

## FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Periodic Acid Schiff (PAS) reagensek "in vitro diagnosztikai" felhasználásra javalltak.

A Sigma-Aldrich PAS festési eljárás standard és mikrohullámú eljárásokat ajánl a limfociták és a mucopoliszacharidok bemutatására. A limfociták festési mintája segít a terápiás döntésekben a limfotikus leukémia elfogadott eseteiben. A szövetszövetekben a PAS reakció hasznos a mucopoliszacharidok bemutatásához. A Diastase ( $\alpha$ -amylase) feltárási eljárás, melyet a PAS festés követ, hasznos segítség a glikogén tárolási betegségek diagnózisa során.

A PAS festési eljárás hasznos lehet még a szövetszövetekben előforduló gombás organizmusok bemutatására is.<sup>2</sup>

Perjódssavval kezelve a glikolok aldehiddé oxidálódnak. A Schiff reagenssel (pararozanilin és nátrium-metabiszulfid keveréke) való reakció után egy pararozanilin adduktum szabadul fel, mely a glikol tartalmú sejtkomponenseket festi.<sup>1</sup> Ez a reakció kevés vér vagy csontvelő hártályakon, szövet preparátumokon vagy szövetszöveteken egyaránt elvégezhető.<sup>2,3</sup> Vér vagy csontvelő hártályakon használva ez a vizsgálat hasznos lehet az eritroleukémia és az akut limfoblasztikus leukémia felismerésében.<sup>4</sup>

Diastase ( $\alpha$ -amylase) feltárási alkalmazható a glikogén tárolási betegség diagnosztikájában. A diasztáz hidrolizálja a szövetben jelenlévő ilyen poliszacharidokból származó keményítőt, glikogént és bomlástermékeket. A feltárási eljárásból származó melléktermékeket előlíttik a PAS festés előtt.<sup>5</sup>

A Sigma-Aldrich eljárások tartalmazzák a PAS technikákat a mikrohullámú sütőkben történő gyors festés érdekében.<sup>6,8</sup>

## REAGENSEK

**PERIODIC ACID SOLUTION**, Katalógus szám: 395-1

Perjódssav, 1 g/l

**SCHIFF'S REAGENT**, Katalógus szám: 395-2

Pararozanilin HCl, 1 % és nátrium-metabiszulfid, 4 % sósavban (0,25 mol/l).

**HEMATOXYLIN SOLUTION, GILL NO. 3**, Katalógus szám: GHS-3

Igazolt hematoxin, 6 g/l, nátrium-jodát, 0,6 g/l, alumínium-szulfát, 52,8 g/l és stabilizátor.

**TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:**

A perjódssav oldat és a Schiff reagens hűtőszekrényben (2–8 °C)-on tárolandó. A Hematoxylin Solution, Gill No. 3 szobahőmérsékleten (18–26 °C) tárolandó. A reagensek a címkén feltüntetett lejárati dátumig felhasználhatók. A Schiff-reagensben (katalógus szám: 395-2) képződő precipitátum nem befolyásolja a hatékonyságot.

**MEGROMLÁS:**

A Hematoxylin Solution, Gill No. 3 megsemmisítendő, ha az oldat megbarnul (levégőn való oxidáció) vagy bíborszínű lesz (savasság elvesztése) vagy ha a megfelelő festéshez szükséges idő több, mint 5 perccel meghaladja az eljárásban javasolt időt.

**ELŐKÉSZÍTÉS:**

A Periodic Acid Solution, a Schiff's Reagent és a Hematoxylin Solution, Gill No. 3 használatra kész.

A FORMALIN-ETHANOL FIXATIVE SOLUTION-t úgy készítik, hogy 5 ml formaldehidet összekevernek 45 ml 95 %-os etanollal (reagens alkohol). Naponta frissen készítendő és szorosan lezárva tartandó.

**ÓVINTÉZKEDÉSEK:**

A laboratóriumi reagensekkel történő munka során a szokásos óvintézkedéseket be kell tartani. A hulladékot az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével kell megsemmisíteni. A friss kockázati, veszély vagy biztonsági információk az anyagbiztonsági adatlapban találhatók.

