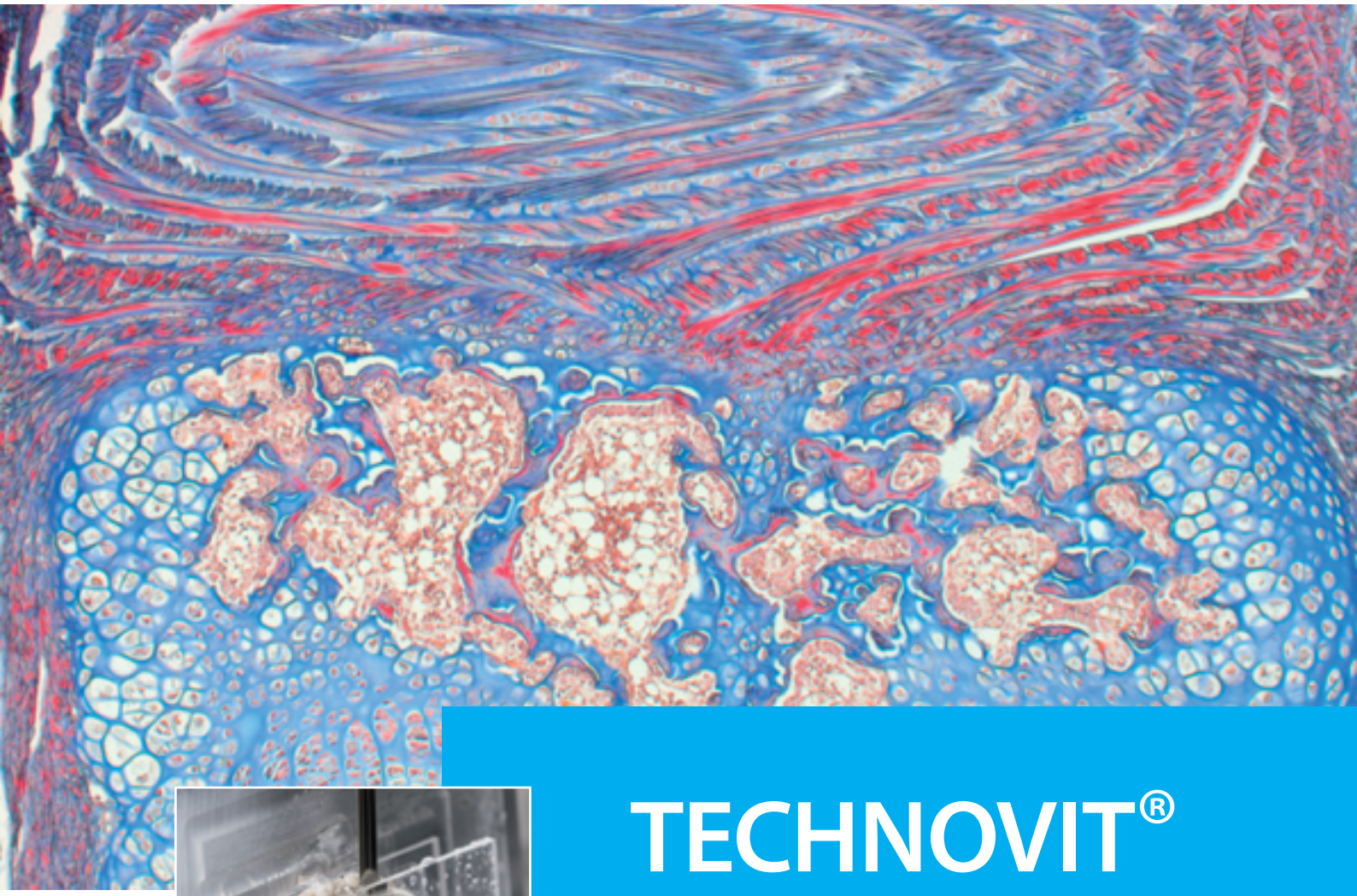
MORPHISTO
Laborchemikalien & Histologieservice



TECHNOVIT®

Polymerisationssysteme für histologische Anwendungen

www.morphisto.de

KULZER
MITSUI CHEMICALS GROUP

Technovit®

Polymerisationssysteme für die Histotechnik

Die moderne Forschung und Diagnostik erfordert immer häufiger die Herstellung von histologischen Schnitten harter Materialien, wie Nägeln, Knorpel, Knochen, Zähnen und Implantaten. Die Technovit®-Kunststoffe der Kulzer GmbH haben sich in der Praxis seit Jahrzehnten hierfür bewährt. Sie werden zu Diagnose- und Forschungszwecken in allen Bereichen der Biologie und Medizin sowie der Werkstoffkunde eingesetzt. Die Kunststoffe weisen ausgezeichnete Infiltrationseigenschaften auf und lassen sich mit herkömmlichen Mikrotomen schneiden bzw. mit speziellen Trenndünnschliff-Systemen (z.B. der Firma EXAKT) sägen, schleifen und fräsen.

Die Polymerisationssysteme erfüllen wichtige Anforderungen, wie Einbetten bei niedriger Temperatur, Dünn- und Semidünnschnitt-Technik sowie optimale Trenn- und Schleifeigenschaften. Die Schnitte lassen sich gut strecken und im Lichtmikroskop zeigen die gefärbten Präparate eine hervorragende Morphologie.

Mit der Histo-Technik von Kulzer GmbH werden die wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Bedingungen für histologische Untersuchungen von Geweben wesentlich verbessert.

- **Einfache Handhabung, da alle Komponenten aufeinander abgestimmt sind.**
- **Durch die besonderen Materialeigenschaften können die in histologischen Laboratorien eingesetzten Standard-Färbemethoden, Enzym- und Immunhistochemie, einschließlich In-situ-Hybridisierung durchgeführt werden.**

Warum Kunststoff?

Im Gegensatz zu allen anderen in der Lichtmikroskopie verwendeten Einbettmitteln für die histologische Technik können nach einer Kunststoffeinbettung gleichmäßige Dünn- und Semidünnschnitte angefertigt werden. Dabei bleiben morphologische Details ausgezeichnet erhalten. In unentkalkten, in Kunststoff eingebetteten Proben lassen sich die mineralisierten und zellulären Strukturen besser bestimmen. Sowohl die Mineralmatrix als auch die knorpeligen und ligamentösen Gewebe sind sehr gut erhalten.

Die Ergebnisse enzymatischer, immunhistochemischer Untersuchungen und auch von In-situ-Hybridisierung zeigen eine sensiblere und spezifischere Aktivität, da alle Technovit-Kunststoffe durch die spezielle Zusammenstellung der Polymerisationssysteme bei niedrigen Temperaturen und auch Minusgraden aushärten.

Inhalt

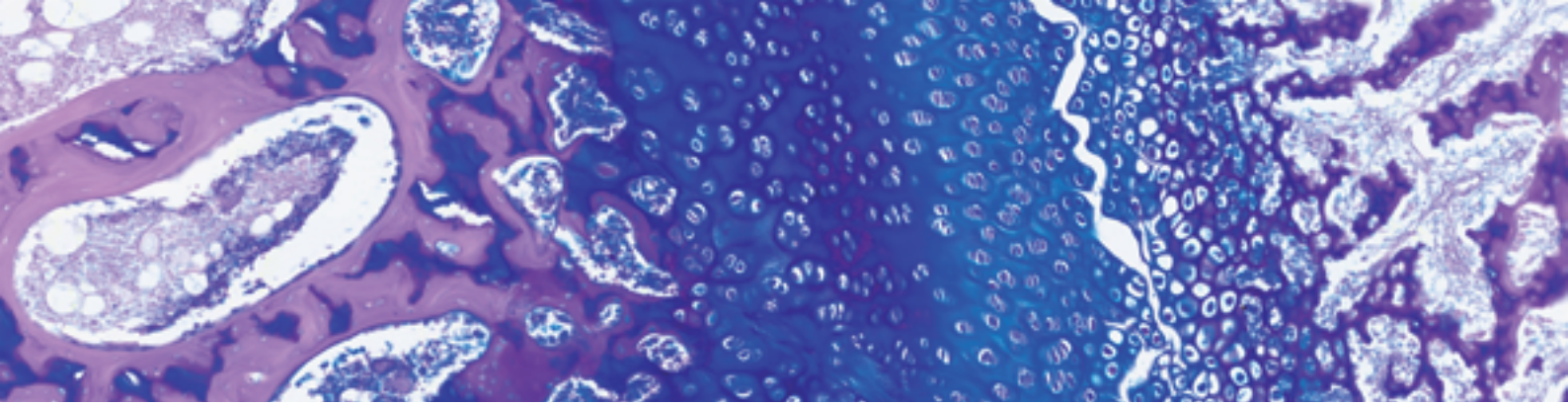
POLYMERISATIONSSYSTEME

4 **Technovit® 7100**
Schnitte für histologische und industrielle Anwendung

12 **Technovit® 8100**
Schnitte speziell für die Immunhistochemie

20 **Technovit® 9100**
Schnitte - Schliffe

30 **Technovit 7200 VLC**
Trenn-Dünnschliff-Technik



Technovit® 7100

Schnitte für histologische und industrielle Anwendung

Technovit 7100 ist ein Kunststoffeinbettsystem auf Basis von HEMA (2-Hydroxyethylmethacrylat, bzw. GMA = Glycolmethacrylat). Verwendung findet das hydrophile Harz in Medizin, Botanik, Zoologie sowie in der Industrie zur Einbettung von Geweben für lichtmikroskopische Untersuchungen. Die Schnitte können für histologische Färbungen und Enzymnachweise genutzt werden.

Technovit 7100 polymerisiert transparent aus. Aus den Blöcken lassen sich am Rotationsmikrotom gleichmäßig dünne Schnitte herstellen. Ein Herauslösen des Kunststoffes aus dem Block und dem Schnitt ist nicht erforderlich und auch nicht möglich.

Die Vorteile auf einen Blick

- Unkomplizierte Handhabung.
- Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit der Einbettungen durch ständige, dokumentierte Qualitätskontrollen der einzelnen Komponenten.
- Niedrige Polymerisationstemperatur durch gekühlte Tefloneinbettformen.
- Gleichmäßige Härte des Blockes, dadurch gleichmäßige, dünnste Schnitte gewährleistet.
- Geringe Schrumpfungsartefakte, deshalb hervorragende Morphologie der Gewebe.
- Neben Routinefärbungen auch Enzymnachweise möglich.
- Weniger toxisch durch Katalysator aus Barbitursäure
- Polymerisation bei Raumtemperatur (20 °C).
- Kein luftdichtes Abschließen während der Aushärtung erforderlich.
- Bei hämatologischen Beckenkammbiopsien keine Entkalkung erforderlich.

Materialeigenschaften

Die chemische Polymerisation von Technovit 7100 wird mit Hilfe eines Barbitursäurederivates in Kombination mit Chloridionen und Benzoylperoxid eingeleitet. Das Katalysatorsystem enthält, im Vergleich zu herkömmlichen Systemen, keine aromatischen Amine.

Anwendung

Technovit 7100 der Step by Step-Anleitung entsprechend ansetzen. Die fixierten und dehydrierten Proben zuerst in die Präinfiltrations-, danach in die Infiltrationslösung legen. Vakuumintervalle und/oder Agitation während der einzelnen Schritte beschleunigen den Einbettvorgang. Proben für industrielle Anwendungen werden direkt in die Infiltrationslösung gegeben oder auch ohne Vorbehandlung ausgehärtet.

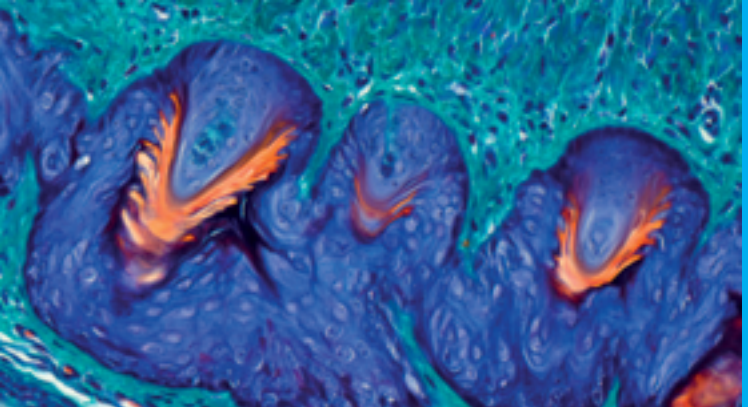
Polymerisation

Das Polymerisationsgemisch nach Anleitung ansetzen, in die Einbettmulden füllen und darin sofort die infiltrierten Proben orientieren. Die Polymerisation erfolgt bei folgenden Temperaturen:

Polymerisationstemperatur in:

- Histoform S 32 °C – 38 °C
- Histoform Q 40 °C – 45 °C

Nach der Aushärtung (ca. 1½ h) mit Histobloc und Technovit 3040 aufblocken (siehe auch Seite 15).



Technovit 7100
findet in vielen Bereichen Anwendung: organischen Präparaten, Kunststoffen, Folien & Papier, Fasern und vielen mehr ...

Weitere Anwendungsgebiete

Wenn es um die Anfertigung von Schnitten eingebetteter Materialen geht, ist Technovit 7100 DAS Material der Wahl. Das ursprünglich für die Histologie entwickelte Technovit 7100 hat sich aufgrund seiner universellen Anwendungsmöglichkeiten seit Jahren auch in der Industrie bewährt.

Anwendungsgebiete sind zum Beispiel Einbettungen und Schnitte von:

- Kunststoffen
- Folien
- Papier
- Textilien
- organischen Präparaten
- Fasern

Materialeigenschaften

In Fällen, in denen Materialproben geschnitten und lichtmikroskopisch untersucht werden, ermöglicht die Einbettung mit Technovit 7100 Schnitte im µm-Bereich. Mit dem auf dieses System abgestimmten Einwegmessern Technovit Histoblade können die Proben kostengünstig in hoher Qualität geschnitten werden.
Die Präparationen dieser Materialproben unterscheidet sich nur geringfügig von den medizinischen Proben. In vielen Fällen ist das Einlegen in die Vorbereitungslösung nicht notwendig, wie z. B. bei Folien und Kunststoffen.

Hinweise zum Einbetten nicht medizinischer Gewebeproben

- Bei Papier und Textilien ist eine Infiltration in der Vorbereitungslösung im Vakuum zu empfehlen.
- Biologische Präparate werden wie medizinische Proben behandelt (fixiert, entwässert und anschließend infiltriert).
- Materialien, die weniger temperaturempfindlich sind, können auch in größeren Formen als den Teflon-einbettformen S und Q eingebettet werden.

Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
12227.K0500	Technovit 7100 Kombipack	500 ml Basislösung 5 x 1 g Härter 1 1 x 40 ml Härter 2

Technische Daten	
Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm3 (DIN 53479)	1,07
Brechungsindex monomer polymer	 1,4540 1,5050
Lagertemperatur	max. 25 °C
Haltbarkeit	2 Jahre

Die Verarbeitung

Je nach Beschaffenheit der industriellen Probe, z. B. nicht poröse Materialien wie Folien etc., kann auf die Schritte 1 – 4 (Fixierung bis Infiltration) verzichtet werden. Es kann direkt mit der Polymerisation begonnen werden.

Fixierung

Die Gewebestücke wie erforderlich fixieren und nachbehandeln.

Entwässerung

Die Dehydration erfolgt in Ethanol oder auch Aceton, eine stufenweise Entwässerung mit HEMA in Puffer ist möglich (+4 °C).
Wechselvakuum und Agitation sind zur besseren Durchdringung während des Einbettprozesses hilfreich. Ein Intermedium ist vor der Präinfiltration nicht erforderlich.

Präinfiltration

Letzte Alkohollösung der Entwässerungsreihe zu gleichen Teilen mit Basislösung Technovit 7100 ansetzen und nach Zugabe der Proben ca. 2 h bei Raumtemperatur (20 °C) inkubieren (z. B. in 50 ml 96 % Ethanol : 50 ml Basislösung Technovit 7100).

Infiltration

- Basislösung Technovit 7100 — 100 ml
- + Technovit 7100 Härter 1 — 1 g (1 Beutel)

In einem sauberen (spülmittelfreien) Glas- oder Polyethylen-Gefäß ca. 10 min lösen. Die Infiltrationslösung ist verschlossen bei 4 °C maximal 4 Wochen stabil.
Die Proben je nach Größe in einem ausreichend großen Volumen der Infiltrationslösung bis zu 24 h (Raumtemperatur) oder länger bei 4 °C infiltrieren. Ein kurzes Vakuum (Wasserstrahlpumpe) und Agitation sind hilfreich.

Polymerisation

Herstellung der Polymerisationslösung (Einmalgefäße):

- Infiltrationsmedium (ungenutzt) — 15 ml
- + Technovit 7100 Härter 2 — 1 ml

ca. 3 – 5 min mischen.
Hierzu handelsübliche Pipettierhilfen verwenden!

Einbetten in Teflonformen

Die Einbettmulden der Histoform zur Hälfte mit der Polymerisationslösung füllen (Einmalpipette), die vorbereitete Probe darin orientieren und die Form auffüllen **(nur die Mulde, nicht die gesamte Aussparung).** Die Polymerisation erfolgt entweder komplett (2 h) bei Raumtemperatur oder 1 h bei Raumtemperatur und anschließend 1 h bei 37 °C im Wärmeschrank.

Während der Polymerisation erwärmt sich der Kunststoff. Hierbei dürfen bestimmte Temperaturbereiche nicht überschritten werden, damit der Block nicht spröde wird und sich dann nicht mehr schneiden lässt. Folgende Tabelle zeigt die Abhängigkeit der maximalen Polymerisationstemperatur von der Umgebungstemperatur.

