

## VERWENDUNGSZWECK

Die Perjodsäure-Schiff (PAS) Reagenzien dienen zur "In-vitro-Diagnostik".

Das PAS-Färbeverfahren von Sigma-Aldrich bietet Standard- und Mikrowellenverfahren für den Nachweis von Lymphozyten und Mucopolysacchariden. Die Färbemuster der Lymphozyten sind hilfreich bei Therapieentscheidungen bei bekannten Fällen lymphatischer Leukämien. Die PAS-Reaktion in Gewebeschnitten ist hilfreich für den Nachweis von Mucopolysacchariden. Das Diastase-( $\alpha$ -Amylase) Aufschlussverfahren, gefolgt von der PAS-Färbung, dient als Hilfe bei der Diagnose der Glykogenspeicherkrankheit.

Das PAS-Färbeverfahren kann auch zum Nachweis fungaler Organismen in Gewebeschnitten verwendet werden.<sup>2</sup>

Bei der Behandlung mit Perjodsäure oxidieren Glykole zu Aldehyden. Nach der Reaktion mit dem Schiff-Reagenz (einer Mischung aus Pararosanilin und Natriummetabisulfit) wird ein Pararosanilindaddukt freigesetzt, das die glykohlhaltigen Zellbestandteile färbt.<sup>1</sup> Diese Reaktion kann auf Blut- oder Knochenmarkfilmen, Abklatschpräparaten oder Gewebeschnitten durchgeführt werden.<sup>2,3</sup> Bei Anwendung auf Blut- oder Knochenmarkfilmen kann dieser Test bei der Erkennung einiger Fälle von Erythroleukämien oder akuter lymphoblastischer Leukämien hilfreich sein.<sup>4</sup>

Der Diastase-( $\alpha$ -Amylase) Aufschluss kann als Hilfe bei der Diagnose der Glykogenspeicherkrankheit eingesetzt werden. Die Diastase hydrolysiert Stärke, Glykogen und Abbauprodukte aus diesen Polysacchariden im Gewebe. Die sich aus dem Verdauungsverfahren ergebenden Nebenprodukte werden vor der PAS-Färbung weggespült.<sup>5</sup>

Die Sigma-Aldrich-Verfahren enthalten PAS-Techniken für ein schnelles Färben in Mikrowellenherden.<sup>6,8</sup>

## REAGENZIEN

### PERJODSÄURE-LÖSUNG, Bestell-Nr. 395-1

Perjodsäure, 1 g/dl.

### SCHIFF-REAGENZ, Bestell-Nr. 395-2

Pararosanilin HCl, 1 %, und Natriummetabisulfit, 4 %, in Hydrochloridsäure, 0,25 mol/l.

### HÄMATOXYLIN-LÖSUNG, GILL Nr. 3, Bestell-Nr. GHS-3

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

### AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Die Perjodsäure und das Schiff-Reagenz im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Die Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren. Die Reagenzien sind bis zu dem auf den Etiketten angegebenen Verfalldatum stabil.

### PRODUKTVERFALL:

Die Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 entsorgen, falls sie sich braun (Überoxidierung durch Luft) oder violett (Säureverlust) verfärbt oder wenn die erforderliche Zeit für eine entsprechende Färbung die empfohlene Zeit um mehr als 5 Minuten übersteigt.

### VORBEREITUNG:

Die Perjodsäure-Lösung, das Schiff-Reagenz und die Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, werden gebrauchsfertig geliefert.

Die FORMALIN-ETHANOL-FIXIERLÖSUNG wird durch Mischen von 5 ml Formaldehyd mit 45 ml 95 % Ethanol (Reagenz-Alkohol) zubereitet. Täglich frisch zubereiten und fest verschlossen aufbewahren.

### VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

PAS TISSUE-TROL Kontrollobjektträger bestehen aus Paraffin-eingebettetem menschlichem Gewebe mit PAS und sollten als potenziell infektiös behandelt werden.

### US-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Perjodsäure-Lösung ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Schiff-Reagenz ist TOXISCH. Bei Verschlucken schädlich. Verursacht Verätzungen. Kann Krebs verursachen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Beschränkt auf berufsmäßige Verwendung. Exposition vermeiden – vor Gebrauch spezielle Anweisungen einholen.

Gills 3 Hämatoxylin-Lösung ist SCHÄDLICH. Bei Einatmen äußerst toxisch. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen. Zielorgane: Leber und Nieren.

Reagenz-Alkohol ist ENTZÜNDLICH und REIZEND. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Xylen ist ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Mögliches Risiko einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit. Schädigungen des ungeborenen Kindes möglich. Schädlich bei Einatmen und Hautkontakt. Reizt die Atemwege und die Haut. Gefahr ernster Augenschäden. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

### EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Perjodsäure-Lösung ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen.

