellikleri

PAS pozitif maddelerde pembe ile kırmızı arasında boyama görülür ve çekirdekler mavidir. Diastaz (α-Amilaz) Ekstraksiyon lamı, sindirilmemiş glikojen pozitif kontrol lamı ile karşılaştırıldığında glikojen PAS boyamasına görünmez.

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	Tahilller Arası Özgüllük	Tahilller 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 Reaktif	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
GHS3-50ML	Hematoksilin 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: Yutulduğunda 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: Korumayı 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) TEMAS 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 su ile 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

Referanslar

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed. CV Mosby, St. Louis, (MO), s. 52, 164–167, 1980
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT: Cellular Pathology Technique, 4th ed. Butterworths, s. 216–220, 1985
- Davey FR, Nelson DA: Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed. WJ Williams, E Buettler, 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://sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://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.



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

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.

© 2022 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.