Umgebungstemp.	Histoform S	Histoform Q
Raumtemp. ca. 20 °C	32 °C	37 °C
Kühlschrank 4 °C	16 °C	23 °C
Kühlschrank auf Eis 0 °C	10 °C	18 °C

Die leicht klebrige Oberfläche (Inhibitionsschicht) kann mit einem fusselfreien Einmal-Tuch abgewischt werden. **Eine zu hohe Luftfeuchtigkeit begünstigt eine stärkere Inhibitionsschicht!**

Herstellung der Lösungen im Überblick

Lösung	Ethanol	Basislösung Technovit 7100	Härter 1 Technovit 7100	Infiltrationslösung	Härter 2 Technovit 7100	Anwendungstemperatur
Präinfiltration	1 Teil	1 Teil				Raumtemperatur
Infiltration		100 ml	1 g (1 Beutel)			Raumtemperatur / 4°C
Polymerisation S Q				15 ml 30 ml	1 ml 1,5 ml	Raumtemperatur / 32°C Raumtemperatur / 37°C

Ausblocken, Weiterverarbeiten, Archivieren

Technovit 3040

Um die polymerisierten Blöcke wieder aus den Teflonformen herauszulösen, werden die Histobloc-Trägerteile mit einem weiteren Technovit-Kunststoff auf die polymerisierten Blöcke aufgeklebt und schließlich aus der Form herausgezogen.

Technovit 3040 ist ein schnellhärtender 2-Komponenten-Kunststoff auf Methylmethacrylat (MMA)-Basis, der aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung eine stabile, dauerhafte Verbindung mit dem ausgehärteten Block Technovit 7100 (sowie Technovit 8100 oder Technovit 9100) eingeht.

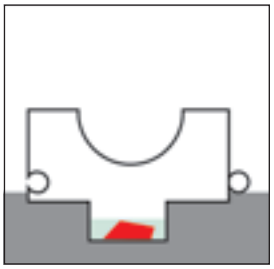
Histobloc – Trägerteile

Die Histobloc-Träger sind adaptierbar für die Histoform S und Q oder auch für die Histoform N und lassen sich in allen Mikrotomen mit Universalhalterung fest einspannen.

Ablauf

Nach der vollständigen Polymerisation wird das Trägerteil Histobloc in die dafür vorgesehene Aussparung der Teflon-einbettform Histoform S/Q eingelegt.

Technovit 3040 möglichst dickflüssig anrühren (Mischungsverhältnis etwa 3 : 1 / Pulver : Flüssigkeit) und das Gemisch in die Aussparung des Histoblocs gießen.

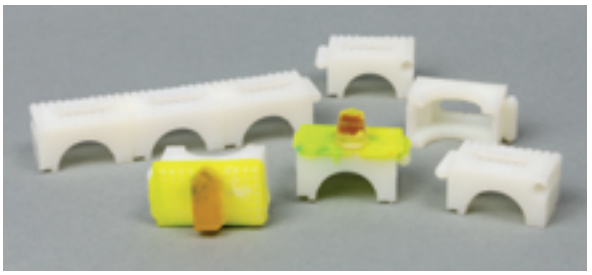


Je nach Raumtemperatur ist Technovit 3040 in 5 – 10 Minuten ausgehärtet und der Histobloc mit der Probe fest verbunden.

Die Probe kann jetzt aus der Form gelöst werden und ist bereit zum Schneiden. Durch das Aufblocken mit dem sehr harten Technovit 3040 wird das elastische Technovit 7100 bzw. Technovit 8100 so stabilisiert, dass auch dünnste Schnitte möglich sind.

Weiterverabeitung

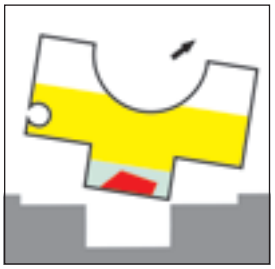
Die Blöcke in die Backenklemmvorrichtung am Rotationsmikrotom fest einspannen. Zum Schneiden der Blöcke, Histoblade (in Kombination mit dem Kulzer Messerhalter) oder Hartmetallmesser (Messerwinkel beachten) benutzen. Den Schnitt trocken mit einer Pinzette abnehmen und auf ein Wasserbad zum Strecken (Aqua dest.) aufbringen. Auf saubere, fettfreie, beschichtete oder unbeschichtete Objektträger aufziehen. Vor der Färbung mindestens 15 Minuten oder über Nacht bei 60 °C trocknen lassen. Die nicht entplasteten Schnitte direkt in die Farblösung bringen. Ein 5-µm-Schnitt muss für die gewünschte Farbintensität länger gefärbt werden als ein 1-µm-Schnitt.



Lagern und Archivieren der Proben

Zur besseren Archivierung lassen sich die Histoblocs aneinanderstecken. Damit werden eine fortlaufende Nummerierung und platzsparende Lagerung ermöglicht.

Für histochemische und immunhistologische Untersuchungen ist es empfehlenswert, die Blöcke in PE-Tüten bei 4 °C oder länger auch bei –20 °C aufzubewahren.



Schneiden am Mikrotom

Technovit 7100-Proben können an handelsüblichen Mikrotomen in Dicken von bis zu 1 µm geschnitten werden. Zur Anwendung kommen dabei Messer in D-Schliff in einer Hartmetallausführung. Normale D-Messer sind verwendbar, liefern aber keine optimalen Ergebnisse.
Einweg-Messer aus Hartmetall sind nur dann geeignet, wenn sie als massive Ausführung speziell für Kunststoff-Schnitte vorgesehen sind.
Das **Einmal-Histoblade** von Kulzer ist eine solche speziell zum Schneiden von in HEMA (2-Hydroxyethylmethacrylat) eingebetteten Gewebeproben sowie auch Materialien in der industriellen Anwendung bis zu 1 µm Schnittdicke geeignete Hartmetallklinge. Zusammen mit dem stabilen Klingenhalter steht somit eine preisgünstige Alternative zu anderen Messern zur Verfügung, die in allen handelsüblichen Mikrotomen eingesetzt werden kann. Hierzu gibt es verschiedene Messerhalter:

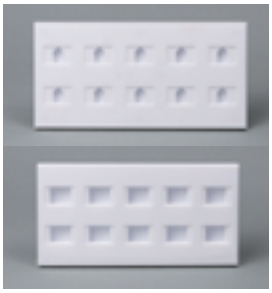
- Messerhalter „NR“ oder „SL“ für Microm/Thermo-Mikrotome; Messerwinkeleinstellung 9°
- Messerhalter „N“ für Reichert-Jung/Leica-Mikrotome; Messerwinkeleinstellung 0°

Die Vorteile:

- Schwere, stabile Ausführung
- Einfache Handhabung
- Gute Schneideergebnisse bis 1 µm Schnittdicke
- Optimierte Schnittqualität
- Verbesserte Standzeit

Maße:
Histoblade: 60 x 19 x 1 mm, 2 Bohrungen à 4 mm
Messerhalter: 170 x 34 x 10 mm

Zubehör und Ergänzung



Histoformen S & Q:
Spezielle Einbettformen aus Teflon mit Edelstahlboden zur Wärmeabführung mit 10 Mulden.

Histoform S
Maße: B x H x T:
ca. 10 x 16 x 6,5 mm.

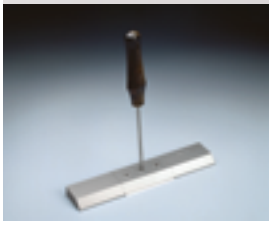
Histoform Q
Maße: B x H x T:
ca. 20 x 16 x 10 mm.

Histobloc -Trägerteile
Die Histobloc-Träger sind adaptierbar für die Histoform S + Q, sowie für die Histoform N oder N+ (Technovit 9100).

Anrührspatel
Holzspatel zum Mischen von Technovit 3040

Technovit 3040
Schnellhärtender 2-Komponenten-Kunststoff zum Aufblocken und Befestigen ausgehärteter Proben auf Histoblocs.

Anrührbecher
Pappbecher zum Mischen von Technovit 3040



Histoblade und Messerhalter
Histoblade ist speziell zum Schneiden von Proben die in Technovit 7100 oder 8100 eingebettetet wurden. Der Messerhalter lässt sich in den Mehrwegmesserhalter handelsüblicher Mikrotome einspannen.

Einbettung in Technovit 7100

Hersteller: Kulzer GmbH, **Kunststofftyp:** HEMA (Hydroxy-ethyl-methacrylat)
Eignung: nicht mineralisierte weiche und feste Gewebe, **Fixative**: Formalin, PFA, Glutardialdehyd, Alkohol, Schaffer
Nachbehandlung: Fixativ gem. üblicher Vorschriften entfernen, ggf. wässern und bis 70 % Ethanol hochführen

Infiltrationsstufen		Dauer	Vorgang
Zeiten gelten für Probengrößen von ca. 5 mm³ => pro weitere 5 mm³ Zeiten verdoppeln			
Ethanol 70 %		2 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 80 %		2 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 90 %		2 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 96 %		2 - 4 h	Dehydrieren
Ethanol 96 %		2 - 4 h	Dehydrieren
Prä-Infiltrationslösung I • 100 ml Basislösung Technovit 7100 • 100 ml Ethanol 96 %	im Verhältnis 1 : 1 mischen	3 - 6 h	Infiltrieren
Infitrationslösung • 100 ml Basislösung Technovit 7100 • 1 g Härter 1 (= 1 Päckchen)	langsam unter Rühren hinzugeben, mind. 30 Minuten rühren lassen	8 - 24 h	Infiltrieren (für größere Proben ggf. mehrere identische Stufen nacheinander)
Ausgießen und Aushärten			
Ausgieß-Lösung / Einbett-Lösung **Stammlösung:** • 100 ml Basislösung Technovit 7100 • 1 g Härter 1 (= 1 Päckchen)	langsam unter Rühren hinzugeben, mind. 30 Minuten rühren lassen	einige Stunden, je nach Größe: **< 5 ml: 1 h ~20 °C dann 1h ~37 °C** **> 5 ml: bei ~4 °C**	Eingießen der Präparate in Teflon- oder Kunststoffformen Polymerisieren gem. links stehender Angaben
Gebrauchslösung • 15 ml Stammlösung (o. Vielfaches) • 1 ml Härter 2 (o. Vielfaches)	einige Minuten rühren, **sofort verwenden**		
maximal 45 ml herstellen, sonst zu schnelles Aushärten			

Sägen / Schleifen, Schneiden, Fräsen

Diamandband- / Innenlochsäge:	**Rotationsmikrotom:**	**Ultrafräse:**
• Trenn-Dünnschliff-Techniken sind nicht möglich: Kunststoff zu weich	• D-Messer (Hartmetall) oder Kulzer HistoBlade • Schnittdicke: 1 - 10 µm • Schneiden und Srecken mit Aqua dest.	• Einsatz bedingt möglich mit Fräskopf für weiche Proben

Dauer der Infiltration: ca. 2 - 8 Tage (je nach Probengröße)

Färbung von Technovit 7100 Schnitten

Technovit 7100 Schnitte können mit vielen histologischen Färbeverfahren gefärbt werden, um Gewebe besser zu differenzieren.

Bei histologischen Färbungen von Technovit 7100 Schnitten ist zu berücksichtigen, dass der Kunststoff selbst nicht entfernt werden kann. Somit steht nur die eigentliche Schnittoberfläche als Reaktionskomponente für die Färbungen zur Verfügung, und nicht, wie bei entparaffinierten oder entplasteten Schnitten, der gesamte Gewebeschnitt. Dies hat Konsequenzen für die Färbung:

Zum einen sind längere Färbezeiten notwendig, zum anderen färben manche Farbstoffe den Kunststoff selbst an. Außerdem können manche Farbstoffe, bzw. Beizlösungen oder die flüssige Basis der Farbstoffe (Alkohole) den Kunststoff selbst angreifen und die Schnitte ggf. unbrauchbar machen. Gewünschte Färbungen sind daher grundsätzlich an Testproben zu etablieren und Inkubationsdauern in den einzelnen Lösungen so kurz wie möglich zu halten.

Vorbereitung

Die Objektträger mit den Schnitten werden ***trocken, ohne weitere Vorbehandlung*** direkt in die erste Färbelösung eingetaucht. Eine Vorbehandlung in Alkohol oder Wasser ist nicht notwendig!

Durchführung

Die Färbung erfolgt gem. dem üblichen Prozedere für eine histologische Färbung. Zuerst werden Feinstrukturen (z.B. Zellkerne) gefärbt, anschließend Zellplasma, zuletzt Fasern und Grundsubstanz. Die Färbezeiten ergeben sich je nach gewünschtem Ergebnis und müssen für jede Probenart empirisch ermittelt werden.

Exemplarisches Färbeprotokoll H&E:

Trockene Schnitte verwenden!

Schritt 1: Hämatoxylin nach Gill III	5 min
Schritt 2: Bläuen in Leitungswasser	10 min
Schritt 3: Spülen in Aqua dest	kurz
Schritt 4: Eosin alkoholisch	2 - 5 min
Schritt 5: Ethanol 96 %	1 min
Schritt 6: Ethanol 99 %	1 min
Schritt 7: Ethanol 99 %	1 min
Schritt 8: Xylol	1 min
Schritt 9: Xylol	1 min
Schritt 10: Eindecken	

Geeignete und ungeeignete Färbungen

Aus dem breiten Spektrum histologischer Färbungen können nahezu alle auf wässriger und alkoholischer Basis bestehenden Färbelösungen verwendet werden. Gewisse Schwierigkeiten treten bei stark sauren Färbelösungen oder Beizlösungen mit Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure auf, wenn lange Beizzeiten notwendig sind.

Nachbehandlung und Eindecken

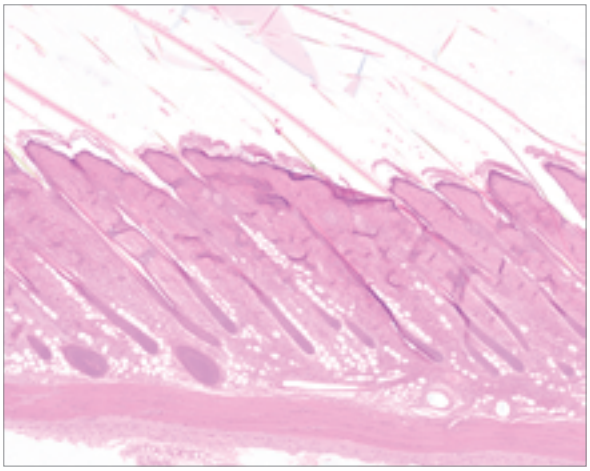
Fertig gefärbte Schnitte werden in üblicher Weise über eine Alkoholreihe dehydriert und dann nach 1-2 Xylolschritten eingedeckt. Die verschiedenen Zusammensetzungen der Eindeckmedien führen jedoch oft zu nachträglichen Reaktionen. Es empfiehlt sich vor Verwendung eines Eindeckmediums dieses auf Verträglichkeit zu testen.

Erprobte und abgestimmte Färbekits:

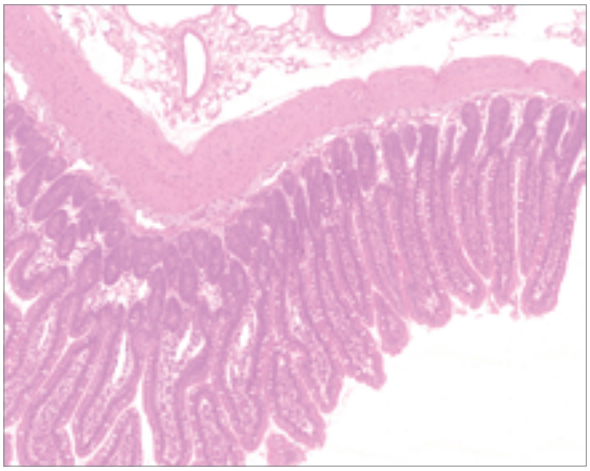
Aus unserem Programm sind viele Färbekits und Einzellösungen für die Färbung von Technovit 7100 geeignet.