Schiff-Reagenz ist TOXISCH. Verursacht Verätzungen. Kann Krebs verursachen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Beschränkt auf berufsmäßige Verwendung. Exposition vermeiden – vor Gebrauch spezielle Anweisungen einholen.

Gills 3 Hämatoxylin-Lösung ist SCHÄDLICH. Bei Einatmen äußerst toxisch. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Reagenz-Alkohol ist HOCHENTZÜNDLICH und REIZEND. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Xylen ist ENTZÜNDLICH und SCHÄDLICH. Schädlich bei Einatmen und Hautkontakt. Reizt die Haut. Kontakt mit den Augen vermeiden.

## VERFAHREN

### PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Es werden frische, Vollblut-, EDTA- oder heparinisierte Blut- oder Knochenmarkfilme verwendet. So schnell wie möglich fixieren.<sup>4</sup>

Für Polysaccharide kann in 10 % neutralem gepuffertem Formalin, Zenker oder Bouin fixiertes Gewebe benutzt werden.<sup>2</sup> Bitte beachten, dass einige Kohlenhydrate wasserlöslich sind.<sup>3</sup> Für den Nachweis von Glykogen werden Carnoy-Lösung, Gendre-Lösung oder saures alkoholisches Formalin empfohlen.<sup>2</sup> Die für die Diastaseextraktion benötigte Zeit kann etwas verlängert werden, wenn das Gewebe in einem pikrinsäurehaltigen Fixiermittel fixiert ist.<sup>2</sup> Die Gewebeschnitte auf 5 Mikron schneiden.

### SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

Formaldehydlösung, 37 %

Reagenz-Alkohol

Whatman Nr. 4 Filterpapier

Für jeden Durchlauf sollten PAS Kontrollobjektträger, wie Sigma PAS TISSUE-TROL, Bestell-Nr. P8814, miteinbezogen werden.

### NUR FÜR VERFAHREN IN DER MIKROWELLE:

ACCUMATE™ H2100 Mikrowellenherd, Bestell-Nr. A 9084 (110 V) oder A 9209 (220 V)

Coplin-Küvette mit belüftetem Deckel

Scott Leitungswasserversatz-Konzentrat

$\alpha$ -Amylase, Typ VI-B, aus Schweinepankreas (nur für das Diastase-Extraktions-Verfahren)

### HINWEISE:

Falls der Sigma-Aldrich H2100 Mikrowellenherd benutzt wird, bitte die in der Bedienungsanleitung enthaltenen Anweisungen beachten.

Es können Blutfilmpräparate von klinisch gesunden Spendern zu Kontrollzwecken miteingeschlossen werden. Polymorphkernige Leukozyten weisen eine intensiv rote Färbung des Zytoplasmas auf. Bei jeder Färbesequenz sollten Gewebeschnitte, von denen bekannt ist, dass sie PAS-positiv sind und/oder Glykogen enthalten, eingeschlossen werden. Dazu bietet Sigma-Aldrich die PAS TISSUE-TROL™, Nr. P 8814 an.

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

### VERFAHREN:

#### I. BLUT, KNOCHENMARK ODER ABKLATSCHPRÄPARATE

##### Standardverfahren:

- Die luftgetrockneten Blutfilme **1 Minute** bei **Raumtemperatur** in Formalin-Ethanol-Fixierlösung fixieren.
- Die Objektträger **1 Minute** unter langsam fließendem Leitungswasser spülen.
- Die Objektträger für **5 Minuten** in Perjodsäure-Lösung, Bestell-Nr. 395-1, bei **Raumtemperatur** eintauchen.
- Die Objektträger mehrmals in destilliertem Wasser spülen.
- Die Objektträger für **15 Minuten** in Schiff-Reagenz, Bestell-Nr. 395-2, bei **Raumtemperatur** eintauchen.  
HINWEIS: Nach Gebrauch das Schiff-Reagenz sofort verschließen und in den Kühlschrank (2–8 °C) zurückstellen.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** waschen.
- Die Objektträger in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, Bestell-Nr. GHS-3 **90 Sekunden** gegenfärben.

- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **15–30 Sekunden** spülen, an der Luft trocknen lassen und mikroskopisch unter einer Ölimmersions-Linse (900x) untersuchen. Die Objektträger können in einem auf Toluol oder Xylen basierenden Fixiermedium fixiert werden.