A PAS TISSUE-TROL kontroll tárgylemezek PAS-t tartalmazó paraffinba ágyazott humán szövetek és lehetséges fertőző szöveteknek tekintendők.

Az Amerikai Egyesült Államok kockázati és biztonsági mondatai

A Periodic Acid Solution MARÓ. Égési sérülést okoz. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. A szennyezett ruhát azonnal le kell vetni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni.

A Schiff's Reagent MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Lenyelve ártalmas. Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullét esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Kizárólag szakemberek használhatják. Kerülni kell az expozíciót, – használatához külön utasítás szükséges.

A Gill féle 3 hematoxin oldat ÁRTALMAS. Belélegezve nagyon mérgező (toxikus)! A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni. Célszervek: Máj és vesék.

A Reagent Alcohol GYŰLÉKONY és INGERLŐ. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A xilol GYŰLÉKONY és ÁRTALMAS. A fogamzóképeséget károsíthatja. A születendő gyermeke ártalmas lehet. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. A légzőrendszert és bőrt irritálja. Súlyos szemkárosodást okozhat. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullét esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Az Európai Unió kockázati és biztonsági mondatai

A Periodic Acid Solution MARÓ. Égési sérülést okoz. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. A szennyezett ruhát azonnal le kell vetni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni.

A Schiff's Reagent MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullét esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Kizárólag szakemberek használhatják. Kerülni kell az expozíciót, – használatához külön utasítás szükséges.

A Gill féle 3 hematoxin oldat ÁRTALMAS. Belélegezve nagyon mérgező (toxikus)! A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A Reagent Alcohol RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY és INGERLŐ. Rendkívül gyúlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A xilol ÁRTALMAS. Gyúlékony. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. Bőrizgató hatású. Kerülni kell a szembejutást.

## ELJÁRÁS

**MINTA BEGYŰJTÉSE:**

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2. sz. NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmilyen ismert módszer nincs, mely teljesen biztosítja, hogy a vérminták vagy a szövet ne terjeszsen fertőzést. Ezért, minden vér származékot vagy szövetet lehetségesen fertőzőnek kell tekinteni.

Frissen előkészített egész, EDTA-val vagy heparinnal kezelt vér vagy csontvelő hártályak használhatók. Fixálják, amint lehet.<sup>4</sup>

Poliszacharidok esetén, 10 %-os semleges pufferelt formalinban fixált szövet, Zenker vagy Bouin féle használható.<sup>2</sup> Megjegyzendő, hogy néhány szénhidrogén vízdoldható.<sup>3</sup> A glikogén bemutatásához, Carnoy féle fluid, Gendre fluid vagy sav alkohol formalin javasolt.<sup>2</sup> A diasztáz extrakcióhoz szükséges idő hosszabbodhat, ha pikrinsav tartalmú fixálószorban fixálják a szövetet.<sup>2</sup> A szövetszövetek 5 mikronnál vastagabbak.

**SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK**

Formaldehid oldat, 37 %

Reagent Alcohol

Whatman 4. sz. szűrőpapír

PAS kontroll tárgylemezek, pl. Sigma PAS TISSUE-TROL (katalógus szám: P8814) mindig futtatandók.

**CSAK A MIKROHULLÁMÚ ELJÁRÁSOKHOZ:**

ACCUMATE™ H2100 mikrohullámú sütő, katalógus szám: A 9084 (110 v) vagy A 9209 (220 v)

Coplin edény szellőző fedéllel

Scott's Tap Water Substitute Concentrate, katalógus szám: S5134-6x100ML

$\alpha$ -amiláz (csak diasztáz extrakciós eljárásához)

**MEGJEGYZÉSEK:**

Ha a Sigma-Aldrich H2100 mikrohullámú sütőt használják, nézzék meg a Tulajdonosi útmutatót.