Art.-Nr.	Bezeichnung
12156	Hämatoxylin & Eosin (H&E)
12153	PAS-Reaktion
15631	Feulgen-Färbung
11097	Berliner Blau

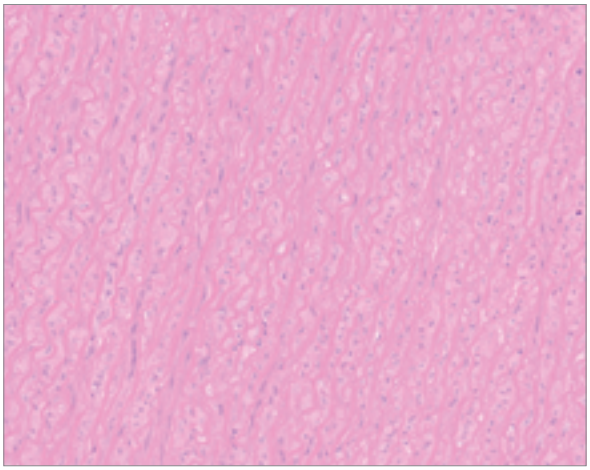
Beispielfärbungen von Technovit 7100 Schnitten



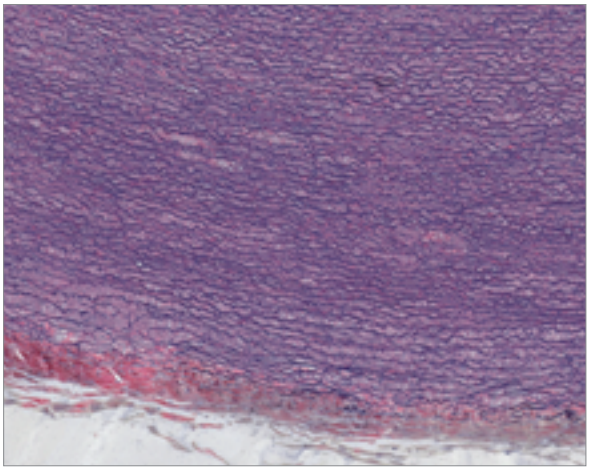
Ratte, Haut, Hämatoxylin & Eosin, Art.-Nr.: 12156



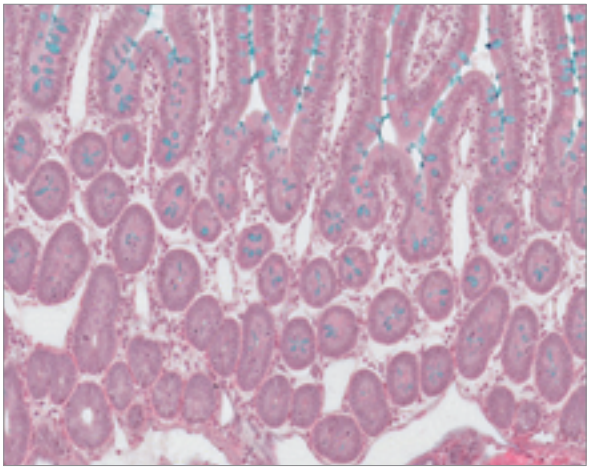
Ratte, Darm, Hämatoxylin & Eosin, Art.-Nr.: 12156



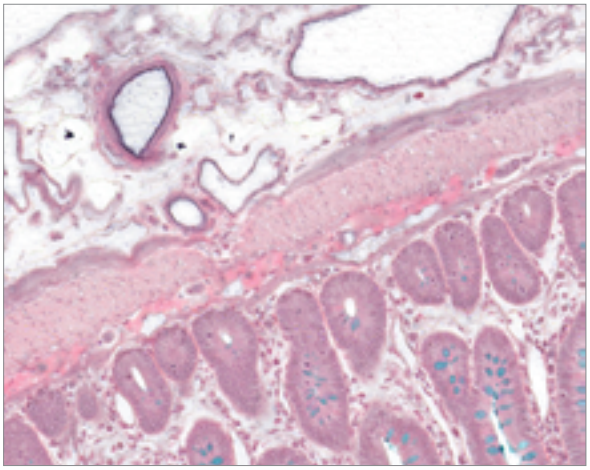
Ratte, Aorta, Hämatoxylin & Eosin, Art.-Nr.: 12156



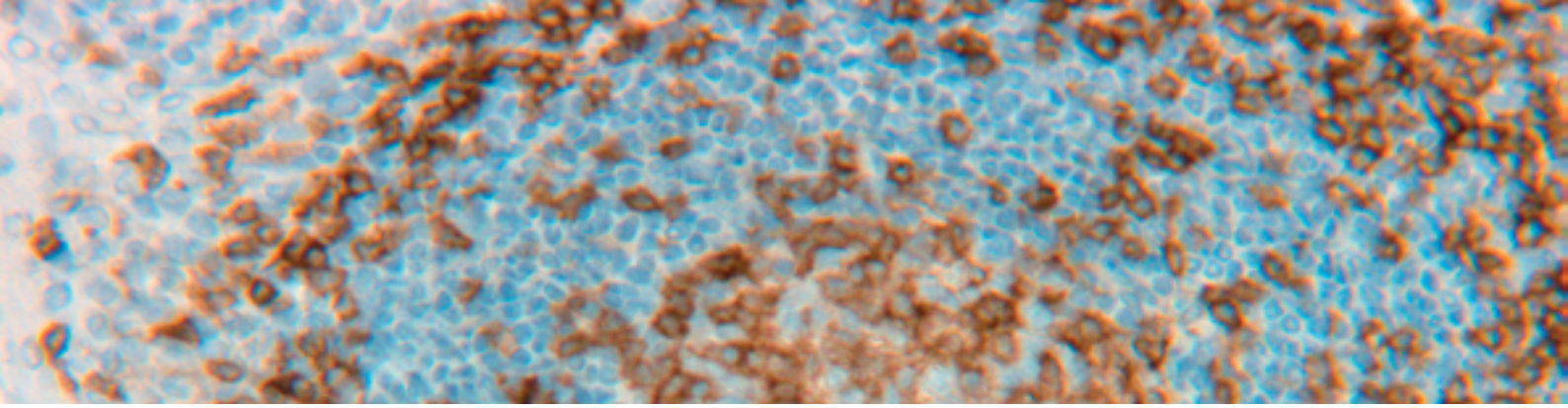
Ratte, Aorta, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061



Ratte, Darm, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061



Ratte, Aorta, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061



Technovit® 8100

Schnitte speziell für die Immunhistochemie

Technovit 8100 ist ein Kunststoffeinbettsystem auf Basis von HEMA für lichtmikroskopische Untersuchungen. Es eignet sich zum Einbetten von allen Geweben in Medizin, Zoologie und Botanik. Schnitte von nicht entkalkten oder kurzentkalkten Beckenkammbiopsien und implantierte Biomaterialien können nicht nur für histologische Färbungen genutzt werden, sondern auch für Enzym- und Immunhistochemie.

Materialeigenschaften

Technovit 8100 ist eine Kombination von einem nahezu geruchsfreien Weichmacher und einem hydrophilen Kunststoff. Technovit 8100 ist speziell für die Kältepolymerisation (4 °C) entwickelt worden.

Während der Aushärtung muss die Einbettform absolut luftdicht verschlossen sein, da das Polymerisationssystem sauerstoffempfindlich ist.

Die Vorteile auf einen Blick

- Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit der Einbettungen durch ständige und dokumentierte Qualitätskontrollen der einzelnen Komponenten.
- Niedrige Polymerisationstemperatur von 0 °C - 10 °C durch das spezielle Katalysatorsystem und die Teflonformen.
- Uniforme Härte des Blockes, dadurch gleichmäßige, dünnste Schnitte.
- Geringe Schrumpfungsartefakte, deshalb hervorragende Morphologie der Gewebe.
- Routinefärbungen, Enzymnachweise und Immunhistochemie möglich.
- Hämatologische Beckenkammbiopsien müssen nicht entkalkt werden.
- Geringe Toxizität durch spezielle Kombination von Weichmacher und Katalysatorsystem.

Anwendung

Technovit 8100 der Step by Step-Anleitung entsprechend ansetzen. Die fixierten und dehydrierten Proben in die Infiltrationslösung legen. Eine niedrige Temperatur und Agitation der Proben während des gesamten Einbettvorgangs sind vorteilhaft.

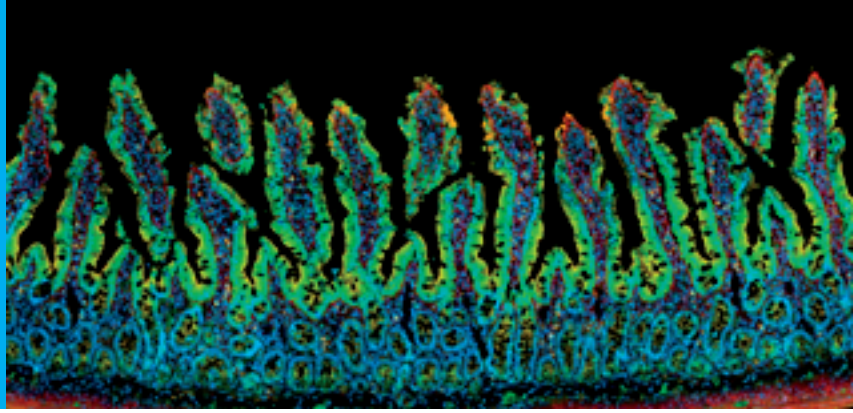
Polymerisation

Das Polymerisationsgemisch nach Anleitung ansetzen und in die Einbettmulden füllen. Die infiltrierten Proben darin ausrichten. Mit Folien die Mulden luftdicht abdecken. Zur Aushärtung die Einbettform auf eine vorgekühlte Gelplatte oder dünne Eisschicht bei 4 °C stellen.

Nach Abschluss der Polymerisation werden die Folien entfernt und mit Histobloc und Technovit 3040 aufgeblockt.

Ein Herauslösen des Kunststoffes vor der Färbung oder Reaktion ist nicht möglich.

Schnitte mit Technovit 8100 können nicht nur für histologische Färbung genutzt werden, sondern auch für Enzym- und Immunhistochemie.



Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
12226.K0500	Technovit 8100 Kombipack	500 ml Basislösung 5 x 0,6 g Härter 1 1 x 30 ml Härter 2 1 x 500 Stk. PE-Folien

Technische Daten	
Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm3 (DIN 53479)	1,08
Brechungsindex monomer polymer	 1,4485 1,4990
Lagertemperatur	max. 25 °C
Haltbarkeit	2 Jahre

Die Verarbeitung

Die folgende Anleitung zur Fixierung und Dehydrierung ist nicht zwingend erforderlich. Technovit 8100 kann auch nach einer anderen Vorbehandlung infiltriert und polymerisiert werden.

Für den ganzen Prozess sind dicht schließende Glas- oder PE-Einmalgefäße (ca. 20 ml) zu verwenden!

TIPP:
Bei der Fixierung, Entwässerung und Infiltration müssen die Proben ständig bewegt werden!

Fixierung

Um optimale immunhistochemische Ergebnisse zu erzielen, wird empfohlen, während des gesamten Einbettvorganges bei 4 °C zu arbeiten und kurze Fixationszeiten anzustreben. Möglichst kleinste Gewebestücke (1 mm Dicke) in 2 %-igem Paraformaldehyd in Phosphatpuffer pH 7,4 bei 4 °C für 3 bis 4 Stunden fixieren. Anschließend 12 Stunden (über Nacht) in Phosphatpuffer pH 7,4 mit einem Zusatz von 6,8 % Saccharose bei 4 °C nachbehandeln.

Entwässerung

Das Gewebe in kaltem Aceton (100 %) für mindestens 1 Stunde bei 4 °C dehydrieren. Während der ersten Minuten so häufig wechseln, bis das Aceton klar bleibt.

Infiltration

- Technovit 8100 Basislösung 100 ml
- + Technovit 8100 Härter 1 1 Beutel, 0,6 g

In einem sauberen, spülmittelfreien PE- oder Glasgefäß lösen und dann in 4 °C lagern. Die Infiltrationslösung ist bei 4 °C verschlossen maximal 4 Wochen stabil.

Probe aus dem Aceton direkt in die vorgekühlte Infiltrationslösung überführen. Darin bleiben die Proben 6 – 10 Stunden bei 4 °C.

Polymerisation

- Infiltrationslösung, 4 °C 15 ml
- + Technovit 8100 Härter 2, 4 °C 0,5 ml

Mit handelsüblichen Pipettierhilfen abmessen und im PE- oder Glasgefäß gut mischen. Zu diesem Polymerisationsgemisch die infiltrierten Proben geben, das Gefäß verschließen und ca. 5 Minuten vorsichtig weiter mischen.

Die Farbe der Polymerisationslösung verändert sich zunächst gelblich-grünlich, wird aber farblos nach der Aushärtung.

Mit einer Einmalpipette die Mulden der Histoform vollständig füllen, das Gewebe darin orientieren und sofort mit der mitgelieferten transparenten PE-Folie abdecken. Um die Mulde luftdicht zu verschließen, können auch mehrere Folien für eine Mulde verwendet werden. Blasen nicht herausdrücken, sondern Polymerisationslösung nachlegen und neue Folie auflegen. Während der Polymerisation (mindestens 3 Stunden) muss die Einbettform auf einer Kühlplatte oder dünnen Eisschicht bei 4 °C stehen. Form und Proben nicht mit Feuchtigkeit in Kontakt bringen.

Maximale Polymerisatiionstemperatur abhängig von der Umgebunstemperatur

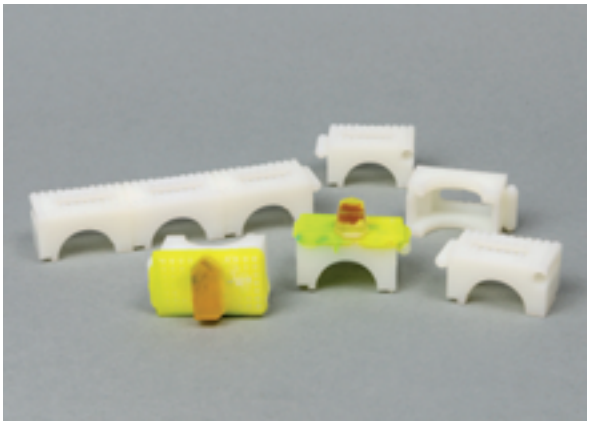
Histoform Q

Material	Raumtemp. ca. 20 °C	Kühlschrank 4 °C	Kühlschrank auf Eis 0 °C
Technovit 8100 30:1	—	69 °C	48 °C
Technovit 8100 35:1	—	52 °C	42 °C

Maximale Polymerisatiionstemperatur abhängig von der Umgebunstemperatur

Histoform S

Material	Raumtemp. ca. 20 °C	Kühlschrank 4 °C	Kühlschrank auf Eis 0 °C
Technovit 8100 30:1	69 °C	21 °C	12 °C
Technovit 8100 35:1	67 °C	19 °C	11 °C



Herstellung der Lösungen im Überblick

Lösung	Ethanol	Basislösung Technovit 8100	Härter 1 Technovit 8100	Infiltrations-lösung	Härter 2 Technovit 8100	Anwendungs-temperatur
Infiltration		100 ml	0,6 g (1 Beutel)			4 °C
Polymerisation S				15 ml	0,5 ml	4 °C auf Eis

Ausblocken, Weiterverarbeiten, Archivieren

Technovit 3040

Um die polymerisierten Blöcke aus den Teflonformen wieder herauszubekommen, werden die Histobloc-Trägerteile mit einem weiteren Technovit-Kunststoff auf die polymerisierten Blöcke aufgeklebt und dann aus der Form herausgezogen.

Technovit 3040 ist ein schnellhärtender 2-Komponenten-Kunststoff auf Methylmethacrylat (MMA)-Basis, der aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung eine stabile, dauerhafte Verbindung mit dem ausgehärteten Block Technovit 7100 (sowie Technovit 8100 oder Technovit 9100) eingeht.

Histobloc – Trägerteile

Die Histobloc-Träger sind adaptierbar für die Histoform S und Q oder auch für die Histoform N und lassen sich in allen Mikrotomen mit Universalhalterung fest einspannen.

Ablauf

Nach der vollständigen Polymerisation wird das Trägerteil Histobloc in die dafür vorgesehene Aussparung der Tefloneinbettform Histoform S/Q eingelegt.

Technovit 3040 möglichst dickflüssig anrühren (Mischungsverhältnis etwa 3 : 1 / Pulver : Flüssigkeit) und das Gemisch in die Aussparung des Histobloc gießen.

Je nach Raumtemperatur ist Technovit 3040 in 5 – 10 Minuten ausgehärtet und der Histobloc mit der Probe fest verbunden.

Die Probe kann jetzt aus der Form gelöst werden und ist schneidefertig. Durch das Aufblocken mit dem sehr harten Technovit 3040 wird das elastische Technovit 7100 bzw. Technovit 8100 so stabilisiert, dass auch dünnste Schnitte möglich sind.

Weiterverabeitung

Die Blöcke fest in die Backenklemmvorrichtung am Rotationsmikrotom einspannen. Zum Schneiden der Blöcke Histoblade (in Kombination mit dem Kulzer Messerhalter) oder Hartmetallmesser (Messerwinkel beachten) verwenden. Den Schnitt trocken mit einer Pinzette abnehmen und auf ein Streckbad (Aqua dest.) aufbringen. Auf **beschichtete Objektträger** aufziehen und 2 Stunden oder länger bei 37 °C trocknen. Nicht sofort benötigte Schnitte (für die Immunhistochemie) bei Raumtemperatur trocknen und maximal 5 Tage bei 4 °C lagern.

Vor der Färbung bzw. dem Immun-Nachweis müssen die Schnitte mindestens 2 Stunden bei 37 °C getrocknet sein. Die Schnitte dann direkt in die Farblösung bringen oder mit der enzymatischen Vorbehandlung beginnen (s. S. 18).

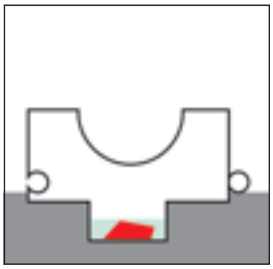
Objektträgerbeschichtung

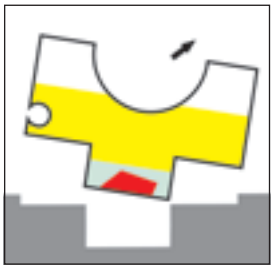
Zum Beispiel Objektträger 15 Minuten in eine Lösung von 0,5 % Alcianblau bei 65 °C tauchen oder den Objektträger mit 0,1 % Poly-L-Lysin flüssig beschichten. Alle handelsüblichen beschichteten Objektträger können verwendet werden.

Lagern und Archivieren der Proben

Zur besseren Archivierung lassen sich die Histoblocs aneinanderstecken. Damit werden eine fortlaufende Numerierung und platzsparende Lagerung ermöglicht.

Für histochemische und immunhistologische Untersuchungen ist es empfehlenswert, die Blöcke in PE-Tüten bei +4 °C oder länger auch bei –20 °C aufzubewahren.





Schneiden am Mikrotom

Technovit 8100-Proben können an handelsüblichen Mikrotomen in Dicken von bis zu 1 µm geschnitten werden. Zur Anwendung kommen dabei Messer in D-Schliff in einer Hartmetallausführung. Normale D-Messer sind verwendbar, liefern aber keine optimalen Ergebnisse.
Einweg-Messer aus Hartmetall sind nur dann geeignet, wenn sie als massive Ausführung speziell für Kunststoff-Schnitte vorgesehen sind.
Das **Einmal-Histoblade** von Kulzer ist eine solche speziell zum Schneiden von in HEMA (2-Hydroxyethylmethacrylat) eingebetteten Gewebeproben sowie auch Materialien in der industriellen Anwendung bis zu 1 µm Schnittdicke geeignete Hartmetallklinge. Zusammen mit dem stabilen Klingenhalter steht somit eine preisgünstige Alternative zu anderen Messern zur Verfügung, die in allen handelsüblichen Mikrotomen eingesetzt werden kann.