#### Mikrowellenverfahren:

- Die luftgetrockneten Objektträger bei **Raumtemperatur 1 Minute** in Formalin-Ethanol-Fixiermittel fixieren.
- Die Objektträger **1 Minute** unter langsam fließendem Leitungswasser spülen.
- Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Perjodsäure-Lösung stellen.
- In der Mikrowelle **10 Sekunden** bei **800 Watt** erhitzen.
- Die Objektträger mehrmals gründlich in entionisiertem Wasser spülen.
- Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Schiff-Reagenz stellen.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt 15 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einer Beral-Pipette oder einem Applikatorspachtel mischen und **1 Minute** inkubieren lassen.
- Unter einem warmen, weichen Strahl Leitungswasser **5 Minuten** spülen.
- Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, stellen.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt 10 Sekunden** erhitzen.
- Unter fließendem Leitungswasser **1–2 Minuten** spülen, dann in Working Scott Leitungswasserersatz bei **Raumtemperatur** blau färben.
- Unter fließendem Leitungswasser spülen. An der Luft trocknen lassen.
- Die Objektträger können in einem auf Toluol oder Xylen basierenden Fixiermedium fixiert werden.

#### II. GEWEBESCHNITTE

##### Standardverfahren:

- Die Gewebeschnitte entparaffinieren und in entionisiertem Wasser hydrieren.
- Die Objektträger **5 Minuten** bei **Raumtemperatur** (18–26 °C) in Perjodsäure-Lösung, Bestell-Nr. 395-1, tauchen.
- Die Objektträger in mehrmals gewechseltem destilliertem Wasser spülen.
- Die Objektträger **15 Minuten** bei **Raumtemperatur** (18–26 °C) in Schiff-Reagenz, Bestell-Nr. 395-2, eintauchen.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** waschen.
- Die Objektträger in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, Bestell-Nr. GHS-3 **90 Sekunden** gegenfärben.
- Die Objektträger unter fließendem Leitungswasser spülen.
- Die Gewebeschnitte dehydrieren, reinigen und in auf Toluol oder Xylen basierendem Fixiermittel fixieren.

##### Mikrowellenverfahren für den Diastase-( $\alpha$ -Amylase) Aufschluss:

- Zweifache Test-Objektträger verwenden. Einen Objektträger für den Aufschluss mit Diastase und einen nur für eine PAS-Färbung kennzeichnen.  
HINWEIS: Es werden Objektträger mit einer Gewebekleber-Beschichtung empfohlen. Die Gewebeschnitte beim Diastase-Aufschluss nicht zelloidinieren.<sup>2</sup>
- Die Objektträger entparaffinieren und in entionisiertem Wasser hydrieren.
- Die Diastase ( $\alpha$ -Amylase) Arbeitslösung durch Auflösen von **0,2 g  $\alpha$ -Amylase**, Bestell-Nr. A 3176, in **40 ml** entionisiertem Wasser zubereiten. Gut mischen und in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff geben. Unmittelbar vor Gebrauch zubereiten.
- In der Mikrowelle bei **600 Watt 25 Sekunden** erhitzen.
- Die Objektträger aus der Coplin-Küvette nehmen und unter fließendem Leitungswasser **5 Minuten** spülen.
- Mit den aufgeschlossenen wie auch den nicht aufgeschlossenen Objektträgern mit dem Mikrowellenverfahren für Gewebe ab Schritt 2 weiterfahren.

##### Mikrowellenverfahren:

- Entparaffinieren und in entionisiertem Wasser dehydrieren.
- Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Perjodsäure-Lösung stellen. Die Küvette mit einem losen Deckel oder einem gelochten Deckel abdecken.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt 10 Sekunden** erhitzen.
- Die Objektträger in mehrmals gewechseltem entionisiertem Wasser spülen.
- Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit **40 ml** Schiff-Reagenz stellen.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt 15 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einer Beral-Pipette oder einem Applikatorspatel mischen und **1 Minute** inkubieren lassen.
- Unter einem warmen, weichen Strahl Leitungswasser **5 Minuten** spülen.
- Die Objektträger in eine Coplin-Küvette aus Kunststoff mit Hämatoxylin, Gill Nr. 3, oder Light Green-Lösung geben.
- In der Mikrowelle bei **800 Watt 10 Sekunden** erhitzen.
- a. Bei Verwendung von Gills Hämatoxylin unter fließendem Leitungswasser **1–2 Minuten** spülen, dann in Working Scott Leitungswasserersatz bei **Raumtemperatur** blau färben. Unter fließendem Leitungswasser spülen. Dehydrieren, reinigen und fixieren.
- b. Bei Verwendung von Light Green-Lösung schnell in entionisiertem Wasser spülen, schnell dehydrieren, reinigen und fixieren.

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765

Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122

oder Email an [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

## LEISTUNGSMERKMALE

PAS-positive Substanzen färben sich rosa bis rot und die Zellkerne blau. Ein Diastase-( $\alpha$ -Amylase) Extraktions-Objektträger wird im Vergleich mit unverdauten Gykogen-positiven Kontroll-Objektträgern keine sichtbare PAS-Glykogen-Färbung aufweisen.

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

## LITERATURANGABEN

- 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
- 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

Sigma-Aldrich, Inc. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. 395

Vorherige Ausgabe: 2003-02

Revidiert: 2003-09



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