A klinikailag egészséges egyénekből származó vér hártályak kontroll célokot szolgálnak. A polimorf nukleáris leukociták intenzív vörös citoplazmikus festést mutatnak majd. Az ismert PAS pozitív és/vagy glikogént tartalmazó szövetszövetek mindig használandók egy festés sorozat elvégzésekor. Erre a célra a Sigma-Aldrich a PAS TISSUE-TROL™-t (Katalógus szám: P 8814) ajánlja.

Az ilyen eljárásból kapott adatok csak segítségként szolgálnak a diagnózishoz és egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell vizsgálni.

**ELJÁRÁS:**

**I. VÉR, CSONTVELŐ VAGY KEVÉS SZÖVET PREPARÁTUMOK**

Standard eljárás:

1. Fixálják a levegőn szárított vér hártályakat **1 percig szobahőmérsékleten** Formalin-Ethanol Fixative Solution-ban.
  2. Öblítsék a tárgylemezeket **1 percig** lassan folyó csapvízben.
  3. Mártásák a tárgylemezeket **5 percig** Periodic Acid Solution-ba (katalógus szám: 395-1) **szobahőmérsékleten**.
  4. Öblítsék a tárgylemezeket többször cserélt desztillált vízben.
  5. Mártásák a tárgylemezeket **15 percig** Schiff reagensbe (katalógus szám: 395-2) **szobahőmérsékleten**.
- MEGJEGYZÉS: Használat után azonnal tegyenek kupakot a Schiff reagensre és tegyék vissza hűtőszekrénybe (2–8 °C).
6. Mossák a tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
  7. Fessék után Hematoxylin Solution, Gill No. 3-ban (katalógus szám: GHS-3) **90 másodpercig**.
  8. Öblítsék folyó csapvízben **15–30 másodpercig**, levegőn szárítsák és mikroszkópiusan vizsgálják olajálló lencse alatt (900x). A tárgylemezek toluol vagy xilol alapú fedő médiummal rögzíthetők.

**Mikrohullámú eljárás:**

1. Fixálják a levegőn szárított hártályakat **1 percig szobahőmérsékleten** Formalin-Ethanol Fixative-ban.
2. Öblítsék a tárgylemezeket **1 percig** lassan folyó csapvízben.
3. Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Periodic Acid Solution-ba.
4. Kezeljék mikrohullámmal **800 watton, 10 másodpercig**.
5. Öblítsék alaposan a tárgylemezeket többször cserélt desztillált vízben.
6. Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Schiff's Reagent-ba.

- Kezeljék mikrohullámmal **800 watton, 15 másodpercig**. Keverjék az oldatot beral pipettával vagy applikátor bottal és hagyják inkubálódni 1 percig.
- Mossák a tárgylemezeket óvatosan, meleg, folyó csapvízben **5 percig**.
- Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Hematoxylin Solution Gill No. 3-ba.
- Kezeljék mikrohullámmal **800 watton, 10 másodpercig**.
- Öblítsék folyó csapvízben **1–2 percig**, majd kékítsék Working Scott's Tap Water Substitute-ban **szobahőmérsékleten**.
- Öblítsék folyó csapvízben. Szárítsák levegőn.
- A tárgylemezek toluol vagy xilol alapú fedő médiummal rögzíthetők.

## II. SZÖVETMETSZETEK

### Standard eljárás:

- Paraffinmentesítés és hidratálják a metszeteket ioncserélt vízzel.
- Mártásák a tárgylemezeket **5 perc**re Periodic Acid Solution-ba (katalógus szám: 395-1) **szobahőmérsékleten** (18–26 °C).
- Öblítsék a tárgylemezeket többször cserélt desztillált vízben.
- Mártásák a tárgylemezeket **15 perc**re Schiff reagensbe (katalógus szám: 395-2) **szobahőmérsékleten** (18–26 °C).
- Mossák a tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
- Fessék után a tárgylemezeket Hematoxylin Solution, Gill No. 3-ban (katalógus szám: GHS-3) **90 másodpercig**.
- Öblítsék a tárgylemezeket folyó csapvízben.
- Dehidratálják, derítsék és rögzítsék a metszeteket toluol vagy xilol alapú fedő médiummal.