Hierzu gibt es verschiedene Messerhalter:

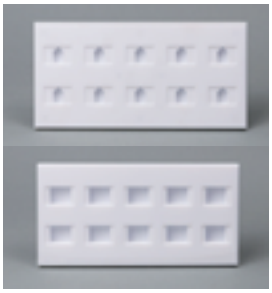
- Messerhalter „NR" oder „SL" für Microm/Thermo-Mikrotome; Messerwinkeleinstellung 9°
- Messerhalter „N" für Reichert-Junge/Leica-Mikrotome; Messerwinkeleinstellung 0°

Die Vorteile:

- Schwere, stabile Ausführung
- Einfache Handhabung
- Gute Schneideergebnisse bis 1 µ Schnittdicke
- Optimierte Schnittqualität
- Verbesserte Standzeit

Maße:
Histoblade: 60 x 19 x 1 mm, 2 Bohrungen à 4 mm
Messerhalter: 170 x 34 x 10 mm

Zubehör und Ergänzung



Histoformen S & Q:
Spezielle Einbettformen aus Teflon mit Edelstahlboden zur Wärmeabführung mit 10 Mulden.

Histoform S
Maße: B x H x T:
ca. 10 x 16 x 6,5 mm.

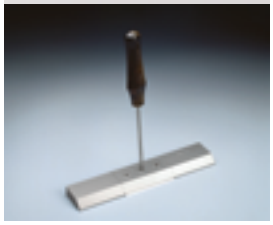
Histoform Q
Maße: B x H x T:
ca. 20 x 16 x 10 mm.

Histobloc -Trägerteile
Die Histobloc-Träger sind adaptierbar für die Histoform S + Q, sowie für die Histoform N oder N+ (Technovit 9100).

Anrührspatel
Holzspatel zum Mischen von Technovit 3040

Technovit 3040
Schnellhärtender 2-Komponenten-Kunststoff zum Aufblocken und Befestigen ausgehärteter Proben auf Histoblocs.

Anrührbecher
Pappbecher zum Mischen von Technovit 3040



Histoblade und Messerhalter
Histoblade ist speziell zum Schneiden von Proben die in Technovit 7100 oder 8100 eingebettet wurden. Der Messerhalter lässt sich in den Mehrwegmesserhalter handelsüblicher Mikrotome einspannen.

Einbettung in Technovit 8100

Hersteller: Kulzer GmbH, **Kunststofftyp:** HEMA (Hydroxy-ethyl-methacrylat)
Eignung: weiche Gewebe, leicht harte Gewebe, Immunfärbungen, **Fixierung**: Formalin, PFA

Infiltrationsstufen	Dauer	Vorgang
Zeiten gelten für Probengrößen von ca. 1-2 mm => pro weitere mm³ Zeiten verdoppeln		
Aceton, kalt (4 °C)	1 - 3 h	mehrfach wechseln, bis das Aceton klar bleibt
Aceton, kalt (4 °C)	1 - 3 h	
Aceton, kalt (4 °C)	1 - 3 h	
Infitrationslösung • 100 ml Basislösung Technovit 8100 • 0,6 g Härter 1 (= 1 Beutel) langsam unter Rühren hinzugeben, mind. 30 Minuten rühren lassen	4 - 24 h	Infiltration
Ausgießen und Aushärten		
Ausgieß-Lösung / Einbett-Lösung **Stammlösung:** • 100 ml Basislösung Technovit 8100 • 0,6 g Härter 1 (1 Beutel) langsam unter Rühren hinzugeben, mind. 30 Minuten rühren lassen **Gebrauchslösung** • 15 ml Stammlösung (o. Vielfaches) • 0,5 ml Härter 2 (o. Vielfaches) einige Minuten rühren lassen	einige Stunden, je nach Größe: **< 5 ml: 1 h Raumtemp., dann 1 h 40 °C** **> 5 ml: Kühlschrank 4 °C**	eingießen der Präparate in Teflon- oder Kunststoffformen. Oberfläche mit PE-Folie abdecken um Form luftdicht zu verschließen. Bei 4 °C auf einer Kühlplatte oder im Kühlschrank mind. 3 h polymerisieren lassen.
	Die Polymerisationslösung wird zunächst gelblich-grünlich, dann aber nach Aushärten farblos	
Ausblocken		
Aufkleben auf HistoBlocks **Technovit 3040:** • Technovit 3040 Pulver • Technovit 3040 Universal Liquid Im Verhältnis 1 : 1 mischen und verrühren Sofort verarbeiten, immer nur kleine Mengen herstellen		
Schneiden, Sägen, Schleifen		
Rotationssäge: • nicht möglich, zu weich	**Hartschnittmikrotom:** • Schnittdicke: 1 - 10 µm • Schneiden mit Wasser	**Aufkleben auf OT:** • Strecken mit Wasser auf Superfrost Plus OT
Dauer der Infiltration: ca. 2 - 8 Tage (je nach Probengröße)		

Färbung von Technovit 8100 Schnitten

Technovit 8100 Schnitte können im Gegensatz zu Technovit 7100 nicht nur mit vielen histologischen Färbeverfahren gefärbt werden, sondern zusätzlich mit vielen immunhistochemischen Nachweisverfahren behandelt werden.

Wie bei Technovit 7100 Schnitten ist zu berücksichtigen, dass auch Technovit 8100 nicht aus den Proben entfernt werden kann. Somit steht nur die eigentliche Schnittoberfläche als Reaktionskomponente für die Färbungen bzw. Immunreaktionen zur Verfügung, und nicht, wie bei entparaffinierten oder entplasteten Schnitten, der gesamte Gewebeschnitt. Dies hat Konsequenzen für die Immunreaktionen: Zum einen sind längere Inkubationszeiten notwendig, zum anderen haften einige Antikörper am Kunststoff selbst an. Zudem können manche Reagenzien den Kunststoff selbst angreifen und die Schnitte ggf. unbrauchbar machen. Gewünschte Immunnachweise sind daher grundsätzlich an Testproben zu etablieren und die Inkubationszeiten in den einzelnen Lösungen so kurz wie möglich zu halten.

Vorbereitung

Die Objektträger mit den Schnitten werden ***trocken, ohne weitere Vorbehandlung*** direkt der enzymatischen Vorbehandlung ausgesetzt. Eine Vorbehandlung in Alkohol oder Wasser ist nicht notwendig!

Durchführung

Immunhistologische Färbungen erfolgen gem. dem üblichen Prozedere für eine Immunreaktion. Gegenfärbungen gem. klassisch histologischer Protokolle sind in gleicher Form möglich, wie bei Technovit 7100. Zuerst werden Feinstrukturen (z.B. Zellkerne) gefärbt, anschließend Zellplasma, zuletzt Fasern und Grundsubstanz. Die Färbezeiten ergeben sich nach dem gewünschtem Ergebnis und müssen in jedem Einzelfall (Probenart) empirisch ermittelt werden.

Ein exemplarisches IHC Protokoll

- Enzymatische Vorbehandlung: Schnitt 5 – 10 Minuten in 0,01 % Trypsin mit 0,1 % $CaCl_2$ (Calciumchlorid) pH 7,8 inkubieren (37 °C).
- Mehrmals in Phosphatpuffer (PBS) 5 Minuten auswaschen.
- 2 Stunden bei 37 °C mit Primärantikörper inkubieren.
- Blockieren der endogenen Peroxidase mit 0,06 % Hydrogenperoxyd in Phosphatpuffer (PBS) (30 Minuten bei Raumtemperatur).
- Mehrmals in Phosphatpuffer (PBS) 5 Minuten auswaschen.
- 30 Minuten bei Raumtemperatur mit dem zweiten Antikörper inkubieren.
- Mehrmals in Phosphatpuffer (PBS) 5 Minuten auswaschen.
- Mit Diaminobenzidin (DAB) inkubieren.
- 10 – 15 Sekunden Gegenfärbung mit Hämatoxylin.
- Unter fließendem Wasser 3 Minuten bläuen.
- Mit Glyzerin-Gelatine eindecken.

Die Immunbestimmung ist mit der AP-, PAAP-, APAAP-, ABC- (Avidin-Biotin-, Strept-Avidin-Complex), EPOS (Enhaced Polymer One-step System) und der Immunfluoreszenz-Methode möglich.

Vor der Anwendung eines Detergenz z.B. Tween im Spülpuffer wird abgeraten. Die Peroxidase soll in Puffer gelöst sein.

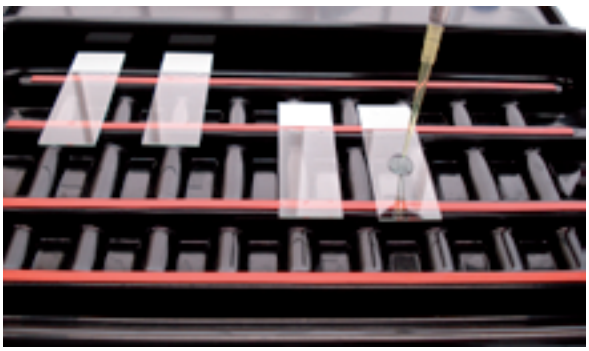
Hinweise

Bei dem ständig wechselnden Angebot an neuen Produkten für Histochemie und Immunhistochemie ist es immer ratsam, sich an den jeweiligen Herstellerangaben zu orientieren.

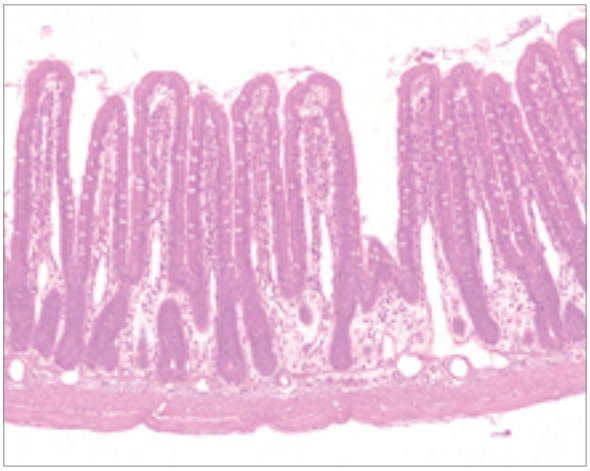
Nachbehandlung und Eindecken

Fertig gefärbte Schnitte über Alkoholreihe dehydrieren und eindecken. Es empfiehlt sich vor Verwendung eines Eindeckmediums dieses auf Verträglichkeit zu testen.

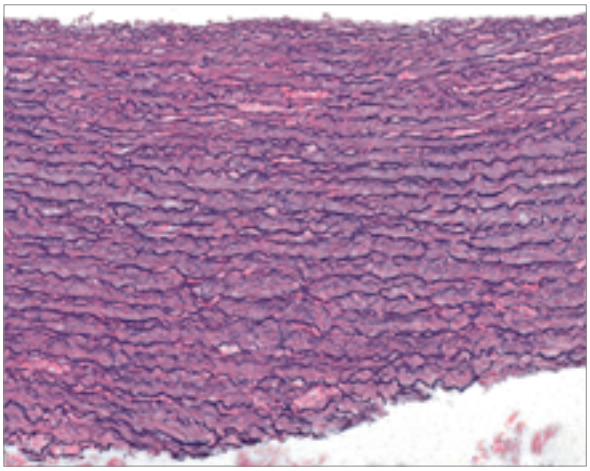
Art.-Nr.	Bezeichnung
12156	Hämatoxylin & Eosin (H&E)



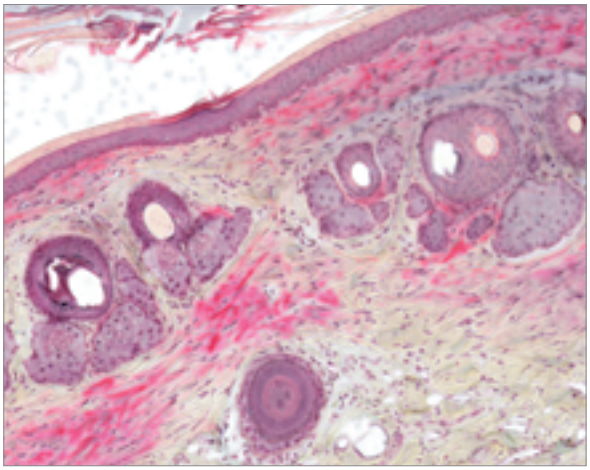
Beispielfärbungen von Technovit 8100 Schnitten



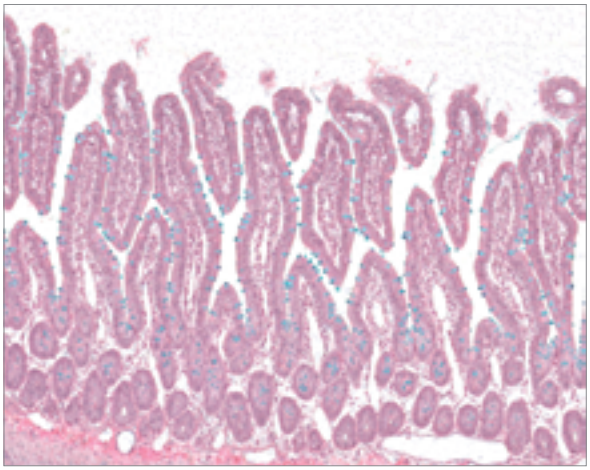
Ratte, Darm, Hämatoxylin & Eosin, Art.-Nr.: 12156



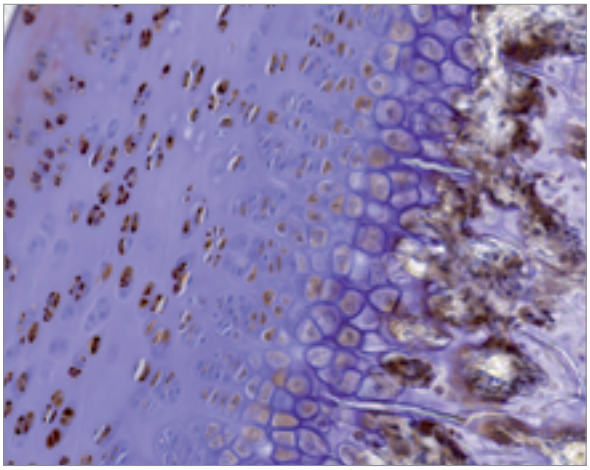
Ratte, Aorta, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061



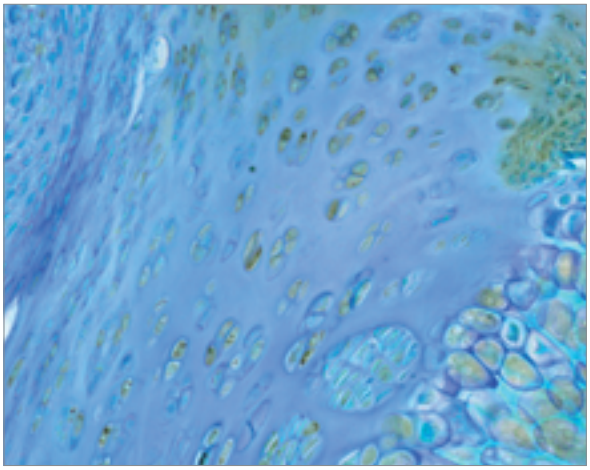
Ratte, Schwanz, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061



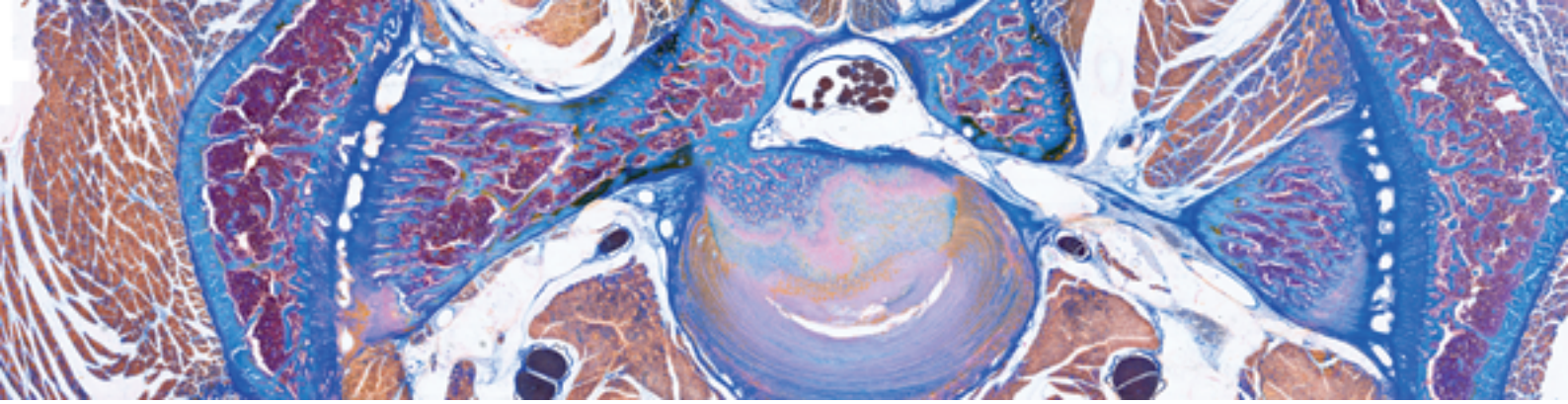
Ratte, Darm, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061



Ratte, Gelenk; IHC vs. Osteocalcin, Hämatoxylin-Gegenfärbung



Ratte, Gelenk; IHC vs. Osteocalcin, Methylenblau-Gegenfärbung



Technovit® 9100

Schnitte und Schliffe

Technovit 9100 ist ein Kunststoffeinbettsystem auf Basis von MMA (Methylmethacrylat). Verwendung findet Technovit 9100 in der Medizin, Botanik und Zoologie.

