

P.A.S. KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Periodic Acid-Schiff's komplet od pet reagensa

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: PAS5-100T (5 x 30 mL)

PAS5-K-100 (5 x 100 mL)

PAS5-K-500 (5 x 500 mL)

Uvod

Jedna od najčešće korištenih kemijskih metoda u histologiji je P.A.S. bojenje. Princip ove metode temelji se na reakciji oksidacije u prisutnosti perjodne kiseline i Schiffovog reagensa. Molekule s glikolnim grupama pod utjecajem perjodne kiseline stvaraju aldehide na koje djeluje Schiffov reagens i boji ih u ljubičastu (magenta) boju. Ova metoda najčešće se primjenjuje na stanicama jetre i mišića. Primjenom P.A.S. metode na nesupstituirane polisaharide, neutralne mukopolisaharide, mukoproteine i glikoproteine, glikolipide i fosfolipide stvaraju se specifična obojenja. U kombinaciji s Alcian Blue bojom, mogu se dodatno identificirati kisele mukosupstance (glikozaminoglikani).

Opis proizvoda

- **P.A.S. KOMPLET** – Komplet za bojenje aldehida, mukopolisaharida i mukoproteina

Komplet sadrži:	100 testiranja (PAS5-100T)	5 x 100 mL (PAS5-K-100)	5 x 500 mL (PAS5-K-500)
Perjodna kiselina, 0,8%-tna otopina	30 mL (PK08-OT-30)	100 mL (PK08-OT-100)	500 mL (PK08-OT-500)
BioSchiff reagens	30 mL (BS-OT-30)	100 mL (BS-OT-100)	500 mL (BS-OT-500)
Natrijev metabisulfit, otopina	30 mL (NM-OT-30)	100 mL (NM-OT-100)	500 mL (NM-OT-500)
HCL reagens, P.A.S.	30 mL (HCLP-OT-30)	100 mL (HCLP-OT-100)	500 mL (HCLP-OT-500)
Hematoksiin ML	30 mL (HEMML-OT-30)	100 mL (HEMML-OT-100)	500 mL (HEMML-OT-500)

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojanja:

- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovih neutralno puferiranih otopina formaldehida: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za prosvjetljavanje poput BioClear ksilena ili supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus, BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount DPX Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- VitroGnost pokrova stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema dodatnih otopina potrebnih za bojenje

• Sulfitna otopina

Za primjenu kod kompleta za 100 testiranja: pomiješati 0,25 mL Natrij metabisulfit, otopine s 0,25 mL HCL reagensa, P.A.S. Otopini potom dodati još 5 mL vodovodne vode, promiješati.

Za primjenu kod kompleta većih volumena: pomiješati 5 mL Natrij metabisulfit, otopine s 5 mL HCL reagensa, P.A.S. Otopini potom dodati još 100 mL vodovodne vode, promiješati.

Napomena: sulfitnu otopinu napraviti netom prije korištenja. Volumen pripremljene sulfitne otopine prilagodite prema broju preparata i načinu tretiranja preparata sulfitnom otopinom u svrhu ekonomične potrošnje i maksimalne iskoristivosti.

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak kvalitetno fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100).
- Prosvjetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Obavezno dobro zatvoriti bočicu u kojoj se nalazi BioSchiff reagens kako ne bi došlo do ispravljanja SO₂ i kako bi se očuvala kvaliteta reagensa.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (PAS5-100T)

1.	Deparafinacija u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Tretirati Perjodnom kiselinom, 0.8%-tnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	5-10 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom vodom	3 minute
7.	Oprati preparat destiliranom (demi) vodom	
8.	Tretirati BioSchiff reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	10-15 minuta
9.	Odliti reagens s preparata bez ispiranja	
10.	Tretirati sulfitnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
	Napomena: nanijeti sulfitnu otopinu na preparat, nakon 2 minute odliti reagens s	

	preparata te ponoviti postupak dva puta; ne ispirati između izmjena	
11.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
12.	Bojenje Hematoksilinom ML (nakapati ≥ 5 kapi)	1-3 minute
13.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
14.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
15.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
16.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
16.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

b) kompletom s pet reagensa od 100 ili 500 mL (PAS5-K-100, PAS5-K-500)

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne bočice. Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagense filtrirati.

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Uroniti u Perjodnu kiselinu, 0.8%-tnu otopinu	5-10 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom vodom	3 minute
7.	Oprati preparat destiliranom (demi) vodom	
8.	Uroniti u BioSchiff reagense	10-15 minuta
	Napomena: tijekom bojenja obavezno poklopiti posudicu kako ne bi došlo do isparavanja SO ₂	
9.	Odliti reagense s preparata bez ispiranja	
10.	Uroniti u sulfatnu otopinu	3 izmjene u trajanju od 2 minute
	Napomena: uroniti preparate u 3 izmjene sulfatne otopine; ne ispirati između izmjena	
11.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
12.	Uroniti u Hematoksilin ML	1-3 minute
13.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
14.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
15.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
16.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Plava boja - jezgre

Ljubičasta boja - polisaharidi, glikogen, neutralni mukopolisaharidi, muko- i glikoproteini, glikolipidi, fosfolipidi, bazalna membrana, kolagen

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani te okvirno odgovaraju dugogodišnjoj kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjernicama. Kemikalije korištene u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skладиštenje, stabilnost i rok valjanosti

P.A.S. komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi otisnutoj na etiketi proizvoda. Kako bi proizveli valjanost BioSchiff reagensa, preporučamo da ga nakon prve upotrebe čuvate na temperaturi od 2-8°C. Valjana otopina BioSchiff reagensa je bezbojna, nakon što počne poprimati boju zbog gubitka SO₂ otopinu baciti. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Culling, C.F.A.(1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
2. Davey, F.R. et Nelson, D.A.(1977): Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed., W. J. Williams, E. Buetler, A. J. Erslev, R.W. Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630-1632.
3. Hotchkiss, R.D.(1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations, *Arch. Biochem.* 16, str. 131.
4. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B.(1980): Theory an Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

PAS5-X, V23, 23.06.2021., KB/ŠP

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 Kataloški broj	 Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Vrijedi do	 Broj serije	 Proizvođač
 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Čuvati na suhom	 Opazuj lomljivo		

 BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

