

P.A.S. DIASTAZA KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet za identifikaciju glikogena i mukopolisaharidnih struktura UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: PDIA-100T (za 100 testiranja)

Uvod

BioGnostov P.A.S. Diastaza komplet koristi se najčešće prilikom identifikacije glikogena u jetri. Molekule s glikolnim grupama pod utjecajem periodne kiseline stvaraju aldehide na koje djeluje Schiffov reagens i boji ih u ljubičastu (magenta) boju. Primjenom PAS metode na nesupstituirane polisaharide, neutralne mukopolisaharide, mukoproteine i glikoproteine, glikolipide i fosfolipide stvaraju se specifična obojenja. Za razlikovanje glikogena od drugih PAS pozitivnih struktura, koristi se enzim alfa-amilaza (također poznat pod nazivom diastaza), koji razgrađuje 1→4 glikozidne veze, zbog čega glikogen nakon PAS reakcije ostaje neobojen. U BioGnostovom P.A.S. Diastaza kompletu koristi se termostabilni enzim za čiju aktivnost nije neophodno zagrijavanje na +37°C, ali je inkubacija preparata na +37°C poželjna za bolju razgradnju glikogena. Kao negativna kontrola za ovu reakciju se koristi preparat istog tkiva koji se ne tretira otopinom alfa-amilaze.

Opis proizvoda

- **P.A.S. DIASTAZA KOMPLET** – Komplet za razlikovanje glikogena od drugih PAS pozitivnih struktura

Komplet sadrži:	za 100 testiranja (PDIA-100T)	Temperatura skladištenja:
Alfa-amilaza, otopina	30 mL (ALF-OT-30)	2-8°C
Periodna kiselina, 0,8%-tna otopina	30 mL (PK08-OT-30)	15-25°C
BioSchiff reagens	30 mL (BS-OT-30)	15-25°C
Hematoksilin ML	30 mL (HEMML-OT-30)	15-25°C
Bluing reagens	30 mL (BR-OT-30)	15-25°C

Ostali preparati i reagensi potrebni za izvođenje testiranja:

- 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 uklopavanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue
- 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
- 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

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 paleta).
- Prosvjetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

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 preparat Alfa-amilaza, otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	15 - 20 minuta na sobnoj temperaturi (zagrijavanjem na +37°C postiže se još bolja razgradnja glikogena)
	Za negativnu kontrolu ovaj korak preskočiti	
6.	Isprati preparat pod indirektnim mlazom destilirane (demi) vode	3 minute
7.	Tretirati Periodnom kiselinom, 0,8%-tnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	5-10 minuta
8.	Isprati preparat pod indirektnim mlazom tekuće vodovodne vode	3 minute
9.	Oprati preparat u destiliranoj (demi) vodi	
10.	Tretirati BioSchiff reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	10-15 minuta
11.	Isprati pod indirektnim mlazom tekuće vodovodne vode	3 minute
12.	Tretirati Hematoksilinom ML (nakapati ≥ 5 kapi)	1-3 minute
13.	Isprati pod indirektnim mlazom destilirane vode	10 sekundi
14.	Plavljenje jezgri Bluing reagensom	
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju	
15.	Uroniti preparate u destiliranu/demineraliziranu vodu	
16.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
17.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona

18.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
19.	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

Crvena do ljubičasta boja - bazalna membrana, stanična stjenka gljiva

Magenta (ciklama) - glikogen (na negativnom kontrolnom preparatu), polisaharidi, neutralni mukopolisaharidi, muko- i glikoproteini, glikolipidi, fosfolipidi, kolagen

Nedostatak magenta boje (ružičasta pozadina) - mjesto razgradnje glikogena

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.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Reagensi P.A.S. Diastaza kompleta imaju različite temperaturne režime čuvanja, označenim na njihovim etiketama. Reagense čuvati na propisanim temperaturama, držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Kako bi produžili valjanost BioShiff reagensa, preporučamo da ga nakon prve upotrebe čuvate na temperaturi od 2-8°C. 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 and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

PDIA-100T, V5, 05.04.2023., KB/IŠP

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Vrijedi do		Europska sukladnost		BIOGNOST d.o.o. Međugorska 59 10040 Zagreb CROATIA www.biognost.com	
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Kataloški broj		Proizvođač			
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Broj serije					