Technovit 9100 wurde speziell zur Einbettung von mineralisierten Geweben, aber auch Weichgeweben mit erweitertem Untersuchungsspektrum in der Lichtmikroskopie entwickelt. Die entplasteten Schnitte eignen sich für histologische Übersichtsfärbungen, enzym- und immunhistologische Untersuchungen, einschließlich In-situ-Hybridisierung.

Dünnschliffe für die Immunhistologie können auf Glas-objektträgern aufgeklebt und entplastet werden.

Anwendungsbereiche

- **Hartschnitt-Technik zur Herstellung von Dünnschnitten**
  Beispiele: Beckenkammbiopsien, kleinere spongiöse und kompakte Knochengewebeproben
- **Trenn-Dünnschliff-Technik (Trennverfahren in Punktkontakt-Technologie)**
  Beispiele: Zahn-Kiefer-Segmente mit und ohne Implantat, nichtzementierte Endoprothesen mit Schaftknochen
- **Kombinierte Trenn-Dünnschliff-Technik und Hartschnitt-Technik (Zielpräparation)**
  Beispiele: Grenzflächen- und Umgebungsbeurteilung bei Metallimplantaten und nichtzementierten Endoprothesen

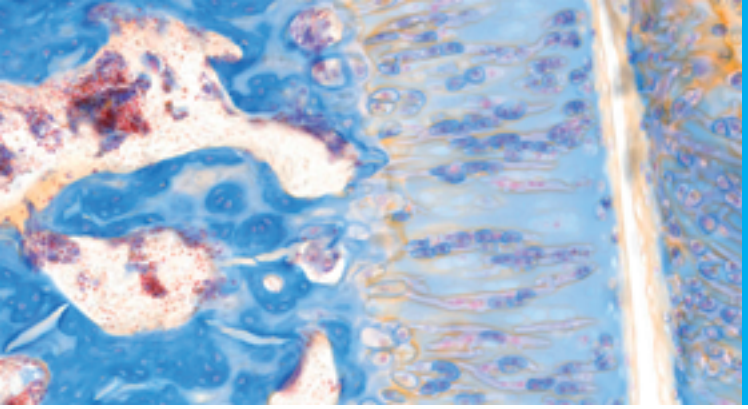
Nicht schneidbare Gewebe sind zahntragende Kieferabschitte mit Füllungen, Kronen und Brücken, dicke Corticalis, implantattragende (Metall oder Keramik) Kiefer- oder Röhrenknochen oder auch spröde, hypermineralisierte Knochenteile.

Materialeigenschaften

Die Polymerisation des hydrophoben Technovit 9100 erfolgt unter Sauerstoffausschluss, mit Hilfe eines Katalysatorsystems aus Peroxid und Amin. Zusätzliche Komponenten wie PMMA-Pulver und -Regler ermöglichen eine gesteuerte Polymerisation bei Kälte (im Bereich von –2 °C bis –20 °C, je nach Volumen), die eine vollständige Ableitung der Polymerisationswärme garantiert.

Die Vorteile auf einen Blick

- Polymerisation bei Minusgraden.
- Reproduzierbarkeit der Einbettergebnisse.
- Zuverlässigkeit durch ständige und dokumentierte Qualitätskontrollen.
- Uniforme Härte des Blocks.
- Beständige Transparenz des PMMA-Blocks.
- Bessere Schneide- und Färbe-Ergebnisse durch enthaltenes Hydrophilierungsmittel.
- Sowohl für Dünnschnitt- als auch Säge- und Schliffttechnik einsetzbar.
- Enzym- und Immunhistologie und In-situ-Hybridisierung möglich (Schnitte und Schliffe).



Technovit 9100
wurde speziell für mineralisiertes Gewebe entwickelt und findet Anwendung bei Präparaten für Hartschnitt- oder Trenn-Dünnschnitt-Technik.

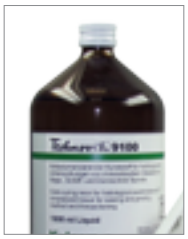
Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
12225.K1000	Technovit 9100 Kombipack	1000 ml Basislösung 120 g PMMA-Pulver 8 x 1 g Härter 1 1 x 10 ml Härter 2 1 x 5 ml Regler
12225.05000	Technovit 9100 Basis-flüssigkeit	5000 ml
12225.F1000	Technovit 9100 PMMA-Pulver	1000 g
12225.F0010	Technovit 9100 Härter 1	10 x 1 g
12225.00010	Technovit 9100 Härter 2	1 x 10 ml
12225.00005	Technovit 9100 Regler	1 x 5 ml

Bezeichnung	Menge	Komponenten
Technovit 9100 Basislösung stabilisiert	1 x 1000 ml	1
Technovit 9100 PMMA-Pulver	120 g	2
Technovit 9100 Härter 1	8 Beutel á 1 g	3
Technovit 9100 Härter 2	10 ml	4
Technovit 9100 Regler	5 ml	5

Die Komponenten

Technovit 9100 Basisflüssigkeit – Komponente 1
Die Basislösung Technovit 9100 besteht aus stabilisiertem MMA. Die Hydrophilie wird durch den Zusatz eines geeigneten Hydrophilierungsmittels verbessert. Technovit 9100 Basislösung kann sowohl stabilisiert als auch entstabilisiert verwendet werden.



Technovit 9100 PMMA-Pulver – Komponente 2
Das PMMA-Pulver wird verwendet, um einen geringeren Polymerisationsschrumpf, eine Reduktion der frei werdenden Polymerisationswärme und einen besseren Polymerisationsablauf zu gewährleisten.

Technovit 9100 Härter 1 – Komponente 3
Das Härterpulver 1 ist eine Peroxidverbindung, die in Kombination mit dem Härter 2 die Polymerisation induziert.

Technovit 9100 Härter 2 – Komponente 4
Die Härterflüssigkeit 2 wirkt katalytisch auf den Härter 1, um auch bei sehr niedrigen Temperaturen unter 0 °C eine gezielte Polymerisation zu ermöglichen.

Technovit 9100 Regler – Komponente 5
Dieser besteht aus einer reaktiven organischen Verbindung, die auch bei großen Polymerisationsmengen eine geregelte Polymerisation mit kontrolliert niedrigen Temperaturspitzen ermöglicht.

Die Verarbeitung

Fixation – Vorbehandlung des Gewebes

Die Fixierung erfolgt je nach Größe des Gewebes und dem nachzuweisenden Antigen/Enzym für mindestens 12 - 48 Stunden in der jeweiligen Fixierlösung.

Geeignete Fixierlösungen für eine nachfolgende Einbettung in Technovit 9100 sind:

a) 4 - 10 % neutrale oder gepufferte Formalinlösungen
b) Fixierlösungen nach Schaffer (Formol/Alkohol)
c) Paraformaldehyd-Lösung verschiedener Konzentrationen oder pH-Werte
d) Glutardialdehyd-Fixierlösungen

Nicht geeignet sind pikrinsäurehaltige Fixative, wie z.B. Bouin'sche Lösung, da Pikrinsäurerückstände die Polymerisierung des MMA behindern.

Dehydration und Infiltration

Die Verarbeitung darf ausschließlich in Gefäßen aus Glas oder Polyethylen (PE) erfolgen!

Die Dehydration erfolgt in einer aufsteigenden Alkoholreihe (Entwässerungsautomat) bei Raumtemperatur. Im mangelhaft entwässertem Gewebe entstehen sogenannte Lunkerstellen, die aus weißem Perlpolymerisat bestehen und das Schneiden sowie die Schnittqualität negativ beeinträchtigen. Als Intermedium wird Xylol eingesetzt.

Die Infiltration mit Technovit 9100 erfolgt in 4 Stufen über drei so genannte Präinfiltrationen und eine Infiltrationsstufe. Einige Automaten erlauben die Verwendung der Stufen 1 und 2 (ACHTUNG: Herstellerangaben beachten!). Die angegebenen Zeiten sind Mindestzeiten und beziehen sich auf kleine spongiöse und kortikale Knochengewebeproben und Beckenkammbiopsien. Für größere Gewebeproben sind die Zeiten und das Volumen anzupassen und geeignete Zeiten sind ggf. empirisch zu ermitteln.

Präinfiltrations- und Infiltrationslösungen sind nach Ansetzen einige Wochen haltbar, sofern sie im Kühlschrank bzw. Eisschrank aufbewahrt werden. Sofern die Lösungen mit entstabilisierter Basislösung angesetzt wurden, ergeben sich kürzere Standzeiten. Verfärbte Lösungen, insbesondere leicht rosa verfärbte, sind unbedingt zu verwerfen und entsprechend der Angaben im SDB zu entsorgen.

Dehydration, Intermedium und Präinfiltration

Stufe	Lösung	Konzentration	Zeit / Temp.
Entwässerung 1	Ethanol	70%	> 1 h / RT
Entwässerung 2	Ethanol	80%	> 1 h / RT
Entwässerung 3	Ethanol	96%	> 1 h / RT
Entwässerung 4	Ethanol	96%	> 1 h / RT
Entwässerung 5	Ethanol	abs.	> 1 h / RT
Entwässerung 6	Ethanol	abs.	> 1 h / RT
Entwässerung 7	Ethanol	abs.	> 1 h / RT
Intermedium 1	Xylol		> 1 h / RT
Intermedium 2	Xylol		> 1 h / RT
Präinfiltration 1	Xylol/ Technovit 9100 Basis, (stab.)	1:1	> 1 h / RT
Präinfiltration 2 (letzte Stufe im Automaten)	Technovit 9100 Basis, (stab.) + Härter 1		> 1 h / RT
Präinfiltration 3 (Kühlschrank)	Technovit 9100 (entstab.) + Härter 1		> 1 h / 4 °C
Infiltration (Kühlschrank)	Technovit 9100 (entstab.) + Härter 1 + PMMA-Pulver		> 1 h / 4 °C nach 5 Tagen Lösung wechseln

Entstabilisierung der Basislösung – Verarbeitung der Komponenten

Die Basislösung Technovit 9100 kann sowohl stabilisiert als auch entstabilisiert verwendet werden. Die Verwendung von entstabilisierter Basislösung garantiert das Ergebnis für alle immunhistochemischen Untersuchungen analog der Paraffin-Histologie.

Chromatographiesäule mit ca. 50 g Al_2O_3 (aktiv, basisch, 90) füllen und langsam Technovit 9100 Basislösung (Materialnummer 1) durchlaufen lassen. Eine Säulenfüllung mit Al_2O_3 reicht zur Entstabilisierung von 3 - 4 Litern der Basislösung. Die entstabilisierte Lösung wird in verschließbare Braunglasflaschen portioniert und bei 4 °C für die laufende Verarbeitung gelagert (max. 5 Tage) oder bei –15 °C bis –20 °C aliquotiert auf Vorrat gelegt. Ab Präinfiltration 3 kann mit entstabilisierter Basislösung gearbeitet werden. Wenn mit entstabilisierter MMA-Basislösung gearbeitet wird, kann für die Infiltrationslösung und Stammlösung A die geringere Menge Peroxid verwendet werden.

Herstellung der Gebrauchslösungen							
Komponenten Nr.	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**		
Bezeichnung	**Basislösung**	**PMMA-Pulver**	**Härter 1**	**Härter 2**	**Polimerisa-tionsregler**	**Bearbeitungs-temperatur**	**Lagerfähigkeit**
Präinfiltration 1	200 ml Basis mischen mit 200 ml Xylol					Raumtemperatur	1/2 Jahr bei –20 °C
Präinfiltration 2	200 ml		1 g			Raumtemperatur	1/2 Jahr bei –20 °C
Präinfiltration 3	200 ml		1 g			Raumtemperatur	1/2 Jahr bei –20 °C
Infiltrationslösung	ad 250 ml	20 g	1 g / 2 g*			4 °C	1/2 Jahr bei –20 °C
Stammlösung A	ad 500 ml	80 g	3 g / 4 g*			4 °C	1/2 Jahr bei –20 °C
Stammlösung B	ad 50 ml			4 ml	2 ml	4 °C	1/2 Jahr bei –20 °C

Herstellen der Lösungen

- **Gebrauchslösung**
  Herstellung der Präinfiltrations-, Infiltrations- und Stammlösungen nach genauer Vorschrift entsprechend der Gebrauchsinformation für Technovit 9100, bzw. oben stehender Tabelle. Lagertemperaturen beachten!

- **Polymerisationslösung**
  Die gekühlten Stammlösungen A und B sind erst unmittelbar vor Gebrauch im Verhältnis 9 Teile Stammlösung A und 1 Teil Stammlösung B (v/v) in einem Becherglas mit Hilfe eines Glasstabes zu mischen.

Polymerisation

Das Polymerisationsgemisch wird in die vorgekühlte Einbettform gegossen. Das infiltrierte Gewebe darin orientieren, mit dem Polymerisationsgemisch randvoll übergießen und anschließend evakuieren. Die Evakuierung lässt sich entweder im vorgekühlten Exsikkator bei 4 °C (leichtes Vakuum, z. B. Wasserstrahlpumpe oder Vakuumpumpe bei 200 mbar) oder im Tiefkühlschrank mit extern angeschlossener Vakuumpumpe für ca. 10 Minuten durchführen. ***Danach Form luftdicht verschließen, sodass kein Sauerstoffkontakt stattfinden kann!***

Polymerisationstemperaturen und Zeiten		
Volumen der Form	**Temperaturfenster**	**Dauer**
bis 5 ml	-2 bis -4 °C	24 h
5 - 15 ml	-4 bis -8 °C	24 - 48 h
15 - 25 ml	-8 bis -15 °C	24 - 48 h
über 25 ml	-12 bis -20 °C	24 - 48 h

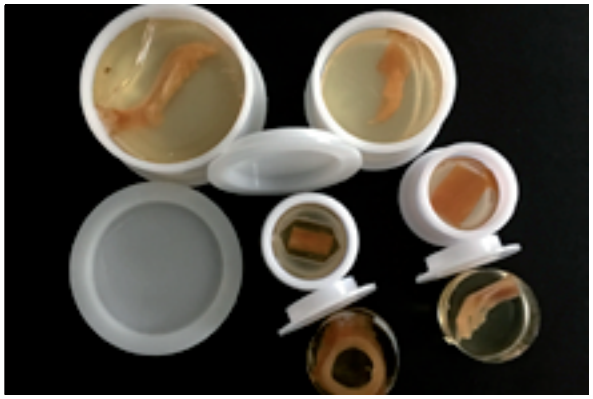
Die Polymerisation ist abhängig vom Volumen der Einbettformen und findet im Bereich von –2 °C bis –15 °C statt; nach ca. 24 Stunden sollte die Polymerisation abgeschlossen sein.

Je größer das Volumen der Einbettform, desto niedriger muss die Temperatur sein! Dabei ist die Kältekapazität der verwendeten explosionsgeschützten Kühleinrichtung (Tiefkühlfach im Eisschrank, Tiefkühltruhe, Tiefkühlschrank, Tiefkühlwanne z. B. für Paraffinblöcke mit Deckelverschluss) zu beachten. Reproduzierbare Ergebnisse für verschiedene Probengrößen werden in einem Tiefkühlschrank mit variabel einstellbaren Temperaturen zwischen –2 °C bis –25 °C bei einer Temperaturkonstanz von +/– 0,5 °C erzielt. ***Während der Polymerisation Gefäße nicht öffnen!***

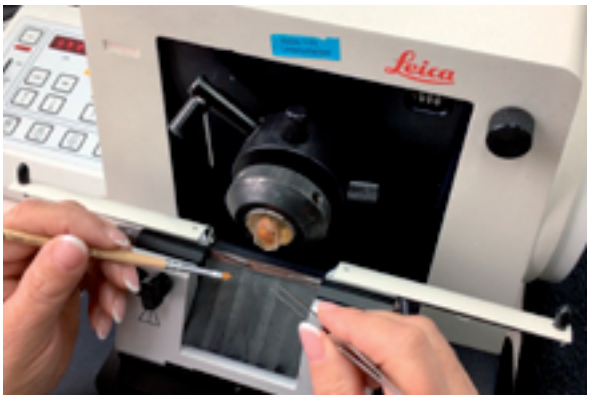
Für besonders große Proben (Endoprothesen) kann ein handelsübliches PMMA-Granulat als Füllmaterial verwendet werden. Dadurch wird die Menge an benötigter flüssiger Polymerisationslösung reduziert.

Aufblocken

Haben sich die Proben nach der Aushärtung auf Raumtemperatur erwärmt, wird beim Einsatz der Histoform N mit dem Histobloc N und Technovit 3040 aufgeblockt. Zunächst Schraube lösen und Deckel und Folie abnehmen. Der Block wird in der Standard-Objektklammer am Rotationsmikrotom für Hartschnitte fest eingespannt.
Bei Verwendung der runden Histo-Einbettformen werden Deckel und Boden entfernt und die Probe durchgedrückt. Sie kann dann direkt ohne Aufblocken im Rundprobenhalter am Rotationsmikrotom für Hartschnitte eingesetzt werden.



Auspolymerisierte Probe in Einbettform



Polymerisierte Probe in Rundprobenhalter

Verarbeitung der Polymerisate

Je nach Fragestellung erfolgt die Weiterverarbeitung durch Hartschnitt-Technik auf geeigneten Mikrotomen mit Probenrückzug bzw. über Trenn-Dünnschliff-Technik auf geeigneten Diamandsäge-Systemen (Diamandbandsägen, Innenlochsägen, Trennkreissägen) und Schleifgeräten (Plattenschleifgeräte mit Abtragsmessung). Ebenso ist eine Verarbeitung mit Ultrafräsen oder Nassschleifmaschinen möglich.

Trenn-Dünnschliff-Technik:

- Trennen in Punktkontakt-Technologie (CP-Technik von EXAKT) sowie Schleifen im Flächen- oder Linienkontaktverfahren mit entsprechenden Geräten (z.B. Firma EXAKT).