### Mikrohullámú eljárás Diastase ( $\alpha$ -Amylase) feltáráshoz:

- Használjanak kettős vizsgálati tárgylemezeket. Címkézzenek fel egyet a diasztázos feltáráshoz és egyet csak a PAS festéshez.  
MEGJEGYZÉS: Szövet ragasztóval borított tárgylemezek javasoltak.  
Ne celloidinizálják a metszeteket a diasztáz feltárással.<sup>2</sup>
- Paraffinmentesítés és hidratálják a tárgylemezeket ioncserélt vízzel.
- Készítsék el a Diastase ( $\alpha$ -amylase) Working Solution-t (katalógus szám: A3176) **40 ml** ioncserélt vízben feloldva. Keverjék jól össze és helyezték műanyag Coplin edénybe. Közvetlenül a használat előtt készítsék el.
- Kezeljék mikrohullámmal **600 watton, 25 másodpercig**.
- Vegyék ki a tárgylemezeket a Coplin edényből és öblítsék a feltárt tárgylemezeket folyó csapvízben **5 percig**.
- A feltárt és feltáratlan tárgylemezeket is használva folytassák a szövetekre vonatkozó mikrohullámú eljárást a 2. lépéstől.

### Mikrohullámú eljárás:

- Paraffinmentesítés és hidratálják ioncserélt vízzel.
- Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Periodic Acid Solution-ba. Lazán zárják le fedéllel az edényt vagy használjanak lyukas fedelet.
- Kezeljék mikrohullámmal **800 watton, 10 másodpercig**.
- Öblítsék alaposan a tárgylemezeket többször cserélt desztillált vízben.
- Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő **40 ml** Schiff's Reagent-ba.
- Kezeljék mikrohullámmal **800 watton, 15 másodpercig**. Keverjék az oldatot beral pipettával vagy applikátor bottal és hagyják inkubálódni **1 percig**.
- Mossák a tárgylemezeket óvatosan, meleg, folyó csapvízben **5 percig**.
- Helyezzék a tárgylemezeket műanyag Coplin edényben lévő Hematoxylin, Gill No. 3-ba vagy Light Green Solution-ba.
- Kezeljék mikrohullámmal **800 watton, 10 másodpercig**.
- Ha Gill féle hematoxilint használnak, öblítsék **1–2 percig** folyó csapvízzel, majd kékítsék Working Scott's Tap Water Substitute-tal **szobahőmérsékleten**. Öblítsék folyó csapvízben. Dehidratálják, derítsék és rögzítsék.  
b. Ha Light Green Solution-t használnak, gyorsan öblítsék ioncserélt vízzel, gyorsan dehidratálják, derítsék és rögzítsék.

## TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A PAS pozitív anyagok rózsaszín-vörösre festenek és a sejtmagok kékek. Egy Diastase ( $\alpha$ -Amylase) Extraction tárgylemez esetében nincs látható PAS glikogén festés, ha a feltáratlan glikogént pozitív kontroll tárgylemezekhez viszonyítjuk.

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatával.

## IRODALOMJEGYZÉK

- Hotchkiss RD: A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. Arch Biochem 16:131, 1948
- 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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765

Műszaki szolgálat: 800-325-0250 vagy hívják 314-771-3122

vagy e-mail: clintech@sial.com

Megrendelés: 800-325-3010 vagy hívják: 314-771-5750

www.sigma-aldrich.com

- 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

A Sigma-Aldrich, Inc. garantálja, hogy termékei megfelelnek az ebben és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban megjelent információknak. A vevő köteles meghatározni, hogy az adott felhasználásra megfelel-e (megfelelnek-e) a termék(ek). További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Kérjük megnézni a számla vagy csomagolóanyag hátsó oldalát az árusítás további kikötései és feltételei véget.

Eljárás száma: 395

Korábbi felülvizsgálat: 2003-09

Átdolgozva: 2011-03



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse  
Egham, TW20 9BD Egyesült Királyság