Hartschnitt-Technik:

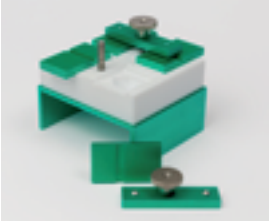
- Herstellung von Hartschnitten mit entsprechenden Hartschnittmikrotomen (Mikrotom mit Probenrückzug) und Verwendung von Hartmetallmessern mit D-Schliff oder Wolframcarbit-Klingen.
- Herstellung von Semidünnschnitten unter Verwendung von Glas- und Diamandmessern. Die Blöcke werden zuvor getrimmt.
- Zum Schneiden der Technovit 9100-Blöcke 30 %-iges Ethanol („Schneideflüssigkeit"), verwenden.
- Schnitte auf beschichtete Objektträger aufziehen, mit 50 %-igem Ethanol („Streckflüssigkeit") strecken und mit PVC-Folie abdecken.
- Überschüssige Flüssigkeit mit Filterpapier absaugen, Objektträger mit passenden Filterpads stapeln und unter leichtem Druck in der Objektträgerpresse über Nacht bei 50 °C trocknen.
- Presse erst nach Abkühlung öffnen. Abdeckfolie vorsichtig vom kalten Objektträger abziehen.
- Weitere Verarbeitung der Schnitte mit histologischen oder immunhistochemischen Färbeverfahren (s. folgende Seiten).

Empfohlene Laborausstattung für die Anwendung des Technovit 9100 Systems

- Chromatographiesäule
- AL_2O_3 (aktiv, basisch, 90)
- regelbarer Kühlschrank
- regelbarer Gefrierschrank
- Glasexsikkator
- Vakuumpumpe
- Maßkolbenset
- geeignete Einbettformen
- geeignetes Mikrotom
- Trenn-Dünnschliff-System der Firma EXAKT
- Magnetrührer

Technische Daten	
Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm3 (DIN 53479)	1,07
Brechungsindex Monomer Polymer	 1,4175 1,4720
Lagertemperatur	max. 25 °C

Zubehör und Ergänzung



Histoform N:
Spezielle Einbettformen aus Teflon mit Edelstahlboden zur Wärme abführung.
Mit 4 Abdeckplatten
4 Mulden
Maße: B x H x T:
ca. 12 x 20 x 10 mm.

Einbettformen speziell für Technovit® 9100
Polyethylen-Einbettförmchen 25 mm & „Schiffchen"-Einsatz für den Rundprobenhalter am Rotationsmikrotom.
Weitere Größen:
15 - 30 - 40 - 50 mm (nur Zylinder)

Kisolfolien + Filterpads
Zur Trennung von Objektträgern in der Objektträgerpresse.

Anpressrolle
Zum Andrücken und besserer Haftung der Schnitte auf beschichteten Objektträgern

Objektträgerpresse
Zum Pressen der Schnitte auf beschichtete Objektträger.

Chromatografiesäule
Zum Entstabilisierung der Basislösung für die Immunhistochemie.

Maßkolbenset
Zum Ansetzen der Infiltrations- und Stammlösungen.

Poly-L-Lysin-Lösung
Zur Beschichtung von Objektträgern für die Haftung von T9100-Schnitten

Primer zur Vorbehandlung von Objektträgern
Zur besseren Haftung von Schliffen auf Glasobjektträgern

Lichtpolymerisierender Kleber
Zum Aufkleben von Schliffen auf Glasobjektträger

Entplastungslösungen (MEA, Aceton)
Zum Enplasten der Schnitte für histologsiche Färbungen.

Einbettung in Technovit 9100

Hersteller: Kulzer GmbH, **Kunststofftyp:** (Methylmetacrylat)
Eignung: harte Gewebe, Knochen, Zähne, Biopsien; **Fixierung:** Ethanol, Formalin, PFA, trockene Proben

Infiltrationsstufen	Dauer	Vorgang
Zeiten gelten für Probengrößen von ca. 5 mm => pro weitere 5 mm³ Zeiten verdoppeln		
Ethanol 70 %	1 - 3 h	Dehydrieren, mit Vakuum
Ethanol 80 %	1 - 3 h	Dehydrieren, mit Vakuum
Ethanol 90 %	1 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 96 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Ethanol 96 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Isopropanol 99,8 % / Ethanol 99,8 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Isopropanol 99,8 % / Ethanol 99,8 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Isopropanol 99,8 % / Ethanol 99,8 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Xylol	3 - 6 h	Dehydrieren
Xylol	3 - 6 h	Dehydrieren
Prä-Infiltrationslösung I • 200 ml Basislösung (Komponente 1) • 200 ml Xylol — **stabilisierte Lösung** gut mischen, aufbewahren im Eisfach, einige Monate haltbar	3 - 12 h (unter Bewegung!)	Infiltration **beim Wechsel kurz abtropfen lassen oder mit Papier trocknen**
Prä-Infiltrationslösung 2 • 200 ml Basislösung (Komponente 1) • 1 g Härter 1 (Komponente 3) — **stabilisierte Lösung** gut mischen, aufbewahren im Eisfach, einige Monate haltbar	3 - 12 h (unter Bewegung!)	Infiltration **beim Wechsel kurz abtropfen lassen oder mit Papier trocknen**
Prä-Infiltrationslösung 3 *(zwingend für Immunhisto)* • 200 ml Basislösung (Komponente 1) • 1 g Härter 1 (Komponente 3) — Für immunhistologie: **entstabilisierte** Lösung gut mischen, aufbewahren im Eisfach, nur 4 Wochen haltbar	3 - 12 h (unter Bewegung! im Kühlschrank)	Infiltration **beim Wechsel kurz abtropfen lassen oder mit Papier trocknen**
Infitrationslösung • 150 ml Basislösung (Komponente 1) • 20 g PMMA-Pulver (Komponente 2) — Für immunhistologie: **entstabilisierte** Lösung Im 250 ml Maßkolben gut verrühren bis Lösung klar wird • 2 g Härter 1 (Komponente 3) — 1 g wenn entstabilisierte Lösung verwendet wird dazugeben und weiter Rühren • 100 ml Basislösung (Komponente 1) — Für immunhistologie: ***entstabilisierte*** Lösung auf 250 ml Marke im Maßkolben auffüllen und weiter Rühren	4 - 24 h (unter Bewegung! im Kühlschrank)	Infiltration **beim Wechsel kurz abtropfen lassen oder mit Papier trocknen**

Einbettung in Technovit 9100 (Fortsetzung)

Hersteller: Kulzer GmbH, **Kunststofftyp:** (Methylmetacrylat)
Eignung: harte Gewebe, Knochen, Zähne, Biopsien; **Fixierung:** Ethanol, Formalin, PFA, trockene Proben

Infiltrationsstufen	Dauer	Vorgang
Ausgießen und Aushärten:		
Stammlösung A • 300 ml Basislösung (Komponente 1) — ***für IHC: entstab.*** Lösung • 80 g PMMA-Pulver (Komponente 2) Im 500 ml Maßkolben gut verrühren, bis Lsg. klar wird • 4 g Härter 1 (Komponente 3) — ***für IHC: entstab.*** Lösung ***=> nur 3 g Härter 1*** dazugeben und weiter Rühren, bis vollständig gelöst • **etwa 200** ml Basislösung (Komp. 1) — ***für IHC: entstab.*** Lösung auf 500 ml Marke im Maßkolben auffüllen und gut 1 h rühren Aufbewahren im Eisfach bei mind. -18 °C (ggf. Portionieren) **Stammlösung B** • 30 ml Basislösung (Komponente 1) — ***für IHC: entstab.*** Lösung • 4 ml Härter 2 (Komponente 4) • 2 ml Regler (Komponente 5) Im 50 ml Maßkolben gut verrühren • **etwa 20** ml Basislösung (Komp. 1) — ***für IHC: entstab.*** Lösung auf 50 ml Marke im Maßkolben auffüllen und mind. 30 min rühren Aufbewahren im Eisfach bei mind. -18 °C **Gebrauchslösung / Einbettlösung:** • 90 ml Stammlösung A • 10 ml Stammlösung B — mit Glasstab oder auf Rührer gut mischen gut mischen, sofort verwenden und Probe eingießen	einige Stunden oder Tage, je nach Probengröße: ***< 15 ml: Eisfach: -2 bis -4 °C*** ***> 15 ml: Eisfach: -5 bis -10 °C*** ***> 25 ml: Eisfach: -18 °C***	Proben randvoll übergießen und im Exsikator bei **200 mbar etwa 5-10 min**, nach Möglichkeit unter Kühlung evakuieren. (Vakuum gelgentlich ablassen und neu aufbauen, Kühlakkus in den Exsikator legen) Anschliessend luftdicht verschließen
Aufkleben (sofern keine Rundprobenhalterung vorhanden)		
Technovit 3040: • 3 Löffel Technovit 3040 gelb • 1 Löffel Technivit Universal-Liquid — Im Pappbecher zu einer zähen Masse verrühren sofort verarbeiten, härtet in wenigen Minuten aus!	wenige Minuten	Aufkeben auf geeignete Probenhalter
Schneiden, Sägen, Schleifen		
Innenlochsäge: • Schnittdicke: bis mind. 20-30 µm • Sägen mit Wasserstrahl **Aufkleben auf OT:** • UltraKitt • Entellan	**Hartschnittmikrotom:** • Schnittdicke: 1 - 10 µm • Schneiden mit 30% Ethanol **Aufkleben auf OT:** • Strecken mit 50% Ethanol auf ponalbeschichteten OT's • Abdecken mit Kisolfolie, 24 h in Presse bei 60 °C	**Ultrafräse:** • Block fräsen **Aufkleben auf OT:** • Sekundenkleber **Ultrafräse:** • andere Seite fräsen
Dauer der gesamten Bearbeitung: ca. 2 - 8 Tage (je nach Probengröße)		

Färbung von Technovit 9100 Schnitten & Schliffen

Technovit 9100 Schnitte und Schliffe können mit allen klassischen histologischen Färbemethoden gefärbt werden. Die Schnitte und Schliffe können auch mit immunhistochemischen Nachweisverfahren bearbeitet werden. Jedoch ist bei Technovit 9100 eine vorherige Entplastung notwendig. Dabei wird zwischen Schnitten und Schliffen unterschieden.

Vorbereitung

Zur Vorbereitung werden die Schnitte entplastet. Dafür können zum Beispiel MEA, MEK, DMSO, Aceton, Benzol (Toluol), Tetrachlorkohlenstoff, Xylol oder Amylacetat verwendet werden. Hierbei ist erhöhte Vorsicht geboten, da viele dieser Stoffe giftig und gesundheitsschädigend sind. Die Entplastung ist sowohl für histologische Färbungen, als auch für immunhistochemische Nachweismethoden notwendig.

Exemplarische Entplastungsprotokolle

Schnitt-Entplastung	
Xylol	2 x 20 min
MEA	2 x 20 min
Aceton	2 x 5 min
Aqua dest..	
Schliff-Entplastung	
Xylol	2 x 10 min
MEA	2 x 2 h
Aceton	2 x 10 s
Aqua dest.	

Durchführung

Nach der Entplastung werden die Proben direkt in Aqua dest. gegeben und die histologische Färbung erfolgt nach Protokoll. Je nach Probenart können sich Unterschiede in der Intensität der Färbung auftreten. Daher müssen die Färbezeiten je nach Probenart und gewünschtem Ergebnis empirisch ermittelt werden.

Exemplarisches Färbeprotokoll Movat

Entplastung

Schritt 1: Essigsäure 3%	30 s
Schritt 2: Alcianblau 1%	30 min
Schritt 3: fließend Wässer	8 min
Schritt 4: Hämatox-Verhöff	8 min
Schritt 5: EisenIIIChlorid 1%	1 min
Schritt 6: fließend Wässern	7 min
Schritt 7: Brilliant Crocein	6 min
Schritt 8: Essigsäure 1%	30 s
Schritt 9: Phosphorwolframsäure	10 min
Schritt 10: VE Wasser	1 min
Schritt 11: Ethanol 99%	3 min
Schritt 12: Ehtanol 99%	3 min
Schritt 13: Saffron du Gatinais	8 min
Schritt 14: Ethanol 99%	90 s
Schritt 15: Ethanol 99%	2 min
Schritt 16: Isopropanol	5 min
Schritt 17: Xylol	5 min
Schritt 18: Xylol	5 min

Immunhistochemie

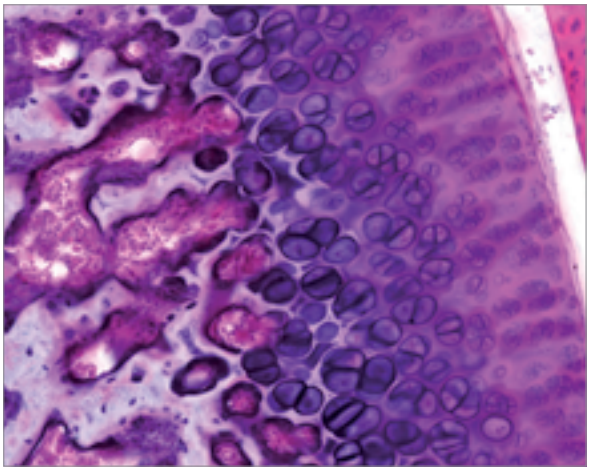
Technovit 9100 Schnitte und Schliffe können ebenfalls mit immunhistochemischen Nachweisverfahren behandelt werden. Dafür werden die Proben zunächst entplastet und danach entsprechend dem üblichen Prozedere behandelt. Es erfolgt die enzymatische (z. B. mit Trypsin) Vorbehandlung und eine darauf folgende Inkubation mit primärem und sekundärem Antikörper. Anschließend erfolgt eine Gegenfärbung, zum Beispiel mit Hämatoxylin.

Nachbehandlung und Eindecken:

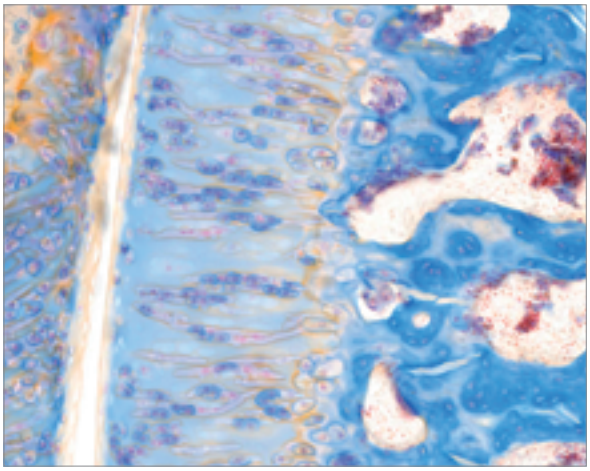
Gefärbte Schnitte und Schliffe werden über eine aufsteigende Alkoholreihe bis ins Xylol dehydriert und können wie Paraffinschnitte mit CV-Mount im Eindeckautomaten eingedeckt werden. Eine weitere Nachbehandlung ist nicht notwendig.

Art.-Nr.	Bezeichnung
12156	Hämatoxylin & Eosin (H&E)
12043	Masson Goldner
12061	Movat Pentachrom nach Verhöff

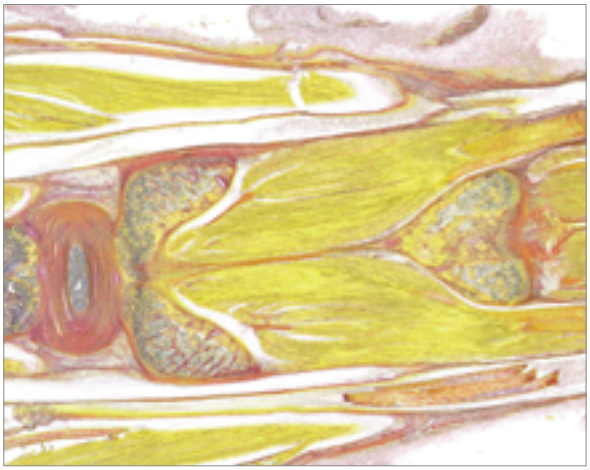
Beispielfärbungen von Technovit 9100 Schnitten & Schliffen



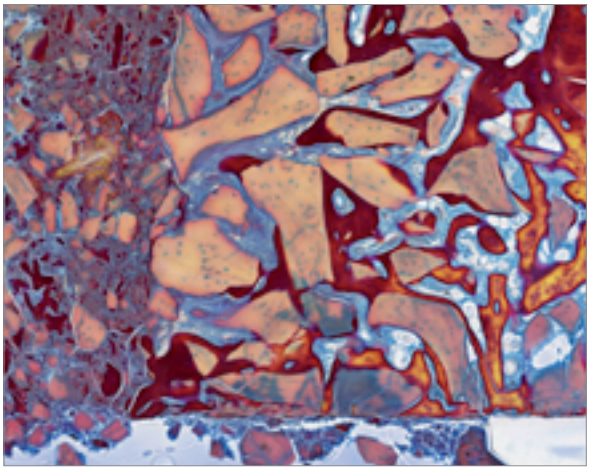
Ratte, Knie, Hämatoxylin & Eosin, Art.-Nr.: 12156



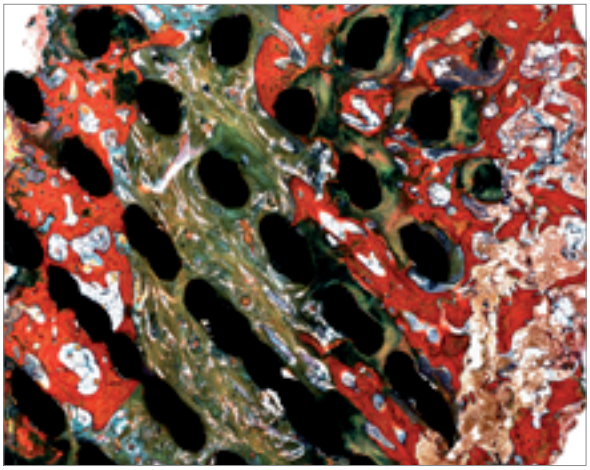
Ratte, Ellenbogen, Azan nach Geidies, Art.-Nr.: 12082



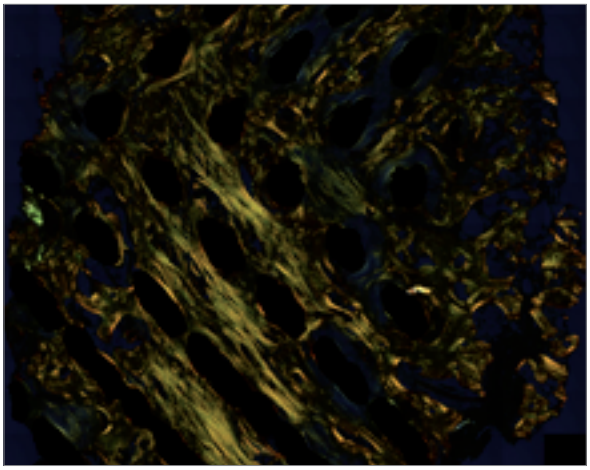
Ratte, Wirbelsäule, Pikrosiriusrot, Art.-Nr.: 13425



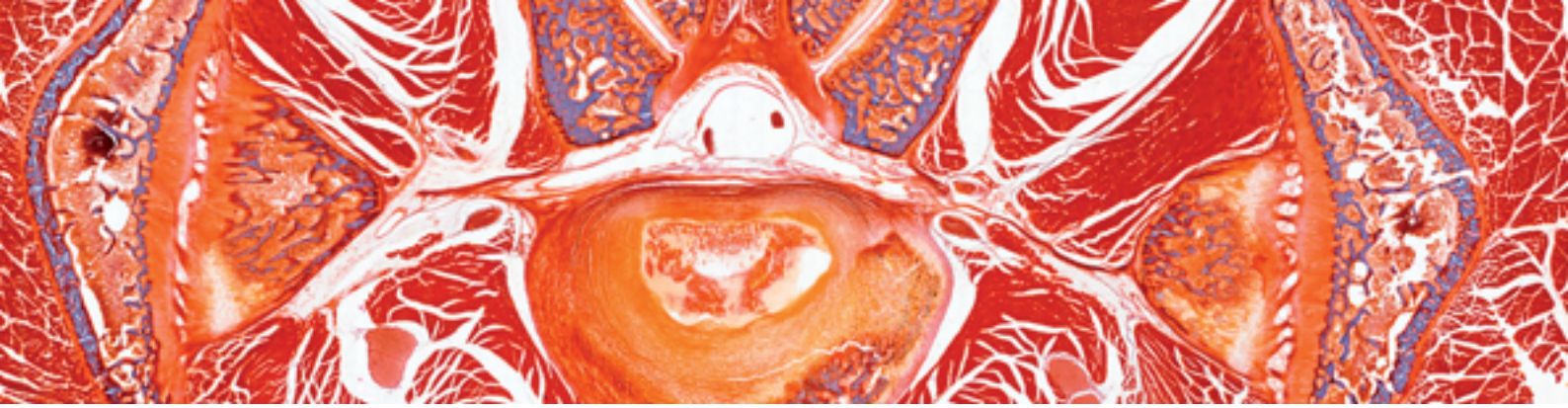
Human, Knochen, Herovici, Art.-Nr.: 18432; mit freundlicher Genehmigung der Geistlich Pharma AG



Human, Explantat, Movat Pentachrom nach Verhöff, Art.-Nr.: 12061; mit freundlicher Genehmigung der Emerging Implant Technologies



Human, Explantat, Pikrosiriusrot (Polarisiert), Art.-Nr.: 13425; mit freundlicher Genehmigung der Emerging Implant Technologies



Technovit® 7200 VLC

Lichthärtender Kunststoff für Dünnschliff-Herstellung

Technovit 7200 VLC ist ein innovatives und einfach anzuwendendes Kunststoffsystem für die Herstellung von Dünnschliffen nicht schneidbarer Gewebe (z.B. Zähne, Knochen, Implantate), Werkstoffe oder sonstiger harter Proben (Metalle, Gesteine, Kunststoffe). Technovit 7200 VLC ist ein lichthärtender Einkomponentenkunststoff, der nicht auf aggressive UV-Lichtquellen angewiesen ist, sondern mit einfachem Weiß- und Blaulicht zur Polymerisation angeregt wird und hierbei langsam und gleichmäßig polymerisiert.

Eigenschaften

Technovit 7200 VLC wurde speziell für die Dünnschliff-Technik zur histologischen Untersuchung mineralisierter Gewebe (Zähne, Knochen) entwickelt. Es durchdringt vollständig das Hartgewebe, weshalb eine Entkalkung des Gewebes bei dieser Technik nicht erforderlich ist. Kunststoffe wie z.B. Composite-Zahnfüllungen oder Knochenzemente werden von Technovit 7200 VLC nicht angegriffen. Ebenso besteht uneingeschränkte Verträglichkeiten zu allen Arten von Keramik, Metall- und Kunststoffimplantaten oder Proben. Das Technovit 7200-System ist somit bestens für histopathologische Untersuchungen in Forschung und Routine geeignet.

Der Polymerisationsprozess wird durch eine Kombination von Blau- und Weißlich initiiert und erfolgt i.d.R. innerhalb weniger Stunden. Bei Einhaltung der angegebenen Bestrahlungszeiten wird die Temperatur von 40 °C nicht überschritten, im Gegensatz zu vielen UV-härtenden Einbettsystemen.

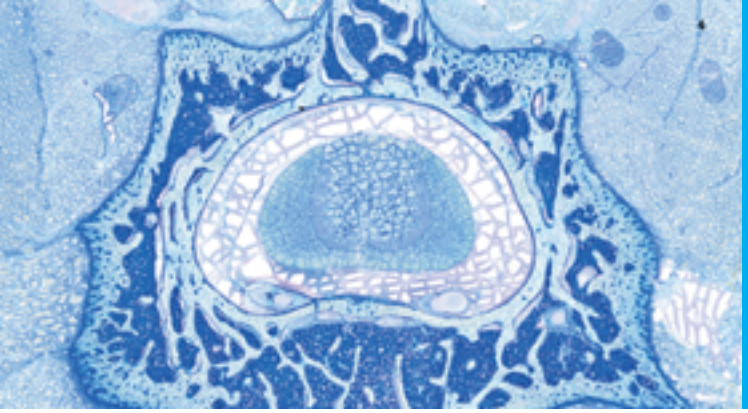
Fertig polymerisierte Proben weisen eine große mechanische Festigkeit auf, so dass die Herstellung von Trenn-Dünnschliffen bis hinunter zu einer Dicke von wenigen Mikrometern möglich ist. Hierzu eignen sich besonders die Säge- und Schleifsysteme der EXAKT, die zudem spezielle Eingieß-, Klebe- und Polymerisationsvorrichtungen für das Technovit 7200 VLC-System anbietet (Lichtklebepresse, Lichtpolymerisationsgerät, Trocknungsgerät).

Dünnschliffe von Technovit 7200 VLC eingebetteten Proben können mit vielen klassischen histologischen Färbetechniken bearbeitet werden. MORPHISTO bietet hier eine breite Palette an Färbekits und Einzellösungen, die speziell für Technovit eingebettete Schliffe geeignet sind.

Technovit 7200 VLC erfüllt alle Anforderungen an die aussagefähige Probenpräparation zur Herstellung histologischer Präparate in der Anatomie, Pathologie, Orthopädie, Unfallchirurgie, Zahnmedizin, Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Werkstoffkunde, Materialprüfung, etc..

Die Vorteile auf einen Blick

- keine Blasenbildung
- Einsetzbar in Gewebeprozessoren
- keine Spannungsrisse
- Polymerisation stabil bis zu hohen Härtegraden
- keine thermische Gewebebelastung
- Lichtpolymerisation in maximal 6 h
- Temperatur maximal 40 °C bei der Polymerisation
- vielfältige histologische Färbungen möglich
- leichte Handhabung von Gerät und Material
- unbegrenzte Lagerfähigkeit der Proben



Technovit 7200 VLC wurde speziell für die Dünnschliff-Technik entwickelt.

Produktdaten

Art.-Nr.	Bezeichnung	Inhalt
17571.01000	Technovit 7200 VLC	1000 ml Einbettmedium
17571.00030	Technovit 7210 VLC	2 x 15 ml Präzisionskleber
17571.00100	Technovit 7230 VLC	100 ml Fixationskleber
18111.K3000	Technovit 4000 Kit	750 g Pulver 250 ml Sirup I 500 ml Sirup II
	Einbettmulde I	50 Stück
	Einbettmulde II	50 Stück
18111.F1500	Pulver	1500 g
18111.01000	Sirup I	1000 ml
18111.00500	Sirup II	500 ml

Technische Daten	
Farbe	transparent
Dichte = spez. Gewicht g/cm3 (DIN 53479)	1,07
Brechungsindex monomer polymer	 1,4175 1,4720
Lagertemperatur	max. 25 °C
Haltbarkeit	2 Jahre

Die Komponenten

Technovit 7200 VLC
Lichthärtender Einkomponentenkunststoff auf Methacrylatbasis zum Einbetten und anschließendem Anfertigen von Dünnschliffen in Medizin und Zahnmedizin.

Technovit 7210 VLC
Lichthärtender Einkomponentenpräzisionskleber auf Methacrylatbasis zur Präzisionsklebung der ausgehärteten Proben auf einem Acrylglasobjektträger.

Technovit 7230 VLC
Lichthärtender Einkomponentenkleber auf Methacrylatbasis zur Fixierung der Gewebeprobe in der Einbettmulde.

Die Verarbeitung

Fixation

Organische Gewebeproben sollten vor der Einbettung in Technovit 7200 VLC fixiert werden. Geeignet sind alle gängigen Fixationsmedien, wie Formalin, PFA, Alkohol und andere. Die Verwendung von Fixativen auf der Basis von Pikrinsäure oder Quecksilber ist grundsätzlich möglich, sollte aber jeweils exemplarisch getestet werden. Bei Quecksilberfixierung muss die Jodbehandlung vor dem Infiltrationsprozess erfolgen. Pikrinsäure muss über eine Alkoholreihe vollständig entfernt werden, um den Polymerisationsprozess nicht zu beeinträchigen.

Entwässerung / Dehydration

Die Entwässerung des Gewebeserfolgt über eine aufsteigende Alkoholreihe. Hier gelten die üblichen Infiltrationszeiten. Bewegung (Agitation) ist grundsätzlich von Vorteil. Die Erfahrung hat gezeigt, dass je massiver die Hartgewebe sind, auch die Infiltrationszeiten der Alkoholstufen deutlich heraufzusetzen sind.

Infiltration

Die eigentliche Infiltration wird mit einem Gemisch Alkohol/Technovit 7200 VLC = 1 : 1 eingeleietet. Es folgen darauf zwei weitere Intermediumsschritte mit einem Mischungsverhältnis von 1 : 2 und 1 : 3 und anschließend wird mit mindestens zwei Stufen reiner Technovit-Lösung infiltiert.
Sollten die Proben sehr massiv sein, bzw. ist davon auszugehen, dass das Licht nicht die tieferen Schichten der Probe erreicht, so sollte den puren Technovit-Lösungen je 1 g des Härters (BPO) hinzugegeben werden.

Anstelle von Alkohol kann als Intermedium auch eine Mischung von Glykolmethacrylat/Technovit 7200 verwendet werden. Hier gilt es eigene Erfahrungswerte zu sammeln, um wirtschaftliche Infiltrationsprozesse zu etablieren.

Bei apparativer Entwässerung und Infiltration mit Agitation und Vakuum sind Entwässerungszeiten von 3 Stunden pro Stufe und Infiltrationszeiten von 8 Stunden pro Stufe bei 2 bis 3 mm dicken Gewebescheiben ausreichend. Bei Entwässerung und Infiltration ohne Agitation und Vakuum müssen die Zeiten pro Stufe etwa vervierfacht werden. Die Infiltration muss in lichtundurchlässigen Gefäßen bzw. Automaten erfolgen, da sonst durch Lichteinfall die Polymerisation induziert wird.

Dehydration und Infiltration über Alkohol (Ausgangspunkt: Formalinprobe aus 70%igem Ethanol)

Stufe	Lösung	Konzentration	Infiltrationszeiten	
			Knochen.	Zähne
Entwässerung 1	Ethanol	70 %	1- 2 h	4- 6 h
Entwässerung 2	Ethanol	80 %	1- 2 h	4- 6 h
Entwässerung 3	Ethanol	90 %	1- 2 h	4- 6 h
Entwässerung 4	Ethanol	96 %	1- 2 h	4- 6 h
Entwässerung 5	Ethanol	99 %.	1- 2 h	4- 6 h
Entwässerung 6	Ethanol	99 %.	1- 2 h	4- 6 h
Infiltration I	Ethanol / Technovit	1 : 1	8 - 24 h	2 - 6 Tage
Infiltration II	Ethanol / Technovit	1 : 2	8 - 24 h	2 - 6 Tage
Infiltration III	Ethanol / Technovit	1 : 3	8 - 24 h	2 - 6 Tage
Infiltration	Technovit 7200	pur	8 - 24 h	2 - 6 Tage
Infiltration	Technovit 7200	pur	8 - 24 h	2 - 6 Tage

Einbettung

Zur planparallelen Einbettung wird die vorbereitete, infiltrierte Gewebeprobe in die entsprechende Einbettform I oder II auf einen vorher eingebrachten Tropfen Fixierungskleber Technovit 7230 VLC gelegt und leicht angedrückt. Es ist darauf zu achten, dass die zu untersuchende Fläche nach unten gelegt wird. Danach wird die Gewebeprobe mit Technovit 7200 VLC so übergossen, dass das Gewebe nicht aufschwimmt und dass keine Luftblasen eingeschlossen werden.

Polymerisation

Die Polymerisation der Einbettung erfolgt im Blaulichtgerät. Die Polymerisation wird in zwei Stufen durchgeführt.

1. Stufe:

Während der ersten Polymerisationsstufe wird das Einbettmedium weitgehend polymerisiert. Dies erfolgt bei niedriger Lichtintensität (weißes Licht), damit die Polymerisationstemperatur 40 °C nicht übersteigt und keine Spannungsrisse entstehen.

2. Stufe:
In der zweiten Polymerisationsstufe wird bei hoher Lichtintensität (blaues Licht) das im Gewebe infiltrierte Einbettmaterial vollständig polymerisiert. Die Gesamtpolymerisationszeit beträgt maximal 6 Stunden. Die Polymerisationstemperatur übersteigt bei maximal 40 ml Einbettmedium und bei einer Raumtemperatur von 23 °C nicht die Temperatur von 40 °C.

Weitere Verarbeitung nach der Aushärtung

Im Anschluß an die vollständige Polymerisation können die Blöcke für die weitere Verarbeitug per Trenn-Dünnschliff-Technik vorbereitet werden. Das übliche Vorgehen hierbei ist:

- planparalleles Aufkleben des Blockes auf einen Objektträger oder eine Probenhalterung
- planparalleles Anschleifen der Probenseite oder planparalleles Trimmen durch eine Diamandband-, Innenloch- oder Trennsäge
- Polieren der Probenseite
- Aufkleben auf einen Objektträger
- Abtrennen einer möglichst dünnen Scheibe mit Diamandband-, Innenloch- oder Trennsäge
- Schleifen der abgetrennten Scheibe auf die gewünschte Dicke und anschließendes Polieren
- Färben mit geeigneten histologischen Färbetechniken
- Eindecken mit einem schützenden Deckglas
- Mikroskopieren und Auswerten

Beim Vorgang der Trenn-Dünnschliff-Technik werden hier nur die Technovit-Komponenten und Zubehöre betreffenden Punkte genannt. Die Methodik des Sägens und Schleifens ist über die jeweiligen Handbücher und Schulungsprogramme der Gerätehersteller in Erfahrung zu bringen.

Technovit 4000

Um die polymerisierten Blöcke aus den Kunststoffforen wieder herauszubekommen, bzw. diese für die weitere Verarbeitung in Trenn-Dünnschliff-Systemen auf geeignete Halterungen (z.B. Objektträger) aufzukleben wird ein nicht schrumpfender Kunststoff, Technovit 4000 verwendet.

Technovit® 4000 ist ein schnellhärtender kaltpolymerisierender 3-Komponenten-Kunststoff auf der Basis von modifiziertem Polyester in Form von Pulver und Sirup I und II. Die primäre Anwendung ist das Eingießen von Werkstoffen zum späteren Schleifen und Polieren von Oberflächen.

Materialeigenschaften

Technovit 4000 zeichnet sich besonders durch einen geringen Polymerisationsschrumpf und optimalen Randschluss aus. Das Einbetten von geometrisch anspruchsvollen Proben ist durch das gute Fließverhalten von Technovit 4000 gewährleistet. Durch die sehr gute Haftung an Metall, garantiert Technovit 4000 eine sehr spaltarme Einbettung. Diese Eigenschaften sind besonders wichtig bei allen Proben, bei denen es auf eine gute Randschärfe ankommt.

Ablauf

Nach der vollständigen Polymerisation wird eine Technovit 4000-Paste angerührt, auf den Block aufgetragen und dann der Objektträger bzw. die Blockhalterung angedrückt.
Das Mischungsverhältnis für die drei Komponenten ist 2 : 2 : 1 (Pulver : Sirup I : Sirup II), wobei zuerst Sirup I und II untereinander gemischt werden, und anschließend das Pulver eingerührt wird. Technovit 4000 ist nach dem Anrühren ca. 4 min gießfähig, die Aushärtungszeit beträgt ca. 8 min.

Je nach Raumtemperatur ist Technovit 4000 in 15 - 20 min. ausgehärtet und die weitere Verarbeitung per Diamandbandsäge kann beginnen.

Ausblocken, Weiterverarbeiten, Archivieren

Ausblocken und Aufkleben

Der aus der Einbettmulde entfernte polymerisierte Gewebeblock wird in die Richtung, wie er auch in die Einbettmulde eingebracht wurde, auf die Grundplatte der Vakuum-Klebepresse (EXAKT Apparatebau) gesetzt. Auf die Oberfläche des polymerisierten Gewebeblockes wird Technovit 4000 aufgebracht. Die Deckplatte mit Vakuum-gehaltenem Objektträger der Vakuum-Klebepresse wird bis zum Kontakt mit Technovit 4000 abgesenkt und mit einer Schraube arretiert. Nach Abschluß der Polymerisation wird der Block in das Mikroschleifsystem eingesetzt und überschüssiges Technovit 7200 VLC von der zu untersuchenden Fläche entfernt.

Trennen und Schleifen

Technovit 7200 erlaubt aufgrund seiner hervorragenden Materialeigenschaften und Stabilität die Herstellung sehr dünner Schliffscheiben. Je nach Beschaffenheit der eingebetteten Probe sind hier Dicken von 70 - 100 µm möglich. Die eigentlich gewünschte Schliffdicke (i.d.R. 5 - 15 µm) wird erst im zweiten Schritt, dem Schleifvorgang erzielt. Geeignete Geräte für diese Techniken sind:

- EXAKT C300 Diamandbandsäge
- EXAKT C310 Diamandbandsäge
- Leica Innenlochsäge SP 1600
- EXAKT Schleifgerät 400 CS
- andere Schleifgeräte mit absoluter Dickenmessung

Aufkleben auf Objektträger

Technovit 7200-Trennschliffe können auf handelsübliche Glasobjektträger oder geeignete Acrylglas-Objektträger der Firma EXAKT aufgeklebt werden. Hier wird der Kunststoff Technovit 7210 VLC verwendet. Die Photopolymerisation des Klebers wird in der Präzisions-Klebepresse der Firma EXAKT durchgeführt und ist nach 15 Minuten Bestrahlungszeit abgeschlossen.

Färben von Dünnschliffen

Dünnschliffe von Technovit 7200 können mit vielen klassisch histologischen Verfahren gefärbt werden (siehe S. 36f). Im Gegensatz zu Technovit 9100 kann der Technovit 7200-Kunststoff nicht entfernt werden, es gibt also keine Entplastungsprozeduren. Somit können Färbungen, ebenso wie bei Technovit 7100 nur an den Oberflächen der Gewebe vorgenommen werden, wobei hier jedoch gewisse Vorbehandlungen der Proben notwendig sind. MORPHISTO hat eine Reihe geeigneter Prozeduren entwickelt und bietet eine breite Palette an geeigneten Färbekits für Technovit 7200.

Lagern und Archivieren der Proben

Proben eingebettet in Technovit 7200 haben eine unbegrenzte Lagerfähigkeit bei Raumtemperatur. Zu starke Temperaturschwankungen sollten ebenso vermieden werden, wie zu hohe Luftfeuchtigkeit. Die Lagerfähigkeit gilt für Blöcke ebenso wie für Schliffe. Letztere werden optimalerweise in passenden Objektträgerboxen in horizontaler Lagerung aufbewahrt.

Einbettung in Technovit 7200

Hersteller: Heraeus Kulzer, **Kunststofftyp:** GMA (Glycolmethacrylat)
Eignung: harte Gewebe, **Fixierung:** Formalin, PFA, trockene Proben

Infiltrationsstufen	Dauer	Vorgang
Zeiten gelten für Probengrößen von ca. 3-5 mm => pro weitere 5 mm³ Zeiten verdoppeln		
Ethanol 70 %	1 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 80 %	1 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 90 %	1 - 3 h	Dehydrieren
Ethanol 96 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Ethanol 96 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Ethanol 100 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Ethanol 100 %	2 - 4 h	Dehydrieren
Intermedium 1: Technovit-Ethanol-Mischung • 30 ml Basislösung Technovit 7200 • 70 ml Ethanol 96 % alternativ GMA möglich	8 - 48 h (unter Bewegung)	Infiltration
Intermedium 2: Technovit-Ethanol-Mischung • 50 ml Basislösung Technovit 7200 • 50 ml Ethanol 96 % alternativ GMA möglich	8 - 48 h (unter Bewegung)	Infiltration
Intermedium 3: Technovit-Ethanol-Mischung • 70 ml Basislösung Technovit 7200 • 30 ml Ethanol 96 % alternativ GMA möglich	8 - 48 h (unter Bewegung)	Infiltration
Infitrationslösung • Basislösung Technovit 7200 ggf. 1 g BPO auf 100 ml	8 - 48 h (unter Bewegung)	Infiltration
Infitrationslösung • Basislösung Technovit 7200 ggf. 1 g BPO auf 100 ml	8 - 48 h (unter Bewegung)	Infiltration
Ausgiessen und Aushärten		
Ausgiess-Lösung / Einbett-Lösung **normale bis transparente Proben:** • Basislösung Technovit 7200 frische Lösung ! **massive sehr dunkle Proben** • 100 ml Basislösung Technovit 7200 • 1,0 g Härter 1 (= 1 Päckchen) frische Lösung !	6 h Weißlicht 6 h Blaulicht 6 h Nachhärten bei Tageslicht	Eingießen der Präparate in transparenten Kunststoff-formen, ggf. mit Technovit 7230 VLC fixieren Polymerisieren mit Blau-licht und Weisslicht
Schneiden, Sägen, Schleifen		
Diamandbandsäge: • Trenn-Dünnschliff **Rotationssäge:** • Trenn-Dünnschliff	**Hartschnittmikrotom:** • nicht schneidbar **Aufkleben auf OT:** • VLC 7210	**Ultrafräse:** • Block und Schliffe fräsbar
Dauer der Infiltration: ca. 4 - 12 Tage (je nach Probengröße)		

Färbung von Technovit 7200 Schliffen

Technovit 7200 Dünnschliffe können nach vielen bekannten histologischen Färbemethoden eingefärbt werden, um zum Beispiel Gewebe besser zu differenzieren.

Wie bei Technovit 7100 und 8100 Schnitten kann auch Technovit 7200 nicht aus den Proben entfernt werden. Daher muss bei den Färbungen beachtet werden, dass nicht der komplette Schnitt gefärbt wird, sondern nur die obere Schicht, welche mit der Färbelösung in direkten Kontakt kommt. Bei 7200 Schnitten ist jedoch eine Vorbehandlung notwendig, welche für eine färbbare Oberfläche sorgt. Außerdem sind meist längere Inkubationszeiten notwendig, um ein gleichwertiges Färbeergebnis zu erzielen.

Vorbereitung

Technovit 7200 Schnitte werden vor der Färbung angeätzt um eine die Farbe aufnehmende Oberfläche zu erzeugen. Dafür können 0,1%ige Ameisensäure, 10%iges Wasserstoffperoxid oder 10%ige Zitronensäure verwendet werden. Die Schliffe werden jeweils für ca. 30 Minuten in der jeweiligen Lösung inkubiert, bevor die Färbung durchgeführt wird. Die Färbung sollte unmittelbar nach Anätzen der Proben erfolgen.

Durchführung

Die histologische Färbung wird wie üblich durchgeführt. Zunächst werden Feinstrukturen wie zum Beispiel Zellkerne gefärbt. Anschließend folgt die Färbung von Zellplasma und zuletzt Fasern und Grundsubstanz. Die Färbezeiten variieren nach gewünschtem Ergebnis und Probenart und müssen daher mit jeder neuen Probenart empirisch ermittelt werden. Außerdem sollte beachtet werden, dass durch den eingelagerten Kunststoff ein anderes Färbeergebnis entstehen kann, als bei Paraffin eingebetteten Proben.

Exemplarisches Färbeprotokoll Movat

Anätzen

Schritt 1: Essigsäure 3%	30 s
Schritt 2: Alcianblau 1%	30 min
Schritt 3: fließend Wässern	4 min
Schritt 4: Hämatoxylin-Verhöff	8 min
Schritt 5: EisenIIIChlorid 1%	1 min
Schritt 6: fließend Wässern	7 min
Schritt 7: Brilliant Crocein	6 min
Schritt 8: Essigsäure 1%	30 s
Schritt 9: Phosphorwolframsäure	10 min
Schritt 10: VE Wasser	1 min
Schritt 11: Ethanol 99%	1 min
Schritt 12: Ethanol 99%	1 min
Schritt 13: Saffron du Gatinais	2 min
Schritt 14: Ethanol 99%	1 min
Schritt 15: Ethanol 99%	1 min

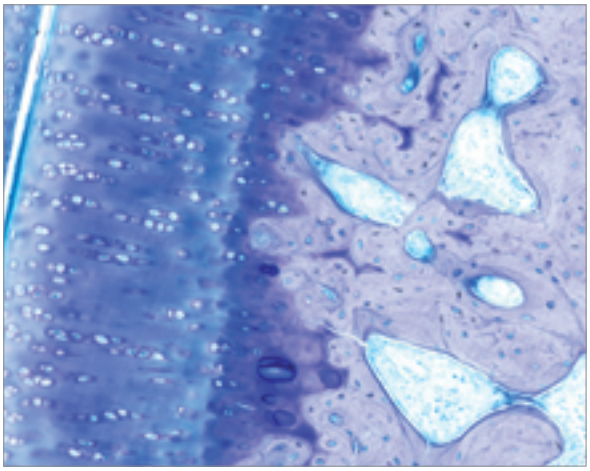
Nachbehandlung und Eindecken

Gefärbte Schliffe werden nicht über eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert, sondern nur kurz im 96%igem Ethanol gewaschen. Anschließend werden die Objektträger getrocknet und von Hand mit Technovit 7200 eingedeckt. Zur Aushärtung werden die Objektträger 30 Minuten unter Weißlicht und anschließend 30 Minuten unter Blaulicht bestrahlt.

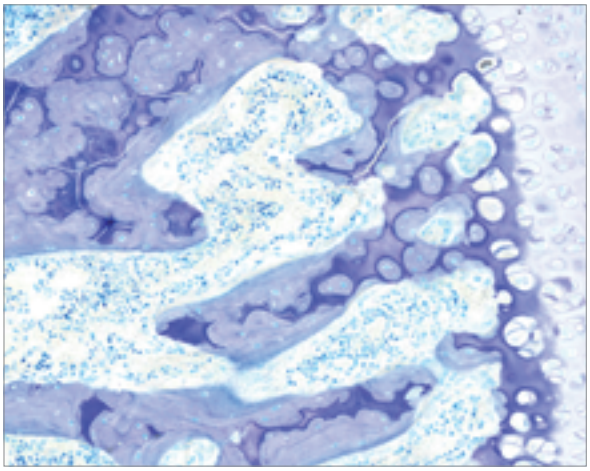
Vergleich Technovit 9100 und 7200 vor/bei/nach der Färbung

	T9100	T7200
vor der Färbung	Entplastung	Ätzung
	keine Entparaffinierung	
bei der Färbung	direkt in Aqua dest. bzw. Färbelösung	
nach der Färbung	- aufsteigende Alkoholreihe bis Xylol - Eindecken mit CV Mount/Automat	- nur kurz im 96% Ethanol - trocknen lassen - Eindecken mit T7200 per Hand - 30 min. Weißlicht - 30 min. Blaulicht

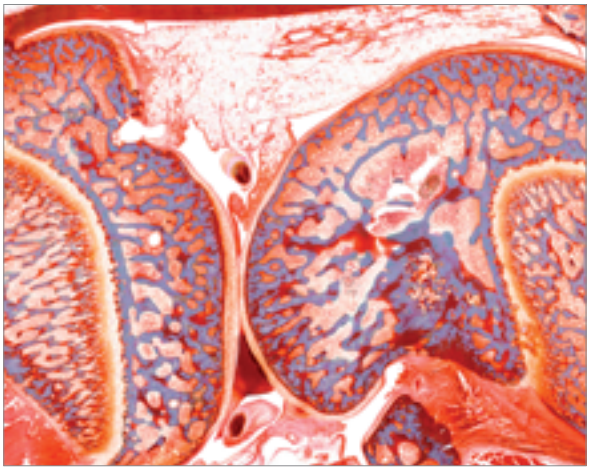
Beispielfärbungen von Technovit 7200 Schliffen



Ratte, Knie, Toluidinblau, Art.-Nr.: 13469

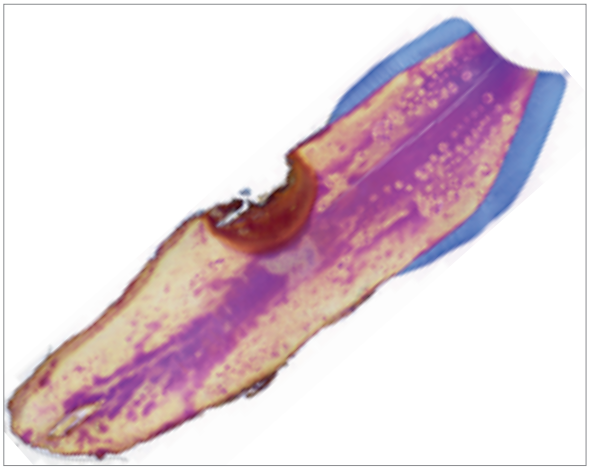


Ratte, Knie, Toluidinblau, Art.-Nr.: 13469

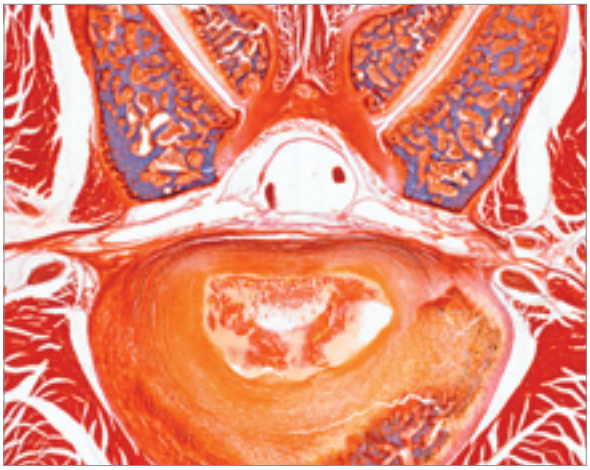


Ratte, Knie, Masson Goldner Lichtgrün,
Art.-Nr.: 12043

Ratte, Unterkiefer, Masson Goldner Lichtgrün,
Art.-Nr.: 12043



Human, Zahn, Herovici, Art.-Nr.: 18432



Ratte, Wirbelsäule, Masson Goldner Anilinblau,
Art.-Nr.: 12043

Zubehör und Ergänzung

Einbettmulden I und II
Zur planparallelen Einbettung infiltrierter Gewebeproben

Technovit 4000
Schnellhärtender 2-Komponenten-Kunststoff auf Methymethacrylat-Basis (MMA). Zum Aufblocken und Befestigen eingebetteter Kunststoffproben mit dem Histobloc oder auch zur Sockeleinbettung.

Anrührspatel
Holzspatel zum Mischen von Technovit 7200.

Anrührbecher
Becher zum Mischen von Technovit 7200.

Kunststoffobjektträger 76 x 25
Technovit 7200 Trennschliffe können auf Acrylglas- oder Glasobjektträger aufgebracht werden. Diese Acrylglasobjektträger sind geeignet für kleinere Proben.

Kunststoffobjektträger 100 x 50
Größere Objektträger aus Acrylglas zum Aufkleben von Technovit 7200 Trennschliffen..

Glasobjektträger 76 x 24
Handelsübliche Glasobjektträger zum Aufkleben von Technovit 7200 Trennschliffen.

EXAKT Geräte

Diamantbandsäge
EXAKT 300 CP
Die Diamantbandsäge dient dem Zerteilen hochempfindlicher Gewebe und Gewebekombinationen für die histologische Analyse von Muskelgewebe, Knochen und insbesondere Knochen mit Implantaten oder Schrauben. Es können frische wie eingebettete Proben verarbeitet werden.

Mikro Schleifgerät
EXAKT 400 CS
Schleifgerät für die Herstellung konstant planparalleler Dünnschliffe von bis zu 20 µm mit hervorragender Oberflächengüte.

Klebepresse
EXAKT 401
Klebepresse für ein präzises und planparalleles Aufbringen von Dünnschliffen bis zu 10 µm Dicke auf den Objektträger.

Lichtklebepresse
EXAKT 402
Speziell für die Technovit 7200 Einbettung entwickeltes Gerät, das Aushärtungszeit, Aushärtungsgrad und Temperaturentstehung kontrolliert und für optimale Polymerisierungsergebnisse sorgt.

Entwässerungs- & Infiltrationsgerät
EXAKT 510
Für die Infiltration und Entwässerung der Proben entwickeltes Gerät, bei dem mit bis zu 6 Diffusionsstufen gleichzeitig, lichtgeschützt gearbeitet werden kann. Eine Schwenkbewegung des Gerätes sorgt für die optimale Entwässerung und Durchdringung des Kunststoffes. Bei Bedarf auch unter Vakuum, um jegliche Risiken von Artefakten auszuschließen.

Lichtpolymerisationsgerät
EXAKT 520
Klebepresse, welche kombiniert mit dem Klebstoff Technovit 7210 eine optimale Schichtdicke und einwandfreie Ergebnisse erzielt.

Trockengerät
EXAKT 530
Für die Nachbereitung der Proben entwickeltes Gerät, welches mittels Vakuum und kontrollierter Wärme Restwasser aus der Probe entfernen oder die Probe durch Blaulicht nachhärten kann.

MORPHISTO
Laborchemikalien & Histologieservice

Morphisto GmbH
Laborchemikalien & Histologieservice
Weismüllerstraße 45
60314 Frankfurt am Main

Tel.: 069 / 400 30 19 60
Fax: 069 / 400 30 19 64

E-Mail: info@morphisto.de

www.morphisto.de